



RAPPORTI ISTISAN 19|18

ISSN: 1123-3117 (cartaceo) • 2384-8936 (online)

Metalli in prodotti cosmetici: procedure raccomandate per la determinazione e valutazione dei rischi per la salute

A. Alimonti, B. Bocca, F.M. Buratti,
E. Fabbri, E. Testai



AMBIENTE
E SALUTE

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

**Metalli in prodotti cosmetici:
procedure raccomandate per la determinazione
e valutazione dei rischi per la salute**

Alessandro Alimonti (a)*, Beatrice Bocca (a),
Franca M. Buratti (a), Emanuela Fabbri (b),
Emanuela Testai (a)

(a) Dipartimento Ambiente e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

*(b) Direzione generale dei dispositivi medici e del servizio farmaceutico,
Ministero della Salute, Roma*

*in quiescenza dal 1° agosto 2019

ISSN: 1123-3117 (cartaceo) • 2384-8936 (online)

**Rapporti ISTISAN
19/18**

Istituto Superiore di Sanità

Metalli in prodotti cosmetici: procedure raccomandate per la determinazione e valutazione dei rischi per la salute.

Alessandro Alimonti, Beatrice Bocca, Franca M. Buratti, Emanuela Fabbri, Emanuela Testai
2019, iv, 57 p. Rapporti ISTISAN 19/18

Il Regolamento (CE) 1223/2009 sui prodotti cosmetici contiene le disposizioni armonizzate per proteggere la salute dei consumatori (art. 3) e garantire il buon funzionamento del mercato interno. L'art. 14 indica il divieto di utilizzo come ingredienti delle sostanze riportate nell'allegato II al Regolamento, tra cui molti metalli che però possono essere presenti come impurezze. Il Regolamento, purché il prodotto sia sicuro, tollera la presenza di metalli in tracce "tecnicamente inevitabili" (art. 17): l'assenza di una soglia definita implica che la sicurezza di uno specifico prodotto si valuti caso per caso. Il presente rapporto contiene i risultati di un lavoro svolto dal Dipartimento Ambiente e Salute nell'ambito di un accordo di collaborazione tra l'Istituto Superiore di Sanità e il Ministero della Salute e riporta i vari aspetti nella valutazione di sicurezza di prodotti contenenti metalli. La valutazione comprende sia la definizione dell'esposizione (campionamento e analisi chimica, definizione degli scenari di esposizione relativi a prodotto e consumatore) che la valutazione tossicologica per l'individuazione del Margine di Sicurezza.

Parole chiave: Cosmetici; Sicurezza; Metalli; Metodi Analitici; Valutazione del rischio

Istituto Superiore di Sanità

Metals in cosmetic products: recommendations for detection and assessment of health risks.

Alessandro Alimonti, Beatrice Bocca, Franca M. Buratti, Emanuela Fabbri, Emanuela Testai
2019, iv, 57 p. Reports ISTISAN 19/18 (in Italian)

The Regulation (EC) 1223/2009 on cosmetic products contains the harmonized provisions that cosmetic products must comply with in order to protect the consumers (Article 3) and guarantee the proper functioning of the internal market. Article 14 indicates that substances listed in Annex II of the Regulation cannot be used as ingredients; these include many metals that however can be present as impurities. The Regulation, as long as the product is safe, tolerates the presence of "technically unavoidable" trace metals (art.17): the absence of a defined threshold implies that the safety of a specific product is evaluated on a case by case basis. This report contains the results of a project carried out by the Department of Environment and Health as part of a collaboration agreement between the Istituto Superiore di Sanità (the National Institute of Health in Italy) and the Ministry of Health and describes the various aspects in the safety assessment of products containing metals. The evaluation includes both the definition of the exposure (sampling and chemical analysis, definition of exposure scenarios) and the toxicological evaluation for the identification of the Margin of Safety.

Key words: Cosmetics; Safety; Metals; Analytical methods; Risk assessment

Per informazioni su questo documento scrivere a: beatrice.bocca@iss.it, franca.buratti@iss.it

Il rapporto è accessibile online dal sito di questo Istituto: www.iss.it.

Citare questo documento come segue:

Alimonti A, Bocca B, Buratti FM, Fabbri E, Testai E. *Metalli in prodotti cosmetici: procedure raccomandate per la determinazione e valutazione dei rischi per la salute*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2019. (Rapporti ISTISAN 19/18).

Legale rappresentante dell'Istituto Superiore di Sanità: *Silvio Brusaferrò*

Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 114 (cartaceo) e n. 115 (online) del 16 maggio 2014

Direttore responsabile della serie: *Paola De Castro*

Redazione: *Sandra Salinetti*

La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori, che dichiarano di non avere conflitti di interesse.



INDICE

Prefazione	iii
Quadro normativo generale per la presenza di metalli nei cosmetici	1
Campionamento	5
Metodi di determinazione dei metalli	8
Preparazione del campione	9
Quantificazione tramite HR-ICP-MS.....	9
Validazione del metodo	11
Specificità.....	12
Linearità	13
Limite di rivelabilità e di quantificazione (LoD e LoQ)	13
Ripetibilità.....	14
Recupero	14
Incertezza di misura	15
Espressione dei risultati	17
Metodo di determinazione del cromo esavalente	19
Preparazione del campione	20
Procedura di estrazione e quantificazione tramite IC-ICP-MS	20
Validazione del metodo	21
Specificità.....	22
Linearità	22
Limite di rivelabilità e di quantificazione (LoD e LoQ)	22
Ripetibilità.....	22
Recupero	23
Espressione dei risultati	23
Proposta di valutazione di conformità	24
Gestione di pratiche/pareri e comunicazione dei risultati	27
Valutazione del rischio relativo all'uso del prodotto cosmetico	30
Identificazione del consumatore finale: scenari di esposizione per adulti e bambini	31
Alcuni esempi di scenari espositivi per tipologia di prodotti differenti	32
Valutazione dell'esposizione sistemica: calcolo del SED.....	36
Profilo tossicologico	39
Arsenico (As)	39
Cadmio (Cd).....	40
Cromo (Cr).....	41
Nichel (Ni)	42
Piombo (Pb)	43
Caratterizzazione del rischio.....	44

Alcuni casi studio	46
Bagnoschiuma.....	46
Dentifricio.....	48
Smalto	49
Rossetto	50
Fondotinta e <i>face paint</i>	51
Bibliografia	53

PREFAZIONE

Il Regolamento (CE) 1223/2009 sui prodotti cosmetici contiene le disposizioni armonizzate che tutti i prodotti cosmetici che sono sul mercato devono rispettare al fine di proteggere la salute umana e garantire il buon funzionamento del mercato interno.

Gli Stati membri devono prendere tutte le misure necessarie per garantire che solo i prodotti cosmetici conformi alle disposizioni del Regolamento possano essere messi a disposizione sul mercato. Ciò implica l'obbligo per gli Stati membri di organizzare e attuare la sorveglianza del mercato in modo efficace e sufficientemente ampio per vigilare sul rispetto delle disposizioni del Regolamento.

Lo scopo della sorveglianza del mercato è di proteggere non solo gli interessi di consumatori, ma anche gli interessi degli operatori economici dalla concorrenza sleale.

Al fine di far rispettare le disposizioni del Regolamento cosmetici, le autorità di vigilanza del mercato intervengono quando un prodotto cosmetico non è conforme alle disposizioni del Regolamento sui cosmetici e quindi al principio di sicurezza dei prodotti enunciato dall'articolo 3 del Regolamento stesso.

L'azione correttiva dipende dal grado di non conformità e, quindi, deve essere adottata secondo il principio di proporzionalità. Tuttavia, la differenza tra conformità non sostanziale e conformità sostanziale non è sempre chiara e deve essere decisa sulla base di una valutazione "caso per caso".

In particolare, tale approccio viene adottato nella valutazione di conformità al Regolamento cosmetici e della sicurezza dei prodotti cosmetici messi a disposizione del mercato nei quali si riscontrano impurezze che possono essere classificate come "tracce di sostanze vietate" che potrebbero influire sulla sicurezza del prodotto per i consumatori.

Infatti in fase di controllo di prodotti contenenti tracce di sostanze vietate, dove per "traccia" si intende la presenza involontaria di una quantità ridotta di una sostanza nel prodotto finito, e per le quali non esistono limiti di concentrazione definiti normativamente, ma che prevedibilmente potrebbero influire sulla sicurezza dei consumatori, è necessario effettuare la valutazione della sicurezza dello specifico prodotto in questione.

Al riguardo, il Regolamento (CE) 1223/2009 sui prodotti cosmetici all'articolo 17 stabilisce che la presenza involontaria di una quantità ridotta di una sostanza vietata, derivante da impurezze degli ingredienti naturali o sintetici, dal procedimento di fabbricazione, dall'immagazzinamento, dalla migrazione dall'imballaggio e che è tecnicamente inevitabile nonostante l'osservanza di buone pratiche di fabbricazione, è consentita a condizione che tale presenza sia in conformità con l'articolo 3 del regolamento e quindi che il prodotto cosmetico risulti sicuro per l'uso.

Tale valutazione implica la conoscenza delle proprietà fisico/chimiche delle sostanze vietate, che indicano soltanto il livello di pericolo di una sostanza, e la determinazione del rischio associato a ogni singola sostanza per la salute dei consumatori in relazione al tipo di prodotto, quantità di prodotto utilizzata, utilizzo del prodotto, tipologia di consumatori a cui il prodotto è destinato sull'uso normale e ragionevolmente prevedibile considerando, quindi, tutti gli scenari di esposizione possibili.

La valutazione della sicurezza di un prodotto in questo caso risulta articolata e complessa in quanto riguarda sia gli aspetti del campionamento e dell'analisi chimica che della valutazione dei risultati analitici ottenuti nell'ottica della valutazione tossicologica delle sostanze vietate e della definizione della sicurezza del prodotto cosmetico che le contiene in funzione del tipo di utilizzo a cui è destinato nelle normali o ragionevolmente prevedibili condizioni di uso.

Le metodiche analitiche devono essere allo “stato dell’arte” e convalidate secondo criteri scientificamente riconosciuti validi con particolare riferimento allo studio di ciascuna matrice di specifica dei prodotti in esame; la strumentazione deve risultare opportuna in funzione della natura e della struttura chimica della sostanza vietata da investigare e dell’obiettivo dell’indagine.

L’esposizione a ciascuna delle sostanze del prodotto cosmetico viene calcolata in base all’esposizione al prodotto finale e alla concentrazione delle singole sostanze nel prodotto finale. Questi aspetti sono di cruciale importanza per effettuare una valutazione dei rischi.

Il presente rapporto contiene i risultati di un lavoro svolto dal Dipartimento Ambiente e Salute nell’ambito di un accordo di collaborazione tra l’Istituto Superiore di Sanità e il Ministero della Salute per l’esecuzione di una ricerca che ha prodotto il presente rapporto che descrive le procedure raccomandate per la valutazione dei rischi per la salute derivanti dalla presenza di metalli in prodotti cosmetici.

Il rapporto è stato strutturato in modo da affrontare due problematiche fondamentali, vale a dire gli aspetti attinenti all’individuazione dei metodi analitici per la determinazione dei metalli e la descrizione di protocolli per la valutazione tossicologica e la definizione di conformità e sicurezza dei prodotti cosmetici.

Scopo dell’accordo era la realizzazione di uno strumento di lavoro per quanti svolgono attività di valutazione di conformità alla normativa vigente di prodotti cosmetici contaminati da metalli, con particolare riferimento alla quantificazione e caratterizzazione di metalli in varie matrici e alla valutazione degli scenari espositivi e del relativo rischio per la salute umana derivante dalla presenza di metalli in varie tipologie di prodotti.

Inoltre, l’obiettivo del lavoro svolto è stato individuare un approccio metodologico di analisi e valutazione dei prodotti sul mercato per poter usufruire di uno strumento di lavoro per condurre in modo trasparente e uniforme le attività di controllo di prodotti cosmetici contaminati da metalli che rappresentano un motivo di preoccupazione per la salute dei consumatori.

Emanuela Fabbri, Paola D’Alessandro e Marcella Marletta
*Direzione generale dei dispositivi medici e del servizio farmaceutico
Ministero della Salute*

QUADRO NORMATIVO GENERALE PER LA PRESENZA DI METALLI NEI COSMETICI

Come la maggior parte dei prodotti e delle sostanze chimiche (inclusi farmaci, additivi alimentari, pesticidi), i cosmetici sono sottoposti a una serie di valutazioni e controlli e sono regolamentati da una normativa Europea specifica. La produzione, il confezionamento, la distribuzione e la vendita di cosmetici sono disciplinati dal Regolamento (CE) 1223/2009, che dall'11 luglio 2013 ha sostituito la Legge italiana n. 713/86 (Europa, 2009).

Tale Regolamento, oltre a dare una definizione inequivocabile di prodotto cosmetico¹ rappresenta un'evoluzione della Direttiva 76/768/CEE e dei suoi emendamenti, perché armonizza le disposizioni già esistenti in materia in tutti gli stati membri, tenendo conto dei progressi e dei cambiamenti avvenuti nel settore cosmetico, ma soprattutto rafforza e chiarisce le norme sulla sicurezza dei cosmetici a protezione di consumatori. In particolare, secondo quanto previsto dall'articolo 11, è stata istituita la figura della Persona Responsabile dell'immissione sul mercato di un prodotto cosmetico, che deve tenere a disposizione delle autorità di controllo una serie di dati e informazioni relativi al prodotto cosmetico, la cosiddetta "documentazione informativa sul prodotto" che viene indicata con l'acronimo PIF (*Product Information File*) e che deve contenere tra l'altro informazioni sulla formula qualitativa e quantitativa del prodotto; le specifiche fisico-chimiche e microbiologiche delle materie prime e del prodotto finito; il metodo di fabbricazione; i dati sulla valutazione di sicurezza del prodotto.

Le modalità con cui devono essere compilati i PIF sono descritte nell'allegato I dei nove che accompagnano il Regolamento. Altri allegati relativi alla sicurezza di un cosmetico sono:

- allegato III, che elenca le sostanze che possono essere usate nei cosmetici solo in determinati limiti e condizioni riportati nell'allegato stesso;
- allegato IV, che elenca le sostanze coloranti autorizzate;
- allegato V, che elenca i conservanti che possono essere utilizzati nei cosmetici;
- allegato VI, che elenca i filtri UV autorizzati nei prodotti cosmetici.

Ad esempio il Regolamento vieta l'impiego delle sostanze classificate come Cancerogene, Mutagene o tossiche per la Riproduzione (CMR) categoria 1A e 1B, salvo casi eccezionali per quelle classificate in categoria 2.

L'allegato II riporta le sostanze il cui impiego è vietato nella formulazione di un prodotto cosmetico; ad esempio:

- al n. 43 l'arsenico (As) e i suoi composti;
- al n. 97 il cromo (Cr), l'acido cromico e i suoi sali;
- al n. 68 il cadmio e i suoi composti;
- al n. 101 il cobalto (benzene sulfonato di);
- al n. 289 il piombo (Pb) e i suoi composti;
- al n. 453 il dicloruro di cobalto (CAS n. 7646-79-9);
- al n. 454 il solfato di cobalto (CAS n. 10124-43-3).
- al n. 1093 il nichel (Ni).

¹ "Ai fini del presente Regolamento si intende per prodotto cosmetico 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"

Pur vietando l'impiego di molti metalli come ingredienti, il Regolamento ne tollera la presenza in tracce (articolo 17) a condizione che queste ultime siano "tecnicamente inevitabili", anche osservando le Buone Pratiche di Fabbricazione (articolo 8) e a condizione che il prodotto in questione sia sicuro per la salute umana (articolo 3)².

La definizione di "tracce tecnicamente inevitabili" è vaga non definendo uno specifico valore, né una soglia, e dipende dalla qualità delle materie prime e dalla tecnologia produttiva, specie per i prodotti provenienti da Paesi extra europei dove le Buone Pratiche di Fabbricazione per i prodotti cosmetici non corrispondono a quanto previsto in Europa dal Regolamento (CE) 1223/2009. Conseguentemente non è un valore fisso nel tempo e risulta necessaria una valutazione caso per caso, basata sulla reale esposizione, per stabilire il rischio associato a tali prodotti e ottemperare a quanto indicato nell'art. 3.

Al momento non sono disponibili standard Europei o internazionali che definiscano i livelli dei metalli pesanti identificabili come tracce inevitabili, e come tali tollerate nei cosmetici.

Ciascuno Stato membro ha utilizzato un approccio diverso. In Italia nell'arco degli anni sono stati utilizzati come riferimento i valori riportati dal *Bundesinstitut für Risikobewertung* (BfR) tedesco e da *Health Canada*, che riportano i livelli dei metalli considerati come tollerabili nei cosmetici. Tali valori sono desunti dai dati disponibili provenienti dalle analisi di monitoraggio dei prodotti presenti sul mercato tedesco e canadese, i cui valori più bassi sono considerabili "tecnicamente inevitabili". Per questo motivo tali livelli non sono dei limiti identificati tenendo conto delle proprietà tossicologiche dei singoli elementi e non sono relativi a valutazioni di sicurezza per la salute del consumatore.

I primi dati pubblicati dal BfR nel 2006 risalgono a indagini effettuate circa 30 anni fa, quindi non aggiornati agli attuali processi di fabbricazione (BfR, 2006). A quei livelli riportati dal BfR si riferiscono anche i tenori massimi per i metalli citati nei due documenti emessi dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) nel 2009 (ISS, 2009a; 2009b) che sono stati utilizzati per molto tempo come indicativi per l'Italia, ma che oggi risultano datati e non più validi.

Nel 2012 *Health Canada* (Health Canada, 2012) ha pubblicato un Rapporto nel quale riportava i valori considerabili come tracce tecnicamente inevitabili con lo stesso principio dell'analisi dei prodotti sul mercato, che risultano dal 30% al 50% più bassi rispetto ai valori suggeriti dal BfR nel 2006. Una simile tendenza alla diminuzione dei livelli tecnicamente inevitabili è stata riscontrata anche in Germania nell'ambito del monitoraggio di prodotti di cosmetici negli anni 2010-2012 (BVL, 2011; 2012; 2013). I dati di tale monitoraggio su 1735 campioni di cosmetici (provenienti metà dal mercato tedesco e metà da altri Paesi Europei) sono stati rivalutati nel 2017 e sono stati identificati i valori aggiornati da considerare come tecnicamente inevitabili per alcuni metalli (BVL, 2017). Una tendenza alla diminuzione è stata riportata anche per il mercato italiano (Bocca *et al.*, 2014) ed è in linea con i miglioramenti tecnologici legati, come detto sopra, alla necessità di utilizzare, secondo il Regolamento Europeo, le Buone Pratiche di Fabbricazione (Marinovich *et al.*, 2014).

È quindi evidente che i livelli che potevano essere considerati una traccia inevitabile qualche anno fa non lo sono più oggi, non essendo pienamente rappresentativi della realtà produttiva odierna. I livelli dei metalli indicati come tracce tecnicamente inevitabili nei cosmetici in letteratura dal 2006 ad oggi sono riportati in Tabella 1.

In letteratura vi è evidenza, inoltre, che l'esposizione a metalli come Cr(VI) e Ni è associata all'insorgenza di effetti sensibilizzanti quale la dermatite allergica da contatto.

² Articolo 17 del Regolamento (CE) 1223/2009 Tracce di sostanze vietate: "La presenza involontaria di una quantità ridotta di una sostanza vietata, derivante da impurezze degli ingredienti naturali o sintetici, dal procedimento di fabbricazione, dall'immagazzinamento, dalla migrazione dall'imballaggio e che è tecnicamente inevitabile nonostante l'osservanza di buone pratiche di fabbricazione, è consentita a condizione che tale presenza sia in conformità dell'articolo 3".

Tabella 1. Metalli nei prodotti cosmetici: limiti massimi (in mg/kg), disponibili in letteratura, identificabili come tracce tecnicamente inevitabili (per i dentifrici, i valori sono riportati tra parentesi, se diversi)

Metallo	BfR, 2006	ISS, 2009a; 2009b	Health Canada, 2012	Basketter <i>et al.</i> , 2003	BVL, 2017
Arsenico (As) inorganico		1			
Arsenico (As) organico		5			
Arsenico (As) totale	5 (0,5)		3		0,5 ^a (0,5)
Cadmio (Cd)	5	3	5		0,1 (0,1)
Cromo esavalente (CrVI)		1		1	
Cromo trivalente (CrIII)		5			
Cromo totale (Cr)		1*			
Nichel (Ni)		10		1	
Piombo (Pb)	20 (1)	20	10		2,0 ^b (0,5)

* In mancanza di informazione sullo stato di valenza

^a per i trucchi teatrali e di carnevale: 2,5 mg/kg

^b per prodotti cosmetici come make-up in polvere, rossetto, ombretto, *eye-liner*, *kajal* e trucchi teatrali e di carnevale: 5 mg/kg

Uno studio ha dimostrato che le concentrazioni di Cr(VI) e Ni nei prodotti di consumo che vengono a contatto con la pelle devono essere mantenute al di sotto di 1 mg/kg per evitare il rischio di effetto cutaneo nella popolazione generale e nei soggetti già sensibilizzati (Basketter *et al.*, 2003). I valori relativi sono perciò da considerarsi limiti *health based*, per i quali si tiene conto dei potenziali effetti sulla salute dei consumatori relativamente all'effetto di sensibilizzazione cutanea.

Il Regolamento (CE) 1223/2009 prevede all'articolo 19 che al fine di garantire che i consumatori siano adeguatamente informati sul prodotto cosmetico, quest'ultimo possa essere immesso sul mercato soltanto se il contenitore a diretto contatto con il prodotto e l'imballaggio secondario riportano alcune indicazioni obbligatorie che devono comparire sull'etichetta, tra cui l'elenco degli ingredienti del prodotto nell'ordine decrescente di peso al momento dell'incorporazione. Inoltre, la presenza di sostanze che possono provocare reazioni allergiche debba essere indicata nell'elenco degli ingredienti, come nel caso della presenza di Cr e Ni.

Utilizzando i valori più bassi riportati in Tabella 1, che sono maggiormente aderenti agli standard produttivi odierni, i limiti massimi per i metalli nei cosmetici che l'ISS ritiene al momento considerabili come "tracce tecnicamente inevitabili" sono riassunti in Tabella 2.

Tabella 2. Metalli nei prodotti cosmetici: limiti massimi (in mg/kg) considerabili come tracce tecnicamente inevitabili (per i dentifrici, i valori sono riportati tra parentesi, se diversi)

Metallo	Limite massimo in cosmetici (dentifrici)
Arsenico (As) inorganico	1
Arsenico (As) organico	5
Arsenico (As) totale	0,5 ^a (0,5)
Cadmio (Cd)	0,1 (0,1)
Cromo esavalente (CrVI)	1
Cromo trivalente (CrIII)	5
Cromo totale (Cr)	1*
Nichel (Ni)	1
Piombo (Pb)	2,0 ^b (0,5)

* In mancanza di informazione sullo stato di valenza

^a per i trucchi teatrali e di carnevale: 2,5 mg/kg

^b per prodotti cosmetici come make-up in polvere, rossetto, ombretto, *eye-liner*, *kajal* e trucchi teatrali e di carnevale: 5 mg/kg

Queste tabelle, almeno per il momento danno una indicazione di quali possano essere considerate le tracce “tecnicamente inevitabili” e quindi prodotti che ne contengano una quantità più elevata non sono conformi a quanto disposto nel Regolamento. Tuttavia il Regolamento (CE) 1223/2009 prescrive anche che il prodotto debba rispondere a quanto indicato nell’articolo 3, per cui le tracce, anche se considerabili tecnicamente inevitabili, possono essere tollerate solo a condizione che il prodotto in questione sia sicuro per la salute umana. L’approccio è condiviso anche da *Health Canada*, secondo la quale i vari prodotti dovrebbero essere valutati individualmente a seconda del tipo di prodotto e degli utilizzatori, per stimare la reale “sicurezza” per i consumatori.

Questo è anche l’approccio seguito da questo Istituto al momento di fornire pareri (es. al Ministero della Salute) sottolineando la necessità di considerare il tipo di prodotto e la categoria di consumatori, non limitandosi solo a confrontare il contenuto dei metalli con i livelli riportati in Tabella 2 per verificarne la conformità, ma valutandone la sicurezza per il consumatore.

Fare una valutazione caso per caso implica che si armonizzi l’approccio seguito e che si definiscano specifici scenari di esposizione.

Allo scopo di fornire indicazioni sull’approccio da seguire per condurre una valutazione di conformità al Regolamento (CE) 1223/2009 associato alla presenza dei metalli che deve essere necessariamente associata ad una valutazione di sicurezza per i consumatori a cui il prodotto è destinato, è stato preparato il presente rapporto che illustra le procedure raccomandate per la conduzione di tutto il processo valutativo, incluso il campionamento, i metodi di determinazione dei metalli, la valutazione di conformità e la valutazione del rischio per il consumatore.

CAMPIONAMENTO

Il campionamento costituisce la prima operazione di ogni procedimento analitico. Si tratta di un'operazione complessa e delicata che può condizionare i risultati di tutte le fasi successive. Pertanto il campione deve essere rappresentativo del materiale in esame e deve essere prelevato in quantitativo adeguato e con modalità atte ad assicurarne la regolarità anche sotto il profilo giuridico. Il materiale campionato dovrà essere poi trattato con tutte le cautele per evitare eventuali contaminazioni o azioni che possano modificare la sua composizione.

Il Regolamento (CE) 1223/2009 e in particolare l'articolo 12 e il Decreto del Ministro della Salute del 27 settembre 2018 che ha comportato l'abrogazione degli ultimi articoli rimasti in vigore della Legge 713/1986, e che fa espressamente riferimento al DM 22 dicembre 1986 recante "Modalità di prelevamento e trattamento dei campioni di prodotti cosmetici e approvazione di alcuni metodi di analisi necessari per controllare la composizione di tali preparati, vengono indicate le modalità da seguire per il prelievo e il trattamento dei campioni cosmetici" (Europa, 2009; Italia, 2018).

Nel 2016, la Regione Piemonte, in collaborazione con l'ISS, ha definito le procedure di campionamento ed espressione dei risultati nel documento "Campionamento di prodotti cosmetici. Linee guida per la Gestione degli Esiti di Laboratorio" (Regione Piemonte, 2017) al fine di fornire strumenti di indirizzo per una maggiore armonizzazione di comportamenti degli Enti che hanno effettuato il campionamento, delle Agenzie Regionali e Sanitarie e di tutti gli attori coinvolti nel processo di controllo e analisi dei cosmetici.

Sulla base di questi documenti, possono essere fatte le seguenti considerazioni e/o raccomandazioni in materia di campionamento di prodotti cosmetici. Il prelievo può essere effettuato presso l'officina di produzione o di confezionamento o presso il deposito dell'importatore o del distributore ubicati nel territorio soggetto alla vigilanza dell'autorità sanitaria che effettua il prelievo. È comunque ammesso il campionamento presso esercizi di commercio al dettaglio.

Per quanto riguarda le regole generali di campionamento, la campionatura dei prodotti cosmetici può avvenire su cosmetici destinati alla vendita al pubblico; e su materie prime usate nella produzione degli stessi. I prodotti cosmetici devono essere prelevati nella loro confezione di origine, e il numero di prodotti cosmetici necessari a costituire il campione da inviare al laboratorio dipende dai metodi di analisi e dal numero di analisi da effettuare. I quantitativi necessari per le analisi chimiche dipendono dal tipo di prodotto; in generale si ritiene adeguata un'aliquota costituita da minimo 50 g o 50 mL di prodotto. Tale quantitativo può essere ridotto a circa 5 g o 5 mL in caso di prodotti particolari (ad esempio prodotti per il make-up); in questi casi il laboratorio potrà eseguire gli accertamenti analitici più rilevanti per la tipologia di prodotto.

In fase di esecuzione del campionamento devono essere adottate il più possibile le buone pratiche di campionamento che prevedono l'adozione di tutte le norme igieniche necessarie ad evitare l'inquinamento del campione nel corso delle operazioni di prelievo; inoltre, il campionamento deve essere effettuato in modo tale che il risultato analitico sia rappresentativo dello stato dell'intera partita o lotto. In caso di campione ufficiale sono necessarie campionature distinte: una per le prove batteriologiche e una per le prove chimiche (es. metalli), ciascuna delle quali composta dal numero di aliquote previste dalle disposizioni di legge.

I campioni prelevati devono essere sigillati sul luogo stesso del prelievo; ciascuna aliquota deve essere accompagnata da un cartellino assicurato al campione in modo da impedirne il distacco e contenere le seguenti informazioni: nome del prodotto cosmetico; data, ora e luogo del prelievo; numero del verbale di prelevamento; nome della persona che effettua il prelievo;

indicazione dell'autorità che ha disposto il prelievo; firma di chi esegue il prelievo e del responsabile dell'azienda in cui avviene il prelievo stesso o di un suo rappresentante o del detentore della merce. Qualora questi ultimi si rifiutassero di firmare, del fatto deve farsi menzione nel verbale di prelevamento.

Per quanto concerne le aliquote di legge, il campione deve essere costituito da 4 aliquote equivalenti se prelevato alla produzione o da 5 aliquote, se prelevato alla distribuzione o presso utilizzatori. Ciascuna aliquota deve essere chiusa e sigillata, preferibilmente con piombini e con suggello recante impressa la dicitura dell'ufficio che ha disposto il prelievo. Un'aliquota viene consegnata al momento del prelievo al responsabile dell'esercizio o ad un suo rappresentante o al detentore della merce. Le altre tre aliquote, insieme al verbale di prelevamento, vengono inviate per le analisi al laboratorio pubblico indicato dall'autorità che ha disposto il prelievo; di queste, un'aliquota è destinata all'analisi di prima istanza, un'altra a quella di revisione, e l'ultima rimane a disposizione dell'autorità giudiziaria.

Oltre a tutte le informazioni riportate sul cartellino assicurato al campione, il verbale di campionamento deve contenere i seguenti dati: contenuto nominale; numero di lotto; modalità seguite nel prelievo; dichiarazione che il titolare dell'impresa o un suo rappresentante o il detentore ha trattenuto una copia del verbale e una parte del campione; la dichiarazione che il verbale è stato letto alla presenza dell'interessato (titolare dell'impresa, rappresentante o detentore) e che è stato sottoscritto anche dal medesimo o che lo stesso si è rifiutato di sottoscriverlo; eventuali dichiarazioni del titolare dell'impresa o del rappresentante o del detentore, sul nome e residenza del fornitore della merce e sulla data della consegna della merce medesima; eventuali altre osservazioni o dichiarazioni, anche se fatte dal titolare dell'impresa, dal rappresentante o dal detentore.

Le aliquote di un campione dovranno essere identiche per quantità e tipologia di prodotto; si raccomanda di verificare il lotto e, in caso di prodotti per il make-up o per la tintura dei capelli, la tonalità. È consentito il prelevamento in aliquota unica ma l'utilizzo di tale procedura dovrà avere carattere di eccezionalità: sul verbale di prelevamento deve essere giustificata esaurientemente la causa. In caso di prelievo in aliquota unica è obbligatorio accertare il soggetto responsabile del campione (solitamente il produttore o l'importatore), riportando i dati disponibili all'atto del sopralluogo sul verbale di prelevamento e comunicando al laboratorio ogni ulteriore informazione utile per procedere alla convocazione dell'interessato durante l'analisi.

Una confezione contenente più prodotti diversi tra loro rappresenta un "set" (trousse, set da trucco, kit per tintura, ecc.) e il quantitativo per aliquota è da intendersi per ogni singolo prodotto. In alternativa l'ente che ha effettuato il prelievo può stabilire di dividere le confezioni e prelevare un unico tipo di cosmetico per ogni set oppure prelevare le confezioni intere e specificare sul verbale su quale è richiesta l'analisi. Il laboratorio potrà decidere se eseguire l'analisi separatamente sui singoli prodotti, su una miscela degli stessi o unicamente sul prodotto più critico.

I prodotti cosmetici destinati al laboratorio per le analisi devono essere consegnati nel più breve tempo possibile e comunque entro 48 ore dal prelievo. Devono essere conservati alle condizioni indicate dal fabbricante in etichetta, mentre in mancanza di indicazioni specifiche, devono essere conservati ad una temperatura compresa tra 10° e 25°C e al riparo dalla luce. I prelievi per l'analisi dei metalli devono essere aperti soltanto all'inizio dell'analisi.

Il personale del laboratorio predisposto all'accettazione, al momento della consegna del campione, verifica: numero corretto aliquote; campione sigillato correttamente e inviolabilità dei sigilli; presenza del cartellino relativo a ciascuna aliquota e correttezza dei dati riportati; presenza del verbale di accompagnamento e corretta dei dati riportati; idoneità dei campioni. Un campione risulta idoneo quando: non ha subito, all'origine o durante il periodo tra il prelevamento e la consegna, fenomeni di alterazione che lo rendono incompatibile per le analisi richieste; risponde

ai requisiti specifici per le indagini cui dovrà essere sottoposto; è opportunamente prelevato e confezionato ed è esattamente identificato; è conservato e trasportato alle temperature e condizioni specifiche.

Alcune criticità connesse al campionamento possono essere individuate in: mancanza di correttezza nel campionamento: sigilli, cartellino, verbale, ecc.; reperibilità campioni di cosmetici: presso officina di produzione o di confezionamento o presso il deposito dell'importatore o del distributore ubicati nel territorio soggetto alla vigilanza dell'autorità sanitaria che effettua il prelievo o presso esercizi di commercio al dettaglio; quantità di campione necessaria a costituire le aliquote di legge; difficoltà di analisi nel caso di campioni confezionati sotto pressione, per quanto riguarda il prelievo del contenuto e per l'utilizzo di metodiche di analisi ufficiali antiquate.

METODI DI DETERMINAZIONE DEI METALLI

Nel Regolamento (CE) 1223/2009 (Europa, 2009) e nel DM del 27 settembre 2018 (Ministero della Salute, 2018) recante “Procedure di controllo del mercato interno dei prodotti cosmetici, ivi inclusi i controlli dei prodotti stessi, degli operatori di settore e delle buone pratiche di fabbricazione, nonché degli adempimenti e delle comunicazioni che gli operatori del settore sono tenuti ad espletare nell’ambito dell’attività di vigilanza e sorveglianza di cui agli articoli 7, 21, 22 e 23 del Regolamento (CE) 1223/2009 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 30 novembre 2009, sui prodotti cosmetici” è indicato al comma 4 dell’articolo 7 che i metodi di campionamento e di analisi utilizzati nel contesto delle attività di controllo in assenza di una legislazione comunitaria applicabile, fanno riferimento alle pertinenti norme armonizzate i cui riferimenti sono stati pubblicati nella *Gazzetta Ufficiale dell’Unione europea*, o a norme o protocolli riconosciuti internazionalmente, ovvero, a quelli sviluppati conformemente a protocolli scientifici, oppure alla bibliografia internazionale e, comunque, nel rispetto di quanto stabilito nell’art. 12 del Regolamento (CE) 1223/2009.

Ad oggi non sono stati definiti i criteri di purezza chimica di un prodotto cosmetico e tantomeno i relativi metodi chimici di analisi e di controllo dei cosmetici.

A tal fine il reparto Esposizione Umana a Contaminanti Ambientali (EUCA) del Dipartimento Ambiente e Salute dell’ISS ha svolto attività di messa a punto e validazione di un metodo analitico per la determinazione di metalli in campioni di cosmetici.

Il metodo è risultato valido per la determinazione di arsenico (As), cadmio (Cd), cobalto (Co), cromo (Cr), nichel (Ni) e piombo (Pb) in cosmetici sia in polvere (es. cipria, ombretti, matite per occhi) sia a base grassa (es. rossetti, creme).

Il metodo prevede una prima fase di solubilizzazione totale del campione attraverso una digestione in forno a microonde con acidi forti e una seconda fase di determinazione quantitativa dei metalli presenti nella soluzione tramite la tecnica multi-elementare della spettrometria di massa ad alta risoluzione con sorgente a plasma accoppiato induttivamente (*High Resolution-Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry*, HR-ICP-MS).

Il presente metodo utilizza l’HR-ICP-MS per la quantificazione di As, Cd, Co, Cr, Ni e Pb in cosmetici in polvere e a base grassa; tuttavia la determinazione può essere effettuata anche con ICP-MS a bassa risoluzione purché il laboratorio soddisfi i requisiti minimi del programma di controllo della qualità.

Il metodo consente di determinare concentrazioni degli elementi fino al livello del limite di rilevabilità (*Limit of Detection*, LoD) e del limite di quantificazione (*Limit of Quantification*, LoQ). Se la determinazione viene effettuata con altra strumentazione, il laboratorio deve individuare la minima concentrazione rilevabile degli elementi.

Il metodo è stato sottoposto a validazione intra-laboratorio (*in-house*).

In mancanza di metodi ufficiali, il metodo intende rappresentare un riferimento destinato a tutti i laboratori che eseguono attività di analisi di metalli in cosmetici.

Il metodo deve essere utilizzato da operatori con esperienza nell’uso dell’ICP-MS, nell’identificazione delle interferenze spettrali e non spettrali e delle relative procedure per la loro separazione, compensazione e/o correzione.

Il metodo può essere esteso ad altri metalli e matrici simili previa dimostrazione della validità e conformità alle specifiche per il nuovo misurando/materiale. Il livello di validazione o ri-validazione necessario dipende dalla natura delle modifiche ed estensioni.

Preparazione del campione

I campioni di cosmetici di $0,10 \pm 0,05$ g sono pesati in contenitori di Teflon a cui si aggiungono 4 mL di HNO_3 suprapuro, 0,5 mL di HF suprapuro, 2 mL di H_2O_2 suprapuro. I campioni sono digeriti in forno a microonde utilizzando il seguente programma a potenza crescente: 10 min a 250W; 10 min a 400W; 10 min a 600W. Le soluzioni digerite sono poi trasferite in provette di polipropilene e portate a un volume di 10 mL con acqua deionizzata. È consigliabile preparare almeno 3 aliquote indipendenti per ciascun campione di cosmetico.

I bianchi reagenti (miscela degli acidi) seguono la stessa procedura di digestione acida a cui sono sottoposti i campioni di cosmetici. È consigliabile preparare almeno 2 aliquote indipendenti di bianco. I bianchi reagenti sono indispensabili per la verifica del fondo strumentale e dell'eventuale contaminazione esogena (es. ambiente, apparecchiature, reagenti), perché, fenomeni di contaminazione e/o perdite possono inficiare significativamente il risultato analitico della determinazione dei metalli. Fonti potenziali di contaminazione includono l'uso di materiale in plastica non idoneo e che potrebbe introdurre errori in positivo o in negativo nella determinazione analitica per rilascio dalla o adsorbimento del metallo sulla superficie. Di conseguenza, è preferibile effettuare procedure di lavaggio dei contenitori o delle provette che prevedono il contatto per una notte con una soluzione al 10% (v/v) di HNO_3 concentrato ad elevata purezza e successivo risciacquo con acqua deionizzata ultrapura. Inoltre, per la digestione del campione devono essere usati reagenti ad elevata purezza al fine di evitare il più possibile la contaminazione del campione, reperibili in commercio o preparabili in laboratorio a partire da un reagente di grado analitico tramite doppia distillazione.

Quantificazione tramite HR-ICP-MS

I metalli vengono quantificati attraverso l'ICP-MS. L'ICP-MS è una tecnica analitica che permette la determinazione dei metalli tramite spettrometria degli ioni generati da un plasma accoppiato induttivamente. Il campione in soluzione, attraverso una pompa peristaltica, viene introdotto nel plasma viene nebulizzato e introdotto nel plasma dove subisce desolvatazione, vaporizzazione, atomizzazione e ionizzazione. Il flusso degli ioni generato nel plasma viene convogliato attraverso un sistema di coni (denominati *sampler* e *skimmer*) e un sistema di lenti ioniche all'interno della zona ad alto vuoto (detta interfaccia) tipica di uno spettrometro di massa. Gli ioni vengono rivelati da un fotomoltiplicatore che produce segnali elettrici proporzionali al flusso ionico, dopo focalizzazione e separazione attraverso un campo elettrico e un campo magnetico (geometria a doppia focalizzazione) in base al loro rapporto massa su carica (m/z).

Lo strumento HR-ICP-MS (Element2) è munito di: pompa peristaltica a velocità variabile per il trasporto del campione al nebulizzatore; nebulizzatore pneumatico (tipo *Meinhard* o equivalente) per la formazione dell'aerosol del campione; camera di nebulizzazione (tipo Scott o equivalente) raffreddata ad acqua per la rimozione delle gocce a maggior volume del campione e la riduzione della formazione di alcune specie interferenti; cono in Ni (*sampler* e *skimmer*) all'interfaccia; *Guard Electrode*, sottile foglio di platino inserito tra la torcia e la spirale d'induzione magnetica per ottenere maggior sensibilità analitica. Il gas Argon usato è di elevato grado di purezza (> 99,99%) per ridurre al minimo la possibilità di contaminazione analitica e formazione di specie interferenti.

Lo strumento viene usato in bassa risoluzione (*Low Resolution*, LR), media risoluzione (*Medium Resolution*, MR) e alta risoluzione (*High Resolution*, HR). Lo strumento viene usato in LR ($m/\Delta m=300$) per la determinazione dei metalli ^{114}Cd e ^{208}Pb non affetti da interferenze

rilevanti; lo strumento è usato in MR ($m/\Delta m = 4000$) per ^{59}Co , ^{52}Cr e ^{60}Ni e in HR ($m/\Delta m = 10,000$) per la determinazione dell' ^{75}As in quanto tali metalli risultano interferiti da numerose specie poliatomiche. In particolare, le risoluzioni MR e HR sono indispensabili al fine di rimuovere le seguenti interferenze poliatomiche sui segnali analitici del ^{59}Co : $^{40}\text{Ar}^{19}\text{F}$, $^{43}\text{Ca}^{16}\text{O}$, $^{41}\text{K}^{18}\text{O}$, $^{42}\text{Ca}^{16}\text{O}^{1}\text{H}$; del ^{52}Cr : $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}$, $^{36}\text{Ar}^{16}\text{O}$, $^{38}\text{Ar}^{14}\text{N}$, $^{35}\text{Cl}^{17}\text{O}$, $^{37}\text{Cl}^{15}\text{N}$, $^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}^{1}\text{H}$; del ^{60}Ni : $^{44}\text{Ca}^{16}\text{O}$, $^{23}\text{Na}^{37}\text{Cl}$, $^{36}\text{Ar}^{24}\text{Mg}$, $^{120}\text{Sn}^{2+}$; e dell' ^{75}As : $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}$, $^{36}\text{Ar}^{39}\text{K}$, $^{59}\text{Co}^{16}\text{O}$.

La quantificazione dei metalli viene effettuata tramite il metodo delle aggiunte standard in matrice costruendo una retta di taratura con almeno cinque livelli di concentrazione per ciascun metallo da quantificare (incluso lo zero). Gli intervalli della retta di taratura devono essere scelti in funzione del livello di concentrazione del metallo atteso nel campione di cosmetico, della sensibilità strumentale e compresi all'interno dell'intervallo di linearità del metodo. I livelli di concentrazione per la retta di taratura devono essere preparati giornalmente tramite diluizioni successive con acqua deionizzata ultrapura a partire dalle soluzioni di riferimento monoelementari del metallo. Tutte le soluzioni monoelementari del metallo devono essere ad elevata purezza e con concentrazione del metallo e incertezza certificate, reperibili in commercio già in soluzione. Nel metodo, sono usate soluzioni di riferimento monoelementari concentrate a 100 mg/L o a 1000 mg/L. Le soluzioni devono essere conservate alla temperatura di +4 °C.

La standardizzazione interna con rodio (^{103}Rh) è usata per correggere eventuali derive strumentali ed effetti matrice. Anche la soluzione dello standard interno deve essere preparata giornalmente tramite diluizioni successive con acqua deionizzata ultrapura a partire dalla soluzione di riferimento monoelementare di Rh a concentrazione certificata a 100 mg/L o a 1000 mg/L. Lo standard interno viene aggiunto alla stessa concentrazione (generalmente 1 µg/L o 10 µg/L) alla retta di taratura, ai bianchi reagenti e ai campioni di cosmetici, in modo tale che il segnale del metallo sia costantemente corretto da eventuali derive, dividendolo per il segnale dello standard interno.

Prima della quantificazione dei metalli, lo strumento HR-ICP-MS viene ottimizzato giornalmente; in particolare i flussi di argon, la posizione della torcia, le lenti e la potenza a radiofrequenza vengono giornalmente ottimizzati al fine di ottenere elevata sensibilità ($^{115}\text{In} > 8 \times 10^5$ conteggi per secondo per 1 µg/L), stabilità (espressa come deviazione standard relativa percentuale, DSR%) del segnale (^7Li , ^{115}In e ^{238}U in LR <5%), e bassa formazione di ossidi ($^{137}\text{Ba}^{16}\text{O}/^{137}\text{Ba}$ in LR <0,04) e di ioni a doppia carica ($^{137}\text{Ba}^{2+}/^{137}\text{Ba}$ in LR <0,07). Questa ottimizzazione giornaliera viene effettuata tramite lettura della soluzione di *Tuning*; tale soluzione contiene un numero di metalli congruo a coprire l'intero spettro delle masse. A tal fine, viene preparata una soluzione di *Tuning* contenente boro (B), bario (Ba), Co, gallio (Ga), indio (In), litio (Li), lutezio (Lu), sodio (Na), rodio (Rh), scandio (Sc), tallio (Tl), ittrio (Y) e uranio (U) alla concentrazione di 1 µg/L (o di 10 µg/L in funzione della sensibilità strumentale) in una soluzione acquosa all'1% (v/v) di HNO_3 .

Anche i parametri ambientali (temperatura e umidità) della stanza dello spettrometro HR-ICP-MS devono essere controllati prima dell'esecuzione del metodo.

In Tabella 3 si riportano i parametri minimi necessari per l'esecuzione del presente metodo, da ottenere durante l'ottimizzazione dello strumento.

La quantificazione HR-ICP-MS viene effettuata leggendo 2 volte ogni aliquota di campione di cosmetico e bianco reagenti, applicando le condizioni strumentali riportate in Tabella 4.

In ogni serie analitica vengono analizzati i seguenti campioni: livelli della retta di taratura, bianco reagenti, campioni di controllo qualità e campione di cosmetico incognito.

Tabella 3. Parametri minimi per l'esecuzione del metodo

Parametro	Valori
Temperatura	18-24°C
Umidità relativa	≤ 60%
Intensità ¹¹⁵ In in LR	≥ 8x10 ⁵ cps/1 µg/L
Intensità ¹¹⁵ In in MR	≥ 7x10 ⁴ cps/1 µg/L
Intensità ¹¹⁵ In in HR	≥ 1,0x10 ⁴ cps/1 µg/L
DSR% ⁷ Li, ¹¹⁵ In e ²³⁸ U in LR	< 5%
Intensità ¹³⁷ Ba ¹⁶ O/ ¹³⁷ Ba	≤ 0,04
Intensità ¹³⁷ Ba ⁺⁺ / ¹³⁷ Ba	≤ 0,07

Tabella 4. Condizioni operative per l'analisi HR-ICP-MS dei metalli in cosmetici

Parametro	Valori
Potenza di radiofrequenza	ca. 1250 kW
Flusso gas plasma	ca. 15 L/min
Flusso gas nebulizzatore	0,8-1,1 L/min
Flusso gas ausiliario	0,8-1,1 L/min
Portata del campione	0,8-1,1 mL/min
Elementi in LR	¹¹⁴ Cd, ²⁰⁸ Pb
Elementi in MR	⁵⁹ Co, ⁵² Cr, ⁶⁰ Ni
Elementi in HR	⁷⁵ As
Standard interno	¹⁰³ Rh in LR e MR

Il controllo di qualità può consistere in:

- analisi di un campione fortificato a concentrazione nota (es. un livello centrale della retta di taratura) e calcolare il recupero;
- ripetere la determinazione del campione fortificato ogni dieci campioni incogniti e calcolare lo scostamento percentuale fra le letture effettuate.

Qualora questi criteri non venissero soddisfatti, si deve ripetere l'ottimizzazione dello spettrometro e la serie analitica. I dati ottenuti sui campioni del controllo qualità possono essere riportati sulle relative carte di controllo costruite secondo quanto descritto nella norma ISO 7870-2:2014 (ISO 7870-2, 2014). Nel caso in cui un risultato fuoriesca dai limiti di controllo superiore (media+3DS) e inferiore (media-3DS) delle carte, è necessario avviare un'azione correttiva; si suggeriscono almeno i seguenti possibili interventi: verifica calcoli e trasferimenti; verifica stato di taratura delle apparecchiature; verifica abilità del personale; verifica qualità del materiale utilizzato (scadenza, stato di conservazione, loro possibile contaminazione).

Validazione del metodo

Il metodo è stato validato *in-house*, seguendo protocolli internazionalmente riconosciuti, per le seguenti caratteristiche prestazionali:

- specificità;
- linearità;
- limite di rivelabilità (LoD) e limite di quantificazione (LoQ);
- ripetibilità;
- recupero;
- incertezza di misura.

Tale studio è stato eseguito sulla base dell'esperienza acquisita dal laboratorio (Bocca *et al.*, 2010; Bocca *et al.*, 2011a; Bocca *et al.*, 2011b; Ruggieri *et al.*, 2016) e seguendo alcune guide, internazionalmente riconosciute, di Enti e Associazioni quali:

- AOAC (*Association of Official Analytical Chemists*) (AOAC, 1998),
- Eurachem/CITAC (*Cooperation on International Traceability in Analytical Chemistry*) (Barwick, 2016; Ellison & Williams, 2012; Magnusson & Örnemark, 2014),
- EA (*European co-operation for Accreditation*) (EA-4/16 G:2003),
- EUROLAB (*European Federation of National Associations of Measurement, Testing and Analytical Laboratories*) (EUROLAB Technical Report 1/2007),
- LGC (*Laboratory of the Government Chemist*) (LGC, 2003),

e alcune norme ISO (*International Organization for Standardization*) (ISO/IEC 17025, 2018; ISO/IEC 98, 2008)

Specificità

La specificità è la valutazione della capacità del metodo di misurare l'analita di interesse in presenza dei potenziali interferenti.

Le interferenze spettrali rappresentano il vero limite dell'ICP-MS. È necessario, quindi, riconoscere le interferenze relative al metodo di analisi. L'utilizzo di uno spettrometro di massa ad alta risoluzione (HR-ICP-MS) permette di risolvere molte delle prevedibili interferenze spettrali separando in maniera univoca il segnale dell'elemento da determinare da quello dell'interferente. La separazione delle interferenze spettrali è dovuta sia alla geometria a doppia focalizzazione dello strumento sia alla possibilità di variare la risoluzione (R) strumentale (definita come $R=m/\Delta m$ dove Δm è la differenza tra le due masse da separare) attraverso fenditure ad apertura variabile collocate all'entrata e all'uscita del magnete analizzatore. L'apertura delle fenditure è inversamente proporzionale alla R strumentale.

Tale configurazione consente di poter lavorare in *Low Resolution* ($LR=300\text{ m}/\Delta m$), in *Medium Resolution* ($MR=4000\text{ m}/\Delta m$) e in *High Resolution* ($HR=10,000\text{ m}/\Delta m$).

Questo approccio permette di distinguere una specie interferente che differisca, nel peso molecolare, per la terza-quarta cifra decimale dall'elemento da determinare.

Lo studio della specificità ha previsto una o più delle seguenti procedure:

- confronto dei risultati leggendo lo stesso isotopo a diverse risoluzioni strumentali;
- confronto dei rapporti isotopici per i metalli multi-isotopici;
- calcolo di adeguate equazioni di correzione, tramite aggiunta deliberata dell'interferente al campione di analisi, per sottrarre il contributo del segnale non risolto dell'interferente da quello del metallo da determinare;
- scelta dell'isotopo del metallo libero da interferenze rilevanti;
- scelta della risoluzione strumentale alla quale l'isotopo risulta inequivocabilmente o il più possibile libero da interferenze rilevanti;
- conferma che, alle condizioni scelte, le interferenze risultano risolte, trascurabili o adeguatamente corrette (es. attraverso l'analisi di campioni di controllo addizionati con concentrazioni note del metallo).

Nelle condizioni riportate in Tabella 5 le interferenze (elencate nell'ultima colonna della tabella) sono state efficacemente risolte e le misure sono risultate specifiche.

Tabella 5. Scelta della massa analitica e della risoluzione strumentale

Isotopo	Risoluzione	Interferenze risolte
¹¹⁴ Cd	LR	Non interferito
⁵⁹ Co	MR	⁴⁰ Ar ¹⁹ F, ⁴³ Ca ¹⁶ O, ⁴¹ K ¹⁸ O, ⁴² Ca ¹⁶ O ¹ H
⁵² Cr	MR	⁴⁰ Ar ¹² C, ³⁶ Ar ¹⁶ O, ³⁸ Ar ¹⁴ N, ³⁵ Cl ¹⁷ O, ³⁷ Cl ¹⁵ N, ³⁵ Cl ¹⁶ O ¹ H
⁶⁰ Ni	MR	⁴⁴ Ca ¹⁶ O, ²³ Na ³⁷ Cl, ³⁶ Ar ²⁴ Mg, ¹²⁰ Sn ²⁺
²⁰⁸ Pb	LR	Non interferito
⁷⁵ As	HR	⁴⁰ Ar ³⁵ Cl, ³⁶ Ar ³⁹ K, ⁵⁹ Co ¹⁶ O

Linearità

La linearità è l'intervallo all'interno del quale lo strumento HR-ICP-MS fornisce una risposta lineare alla concentrazione del metallo. Il limite basso dell'intervallo è determinato dal LoD o LoQ del metodo, mentre il limite alto è definito dalla concentrazione alla quale si verificano anomalie significative nella risposta analitica (es. effetti di plateau). La linearità è espressa dal coefficiente di correlazione lineare (R^2) (LGC/VAM, 2003; Raposo, 2016).

Viene determinata attraverso l'analisi di almeno cinque livelli di taratura, adeguatamente distribuiti tra un limite inferiore (per es., il valore del LoD o del LoQ del metodo) e un limite superiore significativamente più alto della concentrazione attesa nel campione. Per ogni livello di taratura viene eseguita l'analisi in duplicato. La risposta strumentale viene graficata in funzione della concentrazione misurata e la relazione fra le due viene espressa attraverso il coefficiente di correlazione lineare (R^2).

Nel presente metodo multi-elementare, è possibile considerare come requisito minimo di accettabilità un valore di R^2 che sia almeno $\geq 0,990$ per ciascun elemento.

Nel caso in cui tale condizione non sia soddisfatta, è necessario preparare e analizzare nuovamente i livelli della retta di taratura, dopo aver effettuato azioni correttive, quali, ad esempio, nuova ottimizzazione dello strumento, correzione degli effetti dovuti alla matrice (interferenze, non omogeneità del campione) e preparazione di nuove soluzioni per la retta di taratura.

Limite di rivelabilità e di quantificazione (LoD e LoQ)

Il LoD è la più bassa concentrazione del metallo che può essere misurata con un ragionevole livello di confidenza applicando il metodo (ISO 11843-1, 1997; Magnusson & Örnemark, 2014). Rappresenta la concentrazione equivalente al segnale del metallo pari a 3 volte la deviazione standard (DS) di misurazioni ripetute (≥ 10) del campione alle masse analitiche selezionate. Il LoQ è la più bassa concentrazione del metallo che può essere misurata quantitativamente con un accettabile livello di precisione e accuratezza applicando il metodo. Rappresenta la concentrazione equivalente al segnale del metallo pari a 10 volte la DS di misurazioni ripetute (≥ 10) del campione alle masse analitiche selezionate.

I LoD e LoQ sono calcolati in matrice cosmetico. Per calcolare i LoD e LoQ, sono state analizzate 20 aliquote di cosmetico e 10 aliquote di cosmetico aggiunto con il più basso livello di concentrazione della retta di taratura. I valori dei LoD e LoQ sono espressi come 3 volte e 10 volte la deviazione standard (DSR) in matrice.

In generale, il LoD e il LoQ del metodo devono essere tali da poter determinare il metallo al livello richiesto. È comunque possibile quantificare gli elementi a concentrazioni tra il LoD e il LoQ anche se il dato sarà caratterizzato da minore accuratezza.

Ripetibilità

La ripetibilità è il grado di concordanza tra i risultati ottenuti dalle analisi ripetute (tipicamente tra 6 e 15) del campione di cosmetico e il loro valore medio, analizzate nelle seguenti condizioni: stesso laboratorio, stesso operatore, stessa strumentazione e a breve intervalli di tempo. Si esprime come coefficiente di variazione medio percentuale di ripetibilità ($\overline{CV}_r\%$) della serie di risultati, secondo la formula:

$$\overline{CV}_r\% = \left(\frac{s_r}{\bar{x}}\right) \times 100$$

dove: \bar{x} = media dei risultati;

s_r = scarto tipo di ripetibilità dei risultati.

Una buona ripetibilità è rispecchiata da un $\overline{CV}_r\%$ piccolo. Dato che la ripetibilità può cambiare in funzione della concentrazione del metallo nel campione e dall'effetto matrice (es. omogeneità), è preferibile calcolare la ripetibilità sul cosmetico tal quale e sul cosmetico fortificato a tre livelli differenti di concentrazione del metallo (*spike*) (ISO 3534-1, 2006; ISO 5725, 1994). A tal fine vengono preparati i seguenti campioni: un campione di cosmetico (o pool di campioni) non fortificato (L0: livello di base) e lo stesso campione (o pool di campioni) fortificato a 3 livelli di fortificazione (L1: livello basso; L2: livello medio; L3: livello alto).

In questo metodo multi-elementare, è stato considerato come requisito minimo di accettabilità un $CV\%$ che sia $\leq 25\%$ per tutti i metalli, e in ogni caso il $CV\%$ dovrebbe risultare minore al livello di fortificazione più alto.

Un altro parametro per valutare la ripetibilità del metodo, è il limite di ripetibilità (L_r). Tale valore è un valore al di sotto o in corrispondenza del quale cade, con uno specifico livello di confidenza, la differenza fra due singoli risultati ottenuti in condizioni di ripetibilità. Si calcola a partire dallo scarto tipo di ripetibilità secondo la formula:

$$L_r = \sqrt{2} \times t \times s_r$$

dove: t = variabile di Student per $(n-1)$ gradi di libertà al livello di confidenza del 95%;

s_r = scarto tipo di ripetibilità dei risultati.

Tale parametro rappresenta la differenza massima ammissibile tra due aliquote indipendenti del campione ed è utilizzato per verificare se il metodo opera in condizioni di ripetibilità (la differenza fra le due aliquote indipendenti, in termini di concentrazione, deve essere $\leq L_r$).

Recupero

Data la mancanza di materiali di riferimento certificati (CRM) per i metalli in cosmetici, il recupero del metodo viene valutato preparando un campione fortificato mediante aggiunte note (*spike*) dei metalli di interesse (ISO 5725, 1994; Thompson *et al.*, 2002; Thompson *et al.*, 1999). Tale campione subisce l'intera procedura di trattamento e viene usato per verificare il recupero medio percentuale ($\overline{Rec}\%$) del metodo, secondo la formula:

$$\overline{Rec}\% = \left(\frac{\bar{C}_{oss} - \bar{C}_{nativo}}{C_{spike}}\right) \times 100$$

dove: \bar{C}_{oss} = concentrazione media del metallo misurata nel campione di cosmetico fortificato;

\bar{C}_{nativo} = concentrazione media del metallo misurata nello stesso campione di cosmetico non fortificato;

C_{spike} = concentrazione aggiunta (*spike*) del metallo.

Per il calcolo del recupero, vengono preparati i seguenti campioni: un campione di cosmetico (o pool di campioni) non fortificato (L0: livello di base) e lo stesso campione (o pool di campioni) fortificato a 3 livelli di fortificazione (L1: livello basso; L2: livello medio; L3: alto).

L'aggiunta (*spike*) dei metalli deve essere effettuata direttamente sul campione di cosmetico (o pool di campioni di cosmetico) e solo successivamente il campione fortificato viene trattato seguendo il metodo di digestione in forno a microonde.

In questo metodo è stato considerato accettabile un recupero compreso tra l'80% e il 120% per tutti i metalli nel cosmetico. Qualora il recupero non rientri all'interno di questo intervallo, l'intero *batch* di campioni deve essere ri-digerito e ri-analizzato.

Incertezza di misura

L'incertezza di misura è un parametro associato al risultato di una misurazione, che caratterizza la dispersione dei valori ragionevolmente attribuibili al misurando. L'incertezza di misura, se espressa con le dimensioni di uno scarto tipo, è chiamata incertezza tipo (u). I risultati di una misurazione devono essere sempre accompagnati dalla valutazione della loro incertezza che viene espressa con la stessa unità di misura del risultato. L'incertezza viene di solito riportata come incertezza estesa (U) in modo che la più grande parte dei valori vi siano compresi. La stima dell'incertezza di misura deve essere valutata ed espressa seguendo le indicazioni fornite da norme e linee guida riconosciute nel settore (EA-4/16 G:2003; EUROLAB, 2007; LGC, 2003; Barwick, 2016; Barwick & Ellison, 2000; Ellison & Williams, 2012; ISO 21748, 2017).

Nel presente metodo, l'approccio di stima dell'incertezza di misura ha previsto le seguenti fasi: identificazione delle fonti dell'incertezza; quantificazione delle componenti dell'incertezza; combinazione delle componenti per ottenere l'incertezza tipo composta (u_c) del metodo; calcolo dell'incertezza estesa (U) del metodo.

Le componenti dell'incertezza identificate e quantificate sono riportate di seguito:

– Incertezza associata al recupero del metodo

Calcolata a partire dallo studio del recupero, tale componente rappresenta l'incertezza associata all'errore di tipo sistematico del metodo e comprende fonti d'incertezza quali purezza dei reagenti e delle soluzioni di riferimento ed effetti dovuti al campione (es. omogeneità, stabilità). L'incertezza tipo associata alla stima del recupero del metodo è espressa tramite la formula:

$$u_{\overline{Rec}} = \overline{Rec} \times \sqrt{\left(\frac{u_{spike}}{C_{spike}}\right)^2 + \left(\frac{s_{oss}}{\overline{C}_{oss} \sqrt{n}}\right)^2}$$

dove: \overline{Rec} = recupero medio;

u_{spike} = incertezza associata alle soluzioni di riferimento monoelementari utilizzate per fortificare il campione di cosmetico;

s_{oss} = scarto tipo dei risultati ottenuti da aliquote indipendenti del campione di cosmetico fortificato;

\overline{C}_{oss} = concentrazione media del metallo misurato nel campione di cosmetico fortificato;

– Incertezza associata alla ripetibilità del metodo

Calcolata a partire dallo studio della ripetibilità, tale componente rappresenta l'incertezza associata all'errore di tipo casuale e comprende fonti di incertezza quali operatore,

apparecchiature (es. taratura delle pipette), condizioni di misurazione (es. temperatura del laboratorio) e altri possibili effetti casuali. L'incertezza tipo associata alla stima della ripetibilità del metodo è espressa tramite la formula:

$$u_r = \frac{s_r}{\sqrt{n}}$$

dove: s_r = scarto tipo di ripetibilità dei risultati;
 n = numero di misurazioni effettuate sul campione di cosmetico fortificato.

– *Incetezza associata alla regressione lineare*

Viene calcolata a partire dalla retta di taratura attraverso la seguente formula (LGC/VAM, 2003):

$$u_{reg} = \frac{s_{res}}{b} \sqrt{\frac{1}{N} + \frac{1}{n} + \frac{(y - \bar{y})^2}{b^2 \sum (x_i - \bar{x})^2}}$$

dove: b = coefficiente angolare della retta di taratura;
 N = numero letture del campione sulla curva di taratura;
 n = numero dei punti di taratura;
 y = lettura effettuata (la risposta strumentale);
 \bar{y} = media delle letture dei punti di taratura (risposta media delle soluzioni di taratura);
 x_i = concentrazione della soluzione di taratura i -esima;
 \bar{x} = media delle concentrazioni delle soluzioni di taratura;
 s_{res} = scarto tipo dei residui, calcolato come segue:

$$s_{res} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (r_i - \bar{r})^2}{n - 2}}$$

dove: r_i = residuo i -esimo (differenza tra la lettura osservata e la corrispondente lettura calcolata sulla retta di taratura);
 \bar{r} = media dei residui.

– *Incetezza associata ad altre fonti*

Comprende le altre potenziali fonti di incertezza non incluse nello studio del recupero e della ripetibilità. Tra queste è stata valutata l'incertezza relativa al peso del campione ed è stata calcolata usando l'incertezza della bilancia dichiarata nel certificato del produttore e applicando una distribuzione rettangolare. Il contributo è risultato trascurabile rispetto alle altre fonti di incertezza. Gli effetti di altre potenziali fonti d'incertezza sono state valutate separatamente e, per ognuna, sono state fatte le seguenti considerazioni. Per quanto riguarda l'effetto della standardizzazione interna: è considerato trascurabile poiché viene aggiunta la stessa quantità di soluzione dello standard interno ai livelli per la retta di taratura e al campione di cosmetico; per quanto concerne l'effetto del comportamento dello spike aggiunto al campione di cosmetico: è considerato trascurabile presupponendo un comportamento simile fra metallo aggiunto e metallo nativo già presente nel campione.

Una volta individuate le componenti significative dell'incertezza di misura e quantificate, esse sono combinate per ottenere l'incertezza tipo composta (u_c); per il presente metodo l'incertezza combinata è quindi data dalla somma dell'incertezza di ripetibilità, quella del recupero e quella della retta di taratura secondo la formula:

$$u_c = \sqrt{u_{rec}^2 + u_r^2 + u_{reg}^2}$$

L'incertezza tipo composta deve essere calcolata per il livello di concentrazione L0 (livello di base) e i livelli di concentrazione L1 (livello basso), L2 (livello medio) e L3 (livello alto).

Infine, l'incertezza estesa (U), viene determinata moltiplicando l'incertezza tipo composta u_c per un fattore di copertura k , secondo la formula:

$$U = u_c \times k$$

dove, per $k=2$ e per una distribuzione normale, il valore di U fornisce un intervallo contenente approssimativamente il 95% della distribuzione dei valori.

Alla concentrazione finale del metallo nel campione di cosmetico deve essere assegnata la sua U espressa con la stessa unità di misura del dato analitico (mg/kg) secondo la formula:

$$C \pm U$$

dove: C = concentrazione finale del metallo in mg/kg;

U = incertezza estesa associata al metallo in mg/kg.

Il laboratorio è tenuto a dichiarare il fattore k ogni qualvolta viene fornita la concentrazione finale del metallo nel campione di cosmetico.

Inoltre, i valori di U associati ai vari livelli di concentrazione L0, L1, L2 e L3, possono essere utilizzati per definire la relazione lineare esistente tra il livello di concentrazione del metallo e la sua incertezza estesa. L'equazione di correlazione ottenuta graficando queste due grandezze può essere usata per il calcolo dell'incertezza associata a tutti i risultati compresi tra L0 e L3.

Ogni laboratorio che utilizza il metodo per matrici cosmetiche con uno strumento differente, deve verificare l'incertezza come parte del normale processo di ri-validazione.

Espressione dei risultati

Il calcolo della concentrazione (C) dei metalli nel campione di cosmetico viene effettuato mediante la seguente formula matematica:

$$C = \frac{(C_{sample} - C_{blk}) \times D}{P_{sample} \times 1000}$$

dove: C_{sample} = concentrazione media del campione di cosmetico letto in doppio (in μg);

C_{blk} = concentrazione media del bianco letto in doppio (in $\mu\text{g/L}$);

D = fattore di diluizione del campione;

P_{sample} = peso del campione in g.

Esprimere C in mg/kg o $\mu\text{g/g}$ per tutti i metalli e arrotondare il valore con lo stesso numero di cifre decimali dell'incertezza. Associare a C l'incertezza estesa di misura ($k=2$), con due cifre significative. Per ciascun elemento, verrà associata l'incertezza di misura calcolata tramite l'utilizzo dell'equazione della retta relativa al profilo dell'incertezza del metodo nella matrice analizzata.

Se il risultato è inferiore al LoD o LoQ del metodo, riportare il valore come < al LoD o < al LoQ. I risultati ottenuti non vengono corretti per il recupero.

Altre informazioni necessarie possono essere le seguenti: fornire dettagli sul metodo di preparazione e quantificazione usato; sulle modalità di calcolo dell'incertezza estesa e delle sue componenti; sui risultati di alcuni o tutti gli indicatori del controllo di qualità; indicazioni sulla bibliografia e riferimenti normativi utilizzati per l'esecuzione del metodo e il calcolo dei vari parametri.

METODO DI DETERMINAZIONE DEL CROMO ESAVALENTE

Il metodo di determinazione del cromo esavalente, Cr(VI), nei cosmetici deve assicurare il mantenimento e la stabilità di questa specie del metallo, in particolare durante le procedure di estrazione, evitando i processi di ossidazione del Cr(III) nativo in Cr(VI) e di riduzione del Cr(VI) in Cr(III). Infatti, la presenza di alcune sostanze nel campione possono indurre interferenze positive (ossidazione) e negative (riduzione) durante l'analisi del Cr(VI) specialmente nei casi in cui la concentrazione di tali sostanze nel campione è elevata e la concentrazione del Cr(III) nativo è alta. In generale, l'ambiente acido accelera la riduzione del Cr(VI) mentre l'ambiente alcalino ne previene la riduzione.

Il metodo di determinazione del Cr(VI) dovrà quindi soddisfare i seguenti requisiti: la soluzione di estrazione deve solubilizzare tutte le forme del Cr(VI); le condizioni di estrazione non devono indurre la riduzione del Cr(VI) nativo in Cr(III); le condizioni di estrazione non devono causare ossidazione del Cr(III) nativo in Cr(VI). Tra le varie procedure di estrazione, il metodo US EPA 3060A – basato su una procedura di estrazione in ambiente alcalino è riportato in letteratura per estrarre il Cr(VI) da un ampio spettro di matrici solide, come terreni, sedimenti e rifiuti, tramite estrazione in ambiente basico e quantificazione con rivelatore spettrofotometrico (US EPA 3060A, 1996). Il metodo US EPA 3060A soddisfa i requisiti sopra riportati e garantisce il controllo dei fenomeni di riduzione del Cr(VI) o di ossidazione del Cr(III).

Sul metodo US EPA 3060A si basa anche il metodo EN 15192:2016 che prevede la determinazione del Cr(VI) nei rifiuti solidi e nel suolo mediante digestione alcalina e cromatografia ionica con rivelatore spettrofotometrico; in questo metodo, il pH alto della soluzione di estrazione comporta che l'unica specie presente è il Cr(VI) solubile, mentre la specie Cr(III) non è solubile ad elevato pH e precipita durante l'estrazione (EN 15192, 2007).

Seguendo i metodi sopra menzionati, il reparto EUCA del Dipartimento Ambiente e Salute dell'ISS ha svolto attività di messa a punto e validazione di un metodo analitico per la determinazione del Cr(VI) in campioni di cosmetici.

Il presente metodo di estrazione del Cr(VI) da campioni di cosmetici si basa sul metodo US EPA 3060A e UNI EN 15192, dopo aver apportato alcune modifiche, ed è applicato a campioni di cosmetici sia allo stato solido o in polvere (es. cipria, ombretto, matite per occhi) sia a base grassa (es. rossetto).

Il campione viene estratto usando una soluzione alcalina di estrazione 0,28 M Na₂CO₃ + 0,5 M NaOH aggiustata a pH 13,5, e riscaldamento a 90°C per 60 min sotto agitazione, per solubilizzare tutte le specie del Cr(VI) e stabilizzare la forma esavalente. Il pH viene continuamente controllato durante la procedura di estrazione.

Per quanto riguarda la quantificazione del Cr(VI), il presente metodo utilizza la tecnica della cromatografia ionica (CI) accoppiata on-line con la spettrometria di massa quadrupolare con sorgente a plasma accoppiato induttivamente l'ICP-MS (Q-ICP-MS). L'ICP-MS è dotato di cella di collisione/reazione (Qcell) contenente Elio come gas di collisione al fine di separare il segnale dell'isotopo più abbondante del Cr (m/z=52) dalle numerose interferenze spettrali e non spettrali (es. ⁴⁰Ar¹²C, ³⁶Ar¹⁶O, ³⁸Ar¹⁴N, ³⁵Cl¹⁷O, ³⁷Cl¹⁵N, ³⁵Cl¹⁶O¹H). Tuttavia, la quantificazione del Cr(VI) può essere effettuata anche con ICP-MS a diversa configurazione purché il laboratorio soddisfi i requisiti minimi del programma di controllo della qualità.

Il metodo consente di determinare concentrazioni di Cr(VI) fino al livello del LoD e del LoQ. Se la determinazione viene effettuata con altra strumentazione, il laboratorio deve individuare la minima concentrazione rilevabile del Cr(VI).

Il metodo è stato sottoposto a validazione intra-laboratorio (*in-house*).

In mancanza di metodi ufficiali, il metodo intende rappresentare un riferimento destinato a tutti i laboratori che eseguono attività di analisi di Cr(VI) in cosmetici.

Il metodo deve essere utilizzato da operatori con esperienza nell'uso dell'ICP-MS, nell'identificazione delle interferenze spettrali e non spettrali e delle relative procedure per la loro separazione, compensazione e/o correzione.

Il metodo può essere esteso a matrici similari previa dimostrazione della validità e conformità alle specifiche per il nuovo materiale. Il livello di validazione o ri-validazione necessario dipende dalla natura delle modifiche ed estensioni.

Preparazione del campione

Sono pesati circa $0,50 \pm 0,02$ g di campione cosmetico e trasferiti in un contenitore di vetro da 250 mL, aggiunti di 25 mL di una soluzione basica di estrazione $0,28 \text{ M Na}_2\text{CO}_3 + 0,5 \text{ M NaOH}$ (a pH 13,5) e pesati. I campioni sono successivamente riscaldati sotto agitazione a $90-95^\circ\text{C}$ per 60 min, lasciati raffreddare e pesati nuovamente. In caso di perdita di peso, viene aggiunta ulteriore soluzione di estrazione fino al peso iniziale. Gli estratti sono poi centrifugati per 20 min a 4000 rpm. Il surnatante viene filtrato su filtro a 0,45 mm, e 25 μL di campione sono iniettati in IC-ICP-MS (*Ion Chromatography-Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry*).

È consigliabile preparare almeno 3 aliquote indipendenti per ciascun campione di cosmetico. I bianchi reagenti seguono la stessa procedura di estrazione basica utilizzata per i campioni di cosmetici. È consigliabile preparare almeno 2 aliquote indipendenti di bianco reagente. La stessa procedura è stata applicata per i campioni del controllo di qualità.

Procedura di estrazione e quantificazione tramite IC-ICP-MS

Il metodo di cromatografia ionica prevede l'uso di colonne a scambio anionico (sistema DIONEX ICS 5000): colonne Dionex Ion Pac AS7 (2 x 250 mm) e AG7 (2 x 50 mm) per separare le due specie di Cr. La fase mobile utilizzata è una soluzione tampone di $\text{NH}_4(\text{SO}_4)_2$ (0,25 M) + NH_4OH (0,1 M). Il sistema IC è completamente privo di parti in metallo ed è quindi adatto per studi di speciazione elementare a livello di traccia, come richiesto da questa applicazione.

Come rivelatore è utilizzato un ICAP-Q ICP-MS equipaggiato con un nebulizzatore concentrico in PFA e una camera di nebulizzazione ciclonica al quarzo. L'elio con purezza del 99,999% è utilizzato come gas di collisione nella cella di collisione denominata QCell (Thermo Fisher Scientific).

Le condizioni della QCell e del KED (*Kinetic Energy Discrimination*) sono state ottimizzate per la separazione dalle interferenze possibili sulla massa ^{52}Cr aspirando una soluzione di bianco costituita dalla fase mobile e la stessa soluzione aggiunta di una quantità nota di Cr (1 $\mu\text{g/L}$). Usando un flusso di 1,0 mL/min della pompa peristaltica, il sistema è stato ottimizzato fino ad ottenere la più bassa concentrazione del fondo mantenendo al contempo una adeguata sensibilità sulla massa del ^{52}Cr .

La quantificazione IC-ICP-MS viene effettuata leggendo 2 volte ogni aliquota di campione di cosmetico e bianco reagenti.

Il metodo IC-ICP-MS usato per l'analisi del Cr(VI) nei cosmetici è dettagliato nella Tabella 6.

Tabella 6. Condizioni operative per l'analisi IC-ICP-MS del Cr(VI) in cosmetici

Parametro	Condizioni operative
IC	
Colonna e Precolonna	Dionex AG7 (2x50 mm) e AS7 (2x250 mm)
Eluente	(NH ₄) ₂ SO ₄ (0.25 M) + NH ₄ OH (0,1 M)
Volume di iniezione	25 µL
Flusso dell'eluente	0,4 mL/min
ICAP-Q ICP-MS	
Flussi dei gas	Plasma, 15 L/min; aerosol 1,05 L/min; ausiliario 1,2 L/min
Radiofrequenza	1500 W
Cella di collisione	He, 4,5 mL/min
Massa analitica	⁵² Cr
Dwell time	50 ms

Per l'eluizione delle specie del Cr è stata scelta la tecnica della cromatografia a scambio anionico usando un tampone basico; in tali condizioni il Cr(III) è presente principalmente come [Cr(H₂O)₆]³⁺ mentre il Cr(VI) come [Cr₂O₇]²⁻, la prima specie precipita mentre la seconda specie rimane solubile; successivamente, le colonne AG-7 e AS-7 permettono di separare sia i cationi sia gli anioni e quindi entrambi le specie eluiscono a tempi di ritenzione diversi.

La separazione in soluzione estraente mostra la presenza del solo Cr(VI), confermando l'assenza di Cr(III) in una soluzione fortemente alcalina, come precedentemente riportato (Thermo Scientific Technical Note 26, 2000; Thermo Scientific Application Note 80, 2014; Petrucci & Senofonte, 2015; Bocca *et al.*, 2018).

In ogni serie analitica vengono analizzati i seguenti campioni: livelli della retta di taratura, bianco reagenti, campioni di controllo qualità e campione di cosmetico incognito.

Il controllo di qualità può consistere in:

- analisi di un campione fortificato a concentrazione nota (es. un livello centrale della retta di taratura) e calcolo del recupero;
- ripetere la determinazione del campione fortificato ogni dieci campioni incogniti e calcolare lo scostamento percentuale fra le letture effettuate.

Qualora questi criteri non venissero soddisfatti, si deve ripetere l'ottimizzazione dello spettrometro e la serie analitica. I dati ottenuti sui campioni del controllo qualità possono essere riportati sulle relative carte di controllo costruite secondo quanto descritto nella norma ISO 7870-2:2014 (ISO 7870-2, 2014). Nel caso in cui un risultato fuoriesca dai limiti di controllo superiore (media+3DS) e inferiore (media-3DS) delle carte, è necessario avviare un'azione correttiva; si suggeriscono almeno i seguenti possibili interventi: verifica calcoli e trasferimenti; verifica stato di taratura delle apparecchiature; verifica abilità del personale; verifica qualità del materiale utilizzato (scadenza, stato di conservazione, loro possibile contaminazione).

Validazione del metodo

Il metodo è stato validato *in-house* per le seguenti caratteristiche prestazionali:

- specificità;
- linearità;
- limite di rivelabilità (LoD) e limite di quantificazione (LoQ);
- ripetibilità;
- recupero.

Specificità

Il Cr(VI) nell'estratto è stato identificato mediante il tempo di ritenzione in IC e quantificato tramite ICAP-Q ICP-MS utilizzando Elio come gas di collisione all'interno della QCell. L'uso della QCell e della tecnologia *Kinetic Energy Discrimination* (KED) ha permesso di rimuovere il segnale degli interferenti dal segnale del ^{52}Cr , rendendo la quantificazione altamente specifica.

Linearità

La linearità del metodo viene determinata attraverso l'analisi di campioni fortificati mediante aggiunte note (*spike*) di Cr(VI) sul campione estratto. Le aggiunte devono essere adeguatamente distribuite tra un limite inferiore (per es., il valore del LoD o del LoQ del metodo) e un limite superiore significativamente più alto della concentrazione attesa nel campione di cosmetico.

La linearità è espressa dal coefficiente di correlazione lineare (R^2). Viene considerato accettabile un valore di R^2 che sia almeno $\geq 0,995$.

Nel caso in cui tale condizione non sia soddisfatta, è necessario preparare e analizzare nuovamente i livelli di fortificazione, dopo aver effettuato azioni correttive, quali, ad esempio, nuova ottimizzazione dello strumento, correzione degli effetti dovuti alla matrice (interferenze, non omogeneità del campione) e preparazione di nuove soluzioni per la retta di taratura.

Limite di rivelabilità e di quantificazione (LoD e LoQ)

I LoD e LoQ sono calcolati in matrice cosmetico. Per calcolare i LoD e LoQ, sono state analizzate 20 aliquote di cosmetico estratto e 10 aliquote di cosmetico estratto aggiunto con il più basso livello di concentrazione della retta di taratura. I valori dei LoD e LoQ sono espressi come 3 volte e 10 volte la DS in matrice. In generale, il LoD e il LoQ del metodo devono essere tali da poter determinare il Cr(VI) al livello richiesto.

È comunque possibile quantificare il Cr(VI) a concentrazioni tra il LoD e il LoQ anche se il dato sarà caratterizzato da minore accuratezza.

Ripetibilità

La ripetibilità è stata calcolata analizzando 10 aliquote di cosmetico estratto nelle seguenti condizioni: stesso laboratorio, stesso operatore, stessa strumentazione e a brevi intervalli di tempo. È espressa come coefficiente di variazione medio percentuale di ripetibilità ($\overline{CV}_r\%$) della serie di risultati, secondo la formula:

$$\overline{CV}_r\% = \left(\frac{s_r}{\bar{x}}\right) \times 100$$

dove: \bar{x} = media dei risultati;

s_r = scarto tipo di ripetibilità dei risultati.

Una buona ripetibilità è rispecchiata da un $\overline{CV}_r\%$ piccolo. Dato che la ripetibilità può cambiare in funzione della concentrazione del Cr(VI) nel campione e dall'effetto matrice (es. omogeneità), è preferibile calcolare la ripetibilità sul cosmetico estratto tal quale e sul cosmetico estratto fortificato a tre livelli differenti di concentrazione del Cr(VI) (*spike*) (ISO 3534-1, 2006). A tal fine vengono preparati i seguenti campioni: un campione di cosmetico estratto non fortificato (L0: livello di base) e lo stesso campione fortificato con Cr(VI) a 3 livelli di fortificazione (L1: livello basso; L2: livello medio; L3: livello alto).

In questo metodo, è stato considerato come requisito minimo di accettabilità un CV% che sia $\leq 20\%$ per il Cr(VI), e in ogni caso il CV% dovrebbe risultare minore al livello di fortificazione più alto.

Recupero

Il recupero del metodo è stato valutato analizzando due diversi campioni prodotti in laboratorio (ISO 5725, 1994; Thompson *et al.*, 1999; Thompson *et al.*, 2002).

Il primo campione è stato preparato aggiungendo un materiale di riferimento certificato (CRM) a base di terreno NIST SRM 2701 (Gaithersburg, MD, USA) con un contenuto certificato di Cr(VI) ($551,2 \pm 34,5$ mg/kg) ad un campione di cosmetico non contenente Cr(VI). La preparazione di questa miscela è stata eseguita mediante diluizioni e omogeneizzazioni successive in un mulino a sfere di carburo di tungsteno (Vibratory Micro Mill Pulverisette). La miscela finale – contenente 11,94 $\mu\text{g/g}$ di Cr(VI) – è stata utilizzata per calcolare il recupero del metodo per i cosmetici.

Il secondo campione è stato preparato aggiungendo una soluzione standard di Cr(VI) a un campione di cosmetico non contenente Cr(VI), prima dell'estrazione; la miscela finale – contenente 10 $\mu\text{g/g}$ di Cr(VI) – è stata anch'essa utilizzata per valutare il recupero del metodo.

In questo metodo è stato considerato accettabile un recupero compreso tra 80% e 120% per il Cr(VI) in cosmetici. Se il recupero risulta $\leq 80\%$ vi è evidenza che le influenze combinate del pH e di agenti riducenti (acidi organici, Fe^{2+} , ecc.) nel campione hanno portato alla riduzione della specie del Cr(VI) in Cr(III). Qualora il recupero non rientri all'interno di questo intervallo, l'intero batch di campioni deve essere ri-estratto e ri-analizzato.

Espressione dei risultati

Il calcolo della concentrazione (C) del Cr(VI) nel campione di cosmetico viene effettuato mediante la seguente formula matematica:

$$C = \frac{(C_{\text{sample}} - C_{\text{blk}}) \times D}{P_{\text{sample}} \times 1000}$$

dove: C_{sample} = concentrazione media del Cr(VI) misurata nell'estratto letto in doppio (in $\mu\text{g/mL}$);

C_{blk} = concentrazione media del Cr(VI) misurata nel bianco letto in doppio;

D è il fattore di diluizione analitica;

P_{sample} è il peso del campione di cosmetico iniziale in g.

Esprimere C in mg/kg o in $\mu\text{g/kg}$ per il Cr(VI); associare a C la deviazione standard dei campioni indipendenti di cosmetico (almeno 3), con due cifre significative.

Se il risultato è inferiore al LoD o LoQ del metodo, riportare il valore come $<$ al LoD o $<$ al LoQ. I risultati ottenuti non vengono corretti per il recupero.

Altre informazioni necessarie possono essere le seguenti: fornire dettagli sul metodo di preparazione e quantificazione usato; sui risultati di alcuni o tutti gli indicatori del controllo di qualità; indicazioni sulla bibliografia e riferimenti normativi utilizzati per l'esecuzione del metodo e il calcolo dei vari parametri.

PROPOSTA DI VALUTAZIONE DI CONFORMITÀ

A seguito di studi effettuati dall'ISS in collaborazione con la Regione Piemonte nel corso degli anni è stata individuata una procedura per la valutazione dei risultati dell'analisi dei metalli nei prodotti cosmetici al fine di migliorare l'efficienza di tutto il sistema pubblico di prevenzione. L'approccio permette di tenere conto anche dell'incertezza della misura quando si deve valutare la conformità del prodotto relativamente ai limiti considerati come tracce "tecnicamente inevitabili" (TTI), riportati nella Tabella 2 (vedi pagina 3 di questo testo). È bene ricordare che tali valori non sono *health-based*, quindi derivati da una valutazione di sicurezza, bensì basati sul contenuto riscontrato nei prodotti cosmetici presenti sul mercato. Non rispondono quindi alle richieste di rispetto dell'articolo 3 del Regolamento, che devono comunque essere verificate.

La "conformità" ai livelli al momento attuale identificati come TTI (e passibili di variazioni nel tempo) non è infatti sinonimo di "sicurezza" che deve essere pertanto sempre verificata con le metodologie descritte nei successivi capitoli.

Visti i limiti di quantificazione (LoQ) e l'incertezza di misura si ritiene di poter fornire le seguenti indicazioni per la valutazione di conformità del campione.

Il laboratorio che effettua l'analisi di prima istanza, per risultati di metalli in concentrazione superiore al LoQ segnala la possibile non conformità rispetto ai limiti di Tabella 2 (TTI). Come è possibile osservare nella Figura 1, si prospettano 6 diverse possibili situazioni.

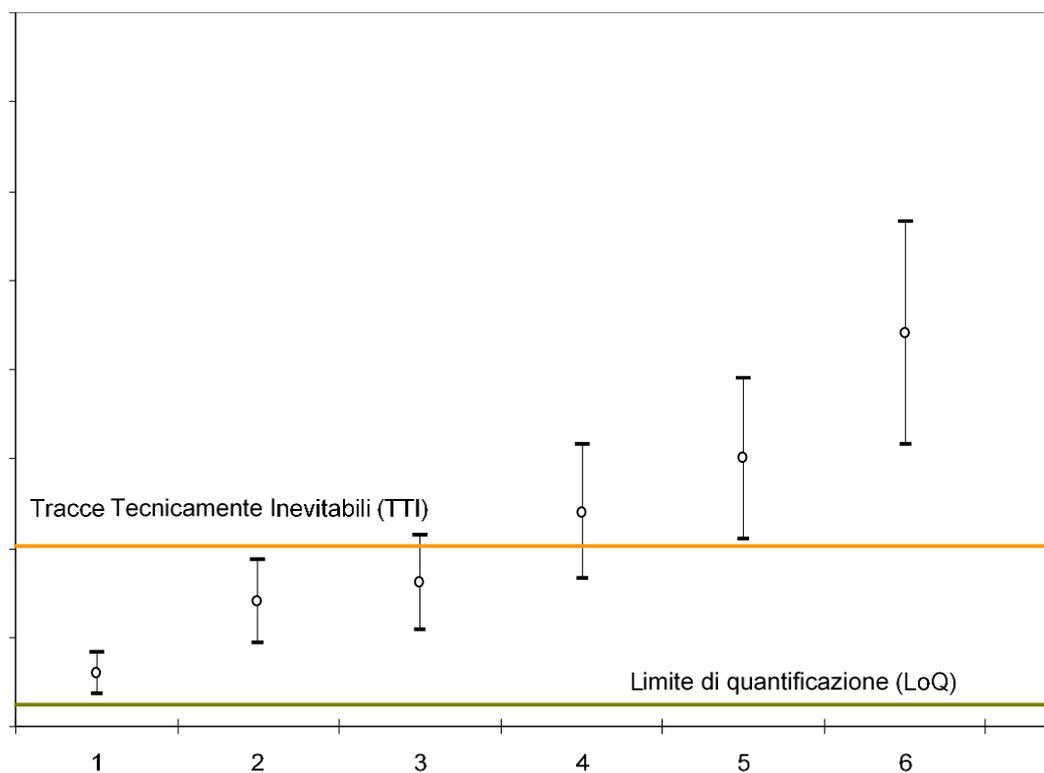


Figura 1. Possibile interpretazione di conformità di un cosmetico

I possibili risultati sono nel dettaglio:

- *Risultato (compresa incertezza U) \leq delle TTI*

($x + U \leq LMC$, casi 1 e 2)

Il campione è da considerarsi conforme; il laboratorio procede ad inviare gli esiti delle analisi ai Servizi di Igiene e Sanità Pubblica (SISP) e successivamente (dopo 60 giorni) si procede allo smaltimento delle ulteriori aliquote. Il SISP darà comunicazione alla ditta della conformità riscontrata e chiude la pratica.

- *Risultato (compresa incertezza U) comprendente il limite massimo cautelativo*

($x \pm U \leq LMC$, casi 3 e 4)

Il laboratorio di analisi trasmette i risultati al SISP e procede allo smaltimento delle aliquote rimanenti (dopo 60 giorni). Il SISP procede a dare comunicazione alla ditta, e per conoscenza al laboratorio di analisi di prima istanza, della possibilità di superamento dei valori TTI; richiede revisione delle buone pratiche di fabbricazione e delle procedure di auto-controllo per contenere la contaminazione.

- *Risultato (compresa incertezza) oltre il valore delle TTI*

($x \pm U > LMC$, casi 5 e 6).

Il laboratorio di analisi trasmette i risultati al SISP e procede inoltre alla conservazione delle aliquote rimanenti. Il SISP procede a dare comunicazione alla ditta, e per conoscenza al laboratorio di analisi di prima istanza del superamento dei tenori cautelativi richiedendo revisione delle buone pratiche di fabbricazione e delle procedure di auto-controllo per contenere la contaminazione. Contestualmente avvisa la ditta che verrà richiesto all'ISS (tramite la Regione) un parere tecnico in merito alla 'sicurezza' del prodotto. Predisponde quindi e invia la richiesta alla Regione. Quest'ultima, a sua volta, richiede al Ministero della Salute e per conoscenza all'ISS il parere tecnico in merito alla possibilità che le concentrazioni di metalli riscontrate possano rientrare nella fattispecie di cui all'art. 17 del Regolamento (CE) 1223/2009. Non appena ricevuto il parere procederà ad inoltrarlo all'Ente che ha effettuato il campionamento e per conoscenza al laboratorio di analisi di prima istanza.

Sulla base del parere viene quindi accertato che il prodotto:

- *non pone rischi per la salute*

Il SISP comunica alla ditta e per conoscenza alla Regione e al laboratorio di analisi la conformità del prodotto e chiude la pratica. Il laboratorio procede allo smaltimento delle aliquote rimanenti.

- *pone rischi per la salute*

Il SISP comunica alla ditta i contenuti del parere tecnico sulla base del quale viene accertata la violazione del Regolamento (CE) 1223/2009 (articolo 17) in quanto prodotto non sicuro e rende nota la possibilità di presentare istanza di revisione di analisi entro 15 giorni (possibilità contemplata unicamente in caso di campionamento effettuato con più aliquote). Contestualmente inoltra notizia di reato all'Autorità Giudiziaria specificando che la ditta responsabile del prodotto ha facoltà di richiedere la revisione. Procede quindi ad effettuare il sequestro penale dei prodotti riportanti il medesimo lotto oggetto delle analisi.

Qualora non sia richiesta revisione analisi entro 15 giorni, il SISP comunica alla Regione e per conoscenza al laboratorio che la ditta non ha presentato istanza di revisione. Dà medesima informativa alla Procura della Repubblica. La Regione comunica al Ministero della Salute il

riscontro di un prodotto non conforme precisando che la ditta non ha richiesto revisione di analisi. Contestualmente invia la nota agli Enti per l'attivazione dell'allerta regionale.

Nel caso in cui la ditta trasmetta la richiesta di revisione di analisi del prodotto, l'Ente ne dà comunicazione all'ISS, al laboratorio e alla Regione per i relativi adempimenti di competenza. Inoltre trasmette informativa alla Procura della Repubblica. Il laboratorio provvede quindi ad inviare l'aliquota del campione all'ISS, mentre la Regione comunica al Ministero della Salute il riscontro di un prodotto non conforme e precisa che la persona responsabile ha effettuato istanza di revisione di analisi.

L'ISS trasmette gli esiti della revisione di analisi al SISP che procederà a eseguire le azioni seguenti a seconda delle risultanze emerse:

- *Esito revisione che conferma analisi del laboratorio (prodotto non conforme rispetto ai valori di TTI).*

Nel caso in cui l'esito confermi i risultati riscontrati dal laboratorio di prima istanza, il SISP trasmette informativa alla Procura della Repubblica e invia comunicazione alla Regione e al laboratorio. La Regione comunica al Ministero della Salute l'esito della revisione e predispone la nota indirizzata agli Enti per l'attivazione dell'allerta regionale che avrà una valenza diversa a seconda della valutazione di sicurezza del prodotto;

- *Esito revisione che non conferma analisi del laboratorio (prodotto conforme rispetto ai valori di TTI).*

Nel caso in cui l'esito non confermi i risultati riscontrati dal laboratorio di prima istanza, e quindi il prodotto risulti essere conforme rispetto ai valori di TTI, il SISP ne dà comunicazione alla ditta responsabile e per conoscenza alla Regione e al laboratorio. La valutazione della sicurezza del prodotto è comunque fondamentale per permettere la veicolazione della corretta informazione alla Procura della Repubblica rimanendo in attesa di indicazioni sull'eventuale dissequestro disposto dall'Autorità Giudiziaria (a seguito di dissequestro dà comunicazione al laboratorio per consentire lo smaltimento delle aliquote rimaste). La Regione comunica al Ministero della Salute l'esito della revisione mentre il laboratorio provvede allo smaltimento delle aliquote.

È bene precisare che, nelle comunicazioni da inviare alle ditte sarà necessario evidenziare, ove possibile, l'importanza del controllo e della selezione delle materie prime, come principale possibilità di abbattimento della contaminazione e buona pratica di fabbricazione. L'esperienza dell'ISS e dei laboratori dimostrano che, dall'inizio dell'attività analitica sulle concentrazioni di metalli, i tenori misurati sono mediamente diminuiti, e quindi è "tecnologicamente possibile" un miglioramento.

GESTIONE DI PRATICHE/PARERI E COMUNICAZIONE DEI RISULTATI

I campioni allegati alle richieste di revisione di analisi e di parere relativamente alla sicurezza del prodotto pervenuti all'ISS che eseguirà l'analisi di revisione e la valutazione oggetto del parere, devono essere registrati in opportuni moduli definiti come "Registro campioni".

Nel caso di pratiche, il registro campioni deve almeno includere le indicazioni seguenti:

- Codice campione Reparto: codice interno del Reparto assegnato da chi effettua la registrazione all'arrivo del campione;
- Nome di chi effettua la registrazione: nome dell'addetto alla prova a cui il Direttore di Reparto ha assegnato la pratica;
- Data di arrivo della pratica e del campione in Reparto;
- Descrizione della matrice (es. cosmetici)
- Indicazione del tipo di campione (es. dentifricio);
- Nome con cui il campione è stato identificato al prelievo o numero del verbale di prelievo;
- Nome di chi richiede la prestazione;
- Informazioni utili: tutte le informazioni relative al campione che posso risultare utili, come ad esempio, integrità del campione all'arrivo in Reparto (in caso di non integrità registrare se il campione è stato distrutto o reso al richiedente), oppure la quantità;
- Ubicazione del campione (sigla del frigorifero, congelatore o stanza in cui il campione è conservato);
- Determinazioni richieste (elementi da determinare);
- Data di inizio e di fine analisi del campione;
- Campione residuo: indicare se è stato necessario utilizzare tutto il campione arrivato;
- Numero di certificato assegnato dal Dipartimento per le sole pratiche ufficiali;
- Data di emissione del Rapporto di prova;
- Note: riportare una frase del tipo "restituzione degli atti" nel caso in cui l'analisi di revisione non ha avuto luogo per esito negativo dell'esame della pratica.

Nel caso di pareri, riportare nel registro le seguenti indicazioni:

- Nome di chi effettua la registrazione: nome della persona a cui il Direttore di Reparto ha assegnato il parere;
- Codice parere: codice interno di Reparto del parere oggetto di valutazione;
- Data di arrivo del parere in Reparto;
- Oggetto del parere: indicare l'argomento scientifico di cui si richiede la valutazione;
- Richiedente: nome di chi richiede il parere ufficiale;
- Data di uscita dal Reparto: indicare la data di uscita del parere dal Reparto
- Note: eventuali informazioni aggiuntive.

Prima dell'esecuzione della prova, l'addetto alla prova redige una lettera di convocazione ("Richiesta di revisione di analisi di prima istanza. Convocazione") per la ditta che ha richiesto l'analisi di revisione. La lettera sarà indirizzata alle parti in causa, cioè alla ditta che richiede

l'analisi, al suo legale rappresentante, al perito di parte, se nominato, e, per conoscenza, a chi ha effettuato il prelievo del campione e al laboratorio che ha eseguito l'analisi di prima istanza. Si riportano poi tutti i numeri di protocollo e la relativa data indicati sulla richiesta di analisi. Il testo deve contenere informazioni precise e dettagliate sul campione che sarà sottoposto ad analisi (es. numero e data di emissione del verbale dell'analisi di prima istanza), su chi lo ha prelevato, sulla data, orario e luogo di apertura del campione (inizio dell'analisi). Nel giorno, nel luogo e nell'orario stabiliti si riuniscono il Direttore di Reparto, l'addetto o gli addetti alla prova, l'avvocato difensore e il perito di parte se nominato, e si procede all'apertura del campione e alla compilazione del verbale di apertura ("Verbale relativo alla revisione di analisi"). Il giorno dell'analisi si provvede a chiedere il numero di certificato assegnato dal Dipartimento che viene riportato sul verbale di apertura del campione.

Una volta ultimata l'analisi del campione della revisione di analisi, le registrazioni relative all'esecuzione delle prove vengono riportate su un modulo definito come "Rapporto di prova" che deve contenere almeno le seguenti indicazioni:

- Identificazione univoca del rapporto di prova e una identificazione su ogni pagina al fine di garantire che ogni pagina sia riconosciuta come parte del rapporto di prova;
- Nome e indirizzo del Dipartimento e del Reparto che ha effettuato la prova, e il luogo dove la prova è stata eseguita, se differente dall'indirizzo del Reparto;
- Nome e indirizzo del cliente;
- Data di ricevimento del campione di prova;
- Data di emissione del rapporto di prova e preferibilmente data di inizio e fine di ciascuna prova;
- Indicazione del responsabile delle attività di campionamento;
- Identificazione non ambigua del campione sottoposto a prova e una descrizione sulla relativa condizione;
- Data di esecuzione della prova;
- Descrizione del campione;
- Descrizione del metodo e identificazione del metodo (sigla, numero e anno di edizione; per i metodi di prova interni anche l'indice di revisione);
- Risultati di prova con la relativa unità di misura e altri parametri utili (quali il LoD, recupero, ecc.);
- Incertezza di misura e una dichiarazione che si tratta di incertezza estesa, ottenuta moltiplicando l'incertezza tipo composta per un fattore di copertura k tale da fornire un livello di confidenza del 95%, ed eventualmente l'approccio usato per il calcolo dell'incertezza;
- Eventuali note: scostamenti, aggiunte o esclusioni rispetto ai metodi di prova, e informazioni su specifiche condizioni di prova come le condizioni ambientali, se necessarie per l'interpretazione dei risultati;
- Eventuale utilizzo del recupero nei calcoli;
- Dichiarazione secondo la quale i risultati si riferiscono solo al campione di prova e che il rapporto non può essere riprodotto parzialmente, salvo approvazione scritta del Dipartimento;
- Tempo di conservazione del campione e delle registrazioni delle prove, qualora non già comunicato al cliente;

- Presenza del logo dell’Ente accreditante se un rapporto di prova fa riferimento all’accreditamento;
- Indicazione di quale siano le prove accreditate distinguendo i risultati relativi a prove non accreditate;
- Nome e firma dell’addetto alla prova;
- Nome e firma del Direttore di Reparto.

Il rapporto di prova derivante dall’analisi di revisione e/o il parere dovranno essere comunicati esclusivamente alle parti interessate, accompagnati dalla lettera di trasmissione. Nella lettera di trasmissione, si riportano tutti i numeri di protocollo necessari, l’oggetto (per es., esito dell’analisi di revisione), i destinatari, e il testo in cui si indica l’esito favorevole o non favorevole dell’analisi e/o del parere.

Tutti documenti prodotti, ossia la lettera di convocazione, il verbale di revisione di analisi, la documentazione inviata dal richiedente, la lettera di trasmissione e il rapporto di prova vengono conservati secondo regole previamente definite dal laboratorio. Anche il registro campioni, i fogli di lavoro, i quaderni di laboratorio, i dati prodotti dalle apparecchiature contenenti i risultati delle prove (stampe), sono registrazioni soggette a conservazione secondo le modalità e responsabilità definite dal laboratorio.

È bene precisare che, le indicazioni sopra riportate sono in conformità con quanto richiesto in documenti ufficiali (ISO/IEC 17025, 2018) e sono ripresi e descritti nel sistema di gestione per la qualità del Dipartimento Ambiente e Salute dell’ISS. Attuare un sistema di gestione della qualità che preveda al minimo tali indicazioni è indispensabile all’interno di qualsiasi laboratorio che esegue analisi di ufficiali di prodotti cosmetici al fine di:

- definire i compiti e le responsabilità coinvolte nella gestione del sistema;
- verificare la coerenza fra i documenti di riferimento, le procedure e il loro utilizzo;
- prevenire ed evitare il manifestarsi di non conformità;
- migliorare continuamente le attività di prova.

È quindi consigliabile che anche i vari laboratori sul territorio adottino le procedure descritte sopra, anche per facilitare chi dovrà condurre la valutazione di sicurezza, avendo a disposizione tutte le informazioni sulla “attendibilità” del dato analitico da utilizzare per la definizione degli scenari di esposizione, descritti nei capitoli successivi.

VALUTAZIONE DEL RISCHIO RELATIVO ALL'USO DEL PRODOTTO COSMETICO

Per valutare e caratterizzare il rischio associato alla presenza di sostanze nei prodotti cosmetici si utilizza l'approccio noto come MOS (*Margin Of Safety*), o margine di sicurezza, che è espresso come rapporto tra il NOAEL (*No Observed Adverse Effect Level*) dell'effetto critico e la stima della dose sistemica di esposizione (*Systemic Exposure Dosage*, SED), come descritto nell'ultima revisione delle *Notes of Guidance* del *Scientific Committee for Consumer Safety* (SCCS, 2018), il Comitato Scientifico della DG-Santé responsabile della valutazione di sicurezza degli ingredienti nei prodotti cosmetici. Il MOS è pari al rapporto NOAEL (o BMDL, *Benchmark Dose*)/SED³ e valori di MOS pari o superiori a 100 dovrebbero suggerire che l'uso di tale ingrediente non sia rischioso per l'uomo.

Per definire il SED è necessario disporre dei dati di dose 'esterna', relativi allo scenario di esposizione connesso all'uso dello specifico prodotto cosmetico e dei dati di assorbimento cutaneo (ma anche orale o inalatorio, se rilevante) per calcolare la dose 'interna'. Molti scenari di esposizione sono tabulati nelle suddette *Notes of Guidance* dell'SCCS. I valori presenti tuttavia non coprono l'intera gamma di tipologie di prodotti cosmetici presenti sul mercato, ed è compito del valutatore della sicurezza stabilire scenari e livelli di esposizione in caso di prodotti che non rientrano nelle categorie già riportate in tabella, tenendo conto anche del target di consumatori (adulti, bambini, neonati, professionisti).

Per calcolare la dose esterna di esposizione è necessario rispondere ad alcune domande:

- Quali sono le vie di esposizione rilevanti?
- Qual è il livello/concentrazione nel prodotto cosmetico?
- Con che frequenza?

Di conseguenza i dati rilevanti per stimare l'esposizione esterna al prodotto cosmetico sono:

- tipo di prodotto (*leave on/rinse-off/solare*)
- sede di applicazione;
- estensione della superficie di applicazione;
- quantità di prodotto applicata per applicazione;
- durata e frequenza d'uso;
- vie di esposizione normali e ragionevolmente prevedibili (es. uso scorretto ma prevedibile, come quello per cui un bambino si mette in bocca un rossetto giocattolo);
- impatto delle dimensioni delle particelle sull'esposizione.

Ma è anche importante definire la popolazione *target*, vale a dire il gruppo di consumatori a cui il prodotto è destinato. Una delle distinzioni più importanti è rappresentata dalle differenze tra adulti e bambini, come illustrato di seguito.

³ Il NOAEL rappresenta il valore più alto al quale non si osservano effetti

Il BMDL è il limite inferiore dell'intervallo di confidenza della dose di riferimento e rappresenta la dose associata ad un effetto in una determinata percentuale di animali (es: 1, 5 o 10%) o ad un effetto pari ad una % dell'effetto massimo (es. 0,1, 1, 5, 10%, in dipendenza della gravità dell'effetto stesso)

Il SED di un ingrediente cosmetico è la quantità che ci si aspetta che a seguito dell'uso del cosmetico entri giornalmente nel flusso sanguigno (e quindi sistemicamente disponibile) per kg di p.c. assumendo un peso medio umano di 60 kg per un adulto.

Identificazione del consumatore finale: scenari di esposizione per adulti e bambini

L'età del consumatore ha un peso importante sia per possibili effetti diversi dovuti ad una differente suscettibilità che per scenari espositivi diversi che sono mediati da abitudini tipiche dell'infanzia. Per questo è fondamentale per una corretta valutazione del rischio di un prodotto differenziare tra le diverse fasce di età dei consumatori. Lo stesso prodotto, per esempio un bagnoschiuma, nel caso dei bambini più piccoli può avere un scenario espositivo che comprenda anche l'ingestione parziale del prodotto diluito oltre che l'esposizione cutanea, l'unica prevista per gli adulti. Analogamente nel caso di un dentifricio, per quanto la quantità di prodotto utilizzato ad ogni lavaggio dei denti sia inferiore nel bambino, è maggiore la quantità ingerita per la maggiore tendenza a deglutire.

Per stressare ulteriormente la necessità di definire la categoria di consumatori, nel 2012 il Consiglio d'Europa ha adottato la "Resolution on safety criteria for cosmetic products intended for infants"⁴, che definisce alcuni criteri da utilizzare nella valutazione di sicurezza di prodotti destinati a bambini al di sotto dei 3 anni, raccolti in una Guida per produttori e valutatori, disponibile gratuitamente sullo sito dell'EDQM (*European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare*). Particolare attenzione è data a creme e lozioni (prodotti *leave on* e applicati anche più volte al giorno), ma anche detergenti utilizzati nella prima infanzia. Si ribadisce nella risoluzione che i prodotti devono essere sicuri per la salute e non devono contenere ingredienti CMR (come del resto tutti i prodotti cosmetici, secondo il Regolamento (CE) 1223/2009), potenti allergeni o sostanze dotate di attività di distruttori endocrini. Si richiede inoltre che i conservanti siano presenti alla loro concentrazione minima di efficacia.

In genere gli scenari individuati dall'SCCS sono sufficientemente conservativi e non si considera necessario utilizzare fattori di protezione aggiuntivi per i bambini: l'SCCS (SCCS, 2012) indica che il fattore di *default* per le differenze intraspecifiche copre l'eventuale maggiore assorbimento cutaneo dei bambini entro l'anno di età, dovuto a una pelle maggiormente permeabile; non vengono utilizzati fattori di incertezza aggiuntivi neppure per la cosiddetta "nappy area" poiché per definizione, e come specificato nel Regolamento, i cosmetici devono essere applicati su pelle integra: la presenza di eventuali discontinuità della pelle dovute ad arrossamento o irritazione non sono contemplate, perché in quel caso deve essere utilizzato un prodotto con finalità terapeutiche e non un cosmetico.

Per definire uno scenario tipo che tenga conto di tutte le possibili e realistiche vie di esposizione, delle quantità di prodotto medie utilizzate per applicazione e il numero di applicazioni, possono essere consultati vari documenti, come il "Cosmetics Fact Sheet. To assess the risks for the consumer. Updated version for ConsExpo 4" del RIVM (Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu) (RIVM, 2006a) e la 9^a e 10^a revisione delle *Notes of Guidance* dell'SCCS (SCCS, 2016; SCCS, 2018) per gli adulti. Valori specifici per i bambini spesso non sono riportati salvo per alcuni prodotti (es. ingestione del dentifricio da parte dei più piccoli). Comunque singoli studi in letteratura a volte sono disponibili e possono supportare l'*expert judgment*.

Se per un adulto generalmente viene considerato un peso medio di 60 kg e una superficie corporea di 17500 cm², per i bambini si tende a dividere per fasce di età (es. 0-3 mesi, 6-12 mesi, 1-3 anni, 3-6 anni e 6-11 anni, in base al tipo di prodotto) con peso medio e superficie corporea diversificata. Per queste informazioni si può far riferimento al documento dell'EFSA (*European Food Safety Authority*) (EFSA, 2012), al *report* 320104002/2006 "General Fact Sheet Limiting

⁴ Disponibile a: <https://www.edqm.eu/en/cosmetics-children-under-age-three>

conditions and reliability, ventilation, room size, body surface area. Updated version for ConsExpo 4” del RIVM (RIVM, 2006b) e al documento “Child-Specific Exposure Factors Handbook - Body Weight” della US EPA (*Environmental Protection Agency*) (US EPA, 2008).

Inoltre, a seconda del prodotto, le *Notes of Guidance* dell’SCCS (SCCS, 2016; SCCS, 2018) oltre alla quantità stimata di utilizzo giornaliero viene riportato un fattore di ritenzione (*Retention Factor*, RF) che tiene conto dell’eventuale diluizione del prodotto (es. utilizzo su pelle bagnata) o dell’eventuale risciacquo (es. dentifricio e shampoo). Applicando tale fattore viene indicata la quantità giornaliera calcolata di prodotto che può variare dall’1 al 100% del prodotto iniziale a seconda della tipologia (es. RF per il bagnoschiuma che è un prodotto da risciacquo o *rinse-off* è 0,01 (1%); 0,05 per il dentifricio fino a 1 (100%) per le creme viso e gli altri prodotti che rimangono sulla pelle o *leave-on*).

Infine quando disponibili, devono essere utilizzati valori di riferimento per gli aspetti tossicologici specifici per effetti tipici nei bambini. Un esempio specifico è quello relativo al Pb, per il quale gli effetti sui bambini sono sul sistema nervoso centrale con una specifica BMDL, mentre per gli adulti l’effetto critico è la nefrotossicità, per la quale è stata identificata una diversa BMDL.

Alcuni esempi di scenari espositivi per tipologia di prodotti differenti

Bagnoschiuma, bagno doccia

Gli scenari di esposizione sono diversi se il consumatore è in età adulta o si tratti di bambini:

– *Adulti*

Secondo quanto riportato nei documenti sopra citati la quantità media di prodotti per il bagno o la doccia applicata da un adulto è pari a 16,34-18,67 g giornalieri considerando una superficie corporea di 17500 cm² e un peso medio di 60 kg.

Come riportato nella *Notes for Guidance* dell’SCCS (SCCS, 2018) per questo tipo di prodotto è riportato un RF di 0,01 per tenere conto della diluizione (uso su pelle bagnata e risciacquo). Quindi la quantità giornaliera calcolata di prodotto sarebbe pari all’1% (0,16-0,19 g). Valori simili sono riportati anche dal “Cosmetics Fact Sheet. To assess the risks for the consumer. Updated version for ConsExpo 4” del RIVM (RIVM, 2006a) dove, anche nel caso di utilizzo in vasca da bagno, vengono considerati 17 g di prodotti diluiti in 120 L di acqua.

– *Bambini*

Per quanto riguarda i bambini i parametri di peso e superficie corporea sono:

- da 0 a 3 mesi peso di 5 kg e una superficie corporea di 3100 cm²;
- da 6 a 12 mesi peso di 9 kg e una superficie corporea di 4400 cm²;
- da 1 a 3 anni peso di 12 kg e una superficie corporea di 6400 cm².

Nel caso dei bambini considerando sempre un uso giornaliero, la quantità di prodotto usata, se non disponibile in letteratura, può essere calcolata in proporzione alla superficie corporea sulla base del dato riferito agli adulti (18,67 g per una superficie corporea di 17500 cm²). A fini precauzionali considerando la limitata acqua usata nel bagnetto dei più piccoli e il tempo di permanenza, connessa alla parte ludica, e la possibile presenza di prodotti emollienti che possono favorire la permanenza del prodotto l’applicazione di uno scenario peggiore (*worst case*, RF = 1) sembra più opportuno. Tale scenario può essere considerato sufficientemente conservativo per coprire anche la possibile ingestione orale di minime quantità di prodotto diluite nell’acqua (generalmente stimabili intorno all’1%).

L'esposizione esterna per le diverse fasce di età è quindi pari a:

- *Adulti 60 kg di peso corporeo (pc) medio*
186,7 mg quantità di prodotto soggetto all'assorbimento cutaneo (pari a una esposizione di 3,1 mg/kg per pc al giorno);
- *Bambini 0-3 mesi, 5 kg di peso corporeo medio*
3307 mg di prodotto soggetto all'assorbimento cutaneo (pari a una esposizione di 661 mg/kg per pc al giorno);
- *Bambini 6-12 mesi, 9 kg di peso corporeo medio*
4694 mg di prodotto soggetto all'assorbimento cutaneo (pari a una esposizione di 522 mg/kg per pc al giorno);
- *Bambini 1-3 anni, 12 kg di peso corporeo medio*
6828 mg di prodotto soggetto all'assorbimento cutaneo (pari a una esposizione di 569 mg/kg per pc al giorno).

Smalto

Gli scenari di esposizione sono diversi se il consumatore è in età adulta o si tratti di bambini:

- *Adulti*
Secondo il documento “*Cosmetics Fact Sheet. To assess the risks for the consumer. Updated version for ConsExpo 4*” (RIVM, 2006a), la quantità media di smalto applicato da un adulto è pari a 250 mg con una esposizione cutanea a 50 mg di prodotto. Per un adulto viene considerato di *default* una media di 2-3 applicazioni a settimana. Nella 9° revisione delle *Notes for Guidance* dell'SCCS (SCCS, 2016) è riportato un simile valore medio di esposizione giornaliera: 40-50 mg (media di 1,17 applicazioni a settimana) a fronte dell'applicazione di una quantità media di prodotto di 300 mg e un RF=1. Nel report SCCS inoltre in uno dei due studi usati (Ficheux *et al.*, 2014) viene indicata la possibilità di onicofagia, soprattutto nella fascia di età 13-34 anni, ipotizzando quindi una eventuale esposizione orale (stimabile nel 30% del prodotto applicato come *reasonable worst case*).
- *Bambini*
Per le bambine di età > 3 anni la singola applicazione viene considerata pari a 750 mg per applicazione e cioè tre volte la quantità applicata da un adulto, di cui 1/3 è considerato a contatto con la pelle, 250 mg (RIVM, 2002). I valori più alti sono giustificati dalla imperizia nell'applicazione. L'esposizione prevalente è cutanea ma non si può escludere che onicofagia nelle fasce di età più alte o la comune abitudine di mettersi le mani in bocca, con *scraping* dello smalto con i denti, possa esporre all'ingestione di parte del prodotto (stimabile nel 15% del prodotto applicato come *reasonable worst case*). Considerando che l'utilizzo non è giornaliero una assunzione totale giornaliera di 250 mg viene considerata sufficientemente conservativa.

L'esposizione esterna per le diverse fasce di età è quindi pari a:

- *Adulti 60 kg di peso corporeo medio*
50 mg di smalto di cui il 30% considerato ingerito (*worst case*) dovuto all'onicofagia (15 mg pari a una esposizione di 0,25 mg/kg per pc al giorno) e il restante soggetto all'assorbimento cutaneo (35 mg pari a una esposizione di 0,58 mg/kg per pc al giorno);
- *Bambini 3-6 anni 18,6 kg di peso corporeo medio*
250 mg di prodotto prelevato di cui il 15% considerato ingerito (37,5 mg pari a una esposizione di 2,02 mg/kg per pc al giorno) e il restante soggetto all'assorbimento cutaneo (212,5 mg pari a una esposizione di 11,4 mg/kg per pc al giorno);

- *Bambini 6-11 anni 31,8 kg di peso corporeo medio*
250 mg di prodotto prelevato di cui il 15% considerato ingerito (37,5 mg pari a una esposizione di 1,18 mg/kg per pc al giorno) e il restante soggetto all'assorbimento cutaneo (212,5 mg pari a una esposizione di 6,7 mg/kg per pc al giorno).

Rossetto

Gli scenari di esposizione sono diversi se il consumatore è in età adulta o si tratti di bambini:

- *Adulti*
Come riportato nel “*Cosmetics Fact Sheet. To assess the risks for the consumer. Updated version for ConsExpo 4*” (RIVM, 2006a), la quantità media di rossetto/lucidalabbra applicata da un adulto è 10 mg, alla quale si è esposti totalmente attraverso ingestione. Per un adulto viene considerato di default una media di 4 applicazioni al giorno, per circa 40 mg al giorno. Nelle *Note of Guidance* dell'SCCS (SCCS, 2016; 2018) è riportato un valore leggermente maggiore, secondo i dati di *Cosmetic Europe*, pari a 57 mg al giorno (media di 2 applicazioni) e un RF=1.
- *Bambini*
Per le bambine di età superiore a 3 anni la singola applicazione viene considerata pari a 30 mg per applicazione (3 volte quella di un adulto); si assume anche in questo caso e a maggior ragione, trattandosi di bambini, che venga completamente ingerita (RIVM, 2002). Considerando che l'utilizzo non è cronico e limitato nell'arco della giornata, un'assunzione totale giornaliera di 30 mg viene considerata sufficientemente conservativa in considerazione anche della possibilità di uso delle dita per l'applicazione. Si considera come caso peggiore (*worst case*) l'ingestione totale del prodotto in esame comprendente sia quello applicato sulle labbra che quello rimasto sulle dita sia per i rossetti/lucidalabbra in pasta presenti in vaschetta, che per quelli in *stick*.

L'esposizione esterna per le diverse fasce di età è quindi pari a:

- *Adulti 60 kg di peso corporeo medio*
57 mg di prodotto ingerito nell'arco della giornata (2 applicazioni, *worst case*), pari a una esposizione di 0,95 mg/kg per pc al giorno);
- *Bambini 3-6 anni 18,6 kg di peso corporeo medio*
30 mg di rossetto ingerito pari a una esposizione di 1,6 mg/kg pc al giorno;
- *Bambini 6-11 anni 31,8 kg di peso corporeo medio*
30 mg di rossetto ingerito pari a una esposizione di 0,9 mg/kg pc al giorno.

Dentifricio

Gli scenari di esposizione sono diversi se il consumatore è in età adulta o si tratti di bambini:

- *Adulti*
Nel caso dell'uso di dentifricio, la più rilevante via di esposizione è quella orale, dovuta ad ingestione accidentale di parte del prodotto. Come riportato nel “*Cosmetics Fact Sheet. To assess the risks for the consumer. Updated version for ConsExpo 4*” (RIVM, 2006), la quantità media di dentifricio ingerita da un adulto è 0,04 g (0,12 g considerando il 90esimo percentile) per ogni applicazione di 1,39 g di prodotto. Considerando il 75° percentile, per gli adulti il RIVM usa un valore di default di 80 mg come quantità ingerita per applicazione. Per un adulto si considera una media di 1/2 applicazioni al giorno, per circa 160 mg al giorno. Nelle *Notes of Guidance* dell'SCCS (SCCS, 2016; 2018) è riportato un valore

analogo, secondo i dati di *Cosmetic Europe*, di 2,16 mg/kg p.c. al giorno (dopo l'applicazione di un RF=0,05), corrispondenti a circa 140 mg al giorno per un adulto di 60 kg. Nel caso in cui si voglia considerare il *worst case* del 90° percentile, si avrebbe un valore pari a 240 mg giornalieri per lo scenario tipico indicato da SCCS e RIVM di due applicazioni. Lo stesso valore si raggiungerebbe anche considerando le quantità indicate da RIVM e SCCS come tipiche (70-80 mg per applicazione) per un plausibile uso successivo ai 3 pasti principali.

– *Bambini*

Come riportato nel “*Cosmetics Fact Sheet. To assess the risks for the consumer. Updated version for ConsExpo 4*” (RIVM, 2006a), invece la quantità media di dentifricio ingerita da un bambino di età 2-4 e 5-7 anni è 300-130 mg per ogni applicazione di 860-940 mg di prodotto (alla minore età corrisponde una maggiore quantità ingerita, a parità di prodotto utilizzato). Considerando il 75° percentile, il RIVM usa un valore di 530 mg ad applicazione per la fascia di età 2-4, quando l'ingestione è più probabile, considerando due applicazioni al giorno.

L'esposizione esterna nell'arco della giornata per le diverse fasce di età è quindi pari a:

- *Adulti 60 kg di peso corporeo medio*
160 mg di dentifricio ingerito (per 2 applicazioni),
pari a una esposizione di 2,7 mg/kg pc al giorno;
- *Bambini 2-4 anni, 15 kg di peso corporeo medio*
1060 mg di dentifricio ingerito (per 2 applicazioni),
pari a una esposizione di 70,7 mg/kg pc al giorno;
- *Bambini 3-6 anni, 18,6 kg di peso corporeo medio*
600 mg di dentifricio ingerito (per 2 applicazioni),
pari a una esposizione di 32,3 mg/kg pc al giorno;
- *Bambini 6-11 anni, 31,8 kg di peso corporeo medio*
260 mg di dentifricio ingerito (per 2 applicazioni),
pari a una esposizione di 8,2 mg/kg pc al giorno.

Fondotinta e face paint

Gli scenari di esposizione sono diversi se il consumatore è in età adulta o si tratti di bambini:

– *Adulti*

Secondo l'SCCS (SCCS, 2016; 2018) la quantità di prodotto usata per i fondotinta è pari a 510 mg considerando una applicazione al giorno che per una donna di 60 kg, da luogo una esposizione di 8.5 mg/kg pc al giorno, considerando un assorbimento solo cutaneo (RF=1).

– *Bambini*

Per quanto i bambini i prodotti per il *face paint*, come matite o paste colorate, possono essere accumulate alla tipologia di prodotto del fondotinta. In questo caso però oltre all'assorbimento cutaneo deve essere considerato anche quello orale, per l'abitudine di mettersi in bocca le mani. Assumendo che la pittura venga rimossa a fine giornata, la quantità totale di prodotto sulla pelle è 1400 mg (calcolato come 5 volte la quantità per cm² che si usa per le creme) e stimando che il 15% è ingerito (RIVM, 2002). Tale valore corrisponde a circa 3 volte la quantità di 510 mg indicato dallo SCCS per il fondotinta negli adulti.

L'esposizione esterna per le diverse fasce di età è quindi pari a:

- *Adulti 60 kg di peso corporeo medio*
510 mg di fondotinta nell'arco della giornata pari a una esposizione cutanea di 8,5 mg/kg pc al giorno
- *Bambini 3-6 anni, 18,6 kg di peso corporeo medio*
1400 mg di prodotto di cui il 15%, 210 mg, di prodotto ingerito (esposizione da assorbimento orale pari a 11,3 mg/kg pc al giorno, 1190 mg di prodotto sulla pelle (esposizione da assorbimento cutaneo pari a 64 mg/kg pc al giorno)
- *Bambini 6-11anni, 31,8 kg di peso corporeo medio*
1400 mg di prodotto di cui il 15%, 210 mg, di prodotto ingerito (esposizione da assorbimento orale pari a 6,6 mg/kg pc al giorno, e 1190 mg di prodotto sulla pelle (esposizione da assorbimento cutaneo pari a 37,4 mg/kg pc al giorno)

Crema da barba

Come riportato nel "Cosmetics Fact Sheet. To assess the risks for the consumer. Updated version for ConsExpo 4" (RIVM, 2006), la quantità media di crema da barba usata da un adulto è 2 g per ogni applicazione (1 applicazione al giorno).

L'esposizione esterna è quindi pari a:

- *Adulti, 60 kg di peso corporeo medio*
2 g di crema usata sul viso 1 volta al giorno, pari a una esposizione cutanea di 33,3 mg/kg pc al giorno.

I dati di stima di esposizione sono disponibili solo per l'uso tipico e prevalente, cioè la rasatura della barba: non è possibile però escludere altri scenari dovuti all'utilizzo anche per la rasatura della testa o del torace. Inoltre nel caso della popolazione femminile la schiuma da barba può essere usata per la depilazione di gambe, inguine e/o ascelle: tutti scenari prevedibili e non rappresenterebbero un uso improprio. In tal caso la quantità usata sarebbe più alta, essendo la superficie da rasare circa 10 volte maggiore, anche se non giornaliera. In tal caso si può stimare l'uso di 20 g di prodotto. Si fa inoltre presente che il prodotto cosmetico, come da definizione inclusa nel Regolamento (CE) 1223/2009, deve essere applicato su pelle integra, per cui un eventuale maggiore assorbimento dovuto a irritazione cutanea e/o a discontinuità della superficie (es. tagli) non deve essere contemplato perché corrisponderebbe ad un uso improprio del prodotto.

Valutazione dell'esposizione sistemica: calcolo del SED

Secondo l'SCCS la valutazione dell'esposizione sistemica (SED) cioè la quantità che ci si aspetta entri giornalmente nel flusso sanguigno corrisponde a:

$$\text{esposizione esterna} \times \text{assorbimento} \times \text{frequenza} \times \text{fattore di ritenzione}$$

L'assorbimento può essere calcolato in due modi:

- 1) si può usare l'ammontare assoluto di sostanza assorbita ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$): in questo caso deve essere usato il valore di default della superficie di pelle interessata dall'applicazione (*Skin Surface Area, SSA*)

$$SED = \frac{DA_a \times 10^{-3} \times SSA \times f}{pc}$$

dove: DA_a ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) = ammontare dell'assorbimento cutaneo per unità di superficie (nelle condizioni di esposizione reale);
 F = frequenza d'uso (vedi tabelle SCCS);
 pc = peso corporeo (60 kg).

- 2) si usa la % di assorbimento rispetto all'ammontare di prodotto applicato e si esprime quindi in $\text{mg}/\text{kg pc}$ al giorno

$$SED = E_{\text{prodotto}} \times \frac{C}{100} \times \frac{DA_p}{100}$$

dove: E_{prodotto} = stima dell'esposizione giornaliera per kg di pc considerando la quantità applicata e la frequenza di applicazione (vedi Tabelle SCCS);
 C = concentrazione della sostanza ingrediente in % nel prodotto;
 DA_p = percentuale di assorbimento cutaneo/orale a seconda dello scenario espositivo.

La via di assorbimento di elezione è generalmente quella cutanea, dal momento che i prodotti cosmetici si applicano principalmente su:

- Epidermide;
- Peli e capelli;
- Unghie;
- Labbra;
- Denti e cavo orale;
- Mucose esterne femminili e maschili.

Nonostante ciò, per alcuni cosmetici possono essere rilevanti anche la via orale (es. dentifrici, collutori, rossetti) e inalatoria (es. ingredienti volatili in prodotti spray). Quando non siano disponibili dati specifici di assorbimento orale o inalatorio deve essere utilizzato un valore di default di 100% (SCCS, 2018).

Nelle *Notes of Guidance* dell'SCCS è riportata una interessante *flow-chart* (Figura 2), che può essere utilizzata per determinare l'eventuale rilevanza della via inalatoria, che tra le tre è la più difficile da determinare e che dipende dalle dimensioni delle particelle (se siano respirabili o meno) (SCCS, 2018).

I dati di assorbimento percutaneo, se non disponibili in letteratura scientifica, possono essere ottenuti con un test sperimentale *in vitro* (OECD, 2004) che utilizza pelle umana ricostituita (disponibile commercialmente). Se i dati sono inadeguati o non disponibili, si può utilizzare un valore di *default* pari al 50% della dose applicata (SCCS 2016, 2018). Questo valore deriva da una analisi retrospettiva sugli ingredienti presenti nei prodotti cosmetici, che ha mostrato che il 98% degli ingredienti ha un assorbimento inferiore al 50% (con il 95% < 20%).

Definita l'esposizione è necessario conoscere il profilo tossicologico dell'ingrediente da valutare per identificare il valore di riferimento più appropriato.

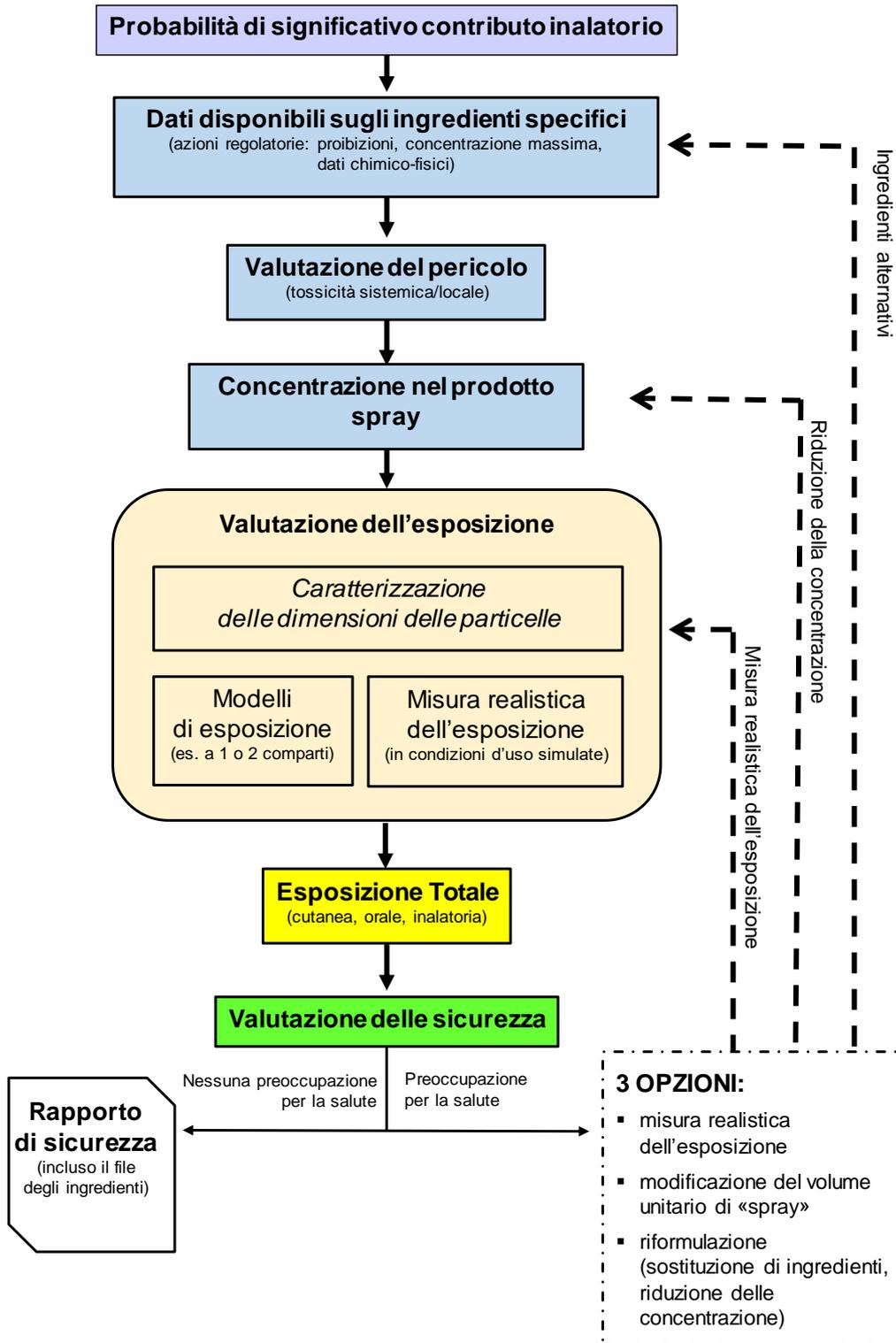


Figura 2. Principali step nella valutazione di sicurezza di prodotti cosmetici inalabili e loro ingredienti secondo le *Notes of Guidance* dell'SCCS

Profilo tossicologico

Generalmente per i cosmetici si utilizzano i valori di riferimento NOAEL o BMDL derivati da studi di tossicità ripetuta (da 90 giorni in poi). L'assenza di studi per via cutanea viene ovviata considerando studi per via orale su roditori o cane, che sono considerati adeguati poiché l'esposizione orale può essere considerata un *worst case* rispetto alla somministrazione per via cutanea.

Comunque anche studi più brevi a 28 giorni o il LOAEL (*Low Observed Adverse Effect Level*, cioè il livello più basso a cui si osserva un effetto avverso) possono essere usati applicando dei fattori di incertezza (o UF= *Uncertainty Factors*, detti anche fattori di sicurezza, SF=*Safety Factors*) aggiuntivi. Si può disporre da dati di letteratura come TDI (*Tolerable Daily Intake*), ADI (*Acceptable Daily Intake*) o DNEL (*Derived No Effect Level*) corrispondenti al rapporto tra NOAEL o BMDL con fattori denominati *Assessment Factors* (il nome che sempre più frequentemente si trova come sinonimo di UF e SF). La dimensione di questi fattori è paragonabile al MOS. Le informazioni possono essere ottenute da fonti autorevoli come quelle di Agenzie e Istituti internazionali o nazionali che abbiano già effettuato valutazioni di rischio o di sicurezza, tra cui EFSA, US ATDSR (*Agency for Toxic Substances and Disease Registry*), SCCS, ECHA, *Health Canada*, US EPA, comitati scientifici europei, WHO (*World Health Organization*), IARC (*International Agency For Research on Cancer*).

Di seguito sono riportate in modo molto sintetico le informazioni rilevanti relative al profilo tossicologico dei metalli più comunemente presenti nei cosmetici come As, Cr(III), Cr(VI), Ni, Pb, Cd.

Le informazioni riguardanti il profilo tossicologico e i valori di riferimento da usare per le valutazioni sono presi principalmente da fonti EFSA: As (EFSA, 2014a); Cr(III) e Cr(VI) (EFSA, 2014b); Ni (EFSA, 2015); Pb (EFSA, 2013); Cd (EFSA, 2009a).

Per i metalli meno frequentemente presenti nelle matrici cosmetiche come Bario (Ba) e Stronzio (Sr) o Antimonio (Sb), non descritti nel presente rapporto, possono essere consultate come fonti i documenti elaborati dall'ATDSR o dalla WHO. È comunque necessario utilizzare le valutazioni più recenti perché i valori di riferimento possono subire variazioni associate alla disponibilità di nuovi dati sperimentali.

Arsenico (As)

L'arsenico (As) può essere sia in forma organica che inorganica con differenze chimico-fisiche e tossicologiche; l'As inorganico è più tossico specialmente con valenza +3. L'As è presente nell'ambiente sia naturalmente sia per contaminazione derivante dalle attività umane (miniere, incenerimento dei rifiuti etc).

Nell'uomo l'assorbimento di As inorganico dopo ingestione è rapido e praticamente totale (95%), mentre quello organico supera il 70%; l'entità dell'assorbimento cutaneo risulta essere pari a 1,9% come riportato in Marinovich *et al.* (2014). La biotrasformazione nei mammiferi dell'As inorganico porta alla riduzione dell'As(V) ad As(III) rendendolo quindi più tossico.

L'ingestione a lungo termine di As inorganico è associata nell'uomo a lesioni della pelle, neurotossicità, problemi cardiovascolari e anche effetti di sviluppo fetale e infantile. Dati di tossicità sui bambini sono limitati, ma da dati di sorveglianza sanitaria si evince che gli effetti sono simili a quelli degli adulti inclusi quelli respiratori, cutanei, cardiovascolari e neurologici (RIVM, 2008).

Le evidenze disponibili sono state considerate sufficienti per indicare rischio di cancro della pelle, del polmone e della vescica dalla IARC, che ha classificato l'As inorganico come

cancerogeni per l'uomo (Gruppo 1). Sono stati ipotizzati vari tipi di meccanismi di cancerogenicità come lo stress ossidativo, interferenze con la riparazione del DNA ed effetti epigenetici, in quanto il potenziale di genotossicità è limitato e ancora dibattuto. L'EFSA ha stabilito una $BMDL_{01}$ (il 95° percentile del limite inferiore dell'intervallo di confidenza della *Benchmark Dose*) per un aumento di rischio dell'1% di cancro ai polmoni, vescica e pelle e lesioni cutanea nell'intervallo 0,3 e 8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ pc al giorno.

A seconda delle regioni le fonti di esposizione giornaliera principali sono l'acqua da bere o il cibo. Alcune piante (per esempio il riso) possono accumulare As assorbendolo dal terreno anche a livelli degni di nota. La quantità di As inorganico nei cibi è stato assunto che variasse dal 50 al 100% dell'As totale presente con una media del 70% (EFSA, 2009b).

L'EFSA ha stimato che tra i bambini l'esposizione ad As inorganico è nell'intervallo 0,2-1,37 $\mu\text{g}/\text{kg}$ pc al giorno (al 95° percentile raggiunge anche 2,09 $\mu\text{g}/\text{kg}$ pc al giorno), 2- 3 volte più alta di quella degli adulti, che arriva al massimo a 0,64 $\mu\text{g}/\text{kg}$ pc al giorno. In Europa l'esposizione all'As non derivante dalla dieta risulta di minore importanza per la popolazione, essendo stato eliminato il suo uso come preservante del legno o nei pesticidi.

Cadmio (Cd)

Il cadmio (Cd) è un metallo non essenziale che si trova nell'ambiente come contaminante sia di origine naturale che industriale e agricolo.

L'assorbimento orale è generalmente basso 3-5% ma è influenzato dagli stati nutrizionali per esempio le donne in età fertile che generalmente presentano basse riserve di ferro mostrano più alti livelli di assorbimento. L'assorbimento polmonare è maggiore di quello gastrointestinale (5-50%). L'assorbimento cutaneo risulta limitato nel range 0,3-0,8% (ATSDR, 2012) poiché si lega alla cheratina dell'epidermide. In ambito occupazionale si è evidenziata la possibilità di un significativo assorbimento cutaneo poiché il Cd può causare dermatiti (Health Canada, 2012).

Una volta entrato in circolo, il Cd si distribuisce ampiamente in tutti gli organi e le quantità più alte si ritrovano nel fegato, nei reni e nelle ossa, dove si accumula e rimane per tempi molto lunghi: la emivita varia tra 10 e 30 anni. Il Cd assorbito, infatti, viene espulso molto lentamente, e in quantità approssimativamente uguali, attraverso urine e feci.

Il principale organo target della tossicità è il rene, specialmente le cellule dei tubuli prossimali. Prolungate esposizioni ad alte dosi possono portare a calo della filtrazione glomerulare e a disfunzioni renali. Il Cd non interagisce direttamente con il DNA ma il suo effetto genotossico si esplica con l'induzione di stress ossidativo e inibizione della riparazione del DNA. La IARC ha classificato il Cd come cancerogeno umano (Gruppo 1) sulla base di studi occupazionali. Comunque vari studi hanno evidenziato correlazione nella popolazione generale tra incremento di rischio di cancro in vari siti e esposizione al Cd. La prolungata esposizione al cadmio può anche rendere le ossa più fragili con più alti rischi di frattura e alta incidenza di osteoporosi, sia per una demineralizzazione diretta delle ossa, sia come risultato delle disfunzioni renali (maggiore eliminazione di calcio nelle urine e mancata attivazione della vitamina D).

I livelli di Cd nelle urine sono ampiamente accettati come misura dell'accumulo renale; l'EFSA ha stabilito una relazione dose risposta tra livelli di Cd urinario e livelli urinari di B2M (beta-2-microglobulina), molecola a basso peso molecolare, biomarcatore degli effetti tubulari renali, considerati come l'effetto critico (EFSA, 2009a). Applicando un modello Hill ai dati è stato possibile calcolare una $BMDL_5 = 4 \mu\text{g Cd}/\text{g}$ di creatinina, che corretta per un fattore di 3,9 per tener conto della variabilità interindividuale del Cd urinario, risulta in un valore di 1 $\mu\text{g Cd}/\text{g}$ creatinina. Il dato è supportato da una serie di studi occupazionali e, essendo già inserita nel modello, tiene anche conto della variabilità dell'assorbimento orale. È stato quindi stimato che per rimanere sotto il valore di 1 $\mu\text{g Cd}/\text{g}$ creatinina nelle urine, l'intake giornaliero medio con la

dieta non dovrebbe essere maggiore di 0,36 µg/kg pc. Su questa base l'EFSA ha definito una dose settimanale accettabile (TWI, *Tolerable Weekly Intake*, un valore che si preferisce alla TDI per quelle sostanze che tendono a bioaccumulare come il Cd) di 2,5 µg/kg pc (EFSA, 2009a).

La dieta è la principale fonte di esposizione per la popolazione generale (non fumatori). L'esposizione media con la dieta nella popolazione europea è tra 1,9 e 3,0 µg/kg pc per settimana fino a 3,9 µg/kg pc per i grandi consumatori di cereali, vegetali, noci e legumi patate e carne, le principali fonti alimentari. I vegetariani hanno una esposizione ancora superiore che può raggiungere i 5,4 µg/kg pc per settimana. I fumatori possono avere una esposizione derivante dal fumo pari a quella con la dieta.

Cromo (Cr)

Il cromo (Cr) è un elemento che si trova in natura. Le tre forme principali sono il Cr(0), Cr(III) e Cr(VI). Il Cr(III) è la forma principale nel cibo, come costituente naturale, e negli integratori dietetici. Il Cr(VI) è presente principalmente nell'acqua da bere, come conseguenza di contaminazione ambientale derivante dalle attività umane specialmente dalla lavorazione del metallo, da impianti di conceria, di produzione di cromato e di saldature in acciaio inox. La biodisponibilità del Cr(III) è molto bassa mentre il Cr(VI) può passare attraverso le membrane cellulari, ma generalmente a contatto con i tessuti viene ridotto a Cr(III), anche se non completamente.

L'assorbimento orale per il Cr(III) è tra lo 0,13 e il 2,8% ed è influenzato dalla idrosolubilità dei composti, mentre Cr(VI) è assorbito tra l'1 e il 6,9%. L'assorbimento cutaneo del Cr(VI) è il 3% e specialmente in forma di cromati e dicromati penetra più velocemente la pelle rispetto ai composti del Cr(III). Il Cr(III) è considerato la reale causa di reazioni allergiche da contatto poiché solo il Cr(III) è capace di formare legami covalenti con le proteine della pelle precursore dell'effetto immunologico.

In generale i composti del Cr(VI) sono molto più tossici di quelli del Cr(III) per il più alto potenziale redox e la maggiore facilità del Cr(VI) ad entrare nelle cellule.

In generale i sali di Cr(III) hanno bassa tossicità orale. Risultati discordanti sono riportati per gli effetti sulla riproduzione e la tossicità dello sviluppo dovuti probabilmente ai protocolli sperimentali, al veicolo acqua vs cibo o al composto di Cr(III) testato nello specifico. Comunque in assenza di dati adeguati si può solo tener conto di potenziali effetti avversi dopo somministrazione orale di Cr(III). Sulla base dei dati disponibili il Cr(III) non è considerato cancerogeno nei modelli animali.

I NOAEL più rilevanti sono 506 e 286 mg Cr(III)/kg pc al giorno rispettivamente da uno studio sub-cronico e a lungo termine di tossicità sul ratto dopo somministrazione orale.

Dopo dosi ripetute orali gli organi target principali della tossicità da Cr(VI) sono risultati il sistema ematologico, il fegato, il rene e il tratto gastrointestinale. Sono stati evidenziati anche effetti sul sistema riproduttivo maschile dei roditori, dopo esposizioni acute e o a medio termine e anche effetti sullo sviluppo (embriotossicità e incremento di malformazioni fetali) per esposizione durante la gestazione. I composti del Cr(VI) sono genotossici *in vitro*, ma i risultati degli studi *in vivo* dopo esposizione orale sono controversi. Comunque risulta chiaramente genotossico dopo somministrazione intraperitoneale indicando che la capacità riducente del tratto gastrointestinale influisce sulla sua genotossicità *in vivo*. Il Cr(VI) se inalato (come dimostrato per esposizioni professionali) può indurre tumori. Relativamente alle conoscenze attuali non si può escludere che i dati disponibili sugli animali su una possibile attività cancerogena a seguito di ingestione non siano rilevanti anche per l'uomo. È stata identificata una *Virtual Safety Dose* (VSD) di 0,0002 µg/kg pc/d, raccomandata da ECHA e adottata anche dalla recente opinione dello SCHER (*Scientific Committee on Health and Environmental Risks*) sulla presenza di Cr(VI)

nei giocattoli (SCHER, 2015). Non ci sono indicazioni relative ad effetti cancerogeni a seguito di assorbimento cutaneo.

Il Cr(III) è la forma principale a cui si è esposti con la dieta mentre il Cr(VI) lo è attraverso l'acqua. C'è una mancanza di dati riguardo la presenza di Cr(VI) nel cibo; l'EFSA considera che nel cibo il Cr sia essenzialmente Cr(III) partendo dal presupposto che il cibo sia un mezzo riducente per cui l'ossidazione da Cr(III) a Cr(VI) non è favorita. Comunque la presenza di piccole quantità di Cr(VI) nella dieta potrebbe contribuire sostanzialmente all'esposizione. Il Cr presente nell'acqua da bere dalle molte analisi disponibili è invece essenzialmente Cr(VI) anche perché nei processi di potabilizzazione si usano agenti ossidanti che favoriscono la presenza di Cr(VI) più che di Cr(III).

L'esposizione cronica media al Cr(III) da consumo di cibo per gli adulti va da 0,6 a 1,6 µg/pc al giorno e considerando il 95° percentile va da 1,1 a 2,6 µg/kg pc al giorno.

L'esposizione cronica media al Cr(VI) da consumo di acqua da bere per gli adulti va da 1,4 a 43,7 ng/kg pc al giorno e considerando il 95° percentile va da 4,3 a 108,3 ng/kg pc al giorno.

Un contributo aggiuntivo all'esposizione al Cr(VI) può derivare dall'uso dell'acqua per la preparazione di certi cibi (per es., prodotti disidratati) che se ingeriti subito dopo la preparazione porta ad un incremento del possibile *intake* di Cr(VI) (fino a due volte rispetto al solo consumo di acqua) per la mancata riduzione del Cr(VI) a Cr(III).

Per il Cr(VI) è riportata la soglia di 1 mg/kg per l'effetto allergologico, e per il Cr(III) una soglia di 5 mg/kg avendo il Cr(III) un'azione allergizzante più moderata rispetto al Cr(VI) (Basketter *et al.*, 2003).

Nichel (Ni)

Il nichel (Ni) è presente naturalmente nel terreno, nell'acqua nelle piante e negli animali. Nei suoi composti ha principalmente valenza +2. L'entità di assorbimento dei sali di Ni è abbastanza alta a digiuno, ma si riduce significativamente in presenza di cibi come latte, caffè, tè e succo di arancia. La mattina a digiuno il Ni medio assorbito è $27 \pm 17\%$ di una dose di solfato di Ni ingerita con acqua mentre solo $0,7 \pm 0,4\%$ della stessa dose è assorbita se ingerita attraverso il cibo. Considerando anche la variabilità del dato si tiene conto della conclusione dell'EU-RAR del 2008 per cui 30% è stato definito l'assorbimento per via orale (RIVM, 2008; SCHER, 2009; EFSA, 2015).

Negli studi di tossicità subcronica il principale target della tossicità orale sono i reni, la milza, i polmoni e il sistema mieloide. I sali di Ni risultano cancerogeni nel roditore e nell'uomo per inalazione, non si ha un *database* consistente riguardo la cancerogenicità per via orale. La genotossicità del Ni osservata ad alte dosi tossiche è imputabile a meccanismi indiretti. È stato definito un NOAEL rilevante per la valutazione del rischio di 1,1 mg/kg pc al giorno da uno studio a due generazioni che considerava anche gli effetti post impianto e mortalità perinatale (EU-RAR, 2008; IARC, 2012).

Tale NOAEL era già stato usato dalla WHO nell'aggiornamento delle sue linee guida per le acque potabili (WHO, 2007) come punto di partenza ottenendo una TDI di 11 µg/kg pc al giorno. Tale valore comunque è ottenuto considerando *end-point* di tossicità generale in studi su animali, e potrebbe non essere sufficientemente protettivo per i soggetti più sensibili al Ni. Si consideri infatti che per l'uomo uno degli effetti più diffusi del Ni nella popolazione generale è legato alle dermatiti allergiche da contatto, che si sviluppano per esposizione cutanea, ma successivamente possono venir scatenate o peggiorate da esposizione orale (15-20% nella popolazione femminile, che rappresenta una sottostima, essendo tale effetto spesso non diagnosticato).

Infatti per quanto riguarda il possibile effetto sensibilizzante del Ni studi sull'uomo hanno indicato che una dose orale di 8-12 µg/kg pc (a stomaco vuoto) è in grado di esacerbare dermatiti

(eczema alle mani) in soggetti sensibili, rappresentando così un LOAEL. Le reazioni allergiche sono spesso considerate come effetti che non hanno una relazione dose-risposta definita e quindi una soglia al di sotto della quale non si ha effetto sensibilizzante, anche se i dati più recenti mostrano che in realtà soprattutto in relazione alla fase di elicitazione è possibile stabilire delle soglie. Nel 2015, l'EFSA ha definito una BMDL₁₀ di 1,1 µg/kg pc derivato dall'incidenza di dermatiti sistemiche da contatto dopo esposizione orale in volontari (EFSA, 2015). Per il Ni è riportata la soglia di 1 mg/kg per l'effetto allergologico (Basketter *et al.*, 2003).

La stima dell'*intake* di Ni da una dieta media tipo va da 80 a 150 µg/persona al giorno che può raggiungere anche i 900 µg/persona al giorno se si consumano molti prodotti ad alto contenuto di Ni. Per un adulto di 60 kg si va da 1,3 a 2,5 µg/kg pc al giorno fino ad un massimo di 15 µg/kg pc al giorno.

Piombo (Pb)

Il piombo (Pb) è un contaminante ambientale che è presente naturalmente ma per la maggior parte deriva dalle attività umane come estrazione, fusione e produzione di batterie. È un metallo che può trovarsi in forma organica e inorganica che è la predominante nell'ambiente.

L'assorbimento nel tratto gastrointestinale dipende dalle proprietà chimico fisiche del materiale ingerito e da chi viene ingerito, per cui per esempio composti solubili sono assorbiti più dai bambini che dagli adulti ed è inferiore in presenza di cibo. L'entità dell'assorbimento è mediamente 15-20% nell'adulto e più elevata nei bambini: 40-50% (RIVM, 2008) per i quali tale assorbimento sembra inoltre facilitato dalla carenza di *intake* di ferro e calcio. L'assorbimento cutaneo è generalmente considerato molto più basso stimato tra lo 0 e il 0,3% anche se ci sono pochi studi (Marinovich *et al.*, 2014).

Una volta assorbito il Pb viene trasportato nel sangue e distribuito ai tessuti molli, come fegato e reni, e alle ossa dove può accumularsi con l'età. La vita media del Pb nel sangue e nelle ossa sono rispettivamente 30 giorni e da 10 a 30 anni. Le principali informazioni sull'esposizione a Pb e i suoi effetti sulla salute è basato sulla misurazione del piombo nel sangue; i livelli determinati in ossa e denti danno indicazioni di esposizioni passate. A causa della sua persistenza nell'organismo la tossicità cronica è il punto cruciale per valutare il rischio potenziale del Pb per la salute. Studi su modelli animali (roditori e primati non umani) hanno dimostrato che esposizione cronica a bassi livelli di piombo causano: neurotossicità, specialmente deficit dell'apprendimento nell'età dello sviluppo, problemi cardiovascolari con innalzamento della pressione sanguigna e nefrotossicità. Conseguentemente l'EFSA ha identificato in questi tre *end-point* gli effetti critici avversi potenziali da tener conto per il *risk assessment* (EFSA, 2010).

Nell'uomo il sistema nervoso centrale è considerato il target principale della tossicità del Pb nell'età dello sviluppo. Infatti nei bambini un elevato livello nel sangue di Pb è stato inversamente associato ad un ridotto quoziente di intelligenza e ridotte funzioni cognitive fino ad almeno 7 anni di età. Negli adulti invece è stata evidenziata un'associazione tra aumento della pressione sistolica e malattie croniche renali e livelli relativamente bassi di Pb nel sangue. I dati sulla genotossicità indicano che il Pb può essere un debole genotossico indiretto che coinvolge la formazione di specie ossigenate reattive e interferenza con i processi di riparazione del DNA a concentrazioni non citotossiche di Pb. La IARC ha classificato il Pb inorganico come probabile cancerogeno per l'uomo (Gruppo 2A), ma nei roditori i tumori si evidenziano solo a dosi estremamente elevate di trattamento (IARC, 2006). La neurotossicità nei bambini e gli effetti cardiovascolari e nefrotossici negli adulti sono quindi gli effetti critici da considerare per il *risk assessment*.

Sono state calcolate BMDL₀₁ per gli adulti relative agli effetti sulla pressione sanguigna e per gli effetti sul rene usando i valori di Pb circolante nel sangue pari a 36 e 15 µg/L, che tradotte attraverso modelli tossicocinetici corrispondono ad una dose esterna di 1,50 µg/kg pc al giorno e

0,63 µg/kg pc al giorno; analogamente per i bambini è stata derivata una BMDL₀₁ di 12 µg/L pari ad una dose esterna di 0,50 µg/kg pc al giorno vale a dire una dose corrispondente ad un rischio aggiuntivo dell'1% per problemi dello sviluppo neurologico.

L'esposizione umana avviene tramite acqua e cibo con i cereali e derivati (tranne il riso), le patate, i vegetali e l'acqua da bere come maggiori fonti. Ci sono considerevoli differenze di esposizione a seconda della dieta tipica tra i vari paesi.

Per gli adulti l'esposizione media con la dieta è 0,36-1,24 µg/kg pc al giorno e per i forti consumatori 0,73-2,43 µg/kg pc al giorno mentre per inalazione da fumo di sigaretta 0,003-0,018 µg/kg pc al giorno.

Caratterizzazione del rischio

Per caratterizzare il rischio della presenza di alcune sostanze nei prodotti cosmetici può essere usato il MOS, o margine di sicurezza, espresso come rapporto tra il NOAEL calcolato per l'effetto critico e la stima della dose sistemica di esposizione (SED). Il MOS è pari al rapporto BMDL o NOAEL/SED. Valori di MOS pari o superiori a 100 dovrebbero suggerire che l'uso di tale ingrediente non sia rischioso per l'uomo.

In riferimento ai bambini è opinione dell'SCCS (SCCS, 2012) che non sia sempre necessario aggiungere fattori di sicurezza per i prodotti cosmetici per bambini (es. prodotti per l'igiene quotidiana), poiché la differenza tra adulti e bambini è già contemplata nella valutazione delle singole sostanze, inclusa nel fattore di sicurezza per le differenze intraspecifiche: conseguentemente un MOS minimo di 100 tiene conto di questo aspetto. Seppur non aggiungendo fattori di sicurezza aggiuntivi, nel caso dei prodotti per bambini è necessario considerare come mostrato nei capitoli precedenti anche altre vie espositive oltre la cutanea, riferendosi a specifici comportamenti (ad esempio, l'abitudine di portarsi frequentemente le mani e altri oggetti alla bocca).

Inoltre nel caso dei bambini per alcuni tipi di cosmetico si possono ravvisare condizioni particolari. Infatti una trousse di trucchi per bambine o matite e colori per il *face painting*, oltre che ad essere considerati alla stregua di un cosmetico, in realtà evidenziano un utilizzo ludico. Si definiscono giocattoli:

“gli articoli progettati o destinati in modo esclusivo o meno, ad essere utilizzati per fini di gioco da bambini di età inferiore a 14 anni” (DM 11 aprile 2011, n. 54).

La dicitura “in modo esclusivo o meno” sta ad indicare che il prodotto, per essere considerato un giocattolo, non deve essere esclusivamente destinato ai fini di gioco, per cui i prodotti aventi doppia funzione sono considerati alla stregua di giocattoli (es. un portachiavi cui è attaccato un orsacchiotto). È evidente quindi che anche la trousse o i colori per il *face painting* possono essere utilizzati palesemente per gioco e non come prodotto di bellezza e quindi considerati anche un giocattolo, soggetto alla legislazione che regola la sicurezza dei giocattoli. Secondo il parere dello SCHER (SCHER, 2010) per un giocattolo la % massima di TDI (o di un altro valore di riferimento) attribuibile alla esposizione associata al loro uso è pari al 10%. Quindi, il MOS minimo in questo caso deve essere considerato pari a 1000.

Nel caso del Cr(VI), che ha effetti cancerogeni e non essendo definita una soglia l'esposizione va confrontata con la VSD (0,0002 µg/kg pc al giorno) che è stata derivata per il Cr(VI), senza applicare l'approccio di valutazione di un MOS.

Sotto sono riportati i valori di assorbimento (cutaneo e orale) e di riferimento per i metalli indicati nel paragrafo precedente:

– *Valori di assorbimento.*

As: orale 95%, cutaneo 1,9%

Cr: orale 3% (CrIII), 7% (CrVI), cutaneo 3% (CrVI)

Ni: orale 30%, cutaneo 0,2%

Pb: orale 50% bambini e 30% adulti, cutaneo 0,3%

Cd: orale 5%, cutaneo 0,8%

– *Valori di riferimento.*

As: BMDL₀₁ tra 0,3 e 8 µg/kg pc al giorno per As inorganico (utilizzato in via precauzionale il valore più basso)

Cr: VSD di 0,0002 µg/kg pc al giorno

Ni: BMDL₁₀ di 1,1 µg/kg pc al giorno

Pb: BMDL₀₁ è 0,50 µg/kg pc al giorno per i bambini, 0,63 µg/kg pc al giorno per gli adulti

Cd: TWI 2,5 µg/kg pc a settimana

ALCUNI CASI STUDIO

Ai fini esemplificativi di seguito saranno descritti alcuni casi di valutazione del rischio per la salute di prodotti cosmetici contenenti metalli, utilizzando gli scenari di esposizione descritti nei capitoli precedenti e le informazioni relative al profilo tossicologico, ai valori di assorbimento e ai valori di riferimento *health based*. La valutazione sarà condotta considerando l'uso del prodotto da parte sia degli adulti che dei bambini, quando rilevante.

È bene premettere che, come spesso si trova indicato nelle note tecniche dei rapporti di prova che arrivano all'ISS per richieste di revisione di analisi o di pareri di sicurezza, le tecniche analitiche usate prevalentemente dai laboratori sul territorio permettono solo l'individuazione elementare del metallo senza l'indicazione della natura e valenza dei metalli analizzati. Questo è particolarmente problematico per As e Cr, le cui forme diverse hanno caratteristiche tossicologiche distinte, come descritto nei paragrafi precedenti.

Per la valutazione di sicurezza è stato quindi utilizzato un approccio a step successivi (*tiered approach*): come 'caso peggiore' è stato considerato che As e Cr siano totalmente presenti nella loro forma più tossica per cui As inorganico e Cr(VI) con utilizzo dei parametri (assorbimento, valori di riferimento, ecc.) a loro associati. Questo rappresenta un caso peggiore non realistico, ma se con queste assunzioni non si osserva alcun rischio per il consumatore, non è necessario procedere con un *refinement* della valutazione in un *tier* successivo. Ad esempio come possibile raffinamento della valutazione per il Cr, può essere calcolata la percentuale di Cr(VI) che porterebbe ad uguagliare il valore di riferimento (VDS); per percentuali intorno o inferiori al 10% non si possono escludere rischi per la salute del consumatore, perché tali contenuti % sono possibili. In ogni caso sarebbe auspicabile eseguire analisi di speciazione per verificare la presenza di Cr(VI) (vedi "Metodo di determinazione del Cr esavalente" in questo rapporto).

Per quanto riguarda la valutazione dei cosmetici, un MOS di 100 è considerato sufficiente, anche se esistono alcune eccezioni descritte negli specifici casi.

È inoltre importante sottolineare che l'approccio del MOS non è stato utilizzato nel caso del Cr(VI), essendo stata definita una VSD con cui va direttamente confrontata l'esposizione.

Bagnoschiuma

Qualora un bagnoschiuma contenesse i seguenti livelli di metalli:

- As totale = $0,100 \pm 0,037$ mg/kg
- Cr totale = $0,650 \pm 0,198$ mg/kg
- Ni = $<0,080$ mg/kg
- Pb = $1,326 \pm 0,300$ mg/kg

la valutazione del rischio dovrebbe essere condotta come di seguito descritto.

Considerando i valori riportati nella Tabella 2, il prodotto è "conforme" avendo un contenuto di tutti i metalli inferiore alle tracce ritenute tecnicamente inevitabili. Ma anche un campione "conforme" potrebbe rappresentare un rischio per il consumatore, per cui per ottemperare a quanto richiesto dall'articolo 3 del Regolamento (CE) 1223/2009 è necessario procedere alla valutazione di sicurezza.

Come indicato nelle note introduttive, per As e Cr è stato utilizzato un approccio a *step* successivi.

Per quanto riguarda il prodotto un MOS di 100 è considerato sufficiente; inoltre per gli adulti viene applicato un RF =0,01 mentre per i bambini un RF =1. In base ai valori riportati in Tabella 7 non si ravvisano rischi di effetti sistemici per gli adulti e i bambini di tutte e tre le fasce di età relativamente alla presenza di As e Ni.

Tabella 7. Calcolo del MOS per l'uso del bagnoschiuma negli adulti e nei bambini (3 fasce di età)

	Concentrazione nel prodotto (mg/kg)	Assorbimento cutaneo (%)	NOAEL o BDML (mg/kg pc/d)	SED cutaneo (mg/kg pc/d)	MOS	Fascia di età
As	0,11	1,9	0,0003	6,54E-09	46130	Adulti
	0,11	1,9	0,0003	1,4E-06	217	0-3 mesi
	0,11	1,9	0,0003	1,0E-06	275	6-12 mesi
	0,11	1,9	0,0003	1,2 E-06	252	1-3 anni
Ni	0,65	0,2	0,0011	5,0E-10	2209427	Adulti
	0,65	0,2	0,0011	1,1E-07	10395	0-3 mesi
	0,65	0,2	0,0011	8,3E-08	13182	6-12 mesi
	0,65	0,2	0,0011	9,1E-08	12083	1-3 anni
Pb	1,326	0,3	0,00063	1,2E-08	50896	Adulti
	1,326	0,3	0,0005	2,6E-06	190	0-3 mesi
	1,326	0,3	0,0005	2,1E-06	241	6-12 mesi
	1,326	0,3	0,0005	2,3E-06	221	1-3 anni

Per il Pb nel caso degli adulti non si ravvisano rischi per effetti sistemici (MOS pari a 50896). Nel caso dei bambini il MOS è superiore a 100 in tutte le fasce di età (190-241), quindi non configura un rischio. Tuttavia considerando:

- la gravità degli effetti legati allo sviluppo neurologico nei bambini
- la difficoltà nel controllare/ridurre l'*intake* con la dieta, con conseguente necessità di diminuire l'esposizione attraverso i prodotti di uso voluttuario

si ritiene opportuno sottolineare che i prodotti cosmetici destinati ai bambini non dovrebbero contenere Pb.

L'uso del prodotto da bagno corrisponde ad una esposizione al Cr(VI) di 0,0001 µg/kg pc negli adulti e di 0,0129 µg/kg pc (0-3 mesi), 0,0102 µg/kg pc (6-12 mesi) e 0,0111 µg/kg pc (1-3 anni) nei bambini. Nel caso degli adulti il valore è inferiore alla VSD (0,0002 µg/kg pc al giorno) mentre nei bambini, in tutte le fasce di età, i valori superano la VSD, per cui il suo uso rappresenterebbe un rischio se tutto il Cr fosse Cr(VI). Nella consapevolezza che questo rappresenti uno scenario non ragionevole (*worst case*), è stato calcolato come 'raffinamento' della valutazione, che basterebbe un contenuto di Cr(VI) pari circa il 2% del Cr totale per uguagliare la VSD in tutte e tre le fasce di età. Non essendo disponibile la speciazione del Cr, che sarebbe auspicabile nelle analisi, la presenza di Cr(VI) nella percentuale indicata non può essere ritenuta improbabile e quindi il rischio per i bambini non può essere escluso.

In conclusione per il bagnoschiuma, che mostra livelli di metalli al di sotto dei livelli identificabili come tracce tecnicamente inevitabili, non si riscontrano effetti sistemici per gli adulti dovuti alla presenza dei metalli pesanti rilevati.

Non possono invece essere esclusi rischi per la salute dei bambini per effetti sistemici dovuti alla presenza di Cr.

Dentifricio

Qualora un dentifricio contenesse i seguenti livelli di metalli:

- As totale = <0,019 mg/kg
- Cr totale = 0,503 ± 0,178 mg/kg
- Ni = 0,317 ± 0,183 mg/kg
- Pb = 0,684 ± 0,147 mg/kg

la valutazione del rischio dovrebbe essere condotta come di seguito descritto.

Considerando i valori riportati nella Tabella 2, il prodotto non è “conforme” avendo un contenuto di Pb superiore alle tracce ritenute al momento tecnicamente inevitabili per i dentifrici. Comunque, sia per il Pb sia per gli altri metalli, in base a quanto richiesto dall’articolo 3 del Regolamento è necessario procedere alla valutazione di sicurezza.

Per quanto riguarda il prodotto un MOS di 100 è considerato sufficiente.

Tabella 8. Calcolo del MOS per l’uso del dentifricio negli adulti e nei bambini (3 fasce di età)

	Concentrazione nel prodotto (mg/kg)	Assorbimento cutaneo (%)	NOAEL o BDML (mg/kg pc/d)	SED cutaneo (mg/kg pc/d)	MOS	Fascia di età
As	0,019	95	0,0003	4,8E-08	6233	Adulti
	0,019	95	0,0003	1,3E-06	235	2-4 anni
	0,019	95	0,0003	5,8E-07	515	3-6 anni
	0,019	95	0,0003	1,5E-07	2033	6-11 anni
Ni	0,317	30	0,0011	2,5E-07	4337	Adulti
	0,317	30	0,0011	6,7E-06	164	2-4 anni
	0,317	30	0,0011	3,1E-06	359	3-6 anni
	0,317	30	0,0011	7,8E-07	1415	6-11 anni
Pb	0,684	30	0,00063	5,5E-07	1151	Adulti
	0,684	50	0,0005	2,4E-05	21	2-4 anni
	0,684	50	0,0005	1,1E-05	45	3-6 anni
	0,684	50	0,0005	2,8E-06	179	6-11 anni

Considerando i valori di MOS, riportati in Tabella 8, per Pb, Ni e As, i livelli dei metalli riscontrati nel dentifricio oggetto della presente valutazione non sono associabili a potenziali rischi per la salute del consumatore adulto relativamente all’induzione di effetti sistemici. Lo stesso dicasi per l’esposizione al Cr(VI) di 0,00009 µg/kg pc, che risulta inferiore alla VSD (0,0002 µg/kg pc al giorno), anche nella ipotesi ‘peggiore che tutto il Cr fosse presente come CrVI. Non è quindi necessario procedere al tier successivo.

Tuttavia, la concentrazione di Pb pari a 0,684±0,147 mg/kg supera il limite di 0,5 mg/kg identificato come traccia tecnicamente inevitabile nei prodotti cosmetici (dentifricio), secondo quanto indicato nel documento del BfR pubblicato nel 2017 (BVL, 2017) (Tabella 2). Alla luce di queste considerazioni, il contenuto di Pb, seppur non associabile a rischio di effetti sistemici negli adulti, supera i livelli tecnicamente inevitabili, raggiungibili se fossero impiegate materie prime e/o tecnologie produttive maggiormente aderenti alle Buone Pratiche di Fabbricazione vigenti per i prodotti cosmetici. Il prodotto non è conforme, pur non essendo rischioso per la popolazione adulta.

Considerando i valori di MOS per Ni e As i livelli di questi metalli non sono associabili a potenziali rischi sistemici per la salute dei bambini delle fasce di età considerate.

Per quanto riguarda il Cr, se tutto il Cr fosse Cr(VI), l'uso del dentifricio corrisponderebbe ad una esposizione al Cr(VI) di 0,00026 µg/kg pc (2-4 anni), 0,0011 µg/kg pc (3-6 anni) e 0,0003 µg/kg pc (6-11 anni), per cui i valori sono al di sopra della VSD in tutte le fasce di età, e il suo uso rappresenterebbe un rischio. È necessario perciò procedere a un *refinement* della valutazione: è stato calcolato un contenuto di Cr(VI) pari circa al 60% del Cr totale uguaglierebbe la VSD in tutte e tre le fasce di età. Considerando improbabile la presenza di tali livelli di Cr(VI) nel prodotto, si ritiene che non vi siano rischi sistemici nemmeno per i bambini. Si sottolinea che per poter effettuare una più aderente valutazione quantitativa del rischio la speciazione sarebbe necessaria.

Relativamente al Pb nei bambini il MOS è < 100 nelle fasce di età minori (2-6 anni) per cui il prodotto risulta rischioso.

Per la fascia di età 6-11 anni il valore è molto vicino quello di *cut-off* e considerando:

- la gravità degli effetti legati allo sviluppo neurologico nei bambini
- la difficoltà nel controllare/ridurre l'*intake* con la dieta, con conseguente necessità di diminuire l'esposizione attraverso i prodotti di uso voluttuario

si ritiene opportuno sottolineare che i prodotti cosmetici destinati ai bambini **non** dovrebbero contenere Pb.

Concludendo, in considerazione del contenuto di Pb, oltre che non “conforme” avendo un contenuto superiore alle tracce ritenute al momento tecnicamente inevitabili per i dentifrici, risulta anche rischioso per alcune fasce di età.

Smalto

Qualora uno smalto contenesse i seguenti livelli di metalli:

- As totale = 0,049 ± 0,024 mg/kg
- Cr totale = 0,383 ± 0,166 mg/kg
- Ni = 10,6 ± 2,4 mg/kg
- Pb = 0,361 ± 0,135 mg/kg

la valutazione del rischio dovrebbe essere condotta come di seguito descritto.

Considerando i valori riportati nella Tabella 2, il prodotto non è “conforme” avendo un contenuto di Ni superiore alle tracce ritenute al momento tecnicamente inevitabili. Comunque, sia per il Ni sia per gli altri metalli, al di sotto dei limiti, per ottemperare a quanto richiesto dall'articolo 3 del Regolamento è necessario procedere alla valutazione di sicurezza.

Per quanto riguarda lo smalto un MOS di 100 è considerato sufficiente per gli adulti, ma per i bambini l'aspetto ludico dell'uso del prodotto è evidente, per cui il MOS applicato è di 1000.

In base ai valori riportati in Tabella 9 non si ravvisano rischi di effetti sistemici per adulti e bambini relativamente ad As, Pb. Nel caso del Ni, non si configurano effetti sistemici per gli adulti, mentre per i bambini l'uso dello smalto ha un MOS < 1000, per cui non è possibile escludere rischi per effetti sistemici in entrambe le fasce di età.

Considerando il Cr Totale come se fosse tutto CrVI, l'uso dello smalto corrisponde ad una esposizione al Cr(VI) di 0,00006 µg/kg pc negli adulti e di 0,00018 µg/kg pc (3-6 anni), 0,00011 µg/kg pc (6-11 anni) nei bambini. Nel caso sia degli adulti che dei bambini i valori sono inferiori alla VSD (0,0002 µg/kg pc al giorno), perciò non è necessario passare al *tier* successivo.

Tabella 9. Calcolo del MOS per l'uso dello smalto negli adulti e nei bambini (2 fasce di età)

	Concentrazione nel prodotto (mg/kg)	Assorbimento orale (%)	Assorbimento cutaneo (%)	NOAEL o BDML (mg/kg pc/d)	SED orale + cutaneo (mg/kg pc/d)	MOS	Fascia di età
As	0,049	95	1,9	0,0003	1,2E-05	24629	Adulti
	0,049	95	1,9	0,0003	1,0E-04	2871	3-6 anni
	0,049	95	1,9	0,0003	6,1E-05	4909	6-11 anni
Ni	10,6	30	0,2	0,0011	8,1E-04	1362	Adulti
	10,6	30	0,2	0,0011	6,7E-03	165	3-6 anni
	10,6	30	0,2	0,0011	3,9E-03	283	6-11 anni
Pb	0,361	30	0,3	0,00063	2,8E-05	22738	Adulti
	0,361	50	0,3	0,0005	3,8E-04	1674	3-6 anni
	0,361	50	0,3	0,0005	2,2E-04	2862	6-11 anni

In conclusione, non si stimano rischi di effetti sistemici relativamente ai livelli di As, Cr e Pb sia negli adulti che nei bambini. Il Nichel tuttavia è presente a livelli superiori alle tracce ritenute al momento tecnicamente inevitabili e che non si escludono potenziali reazioni di sensibilizzazione e/o allergia cutanea, soprattutto in soggetti già sensibilizzati, indipendentemente dall'età, rendendo il prodotto non idoneo all'uso; ciò anche in considerazione della mancata indicazione di presenza di Ni in etichetta, necessaria per una corretta informazione del consumatore. Inoltre nei bambini della fascia di età 3-6 anni e 6-11 anni non è possibile escludere rischi anche per effetti sistemici. Il prodotto in esame risulta non idoneo all'uso né per gli adulti né per i bambini.

Rossetto

Qualora un rossetto contenesse i seguenti livelli di metalli:

- As totale = $0,043 \pm 0,019$ mg/kg
- Cr totale = $0,310 \pm 0,118$ mg/kg
- Ni = $2,485 \pm 0,448$ mg/kg
- Pb = $0,132 \pm 0,057$ mg/kg

la valutazione del rischio dovrebbe essere condotta come di seguito descritto.

Considerando i valori riportati nella Tabella 2, il prodotto non è "conforme" avendo un contenuto di Ni superiore alle tracce ritenute tecnicamente inevitabili. Comunque sia per il Ni che per gli altri metalli, al di sotto dei limiti, per ottemperare a quanto richiesto dall'articolo 3 del Regolamento è necessario procedere alla valutazione di sicurezza.

Per quanto riguarda il rossetto un MOS di 100 è considerato sufficiente per gli adulti, ma per i bambini l'aspetto ludico dell'uso del prodotto è evidente per cui il MOS applicato è di 1000.

In base ai valori riportati in Tabella 10 non si ravvisano rischi di effetti sistemici per gli adulti e i bambini relativamente ad As e Pb.

Nel caso del Ni l'uso del rossetto nella fascia di età 3-6 anni, ha un MOS < 1000 per cui non è possibile escludere rischi per effetti sistemici.

L'uso del rossetto corrisponde ad una esposizione al Cr(VI) di $0,00002$ µg/kg pc negli adulti e di $0,00004$ µg/kg pc (3-6 anni), $0,00002$ µg/kg pc (6-11 anni) nei bambini, assumendo che tutto il Cr sia presente nella sua forma più tossica (primo tier).

Tabella 10. Calcolo del MOS per l'uso del rossetto negli adulti e nei bambini (2 fasce di età)

	Concentrazione nel prodotto (mg/kg)	Assorbimento cutaneo (%)	NOAEL o BDML (mg/kg pc/d)	SED cutaneo (mg/kg pc/d)	MOS	Fascia di età
As	0,043	95	0,0003	3,9E-08	7730	Adulti
	0,043	95	0,0003	6,6E-08	4553	3-6 anni
	0,043	95	0,0003	3,9E-08	7785	6-11 anni
Ni	1,485	30	0,0011	7,1E-07	1553	Adulti
	1,485	30	0,0011	1,2E-06	915	3-6 anni
	1,485	30	0,0011	7,0E-07	1564	6-11 anni
Pb	0,132	30	0,00063	3,8E-08	16746	Adulti
	0,132	50	0,0005	1,1E-07	4697	3-6 anni
	0,132	50	0,0005	6,2E-08	8030	6-11 anni

Tuttavia sia per gli adulti che per i bambini i valori sono inferiori alla VSD (0,0002 µg/kg pc al giorno) e non è necessario procedere ulteriormente nella valutazione.

In conclusione, non si stimano rischi di effetti sistemici relativamente ai livelli di As, Cr e Pb sia negli adulti che nei bambini. L'uso del rossetto oggetto della valutazione non pone rischi per effetti sistemici negli adulti e nei bambini della fascia di età 6-11 anni relativamente al Ni; tuttavia questo metallo è presente a livelli che non escludono potenziali reazioni di sensibilizzazione e/o allergia cutanea, soprattutto in soggetti già sensibilizzati, rendendo il prodotto non idoneo all'uso; ciò anche in considerazione della mancata indicazione di presenza di Ni in etichetta, necessaria per una corretta informazione del consumatore. Inoltre nei bambini della fascia di età 3-6 anni non è possibile escludere rischi anche per effetti sistemici.

Il prodotto in esame risulta non idoneo all'uso né per gli adulti né per i bambini.

Fondotinta e face paint

Qualora un fondotinta o un *face paint* contenesse i seguenti livelli di metalli:

- As totale = 1,32 ± 0,019 mg/kg
- Cr totale = 3,36 ± 0,118 mg/kg
- Ni = 2,54 ± 0,448 mg/kg
- Pb = 1,26 ± 0,057 mg/kg
- Cd = 0,54 ± 0,037 mg/kg

la valutazione del rischio dovrebbe essere condotta come di seguito descritto.

Considerando i valori riportati nella Tabella 2, il prodotto non è "conforme" avendo un contenuto di As, Cr, Ni e Cd superiore alle tracce ritenute tecnicamente inevitabili. Comunque per ottemperare a quanto richiesto dall'articolo 3 del Regolamento è necessario procedere alla valutazione di sicurezza.

Per quanto riguarda il fondotinta un MOS di 100 è considerato sufficiente per gli adulti, ma per i bambini l'aspetto ludico dell'uso del prodotto è evidente per cui il MOS applicato è di 1000.

In base ai valori riportati in Tabella 11 non si ravvisano rischi di effetti sistemici per gli adulti associati alla presenza di As, Cd, Ni, Pb.

Riguardo i bambini la fascia di età di 3-6 anni è a rischio di effetti sistemici per As, Cd, Ni, Pb con un MOS < 1000. La fascia di età 6-11 anni presenta un rischio di effetti sistemici solo per As.

Tabella 11. Calcolo del MOS per l'uso del fondotinta/face paint negli adulti e nei bambini (2 fasce di età)

	Concentrazione nel prodotto (mg/kg)	Assorbimento orale (%)	Assorbimento cutaneo (%)	NOAEL o BDML (mg/kg pc/d)	SED orale + cutaneo (mg/kg pc/d)	MOS	Fascia di età**
As	1,32	-	1,9	0,0003	2,1E-05	14354	Adulti
	1,32	95	1,9	0,0003	2,8E-03	107	3-6 anni
	1,32	95	1,9	0,0003	1,6E-03	182	6-11 anni
Ni	2,54	-	0,2	0,0011	4,2E-06	259843	Adulti
	2,54	30	0,2	0,0011	1,6E-03	690	3-6 anni
	2,54	30	0,2	0,0011	9,3E-04	1180	6-11 anni
Pb	1,26	-	0,3	0,00063	3,2E-06	200000	Adulti
	1,26	50	0,3	0,0005	8,1E-04	782	3-6 anni
	1,26	50	0,3	0,0005	4,7E-04	1338	6-11 anni
Cd	0,54	-	0,3	0,0025*	1,6E-04	15562	Adulti
	0,54	5	0,3	0,0025*	3,3E-03	748	3-6 anni
	0,54	5	0,3	0,0025*	2,0E-03	1279	6-11 anni

* Valore di TWI per cui per il calcolo del SED cutaneo e orale è stata considerata una quantità di fondotinta/face paint totale settimanale pari a 3570 mg di prodotto per gli adulti e 9800 mg (di cui il 15% ingerito) per le due fasce di età dei bambini.

**Negli adulti è stato considerato solo l'assorbimento cutaneo

Se tutto il Cr fosse Cr(VI), l'uso del fondotinta/face paint corrisponde ad una esposizione al Cr(VI) di 0,000084 µg/kg pc negli adulti e di 0,0016 µg/kg pc (3-6 anni), 0,00095 µg/kg pc (6-11 anni) nei bambini. Solo nel caso dei bambini i valori sono superiori alla VSD (0,0002 µg/kg pc al giorno) per cui l'uso del prodotto rappresenterebbe un rischio ed è quindi necessario precedere al tier successivo. È stato calcolato che sarebbe necessario un contenuto di Cr(VI) pari circa al 12% e 21% del Cr totale per uguagliare la VSD rispettivamente per le fasce 3-6 anni e 6-11 anni. Non essendo disponibile la speciazione del Cr, che sarebbe auspicabile nelle analisi, la presenza di Cr(VI) nella percentuale indicata del 12% può essere ritenuta possibile e quindi il rischio per i bambini nella fascia di età più bassa non può essere escluso.

Concludendo, l'uso del fondotinta/face paint oggetto della valutazione pone rischi per effetti sistemici nei bambini dovuti al Cr e As in entrambe le fasce di età e dovuti a Cd, Pb e Ni per la fascia di età 3-6 anni.

Nel caso degli adulti non si ravvisano rischi sistemici ma Ni e Cr sono presenti a livelli che non escludono potenziali reazioni di sensibilizzazione e/o allergia cutanea, soprattutto in soggetti già sensibilizzati, rendendo il prodotto non idoneo all'uso; ciò anche in considerazione della mancata indicazione della loro presenza in etichetta, necessaria per una corretta informazione del consumatore.

Il prodotto in esame risulta non idoneo all'uso né per gli adulti né per i bambini.

BIBLIOGRAFIA

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). *AOAC Peer Verified Methods Program – Manual on Policies and Procedures*. Gaithersburg: AOAC International; 1998. Disponibile all'indirizzo: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.196.7223&rep=rep1&type=pdf>; ultima consultazione 30/05/19.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). *Toxicological profile for Cadmium*. Atlanta: Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR); 2012. Disponibile all'indirizzo: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp5.pdf>; ultima consultazione 30/05/19
- Barwick V (Ed.). *Eurachem/CITAC Guide: Guide to Quality in Analytical Chemistry: An Aid to Accreditation* (3rd ed). Teddington: Laboratory of the Government Chemist; 2016. Disponibile all'indirizzo: https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/Eurachem_CITAC_QAC_2016_EN.pdf; ultima consultazione 30/05/19.
- Barwick VJ, Ellison SLR (Ed). *VAM project 3.2.1 Development and harmonization of measurement uncertainty principles – Part (d): Protocol of uncertainty evaluation from validation data (2000). Report No: LGC/VAM/1998/088*. Teddington: Laboratory of the Government Chemist; 2000. Disponibile all'indirizzo: http://blpd.dss.go.th/training/dwdocuments/enews/VAM_uncertainty-0452.pdf; ultima consultazione 30/05/19.
- Basketter DA, Angelini G, Ingber A, Kern PS, Menné T. Nickel, chromium and cobalt in consumer products: revisiting safe levels in the new millennium. *Contact Dermatitis* 2003;49(1):1–7.
- BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung). *Kosmetische Mittel: BfR empfiehlt Schwermetallgehalte über Reinheitsanforderungen der Ausgangsstoffe zuregeln*. Berlin: Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR); 2006. Disponibile all'indirizzo: https://mobil.bfr.bund.de/cm/343/kosmetische_mittel_bfr_empfiehl_schwermetallgehalte_ueber.pdf; ultima consultazione 30/05/19.
- BLV (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit). *Berichte zur Lebensmittelsicherheit Monitoring 2010 - Monitoring*. Berlin: Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BLV); 2011.
- BLV (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit). *Berichte zur Lebensmittelsicherheit Monitoring 2011 - Monitoring*. Berlin: Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BLV); 2012.
- BLV (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit). *Berichte zur Lebensmittelsicherheit Monitoring 2012 - Monitoring*. Berlin: Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BLV); 2013.
- BLV (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit). Technically avoidable heavy metal contents in cosmetic products. *J Consum Prot Food Saf* 2017;12:51-3.
- Bocca B, Mattei D, Pino A, Alimonti A. Uncertainty evaluation in the analysis of biological samples by sector field inductively coupled plasma mass spectrometry. Part A: Measurements of Be, Cd, Hg, Ir, Pb, Pd, Pt, Rh, Sb, U, Tl and W in human serum. *Rapid Comm Mass Spect* 2010;24(16):2363-9.
- Bocca B, Mattei D, Pino A, Alimonti A. Uncertainty evaluation in the analysis of biological samples by sector field inductively coupled plasma mass spectrometry. Part B: measurements of As, Co, Cr, Mn, Mo, Ni, Sn and V in human serum. *Rapid Comm Mass Spect* 2011a; 25:453-458.
- Bocca B, Mattei D, Pino A, Alimonti A. Monitoring of environmental metals in human blood: the need for data validation. *Curr Anal Chem* 2011b;7(4):269-76.
- Bocca B, Pino A, Alimonti A, Forte G. Toxic metals contained in cosmetics: a status report. *Regul Toxicol Pharmacol* 2014;68(3):447–67.

- Bocca B, Senofonte O, Petrucci F. Hexavalent chromium in tattoo inks: Dermal exposure and systemic risk. *Contact Dermatitis* 2018;1-8.
- EA (European co-operation for Accreditation). *EA guidelines on the expression of uncertainty in quantitative testing*. Paris: EA; 2003. (EA-4/16 G:2003). Disponibile all'indirizzo: <https://european-accreditation.org/wp-content/uploads/2018/10/ea-4-16-g-rev00-december-2003-rev.pdf>; ultima consultazione 30/05/19.
- EFSA (European Food Safety Authority). Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission related to the Tolerable Upper Intake Level of Nickel. *EFSA Journal* 2005;146:1-21.
- EFSA (European Food Safety Authority). EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM); Scientific Opinion on Cadmium in Food. *EFSA Journal* 2009a;980:1-139.
- EFSA (European Food Safety Authority). Scientific Opinion on Arsenic in Food. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). *EFSA Journal* 2009b;7(10):1351.
- EFSA (European Food Safety Authority). EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM); Scientific Opinion on Lead in Food. *EFSA Journal* 2010;8(4):1570.
- EFSA (European Food Safety Authority). Guidance on selected default values to be used by the EFSA Scientific Committee, Scientific Panels and Units in the absence of actual measured data. *EFSA Journal* 2012;10(3): 2579.
- EFSA (European Food Safety Authority). EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM); Scientific Opinion on Lead in Food. *EFSA Journal* 2013;8(4):1570.
- EFSA (European Food Safety Authority). Dietary exposure to inorganic arsenic in the European population. *EFSA Journal* 2014a;12(3):3597.
- EFSA (European Food Safety Authority). EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM); Scientific Opinion on the risks to public health related to the presence of chromium in food and drinking water. *EFSA Journal* 2014b;12(3):3595.
- EFSA (European Food Safety Authority). EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM); Scientific Opinion on the risks to public health related to the presence of nickel in food and drinking water. *EFSA Journal* 2015;13(2):4002.
- Ellison SLR, Williams A (Ed.). *Eurachem/CITAC Guide CG4: Quantifying uncertainty in analytical measurement*. 3rd ed; EURACHEM; 2012. (QUAM:2012.P1) Disponibile all'indirizzo: https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/QUAM2012_P1.pdf; ultima consultazione 30/05/19.
- EU-RAR (European Union-Risk Assessment Report). *Nickel and nickel compounds*. Copenhagen: European Union Risk Assessment Report (EU); 2008. Disponibile all'indirizzo: <https://echa.europa.eu/documents/10162/cefda8bc-2952-4c11-885f-342aac769b3>; ultima consultazione 30/05/19
- EUROLAB (European Federation of National Associations of Measurement, Testing and Analytical Laboratories) *Measurement uncertainty revisited: Alternative approaches to uncertainty evaluation*. Paris; EUROLAB Technical Secretariat, 2007. (EUROLAB Technical Report 1/2007). Disponibile all'indirizzo: <http://www.eurolab.org/documents/1-2007.pdf>; ultima consultazione 30/05/19.
- Europa. Regolamento (CE) n. 1223/2009 del Parlamento Europeo e del consiglio del 30 Novembre 2009 sui prodotti cosmetici. *Gazzetta Ufficiale dell'Unione europea* L 342/59 del 22 dicembre 2009.
- Ficheux AS, Morisset T, Chevillotte G, Postic C, Roudot AC. Probabilistic assessment of exposure to nail cosmetics in French consumers. *Food Chem Toxicol* 2014;66:36-43.
- Health Canada. *Guidance on Heavy Metal Impurities in Cosmetics*. Ottawa: Government of Canada; 2012. Disponibile all'indirizzo: <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/consumer-product->

- safety/reports-publications/industry-professionals/guidance-heavy-metal-impurities-cosmetics.html; ultima consultazione 30/05/19.
- IARC (International Agency for Research on Cancer). *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Inorganic and Organic Lead Compounds*. Vol. 87. Lyon: IARC, 2006. Disponibile all'indirizzo <https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/06/mono87.pdf>; ultima consultazione 30/05/19.
- IARC (International Agency for Research on Cancer). *Nickel and nickel compounds*. In: *Chemical agents and related occupations IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks of chemicals to humans*. Vol. 100C. Lyon: IARC, 2012. Disponibile all'indirizzo <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100C/mono100C-10.pdf>; ultima consultazione 30/05/19.
- ISO 11843-1. *Capability of Detection – Part 1 Terms and Definitions*. Geneva: International Organization for Standardization; 1997.
- ISO 21748. *Guidance for the use of repeatability, reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty estimation*. Geneva: International Organization of Standardization; 2017.
- ISO 3534-1. *Statistics – Vocabulary and Symbols – Part 1: General Statistical Terms and Terms Used in Probability*. Geneva: International Organization for Standardization; 2006.
- ISO 5725. *Standard Accuracy (Trueness and Precision) of Measurement Methods and Results, Part 1–6*. Geneva: International Organization for Standardization; 1994.
- ISO 7870-2. *Carte di controllo - Parte 2: Carte di controllo di Shewart*. Geneva: International Organization for Standardization; 2014.
- ISO/IEC 17025. *General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories*. Geneva: International Organization for Standardization; 2018.
- ISO/IEC 98. *Uncertainty of measurement -- Part 3: Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM:1995)*. Geneva: International Organization for Standardization; 2008.
- ISS (Istituto Superiore di Sanità). *Attività di p.g. per violazione art. 7 della legge 11.10.86 n. 713. Parere tecnico su concentrazione di cromo trivalente* (prot. 45187 del 16/09/09). Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2009b.
- ISS (Istituto Superiore di Sanità). *Proposta di limiti ammissibili per alcuni elementi tossici inquinanti nei prodotti cosmetici* (Prot. n. CSC 0342/09 del 11/07/09). Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2009a.
- LGC (Laboratory of the Government Chemist). *In-House Method Validation – A Guide for Chemical Laboratories*. Teddington: LGC, 2003.
- LGC/VAM (Laboratory of the Government Chemist/Valid Analytical Measurement). *Preparation of Calibration Curves. A guide to best Practice*. Teddington: LGC; 2003. Disponibile all'indirizzo: <https://biosearch-cdn.azureedge.net/assetsv6/Calibration-curve-guide.pdf>; ultima consultazione 30/05/19.
- Magnusson B, Örnemark U (Ed). *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics* (2nd ed). EURACHEM; 2014. Disponibile all'indirizzo: https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_EN.pdf; ultima consultazione 30/05/19.
- Marinovich M, Boraso MS, Testai E, Galli CL. Metals in cosmetics: An *a posteriori* safety evaluation. *Regul Toxicol Pharmacol* 2014;69(3):416–424.
- Ministero della Salute. Decreto 27 settembre 2018. Procedure di controllo del mercato interno dei prodotti cosmetici, ivi inclusi i controlli dei prodotti stessi, degli operatori di settore e delle buone pratiche di fabbricazione, nonché degli adempimenti e delle comunicazioni che gli operatori del settore sono tenuti ad espletare nell'ambito dell'attività di vigilanza e sorveglianza di cui agli articoli 7, 21, 22 e 23 del regolamento (CE) n. 1223/2009 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 30 novembre 2009, sui prodotti cosmetici. *Gazzetta Ufficiale – Serie Generale* n. 273, 23 novembre 2018.

- OECD (Organization for Economic Co-operation and Development). *OECD n. 428. Guideline for the Testing of Chemicals. Skin Absorption: in vitro Method*. Paris: OECD; 2004. Disponibile all'indirizzo: <https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/feddocs/oece/oece428-508.pdf>; ultima consultazione 30/05/19
- Petrucci F, Senofonte O. Determination of Cr(VI) in cosmetic products using ion chromatography with dynamic reaction cell-inductively coupled plasma-mass spectrometry (DRC-ICP-MS). *Anal Methods* 2015; 7:5269-74.
- Raposo F. Evaluation of analytical calibration based on least-squares linear regression for instrumental techniques: a tutorial review. *Trends Anal Chem* 2016;77:167-85.
- Regione Piemonte. *Campionamento prodotti cosmetici. Linee guida per la gestione degli esiti di laboratorio*. Torino: Regione Piemonte; 2017. Disponibile all'indirizzo: https://www.regione.piemonte.it/web/sites/default/files/media/documenti/2018-10/linee_guida_gestione_esiti_laboratorio_cosmetici.pdf; ultima consultazione 30/05/19
- RIVM (Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu). *RIVM Report 612810012/2002 Children's Toys Fact Sheet. To assess the risks for the consumer. Updated version for ConsExpo 4*. Bilthoven: RIVM; 2002. Disponibile all'indirizzo: <https://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/612810012.pdf>; ultima consultazione 30/05/19
- RIVM (Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu). *RIVM Report 320104001/2006 Cosmetics Fact Sheet. To assess the risks for the consumer. Updated version for ConsExpo 4*. Bilthoven: RIVM; 2006a. Disponibile all'indirizzo: <https://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/320104001.pdf>; ultima consultazione 30/05/19
- RIVM (Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu). *RIVM report 320104002/2006 General Fact Sheet Limiting conditions and reliability, ventilation, room size, body surface area Updated version for ConsExpo 4*. Bilthoven: RIVM; 2006b. Disponibile all'indirizzo: <https://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/320104002.pdf>; ultima consultazione 30/05/19
- RIVM (Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu). *RIVM Report 320003001/2008 Chemicals in Toys A general methodology for assessment of chemical safety of toys with a focus on elements*. Bilthoven: RIVM; 2008. Disponibile all'indirizzo: <https://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/320003001.pdf>; ultima consultazione 30/05/19
- Ruggieri F, Alimonti A, Bocca B. Full validation and accreditation of a method to support human biomonitoring studies for trace and ultra-trace elements. *Trends Anal Chem* 2016;471-85.
- SCCS (Scientific Committee on Consumer Safe). *The SCCS's Notes of Guidance for the testing of cosmetic substances and their safety evaluation – 8th Revision*. Luxembourg: SCCS; 2012. (SCCS/1501/12) Disponibile all'indirizzo: https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_s_006.pdf; ultima consultazione 30/05/19.
- SCCS (Scientific Committee on Consumer Safe). *The SCCS Notes of Guidance for the testing of cosmetic substances and their safety evaluation – 9th Revision. Revised version of 25 April 2016*. Luxembourg: SCCS; 2016 (SCCS/1564/15). Disponibile all'indirizzo: http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_190.pdf; ultima consultazione 30/05/19
- SCCS (Scientific Committee on Consumer Safe). *The SCCS Notes of Guidance for the testing of cosmetic substances and their safety evaluation – 10th Revision*. Luxembourg: SCCS; 2018. (SCCS/1602/18) Disponibile all'indirizzo: https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_224.pdf; ultima consultazione 30/05/19
- SCHER (Scientific Committee on Health and Environmental Risks). *Risk Assessment Report on nickel and its compounds*. Brussels: SCHER; 2009. Disponibile all'indirizzo: http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_scher/docs/scher_o_112.pdf; ultima consultazione 30/05/19
- SCHER (Scientific Committee on Health and Environmental Risks). *Evaluation of the migration limits for chemical elements in toys*. Brussels: SCHER; 2010. Disponibile all'indirizzo:

http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/environmental_risks/docs/scher_o_126.pdf; ultima consultazione 30/05/19

SCHER (Scientific Committee on Health and Environmental Risks). *Opinion on Chromium VI in toys*. Brussels: SCHER; 2015. Disponibile all'indirizzo: https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/scientific_committees/environmental_risks/docs/scher_o_167.pdf; ultima consultazione 30/05/19

Thermo Scientific. *Determination of Cr(VI) in Water, Waste Water, and Solid Waste Extracts*. Sunnyvale, CA: Thermo Fisher Scientific Inc; 2000. (Technical Note 26). Disponibile all'indirizzo: http://qa1.thermoscientific.com/content/dam/tfs/ATG/CMD/CMD%20Documents/Application%20&%20Technical%20Notes/Chromatography/GC%20HPLC%20and%20UHPLC%20Columns%20and%20Accessories/Chromatography%20Column%20Accessories/4428-TN26_LPN034398-02.pdf; ultima consultazione 30/05/19.

Thermo Scientific. *Determination of dissolved hexavalent chromium in drinking water, groundwater and industrial wastewater effluents by ion chromatography*. Sunnyvale, CA: Thermo Fisher Scientific Inc; 2014. (Application Note 80). Disponibile all'indirizzo: <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/Application-Notes/AN-80-IC-Chromium-Drinking-Water-AN71358-EN.pdf>; ultima consultazione 30/05/19.

Thompson M, Ellison S, Wood R. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report). *Pure Appl Chem* 2002;74(5):835-55.

Thompson M, Ellison SLR, Fajgelj A, Willetts P, Wood R. Harmonised Guidelines for the Use of Recovery Information in Analytical Measurement. *Pure Appl Chem* 1999;71(2):337-48.

UNI EN 15192. *Caratterizzazione dei rifiuti e dei suoli - Determinazione del cromo (VI) in materiali solidi mediante digestione alcalina e cromatografia ionica con rivelatore spettrofotometrico*. Milano: Ente Nazionale Italiano di Unificazione; 2007.

US EPA (US Environmental Protection Agency). *Alkaline digestion of hexavalent chromium, Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical/Chemical Methods – SW-846*. Washington, DC: US EPA; 1996. (US EPA 3060A). Disponibile all'indirizzo: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3060a.pdf>; ultima consultazione 30/05/19.

US EPA (US Environmental Protection Agency). *Child-Specific Exposure Factors Handbook*. Washington, DC: US EPA; 2008. Disponibile all'indirizzo: <https://cfpub.epa.gov/ncea/risk/recordisplay.cfm?deid=199243>; ultima consultazione 30/05/19

WHO (World Health Organization). *Nickel in Drinking-water*. Geneva: WHO; 2007. Disponibile all'indirizzo: https://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/Nickel110805.pdf; ultima consultazione 30/05/19

*Serie Rapporti ISTISAN
numero di novembre 2019*

*Stampato in proprio
Servizio Comunicazione Scientifica – Istituto Superiore di Sanità*

Roma, novembre 2019