

Riassunto. — Viene iniziata una serie di ricerche tendenti all'identificazione per mezzo della cromatografia su carta delle sostanze organiche contenute nelle tinture per capelli del commercio.

In questa prima Nota vengono determinati i punti fissi a cui ci si deve riferire per le analisi vere e proprie. Vengono cioè determinati gli Rf (in butanolo, acido acetico e acqua) di cinque delle più comuni sostanze che più spesso si ritrovano nelle tinture per capelli cioè: para-fenilen-diammina, para-toluilen-diammina, para-ammino-fenolo, pirogallo, resorcina.

Vengono poi studiate diverse reazioni colorate che, dopo aver fatto una cromatografia, possono essere utilizzate per distinguere una dall'altra queste cinque sostanze.

In questa Nota viene cioè descritta una serie di esperienze preliminari ma fondamentali per poter poi rapidamente e più sicuramente procedere all'analisi delle tinture commerciali vere e proprie.

Résumé. — On commence une série de recherches tendant à identifier au moyen de la chromatographie sur papier les substances organiques que contiennent les teintures pour cheveux dans le commerce.

Dans cette première Note on a déterminé les points fixes auxquels on doit se rapporter pour des analyses proprement dites, c'est-à-dire qu'on détermine les Rf (dans un mélange de butanol, d'acide acétique et d'eau) de cinq des substances les plus communes qu'on trouve le plus souvent dans les teintures pour cheveux, à savoir: para-phénilen-diamine, para-toluilen-diamine, para-amino-phénol, pyrogallol, résorcine.

On étudie ensuite diverses réactions colorées qui, après avoir effectué une chromatographie, peuvent être utilisées pour distinguer l'une de l'autre ces cinq substances.

En un mot, on décrit dans cette Note une série d'expériences préliminaires mais fondamentales pour pouvoir ensuite rapidement et plus sûrement procéder à l'analyse des teintures commerciales proprement dites.

Summary. — We have begun a research programme to identify by paper chromatographic methods the organic substances contained in commercial hair tints.

In this initial note we describe the determination of fixed points

(*) Ospite.

to which we can refer in subsequent analyses. We have found the Rf values (in butanol, acetic acid and water) of five of the substances most commonly found in hair dyes, namely — para phenylene diamine, para toluilen diamine, para amino phenol, pyrogallol and resorcinol.

We have also studied numerous colour reactions which may be used to differentiate between these five substances after chromatography.

The preliminary but fundamental experiments here described will enable us to proceed to a more rapid analysis of the commercial tints themselves.

Zusammenfassung. — Durchgeführt wird eine Reihe von Untersuchungen zwecks Feststellung der organischen Substanzen in Im Handel befindlichen Hoorfärbemittel mittels Chromatographie auf Papier.

In dieser ersten Mitteilung werden die Referenzen für die eigentlichen Analysen angegeben, d.h. es werden die Rf (in Butanol, Essigsäure und Wasser) der gewöhnlich in Haarfärbemitteln vorhandenen Substanzen bestimmt, und zwar Paraphenylendiammin, Paratoluilendiammin, Paraminophenol, Pyrogallol und Resorzin.

Sodann werden verschiedene Farbreaktionen untersucht, die nach der Chromatographie dazu benutzt werden können, die genannten fünf Substanzen von einander zu unterscheiden.

In dieser ersten Mitteilung wird also eine Reihe von Versuchen beschrieben, die zwar an sich nur präliminär, aber doch grundlegend für eine schnelle und sichere Analyse der im Handel befindlichen Haarfärbemittel sind.

Numerose tinture per capelli sono in commercio in Italia e il problema della loro analisi ha grande importanza specialmente a causa dei fenomeni di intossicazione che esse spesso producono. L'analisi di questi prodotti commerciali non è però facile come può sembrare a prima vista. Se per l'analista non è difficile svelare in alcune di esse la presenza di metalli pesanti (piombo, argento, rame, ecc.) il problema si presenta invece veramente arduo quando si tratta di tinture contenenti diverse sostanze organiche.

Da saggi preliminari che ho eseguito su diversi campioni di tinture del commercio, ho rilevato che alcune di esse contengono effettivamente sali di piombo, ma la maggior parte sono tinture di ossidazione, contenenti cioè fenilen-diammina, ammino-fenolo, o sostanze analoghe che, mescolate al momento dell'uso con acqua ossigenata, danno origine a

prodotti di ossidazione colorati che si fissano sui capelli tingendoli con toni biondi, castagni o bruni e fino a neri. Le tinture per capelli del commercio contengono cioè più o meno tutte quelle sostanze per le quali la Legge Italiana (art. 7 della Legge 30 ottobre 1924, n. 1938) prescrive che le tinture che le contengono portino sull'etichetta l'indicazione « può essere nocivo ».

Manca intanto un metodo sicuro per analizzare le tinture del commercio e caratterizzare le sostanze che vi sono contenute. Applicando metodi puramente chimici, si hanno risultati non esaurienti, perchè è molto lungo e difficile distinguere con reazioni chimiche o con reazioni cromatiche diverse sostanze con funzione chimica simile, per esempio riconoscere se si tratti di fenilen-diammina o di toluilen-diammina o di ammino-fenoli: più difficile ancora è riconoscerle quando sono mescolate due o tre sostanze diverse.

Io ho iniziato una serie di ricerche con le quali cerco di risolvere questo problema per mezzo dell'analisi cromatografica.

Il sistema della cromatografia su carta, che è oggi tanto comune e alla portata dei più modesti laboratori, ha già prestato utili servizi in molti casi che credo inutile enumerare.

Quando però si va a cromatografare una tintura per capelli del commercio, si ottengono dei cromatogrammi confusi e indecifrabili, soprattutto perchè nei flaconi che si vendono al pubblico non sono contenute soltanto le sostanze coloranti o le sostanze che per ossidazione si trasformano in sostanze coloranti, ma sono contenute generalmente anche quantità più o meno grandi di tensioattivi, di emollienti, oppure diversi mordenti destinati a facilitare l'attacco della sostanza colorante al capello: tutte queste sostanze disturbano il normale andamento della cromatografia.

Occorre perciò prima di tutto separare e toglier via più che sia possibile tutte queste sostanze secondarie e soltanto allora si potrà sottoporre il prodotto all'analisi cromatografica.

Io sto studiando appunto un metodo sistematico per poter arrivare ad ottenere soluzioni adatte per farne l'analisi cromatografica, dopo aver eliminato i prodotti secondari che disturberebbero l'analisi stessa.

Ma prima di tutto ho voluto imparare a conoscere il comportamento cromatografico delle singole sostanze che più spesso si ritrovano nelle tinture per capelli, in modo da avere i punti fissi a cui riferirmi nel corso delle analisi vere e proprie. Un altro problema preliminare da risolvere mi si è presentato fin da queste mie prime esperienze cioè ricercare quali siano le reazioni colorate più adatte per identificare le macchie delle singole sostanze nel cromatogramma.

Soltanto dopo aver fissato così i caposaldi dell'analisi (ciò che espongo in questa prima Nota) potrò descrivere il metodo sistematico che sto mettendo a punto per compiere l'analisi completa di una tintura per capelli.

Ho fatto una prima serie di esperienze con cinque sostanze che sono quelle più comunemente contenute nelle tinture per capelli del commercio e cioè: para-fenilen-diammina, 2,5-toluilen-diammina, para-amminofenolo, pirogallolo e resorcina ed ho ottenuto risultati tali che mi incoraggiano a continuare questo genere di ricerche.

Prendendo in esame i dati che sono riferiti nella letteratura scientifica, si trovano indicazioni non molto concordanti perchè per qualche sostanza si trovano riportati gli Rf determinati con un solvente oppure con un altro, si trovano risultati di esperienze compiute ad una temperatura oppure ad un'altra e anche si trovano Rf differenti perchè qualcuno misura la distanza dal punto di partenza al centro della macchia ed altri invece al punto più basso della macchia stessa. Le discordanze maggiori si hanno col variare del solvente. Così per es., per la para-fenilen-diammina si trovano indicati i diversi Rf che vanno da 0,25 (trovato con solvente costituito da alcool metilico 40, alcool amilico 20, benzene 20, acqua 20) fino a 0,75 (con alcool metilico 35, alcool amilico 17,5, benzene 35, acqua 12,5). Per il pirogallolo si trova Rf 0,38 (con m-cresolo, acido acetico e acqua) e anche si trova Rf 0,94 (con butanolo, piridina e soluzione acquosa satura di NaCl).

Io ritenni perciò opportuno di eseguire di nuovo tutte le esperienze (ripetendo anche quelle che erano già state fatte) usando sempre lo stesso solvente, la stessa carta Whatman n. 1 operando sempre alla stessa temperatura e riferendomi per i calcoli al centro della macchia.

In queste esperienze preliminari, ma fondamentali per quanto dovrò poi concludere, ho sempre applicato il metodo discendente, usando come solvente butanolo, acido acetico e acqua (4 : 1 : 5) e operando a temperatura vicina a 20° mettendomi cioè nelle stesse condizioni in cui eseguo le analisi delle tinture che sto studiando.

Operando in queste condizioni ho trovato come media di molte determinazioni i seguenti Rf.:

Para-fenilen-diammina	0,38
2,5-toluilen-diammina	0,48
Para-amminofenolo	0,55
Pirogallolo	0,71
Resorcina	0,83

Gli Rf delle cinque sostanze da me sperimentate sono abbastanza

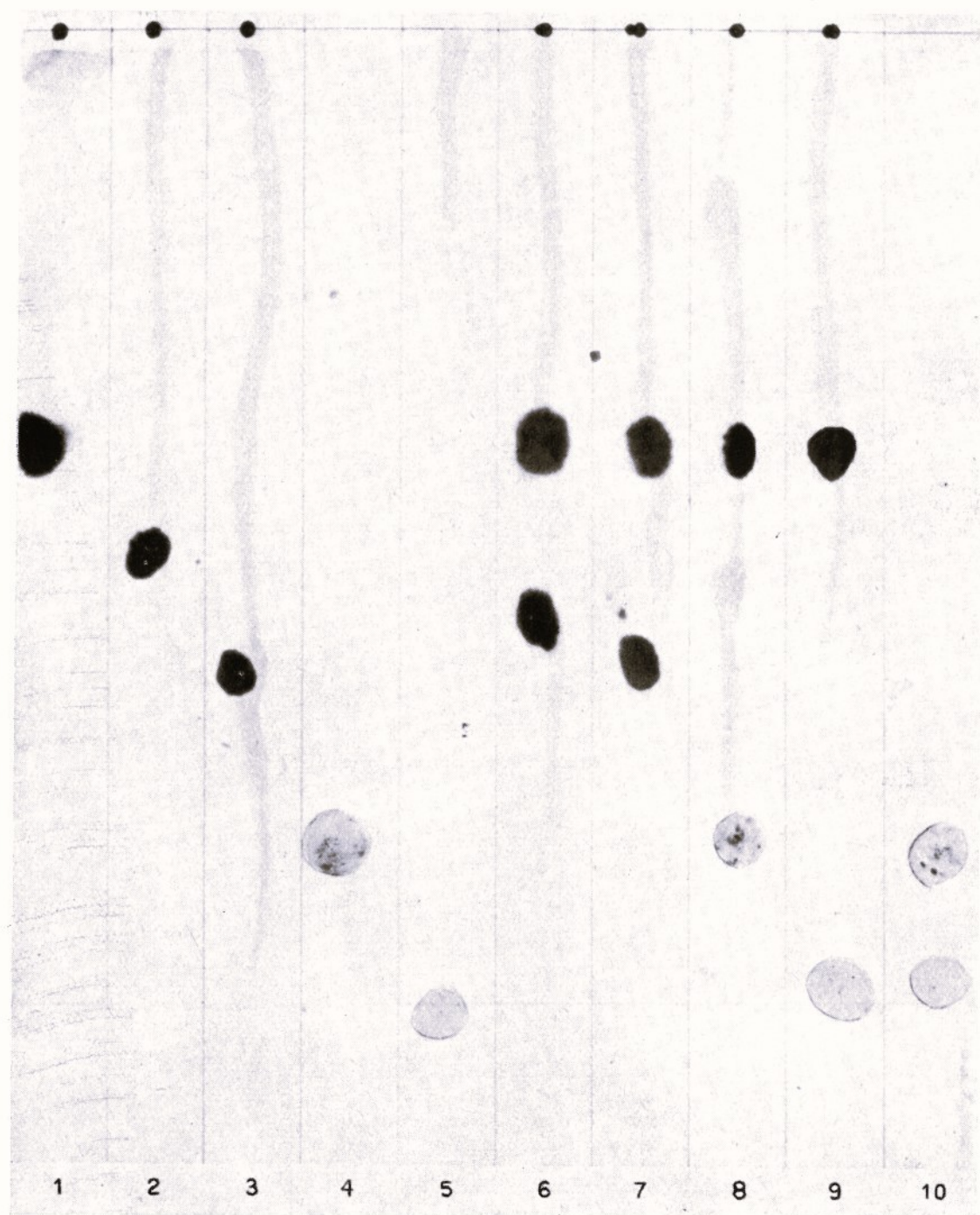


Fig. 1 - Cromatogramma di alcune sostanze contenute comunemente nelle tinture per capelli.

1 = p-fenilen-diammina
 2 = 2-5-toluilén-diammina
 3 = p-ammino-fenolo
 4 = pirogallolo
 5 = resorcina

6 = 1 + 2
 7 = 1 + 3
 8 = 1 + 4
 9 = 1 + 5
 10 = 4 + 5

lontani l'uno dall'altro da permettere di distinguere facilmente una sostanza dall'altra. Nella figura viene riprodotto il cromatogramma ottenuto con le cinque sostanze (da 1 a 5) da cui risulta evidente tale differenza.

Nel cromatogramma sono rappresentate anche alcune esperienze fatte con mescolanze di diverse sostanze (da 6 a 10) ed anche da queste prove risulta chiara la possibilità di distinguere l'una dall'altra queste sostanze, anche quando sono mescolate.

Tutte queste prove sono state eseguite con quantità minime di sostanza (da 5 a 10 γ). Nel punto di partenza veniva posta una piccola goccia di soluzione 0,1% acquosa o alcoolica della sostanza in esame. Per alcune di queste sostanze, facilmente ossidabili all'aria, prendevo il solfato o il cloridrato (che sono più stabili): dalla loro soluzione acquosa liberavo la base con idrato sodico ed estraevo subito con etere: la soluzione eterea veniva concentrata (non portata a secco) meglio di tutto in atmosfera di gas inerte ed infine mettevo sulla carta al punto di partenza una goccia di soluzione eterea. Così cercavo di evitare che i prodotti di ossidazione della base producessero delle code. Dopo aver lasciato compiere la diffusione per 12-14 ore facevo asciugare all'aria il foglio.

Con la luce di Wood queste sostanze si svelano male. Meglio è sviluppare le macchie nel cromatogramma con i vapori di iodio, secondo il metodo indicato da MARINI-BETTOLO.

Tutto questo va bene quando si tratta di separare con la cromatografia una sostanza da un'altra che abbiano R_f differenti, ma la determinazione del R_f non basta a caratterizzarle con sicurezza.

Da prove di confronto che ho eseguite mi risulta per es., che la pirocatechina e la resorcina hanno quasi lo stesso R_f e allora, quando si sia ottenuta una macchia ad R_f 0,82-0,83 resta incerto se si tratti dell'una o dell'altra. Ne viene perciò la necessità di ricorrere a qualche reattivo che sia capace non solo di sviluppare la macchia nel cromatogramma ma anche di caratterizzare con diverse colorazioni le singole sostanze.

A questo scopo ho eseguito molte prove vaporizzando sul cromatogramma diversi reattivi per mezzo di uno spruzzatore ed ho ottenuto risultati tali che possono permettere di caratterizzare le sostanze che costituiscono le diverse macchie. I migliori risultati li ho ottenuti con i seguenti reattivi.

1) Il reattivo N. 1 è costituito da una soluzione acquosa satura a freddo di vainiglia (100 cm^3) acidificata con acido cloridrico (2,5 cm^3). E' questo uno dei migliori reattivi per svelare le cinque sostanze che sono oggetto di studio di questa Nota perchè dà una netta reazione cromatica con tutte e cinque e questa colorazione è abbastanza stabile. Questo reat-

tivo inoltre presenta il vantaggio di non alterarsi in modo che si può preparare e conservarlo per un tempo indeterminato evitando così l'inconveniente che presentano gli altri reattivi di alterarsi e di dover essere preparati di volta in volta. Riporto qui le colorazioni e il limite di sensibilità delle cinque sostanze in esame rispetto al reattivo N. 1.

Sostanza	Colorazione	Limite di sensibilità
1) p-fenilen-diammina	da giallo arancio a giallo ocra chiaro a seconda della conc.	molto più sensib. di 0,5 γ/cm^2
2) 2-5-toluilen-diammina	da giallo arancio chiaro a giallo chiarissimo ocra a seconda della conc.	0,3 γ/cm^2
3) p-ammino-fenolo	da giallo intensissimo a giallo chiarissimo a seconda della conc.	0,2 γ/cm^2
4) pirogallolo	per riscaldamento del foglio o dopo molte ore da rosso vino intenso a rosso vino più chiaro a seconda delle conc.	0,2 γ/cm^2
5) resorcina	» »	molto più sensib. di 0,2 γ/cm^2

2) Il reattivo N. 2 si prepara sciogliendo g 0,5 di para-dimetil-ammino-benzaldeide in 100 cm^3 di acqua e 30 cm^3 di acido cloridrico.

Sostanza	Colorazione	Limite di sensibilità
1) p.fenilen-diammina	da rosso intenso a rosa scuro a seconda della concentrazione	molto più sensib. di 0,4 γ/cm^2
2) 2-5-toluilen-diammina	da rosso a rosa a seconda della concentrazione	molto più sensib. di 0,3 γ/cm^2
3) p-ammino-fenolo	da giallo intenso a giallo chiaro a seconda della concentrazione	molto più sensib. di 0,2 γ/cm^2
4) pirogallolo	per riscaldamento o dopo qualche tempo, da ciclamino a ciclamino chiaro a seconda della concentrazione	0,2 γ/cm^2
5) resorcina	per riscaldamento o dopo qualche tempo, da viola a viola chiaro a seconda della concentrazione	0,2 γ/cm^2

Questo reattivo, come quella della vainiglina, è quello che presenta i maggiori vantaggi poichè unisce a una grande sensibilità (come si può rilevare dalla tabellina) una buona stabilità delle reazioni cromatiche ottenute. Il reattivo inoltre si mantiene per molto tempo e non è necessario prepararlo di volta in volta.

3) Il reattivo N. 3 è costituito da una soluzione di fenolo alcalino e ipoclorito, ossia da 100 cm³ di fenolo alcalino (2 g di fenolo in 100 cm³ di KOH al 5%) e 20 cm³ di soluzione diluita di ipoclorito di sodio. Le colorazioni non sono molto stabili, specialmente per le basse concentrazioni.

Sostanza	Colorazione	Limite di sensibilità
1) p.fenilen-diammina	da bleu a bleu chiaro a seconda della concentrazione	0,4 γ/cm ²
2) 2-5-toluilen-diammina	da bleu a bleu chiaro a seconda della concentrazione	0,75 γ/cm ²
3) p.ammino-fenolo	da bleu oltremare a celeste a seconda della concentrazione	0,25 γ/cm ²
4) pirogallolo	da ocre a ocre chiarissimo a seconda della concentrazione	0,25 γ/cm ²
5) resorcina	da marrone chiaro a marrone chiarissimo a seconda della concentrazione	0,8 γ/cm ²

4) Il reattivo N. 4 è costituito da una soluzione di 100 cm³ di acqua di anilina (una goccia di anilina in 250 cm³ di acqua) acidificata con 10 cm³ di acido acetico e addizionata di 3 g di persolfato di sodio. E' un reattivo molto sensibile, ma presenta lo svantaggio di non mantenersi: perciò bisogna prepararlo di volta in volta. Le diammine e l'ammino-fenolo hanno una buona sensibilità per questo reattivo, ma le loro colorazioni non sono stabili. Una curiosa particolarità presentano la resorcina e il pirogallolo. Infatti dopo che si è spruzzata la carta col reattivo N. 4 compaiono le colorazioni della para-fenilen-diammina, della para-toluilen-diammina, del para-ammino-fenolo mentre il pirogallolo e la resorcina restano incolori. Dopo qualche ora la carta diviene tutta verde e le macchie della resorcina e del pirogallolo rimangono chiare.

Sostanza	Colorazione	Limite di sensibilità
1) p-fenilen-diammina	verde smeraldo la cui intensità dipende dalla concentrazione. La colorazione non mantiene.	0,5 γ/cm^2
2) 2-5-toluilen-diammina	»	0,5 γ/cm^2
3) para-ammino-fenolo	ciclamino e poi verde. L'intensità dipende dalla concentrazione. La colorazione non mantiene	0,5 γ/cm^2
4) pirogallolo	dopo qualche ora una macchia chiara sulla carta diventata verde	0,7 γ/cm^2
5) resorcina	»	0,7 γ/cm^2

5) Il reattivo N. 5 è costituito da una soluzione di nitrato d'argento all'1%.

Sostanza	Colorazione	Limite di sensibilità
1) p-fenilen-diammina	da grigio scuro a grigio chiaro a seconda della concentrazione	0,5 γ/cm^2
2) 2-5-toluilen-diammina	»	0,25 γ/cm^2
3) para-ammino-fenolo	da celeste a celeste chiarissimo a seconda della concentraz.	molto più sensib. di 0,25 γ/cm^2
4) pirogallolo	da ocre chiaro a ocre chiarissimo a seconda della concentraz.	molto più sensib. di 0,25 γ/cm^2
5) resorcina	per riscaldamento appare una macchia chiara con anello ciclaminico	0,5 γ/cm^2

Dalle esperienze sopra descritte risulta chiaro che impiegando l'uno o l'altro dei reattivi sopra citati è possibile distinguere l'uno dall'altra le cinque sostanze alle quali si è limitato per ora il mio studio. Soltanto in qualche caso particolare, come quando si tratta di distinguere l'una dall'altra due sostanze di costituzione chimica molto simile (come para-fenilen-diammina e 2-5-toluilen-diammina) può rimanere qualche incer-

tezza, ma anche in questo caso veramente qualche differenza esiste tra l'una e l'altra nella intensità e nella tonalità delle colorazioni ottenute. In questo caso speciale però, in cui le reazioni colorate possono lasciare qualche incertezza, è la determinazione dell'Rf quella che ci permette di decidere se si tratta dell'una o dell'altra.

Viceversa nel caso citato prima in cui due sostanze (come la pirocatechina e la resorcina) hanno quasi lo stesso Rf, sono le reazioni colorate con qualche reattivo (in questo caso il cloruro ferrico) quelle che ci permettono di decidere fra l'una e l'altra.

Dalle mie esperienze risulta dunque che non è uno solo ma sono almeno due i criteri che si devono tener presenti per la identificazione delle cinque sostanze da me esaminate, cioè il valore dell'Rf di ognuna e le reazioni colorate che esse presentano.

Mentre sto cercando di mettere a profitto anche altre reazioni per vedere se abbiano qualche vantaggio rispetto a quelle sopra citate, non mi dimentico che per poter dare una risposta più sicura nell'analisi per le tinture per capelli, sarà necessario ampliare le mie ricerche al di là delle cinque sostanze alle quali per ora si è limitata la mia indagine: queste cinque sostanze sono quelle più comunemente usate ma è ben difficile prevedere quali altre sostanze potranno essere contenute in qualche particolare tintura del commercio.

Roma — Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di chimica.
