



Luigi Campanella, Cecilia Costanza  
Dipartimento di Chimica  
Università di Roma "La Sapienza"  
luigi.campanella@uniroma1.it  
cecilia.costanza@uniroma1.it

## FOTO SENSORE PER PROVE DI TOSSICITÀ. APPLICAZIONE: RIVELAZIONE DEL PAO DEI COSMETICI

*I test di tossicità basati sulla valutazione della ecopersistenza possono avere sviluppi in campi completamente diversi delle scienze ambientali e della tossicologia. In questo lavoro se ne propone un'applicazione atipica relativa alla misura della stabilità dei prodotti cosmetici e finalizzata alla sicurezza dell'utente.*

### Stabilità e stato di conservazione di prodotti cosmetici

L'Unione Europea (UE) ha istituito un sistema di allarme rapido per i prodotti non alimentari, tra cui anche i cosmetici, che presentano un rischio grave per la salute pubblica (RAPEX), nonché disposizioni che consentono di ritirare dal mercato i prodotti che possono minacciare la salute e la sicurezza dei consumatori. La normativa dei cosmetici in Italia è disciplinata dalla L. 11 ottobre 1986, n. 713 e successive modificazioni (D.Lgs 10.9.1991, n. 300; D.Lgs 24.4.1997, n.126 e D.Lgs 15.2.2005, n. 87). All'inizio del 1970 gli Stati membri della

Comunità Europea hanno deciso di armonizzare la legislazione riguardante i prodotti cosmetici per evitare, all'interno della Comunità, la circolazione di prodotti non controllati. Come risultato di un'ampia discussione tra esperti di tutti gli Stati Membri, è stata adottata, il 27 luglio 1976, una Direttiva (76/768/EEC). I principi alla base di tale Direttiva riguardano sia i diritti del consumatore, sia l'incoraggiamento degli scambi commerciali e l'eliminazione delle barriere commerciali. Ad esempio un prodotto che debba circolare liberamente in Europa deve avere lo stesso tipo di confezione e di etichetta e deve altresì ottemperare alle stesse regole di sicurezza. Lo scopo fondamentale della Direttiva è infatti di garantire la sicurezza del

prodotto cosmetico. Tale Direttiva è stata successivamente integrata e modificata, in base alle nuove acquisizioni scientifiche in materia di sicurezza, il 27 febbraio 2003 (2003/15/CE).

Come prima conseguenza di questa Direttiva, il 5 settembre 2003 la Commissione della Comunità Europea ha emanato delle importanti decisioni in materia di sicurezza (Direttiva 2003/80/CE della Commissione) riguardo alla durata di utilizzo dei prodotti cosmetici allo scopo di migliorare le informazioni fornite ai consumatori. La Direttiva 2003/15/CE del 27 febbraio 2003, recepita in Italia con D.Lgs n. 50 del 15 febbraio 2005 [1], ha stabilito l'introduzione di due nuove disposizioni di etichettatura e prevede che a partire dall'11 marzo 2005 nessun fabbricante o importatore stabilito nella Comunità immetta sul mercato prodotti cosmetici non conformi alle nuove norme; tuttavia, non prevede restrizioni nella cessione al consumatore finale al quale potranno legittimamente essere esitati cosmetici conformi alle norme previgenti a condizione che siano stati immessi in commercio entro il 10 marzo 2005:

1) l'indicazione, per i prodotti che hanno una durata minima superiore a 30 mesi, del periodo post-apertura, meglio noto come PaO (Period after Opening), rappresentato da un vasetto di crema aperto, completato dall'intervallo di tempo (indicato con un numero ed espresso in mesi), seguito dalla lettera "M" posizionato all'interno o vicino al simbolo del vasetto aperto che, comune a tutta l'Unione Europea, è stato adottato con la Direttiva 2003/80/CE del 5 settembre 2003 (Fig. 1). Il simbolo è particolarmente importante per i prodotti che, una volta aperti, venendo a contatto con l'ambiente potrebbero essere soggetti a degradazione e diventare pericolosi (ad esempio per contaminazione microbiologica). Il PaO deve essere indicato sull'imballaggio primario e secondario del cosmetico (per imballaggio primario si intende il contenitore a diretto contatto con il prodotto, mentre l'imballaggio secondario può essere, ad esempio, l'astuccio che lo contiene). Su alcuni prodotti, come ad esempio i monouso o quelli per i quali, in funzione della composizione e del confezionamento, il rischio di alterazioni è pressoché nullo (es. prodotti che non consentono un diretto contatto fra contenuto ed ambiente esterno, come i prodotti spray sotto pressione), il simbolo non comparirà in quanto non necessario;

2) l'indicazione, all'interno dell'elenco degli ingredienti, della presenza di una o più delle 26 molecole individuate dal Comitato Scientifico per i Prodotti destinati al Consumatore (SCCP) come causa importante di reazioni allergiche da contatto tra i consumatori allergici ai profumi.

L'indicazione in etichetta del Periodo Post-Apertura ha lo scopo di fornire al consumatore informazioni sulla stabilità del cosmetico perché indica il periodo di tempo in cui il prodotto, una volta aperto, può essere utilizzato senza effetti nocivi. Il simbolo del PaO deve essere presente sull'etichetta di tutti i prodotti cosmetici, ad eccezione di:

- prodotti con un periodo di validità inferiore a 30 mesi, che presentano l'indicazione "Da consumarsi preferibilmente entro...";
- prodotti monodose (es. campioni gratuiti);
- prodotti confezionati in modo tale da evitare il contatto tra il cosmetico e l'ambiente circostante (es. aerosol);
- prodotti per i quali il produttore certifichi che la formula è tale da impedire



Fig. 1 - Simbolo del barattolo aperto, stabilito dalla Commissione Europea, che riporta il PaO espresso in mesi (M)

qualsiasi rischio di deterioramento che influisca negativamente sulla sicurezza del prodotto stesso nel corso del tempo.

Il nuovo simbolo del PaO

verrà introdotto progressivamente: tutti i prodotti interessati dal provvedimento verranno etichettati con questo simbolo al momento dell'immissione sul mercato a partire dall'11 marzo 2005. I prodotti senza PaO, già commercializzati prima di questa data, possono continuare ad essere venduti. Per chiarire il significato e l'interpretazione del periodo post-apertura, è necessario precisare che:

- il PaO è un periodo di tempo indicativo stabilito sulla base delle conoscenze acquisite dai produttori sui loro stessi prodotti;
- un cosmetico è considerato "aperto" quando viene utilizzato per la prima volta. Il periodo di durata post-apertura deve, quindi, essere computato a partire da questo primo uso;
- le informazioni che giustificano la presenza o l'assenza del PaO sono accessibili alle Autorità di Controllo competenti.

## Tossicità

L'art. 3 della Direttiva 92/32/CEE del 30 aprile 1992, che disciplina la classificazione, l'imballaggio e l'etichettatura delle sostanze pericolose commercializzate negli Stati dell'Unione Europea, regola la "determinazione e valutazione delle proprietà delle sostanze" attraverso test tossicologici che prevedono esperimenti su animali. In funzione del risultato degli esperimenti, una sostanza verrà classificata in una delle seguenti categorie:

- molto tossica
- tossica
- nociva
- non pericolosa.

Un protocollo-tipo prevede lo studio di:

1) *Tossicità a breve termine, che si articola nello studio di:*

- tossicità acuta effettuata normalmente sul ratto o il topo, attraverso la LD<sub>50</sub>;
- studi di irritabilità degli occhi, della pelle e delle mucose solitamente effettuati sui conigli albini in ambito cosmetologico, attraverso i "Draize test" e miranti alla valutazione della tollerabilità della sostanza in esame a contatto con la cute o con le mucose;
- studi di sensibilizzazione normalmente eseguiti sul porcellino d'India per valutare la capacità della sostanza chimica di indurre risposte allergiche o immuni in seguito a somministrazioni multiple.

2) *Tossicità ripetuta la cui valutazione avviene attraverso lo studio di:*

- tossicità sub-acuta, sub-cronica, cronica, solitamente effettuata su due specie di cui una roditrice (normalmente si usano il topo e la scimmia o il cane). La durata degli studi varia dai due ai quattro anni; la via di somministrazione è quella di esposizione.
- oncogenesi.

3) *Studi di tossicità riproduttiva e di teratologia per evidenziare le eventuali interferenze della nuova sostanza sulla sfera riproduttiva e sulla prole, sud-*

Tab. 1

Categoria	LD <sub>50</sub> orale mg/kg	LD <sub>50</sub> cutanea mg/kg	LC <sub>50</sub> inalatoria mg/litro/4 ore
Molto tossiche	<25	<50	<0,5
Tossiche	25-200	50-400	0,5-2
Nocive	200-2.000	400-2.000	2-20

divisi in tre gruppi:

- studio di fertilità e riproduzione;
- studi di teratologia;
- studi di tossicità peri-post natale.

Per quanto riguarda la tossicità a breve termine (effetto acuto) il livello di tossicità è definito a partire da test basati sulla quantità di composto chimico letale in funzione della via di esposizione; i limiti della Dose Letale 50 (LD<sub>50</sub>) e Concentrazione Letale 50 (LC<sub>50</sub>) utilizzate per classificare un prodotto come molto tossico, tossico o nocivo sono riportati nella Tab. 1 [2]:

- LD<sub>50</sub>: è la dose di una sostanza che, somministrata in una volta sola, provoca la morte nel 50% degli animali da esperimento; indica la tossicità di una sostanza solo a breve termine (tossicità acuta); non a lungo termine (cioè dovuta a contatto con modiche quantità di una certa sostanza per lunghi periodi); viene espressa di solito come quantità di sostanza somministrata rispetto al peso dell'animale usato come campione (es.: milligrammi (mg) di sostanza per 100 grammi (g) per piccoli animali o per chilogrammi (kg) per animali più grandi); va definita anche la via (orale, cutanea, etc.). Una LD<sub>50</sub> maggiore di 2.000 mg/kg permette di considerare non particolarmente pericolosa la sostanza testata. Per la LD<sub>50</sub> orale la normativa UE prevede come animale da esperimento l'uso del ratto, mentre per la LD<sub>50</sub> cutanea è previsto anche l'impiego del coniglio.
- LC<sub>50</sub>: è la concentrazione in aria che provoca la morte nel 50% degli animali da esperimento, se inalata per un determinato periodo di tempo. Per la LC<sub>50</sub> la normativa UE prevede l'uso del ratto come animale da esperimento con una esposizione di 4 ore.

I metodi o le procedure che conducono alla sostituzione di un esperimento sull'animale o alla riduzione del numero di animali richiesti, nonché all'ottimizzazione delle procedure sperimentali, allo scopo di limitare la sofferenza animale sono i metodi alternativi alla sperimentazione in vivo. Questo concetto corrisponde alla definizione delle "3R" di Russel e Burch [3], dall'inglese *replace, reduce, refine* laddove:

- *replacement* identifica la sostituzione, ove possibile, degli animali superiori con materiali biologici di minore complessità (batteri, colture cellulari, organi isolati, colture in vitro), modelli computerizzati, video, film;
- *reduction* implica la maggiore riduzione possibile del numero di animali usati per un particolare esperimento pur conseguendo risultati di studio altrettanto precisi. Ciò può essere ottenuto standardizzando la popolazione animale, fattore principe della variabilità dei risultati;
- *refinement* si riferisce alla ricerca di procedure sperimentali sempre più specifiche in grado di ridurre al minimo la sofferenza e lo stress causato agli animali, comunque impiegati.

I metodi del primo tipo consentono di ottenere una determinata informazione sperimentale senza ricorrere all'utilizzazione di animali; i metodi del

secondo tipo sono idonei ad ottenere livelli comparabili di informazione utilizzando un minor numero di animali e consentono di ricavare il massimo numero di informazioni con un solo saggio su animali; i metodi del terzo

tipo sono tutte le metodologie idonee ad alleviare sofferenze e danni impuntabili alle pratiche sperimentali. Tra i metodi del primo tipo si distinguono i "metodi sostitutivi biologici" e i "metodi sostitutivi non biologici": i primi sono i "metodi in vitro" ed utilizzano materiale biologico di diverso tipo (di origine animale o umana); mentre i secondi si avvalgono dei contributi di scienze quali la matematica, l'informatica, la statistica, eccetera.

Un nuovo approccio sperimentale, per essere considerato alternativo alla sperimentazione animale tradizionale, deve essere riproducibile, affidabile, rapido e non più costoso di quello che si vuole sostituire. Il centro europeo preposto alla verifica del rispetto dei suddetti parametri da parte del nuovo metodo (cosiddetta "validazione") è l'ECVAM (European Centre for Validation of Alternative Methods), istituito dalla Commissione Europea nel 1991 su proposta del Parlamento dell'Unione, nell'ambito del "Joint Research Centre" di Ispra in provincia di Varese. L'ECVAM coordina la validazione dei metodi alternativi a livello comunitario, e costituisce un punto di riferimento per lo scambio di informazioni sullo sviluppo di questi metodi, attraverso una banca dati dei metodi disponibili (già validati o in corso di validazione) impostata e gestita dal centro medesimo. Attraverso il processo di validazione viene stabilita l'affidabilità e la rilevanza di un metodo.

L'affidabilità descrive la riproducibilità dei risultati nel tempo e nello spazio, cioè, nello stesso laboratorio e tra laboratori diversi (cosiddetta "standardizzazione"); la rilevanza descrive la misura dell'utilità e della significatività del metodo per un determinato scopo. I test di validazione sono molto lunghi (possono durare anche anni) ed hanno lo scopo di verificare se un nuovo metodo fornisce, per determinate sostanze, risultati simili a quelli in precedenza ottenuti attraverso la sperimentazione sugli animali.

L'approdo finale di un nuovo metodo è il suo accoglimento entro la regolamentazione internazionale, con l'introduzione dei test alternativi nelle linee guida dell'OECD (Organization for Economic Cooperation and Development). L'OECD raccoglie non solo i Paesi membri dell'Unione Europea ma anche Stati Uniti, Giappone ed altri; ha il compito di armonizzare i differenti protocolli sperimentali, recependoli sotto forma di linee guida.

Le linee guida dell'OECD vengono periodicamente modificate per adeguarle alle nuove conoscenze scientifiche nonché alle modifiche legislative eventualmente intervenute. Un Libro Bianco [4] della Comunità Europea invita la comunità scientifica a fare il più possibile allo scopo di mettere a punto dei test chimici, che non ricorrano alla sperimentazione animale, in grado di dare informazioni - specialmente avvisi di pericolosità - in tempo reale o quasi reale riguardo la tossicità di un composto.

## Scopo del lavoro

Per la determinazione del PaO (Period after Opening) nei prodotti cosmetici non esistono metodi scientifici specifici e validati, né protocolli standar-

dizzati (che individuino la tipologia di analisi più idonea per i diversi prodotti), né riferimenti bibliografici che documentino con precisione protocolli di questo genere (mancano riferimenti bibliografici riconosciuti riguardo l'effettiva corrispondenza tra il tempo di permanenza in camera termostata e l'effettivo invecchiamento del prodotto). La valutazione deve tener conto delle caratteristiche fisico-chimiche dei prodotti e delle normali o ragionevolmente prevedibili condizioni d'uso.

In questo lavoro viene proposto come metodo innovativo il test di persistenza ambientale [5] per la determinazione del PaO di due prodotti cosmetici commerciali, una cipria (il PaO in etichetta è 24 M) e una crema da giorno (il PaO in etichetta è 12 M) all'atto dell'apertura, e dopo l'invecchiamento artificiale accelerato in veterometro (sia dei cosmetici aperti, che chiusi) e per valutarne la possibile degradazione. Questo test è un metodo alternativo alla sperimentazione animale tradizionale perché è un test non biologico in grado di fornire determinate informazioni sperimentali senza ricorrere all'utilizzazione di animali.

## Parte sperimentale

### Apparecchiature

L'invecchiamento artificiale dei prodotti cosmetici in barattoli sia chiusi, sia aperti è stato effettuato con il Veterometro QUV Weathering Tester - Model QUV/spray Q-Panel LAB-Products nelle condizioni di esposizione UV: irradianza spettrale 0,6 W/m<sup>2</sup>/nm, umidità relativa 58%, T=45 °C,  $\lambda=310$  nm per 200 ore. La fotodegradazione con il fotosensore a biossido di titanio, durata 4 h, è stata effettuata direttamente sulla sospensione di 50 mg di TiO<sub>2</sub> in 105 mL dell'estratto acquoso del cosmetico, utilizzando un potenziometro ORION modello 420 A pH Meter, per la determinazione del potenziale del biossido di titanio, irradiato da luce UV con il Polight® (sorgente luminosa di alta intensità).

### Materiali e Metodi

Sono stati analizzati i seguenti campioni:

- cipria (barattolo appena aperto);
- cipria invecchiata artificialmente in veterometro in barattolo aperto;
- cipria invecchiata artificialmente in veterometro in barattolo chiuso;
- crema da giorno barattolo appena aperto;
- crema da giorno invecchiata artificialmente in veterometro in barattolo aperto;
- crema da giorno invecchiata artificialmente in veterometro in barattolo chiuso.

Le analisi sono state effettuate sull'estratto acquoso del prodotto cosmetico (1,5 g di cipria in 300 mL di acqua e 4 g di crema in 800 mL di acqua), dopo due filtrazioni.

### Permanenza ambientale

La permanenza ambientale di una sostanza è un importante indice positivo e negativo, riferito alla destinazione d'uso di una sostanza, alla sua tossicità ed al suo ciclo di vita; nel senso positivo di durabilità è la capacità di un materiale di mantenere nel tempo le caratteristiche fisico-meccaniche e

di aspetto possedute nel momento della sua messa in opera; nel senso negativo della valutazione del rischio ambientale da sostanze chimiche è l'assenza di degradabilità nell'ambiente ed indica che una determinata sostanza non è facilmente biodegradabile da parte dei batteri, dei miceti o attraverso altri agenti naturali; è il risultato dell'assenza o dell'inefficacia di abbattimento o dell'incapacità di una sostanza a raggiungere un potenziale abbattimento; non può essere misurata direttamente; può essere solo dedotta dalla presenza continua di una sostanza nell'ambiente o dalla mancanza di dati degradativi osservati in laboratorio.

La Commissione Europea [6] descrive la persistenza di sostanze chimiche in termini di semivite del mezzo singolo o di mancanza di semivite sul risultato di studi svolti e di test inerenti la biodegradazione.

Mentre alcuni di questi test sono adatti ad identificare le sostanze non persistenti (cioè le sostanze soggette ad una biodegradazione rapida e completa in tutti i compartimenti ambientali), essi non potrebbero essere utilizzati per classificare una sostanza chimica come "persistente"; in genere si considera persistente una sostanza con emivita maggiore di un anno in tutti i compartimenti ambientali [7].

### Principio del metodo del test di ecopersistenza

Il test di ecopersistenza [5] consiste in una fotodegradazione con biossido di titanio, irradiato da luce UV a 350 nm. Il TiO<sub>2</sub>, fotoattivato con un'energia  $\geq 3,2$  eV porta alla promozione di elettroni dalla banda di valenza alla banda di conduzione con conseguente produzione di lacune elettroniche [8-10], dalle quali con le specie dell'acqua si producono radicali [10-11] che avviano la degradazione ossidativa di molti composti organici [8-11]. Il TiO<sub>2</sub> può anche fungere da indicatore di pH [5, 12] ed il sistema di conseguenza da sensore. Le curve del potenziale del biossido di titanio in funzione del tempo di irradiazione hanno il seguente andamento: dapprima il potenziale del TiO<sub>2</sub> diminuisce (il pH aumenta), raggiunge un minimo, dopo un certo tempo la pendenza cambia e il potenziale incomincia ad aumentare (il pH a diminuire). Un esempio di curva sperimentale è riportato in Fig. 2.

Il tempo necessario per osservare il cambiamento di pendenza (tempo di

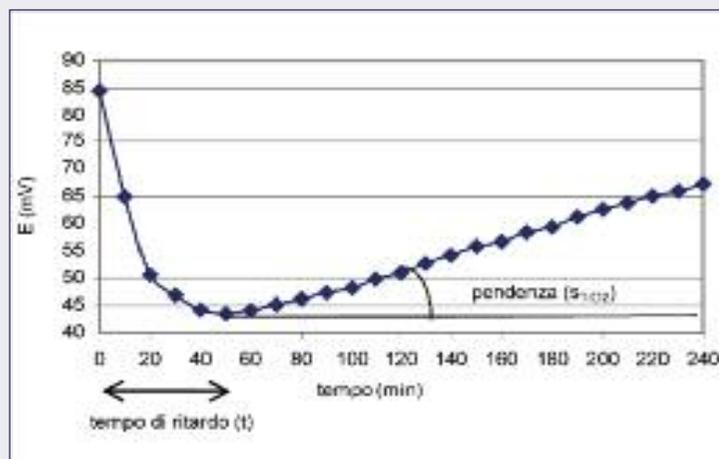


Fig. 2 - Tipico andamento del potenziale del biossido di titanio in funzione del tempo di irradiazione UV a 350 nm per la sospensione di TiO<sub>2</sub> in estratto acquoso di prodotto cosmetico

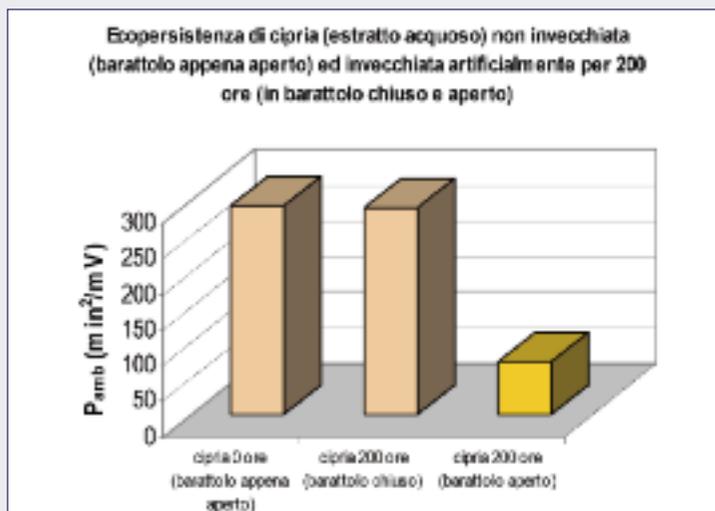


Fig. 3 - Risultati del test di ecopersistenza sull'estratto acquoso di cipria



Fig. 4 - Risultati del test di ecopersistenza sull'estratto acquoso di crema da giorno

ritardo) è correlato all'inizio della degradazione, che porta alla produzione di  $CO_2$  e di acidi minerali. La velocità di crescita del potenziale del  $TiO_2$  (o di diminuzione del pH) è assunta come velocità di degradazione. Lo scopo di questo lavoro è lo sviluppo di un test chimico in grado di fornire un indice di persistenza ambientale [5, 12] per la valutazione del PaO dei prodotti cosmetici analizzati. L'ecopersistenza viene valutata attraverso l'indice di persistenza ambientale:

$$P_{amb} = \Delta t / s_{TiO_2}$$

dove  $\Delta t$  è il tempo di ritardo;  $s_{TiO_2}$  è la pendenza della curva dell'aumento del potenziale del  $TiO_2$  in funzione del tempo di irradiazione a 350 nm dopo il tempo di ritardo.

## Risultati e discussione

I risultati delle misure effettuate sui cosmetici appena aperti non hanno permesso di stimare il valore di  $P_{amb}$  perché il potenziale del  $TiO_2$  continua a diminuire per l'intera durata delle analisi (protratta sino a 8 ore). Le difficoltà nell'applicazione del test potrebbero essere dovute alla composizione dei

cosmetici; la presenza infatti di componenti lipidiche rende probabilmente impermeabile la sospensione/emulsione di cosmetico in  $TiO_2$ /acqua ed impedisce il passaggio della radiazione ultravioletta non permettendo così l'attivazione del catalizzatore. Si è pertanto proceduto ad una estrazione del prodotto cosmetico. I risultati del test di ecopersistenza, effettuati sugli estratti acquosi dei prodotti cosmetici testati, appena aperti e non invecchiati, invecchiati artificialmente in barattolo chiuso e invecchiati artificialmente in barattolo aperto per 200 ore, sono riportati nella Tab. 2 e nelle Fig. 3 e 4, rispettivamente per la cipria e per la crema da giorno. I risultati ottenuti indicano che non ci sono differenze significativamente apprezzabili tra le misure eseguite sui campioni appena aperti e non invecchiati ed i campioni invecchiati in barattolo chiuso per 200 ore.

Invece l'apertura del barattolo associata all'invecchiamento artificiale fa diminuire significativamente l'ecopersistenza dell'estratto acquoso della cipria (da 293 a 73  $min^2/mV$ ) e della crema da giorno (da 114 a 30  $min^2/mV$ ); la degradazione è visibile nei campioni aperti già dopo poche ore di invecchiamento artificiale nel veterometro con variazioni cromatiche (imbrunimento) in entrambi i cosmetici e separazione delle fasi lipidica/acquosa nella crema. Si può dedurre che un cosmetico ben conservato e richiuso immediatamente dopo l'uso mantiene inalterate le sue proprietà anche se invecchiato artificialmente e può essere utilizzato con sicurezza anche oltre il PaO riportato in etichetta, viceversa lasciato aperto si degrada con estrema facilità già dopo poche ore di invecchiamento artificiale. I risultati sono in accordo con i PaO riportati nelle etichette: dopo l'invec-

Cosmetici (estratto acquoso)	$P_{amb}$ ( $min^2/mV$ )			$s_x$ ( $\mu S/cm\ min$ )		
	Campione non invecchiato barattolo appena aperto	Campione invecchiato 200 ore in barattolo chiuso	Campione invecchiato 200 ore in barattolo aperto	Campione non invecchiato barattolo appena aperto	Campione invecchiato 200 ore in barattolo chiuso	Campione invecchiato 200 ore in barattolo aperto
<b>Cipria</b>	293 ± 10	290 ± 10	75 ± 5	0,320 ± 0,001	0,320 ± 0,001	0,328 ± 0,001
<b>Crema</b>	114 ± 10	112 ± 10	30 ± 3	0,201 ± 0,001	0,207 ± 0,001	0,295 ± 0,001

chiamento artificiale in barattolo aperto, la cipria ha un valore di  $P_{amb}$ , 75  $\text{min}^2/\text{mV}$ , poco più del doppio di quello della crema, 30  $\text{min}^2/\text{mV}$ , i PaO riportati nelle etichette sono rispettivamente 24 mesi per la cipria e 12 mesi per la crema. La risposta ottenuta: apertura del barattolo associata a invecchiamento artificiale, può pertanto essere diagnostica ai fini della valutazione del periodo di post apertura dei prodotti commerciali.

La determinazione della conducibilità specifica (Tab. 2 e Fig. 5 e 6), durante la fotodegradazione, conferma i risultati di persistenza ambientale, tenuto conto che la fotodegradazione comporta generalmente la produzione di specie ioniche. Anche con quest'indice l'apertura del barattolo associata all'invecchiamento artificiale fa aumentare  $s_x$  dell'estratto acquoso della cipria e della crema da giorno. I risultati di  $s_x$  confermano i risultati di  $P_{amb}$  per i prodotti cosmetici dopo l'apertura del barattolo associata all'invecchiamento artificiale in accordo ai valori di PaO riportati nelle etichette e possono essere diagnostici ai fini della valutazione del periodo di post apertura dei prodotti commerciali.

## Conclusioni

I test di tossicità basati sulla valutazione della ecopersistenza possono avere sviluppi in campi completamente diversi dalle scienze ambientali e dalla tossicologia. In questo lavoro ne è stata proposta un'applicazione atipica, relativa alla misura della stabilità dei prodotti cosmetici ai fini della sicurezza e della protezione dell'utente.

L'invecchiamento artificiale effettuato per 200 ore:

- sui barattoli chiusi non determina variazioni apprezzabili degli indici determinati;
- sui barattoli aperti, invece, provoca variazioni significative: la persistenza ambientale diminuisce e la conducibilità specifica aumenta, al passare del tempo, con risultati in accordo ai valori di PaO riportati nelle etichette.

La risposta ottenuta, apertura del barattolo associata a invecchiamento artificiale, può pertanto essere diagnostica ai fini della valutazione del periodo di post apertura dei prodotti commerciali.

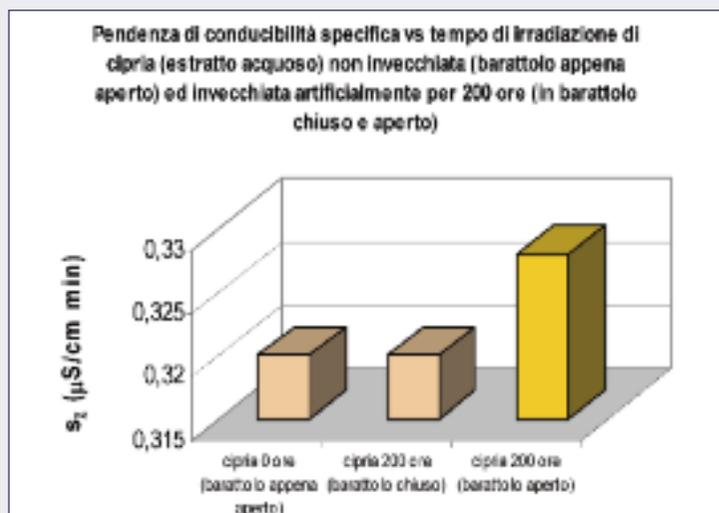


Fig. 5 - Pendenza della conducibilità specifica vs tempo di irradiazione per estratto acquoso di cipria

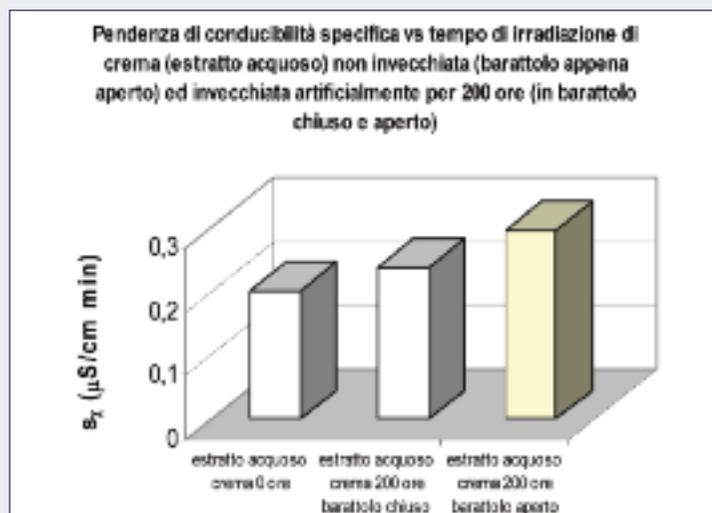


Fig. 6 - Pendenza della conducibilità specifica vs tempo di irradiazione per estratto acquoso di crema da giorno

## Bibliografia

- [1] Direttiva 2003/15/CE del 27 febbraio 2003, recepita in Italia con D.Lgs n. 50 del 15 febbraio 2005, Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea 11/03/2003.
- [2] R. Curini *et al.*, Università di Roma "La Sapienza": "Laboratorio chimico per la sicurezza. Valutazione del Rischio Chimico".
- [3] W.M.S. Russel, R.L. Burch, The Principle of Human Experimental Technique, Meuthen, London, 1959.
- [4] Commissione delle Comunità Europee, Libro Bianco Strategia per un politica futura in materia di sostanze chimiche, Bruxelles, 27 febbraio 2001 COM(2001) 88 definitivo.
- [5] L. Campanella, C. Costanza, *Ecotoxic. Environ. Saf.*, **72**, 261.
- [6] European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals, Brussels, Technical Report - ECETOC 1-195, 2003.
- [7] W. Kloepffer, *Environ. Sci. & Pollut. Res.*, 1994, **1**, 108.
- [8] A. Mills, S. Le Hunte, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 1997, **108**, 1.
- [9] N. Danashevar *et al.*, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 2003, **157**, 111.
- [10] K. Tanaka *et al.*, *Wat. Res.*, 2000, **34**(1), 327.
- [11] V. Vamathevan *et al.*, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 2003, **148**, 233.
- [12] L. Campanella *et al.*, *Inquinamento*, 2005, **47**, 22.