

# Spettroscopia UV-VIS per l'analisi dell'olio minerale bianco secondo ASTM D2269-10

Risparmiare tempo, ridurre gli errori di misurazione e semplificare l'analisi dei dati con il sistema UV-Vis multicella Cary 3500 di Agilent



## Autore

Yasurika Heenatigala  
Agilent Technologies, Inc.

## Abstract

Gli oli minerali bianchi utilizzati nella produzione farmaceutica devono soddisfare rigorosi criteri di purezza in conformità ai requisiti normativi. Seguendo il metodo standard ASTM D2269-10, è stato utilizzato uno spettrofotometro UV-Vis multicella Cary 3500 di Agilent per verificare la purezza degli oli minerali mediante la quantificazione del naftalene. Il metodo ha soddisfatto i criteri di precisione specificati nella norma ASTM D2269-10, confermandone l'affidabilità per le applicazioni di controllo qualità. Sono stati analizzati tre campioni commerciali di olio minerale e confrontati con il limite di accettazione del naftalene definito dalla monografia USP-NF. Solo due dei tre oli hanno superato il test di purezza. Lo studio evidenzia inoltre i vantaggi del software Agilent Cary UV Workstation, che ha semplificato l'acquisizione e l'analisi dei dati, consentendo test efficienti e una reportistica chiara.

## Introduzione

Gli oli minerali bianchi sono miscele liquide complesse di idrocarburi aromatici derivati da olio di petrolio greggio raffinato. Sono ampiamente utilizzati in vari settori, tra cui l'industria alimentare, cosmetica, farmaceutica e manifatturiera, come materie prime, additivi o eccipienti.<sup>1</sup>

Il settore farmaceutico è fortemente regolamentato per garantire la sicurezza, l'efficacia e la qualità dei farmaci, a tutela della salute pubblica. Di conseguenza, gli oli minerali di grado farmaceutico utilizzati nelle formulazioni sono soggetti a rigorosi controlli normativi, che prevedono attività di monitoraggio e test di purezza per rilevare contaminanti in tracce, in conformità agli standard previsti. Sia la Farmacopea Europea che quella degli Stati Uniti specificano l'uso della spettrofotometria UV (ultravioletto) per determinare la concentrazione di impurità, come il naftalene, idrocarburo policiclico aromatico, nei campioni di olio minerale.<sup>2</sup> Per supportare gli analisti, la USP-NF ha stabilito un limite massimo per il contenuto di naftalene, espresso in unità di assorbanza (Abs).<sup>3</sup>

L'ASTM fornisce metodi standardizzati per la valutazione dei materiali, assicurando misurazioni coerenti e affidabili in tutta l'industria. Il metodo standard ASTM D2269-10 descrive una procedura per valutare l'idoneità degli oli minerali bianchi all'uso previsto, misurando l'assorbimento ultravioletto del naftalene rispetto a un materiale di riferimento.<sup>4</sup> Questo metodo fa riferimento alle specifiche della USP-NF, rendendolo idoneo per oli di grado farmaceutico.

Questo studio illustra i vantaggi dell'utilizzo di uno spettrofotometro UV-Vis multicella Cary 3500 (Figura 1) e del software Agilent Cary UV Workstation per misurare l'assorbanza UV di tre campioni di olio minerale disponibile in commercio. La purezza di questi oli è stata determinata secondo il metodo standard ASTM D2269-10.



**Figura 1.** È stato utilizzato uno spettrofotometro UV-Vis multicella Cary 3500 Agilent per tutte le misurazioni.

## Condizioni sperimentali

### Preparazione dei campioni e degli standard

**Bianco standard:** grado spettroscopico, 2,2,4-trimetilpentano (isooctano) (Sigma-Aldrich, codice: 1047182500, N. CAS: 540-84-1)

**Standard di riferimento:** 44,3 mg di naftalene (Sigma-Aldrich, codice: 147141-25G, N. CAS: 91-20-3) sono stati aggiunti a un matraccio tarato da 100 mL, asciutto e pulito. La massa è stata pesata con una precisione di 0,0001 g, quindi diluita con isooctano fino al volume finale, chiusa con tappo e miscelata accuratamente. È stata calcolata la concentrazione della soluzione disciolta e si è prelevato il volume appropriato per preparare uno standard di 20 mL con una concentrazione di 7,0 mg/L di naftalene in isooctano.

**Campione:** 25 mL di olio minerale (Agilent Technologies, codice: 5190-8716) e 25 mL di esano (Sigma-Aldrich, codice: 270504-2L, N. CAS: 110-54-3) sono stati trasferiti in un imbuto separatore e miscelati. Sono stati poi aggiunti 5 mL di dimetilsolfossido (DMSO) (Sigma-Aldrich, codice: 1029500500, N. CAS: 67-68-5) e la miscela è stata agitata energicamente per 1 minuto. La miscela è stata lasciata riposare finché lo strato inferiore non è diventato limpido. Lo strato inferiore è stato trasferito e sono stati aggiunti 2 mL di esano al liquido trasferito. La miscela è stata nuovamente agitata, quindi lasciata riposare finché lo strato inferiore non è risultato limpido. Lo strato inferiore è stato estratto e identificato come estratto dell'olio minerale. Tre millilitri di campione estratto sono stati trasferiti in una cuvetta standard in quarzo da 3,5 mL con lunghezza del percorso ottico da 10 mm (Agilent Technologies, codice: 5061-3387). Questo processo è stato ripetuto tre volte su tre diversi lotti di olio minerale.

**Controllo solvente:** 5 mL di DMSO sono stati aggiunti a 25 mL di esano in un imbuto separatore. La miscela è stata agitata energicamente per 1 minuto, quindi lasciata riposare finché lo strato inferiore non è risultato limpido. Lo strato inferiore è stato estratto e identificato come controllo solvente. Sono state preparate tre celle di controllo solvente, ciascuna contenente 3 mL del bianco estratto, trasferito in cuvette in quarzo da 10 mm.

## Strumentazione

Una volta preparati gli estratti dell'olio minerale e le celle di controllo solvente, l'assorbanza è stata misurata utilizzando lo spettrofotometro UV-Vis multicella Cary 3500 (Figura 1), impiegando i parametri riportati nella Tabella 1. Il design multicella dello strumento garantisce un flusso di lavoro ottimizzato ed efficiente, poiché consente di misurare fino a **otto campioni e un riferimento contemporaneamente**.

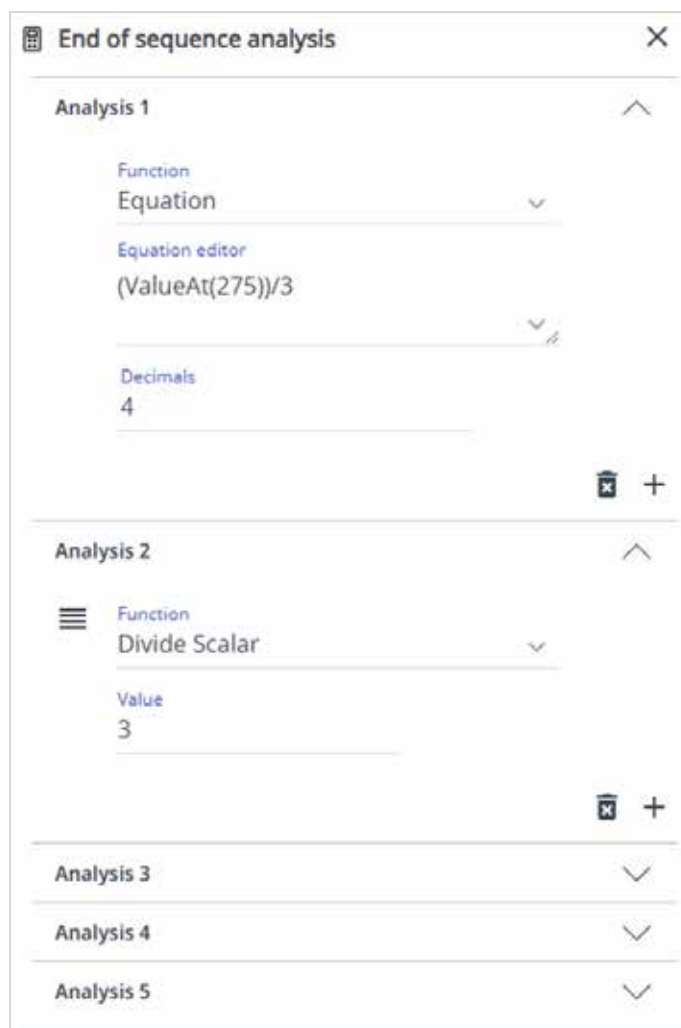
| Parametro                      | Valore                   |
|--------------------------------|--------------------------|
| Intervallo di lunghezze d'onda | da 260 a 350 nm, inclusi |
| Tempo per la media del segnale | 0,1 s                    |
| Intervallo dati                | 1 nm                     |
| Larghezza di banda spettrale   | 2 nm                     |

## Risultati e discussione

Il metodo di prova ASTM D2269-10 definisce i criteri di accettazione per la soglia di assorbanza dell'impurezza (naftalene), come indicato nella monografia USP-NF per l'olio minerale. Come riportato nella monografia, "l'assorbanza a qualsiasi lunghezza d'onda compresa nell'intervallo specificato della soluzione campione non deve superare un terzo dell'assorbanza della soluzione standard". L'intervallo specificato della soluzione campione è compreso tra 260 e 350 nm, mentre l'assorbanza della soluzione standard viene misurata a 275 nm.

### Calcolo del limite di accettazione

La norma ASTM D2269-10 descrive una procedura per determinare il limite di accettazione dell'impurezza per gli oli minerali. A tal fine, il software Cary UV Workstation include strumenti funzionali, come l'opzione "end of sequence analysis" (analisi di fine sequenza), che aiutano a soddisfare i requisiti di controllo qualità (QC) dei metodi standard. Come mostrato nella Figura 2, il calcolo della soglia di assorbanza per l'impurezza del naftalene, basato sulla misurazione dello standard di riferimento, è stato inserito alla fine della sequenza "Analysis 1" (Analisi 1). Per generare visivamente la soglia di assorbanza dell'impurezza nello spettro, è stata utilizzata la funzione "Divide Scalar (by 3)" (Dividi per scalare (x3)) alla fine della sequenza "Analysis 2" (Analisi 2).



**Figura 2.** Dopo la misurazione dello standard di riferimento del naftalene, sono state completate automaticamente due analisi utilizzando la funzione software integrata "end of sequence analysis" (analisi di fine sequenza) di Agilent Cary UV Workstation. "Analysis 1" (Analisi 1): soglia di assorbanza dell'impurezza ( $y = (\text{valore a } x = 275)/3$ ). "Analysis 2" (Analisi 2): utilizzo della funzione "Divide Scalar" (Dividi per scalare) per visualizzare il limite di assorbanza a 275 nm.

Lo standard di riferimento del naftalene è stato misurato utilizzando lo spettrofotometro UV-Vis multicella Cary 3500 in modalità Scan dell'applicazione, e lo spettro è stato visualizzato nel software Cary UV Workstation. Il software ha restituito un limite di accettazione dell'assorbanza per l'impurezza pari a 0,0997 Abs.

Analisi quantitativa

Per la misurazione del naftalene nei tre campioni di olio minerale è stato utilizzato un nuovo batch in modalità Scan. La funzione “end of sequence analysis” (analisi di fine sequenza) è stata utilizzata per calcolare l’assorbanza dei campioni sull’intervallo di lunghezze d’onda specificato e confrontarla con la soglia di assorbanza dell’impurezza di 0,0997 Abs. Questo processo ha permesso di valutare se il campione rispettasse i criteri di accettazione definiti nella monografia USP-NF.

Dopo aver misurato i controlli del solvente per determinare la linea di base, gli spettri dei tre campioni di olio minerale sono stati acquisiti simultaneamente utilizzando lo spettrofotometro UV-Vis multicella Cary 3500, con la sequenza mostrata nella Figura 3.

Il software Cary UV Workstation ha generato automaticamente una tabella di valori di assorbanza in base alla configurazione della sequenza. I valori sono stati riportati secondo quanto previsto dai requisiti specificati nel metodo ASTM D2269-10.

L’assorbanza massima di ciascun campione (calcolata utilizzando l’equazione: Campione x (YMax)) è stata sottratta

dal limite di assorbanza per l’impurezza, pari a 0,0977. Un valore positivo indicava che un campione aveva superato il metodo di prova (assorbanza e concentrazione di naftalene non significative), mentre un valore negativo suggeriva che un campione non aveva superato il test (assorbanza significativa nella regione spettrale, indicativa di una concentrazione significativa di naftalene). Come mostrato nella Figura 4, due dei tre oli minerali hanno superato il metodo di prova per la purezza.

Results and Analysis

Calculator results (2025-03-12 19:05:18 (-07:00))

0.0997-Y Max(260,350)

| Sample name           | Results |
|-----------------------|---------|
| Mineral oil extract 1 | 0.0043  |
| Mineral oil extract 2 | 0.0069  |
| Mineral oil extract 3 | -0.0452 |

Figura 4. Le concentrazioni insignificanti di naftalene sono espresse come valori positivi (a indicare che il campione ha superato il metodo di prova per la purezza). Al contrario, concentrazioni significative di naftalene sono espresse con valori negativi, a indicare un campione impuro secondo ASTM D2269-10.

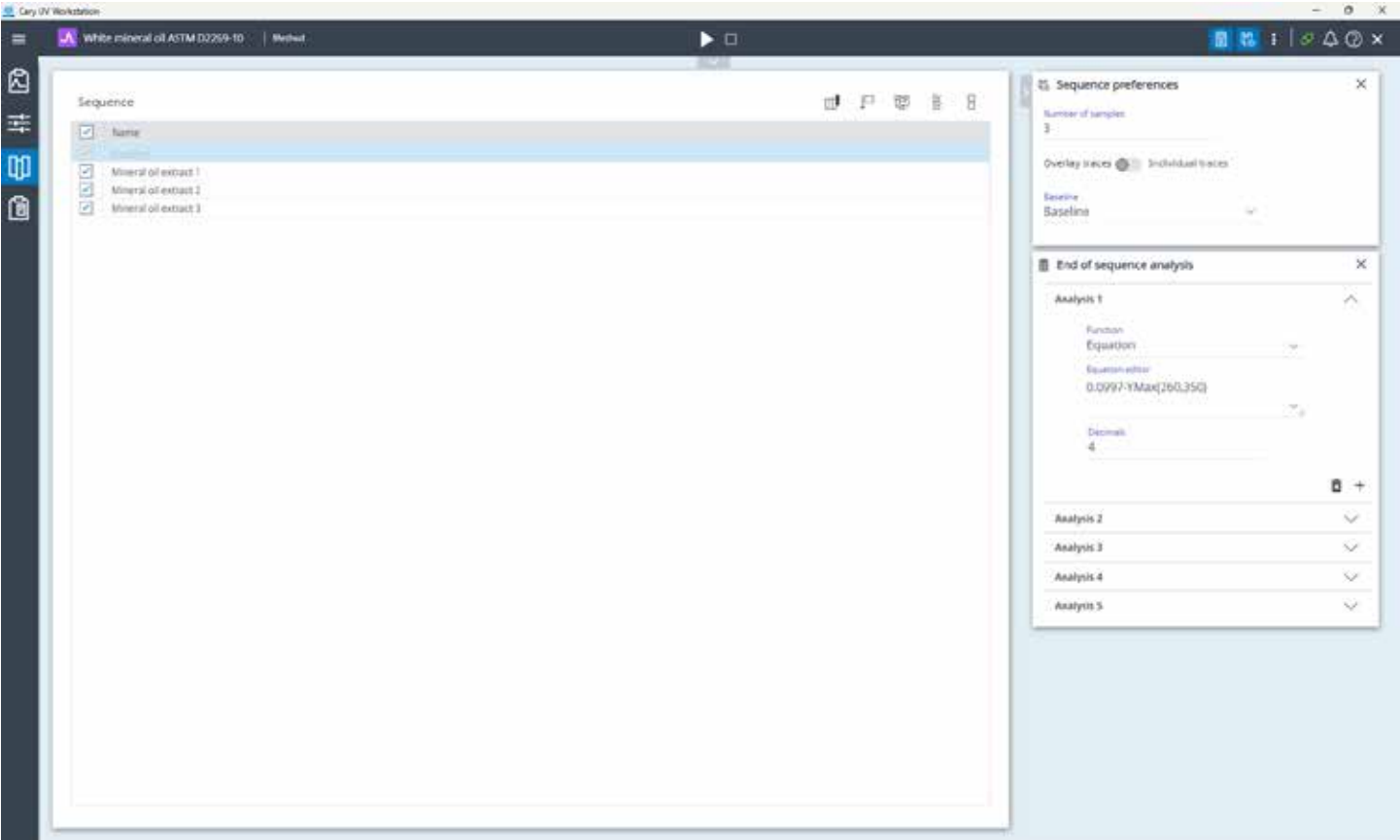
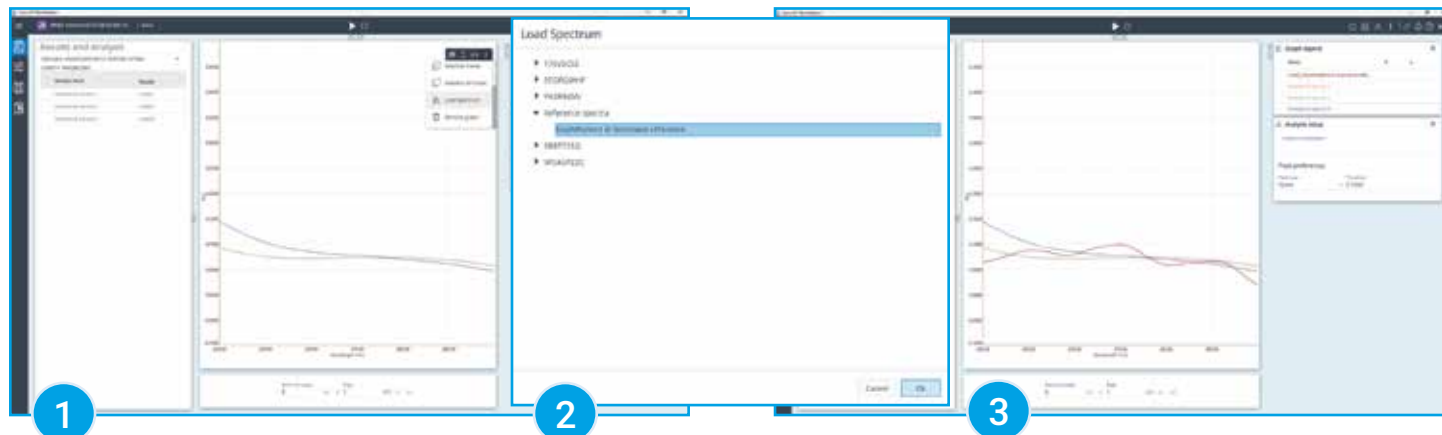


Figura 3. Pagina di configurazione della sequenza in Agilent Cary UV Workstation per la misurazione simultanea di tre campioni di olio minerale mediante spettrofotometro UV-Vis multicella Cary 3500 Agilent.

## Analisi qualitativa

“Load Spectrum” è uno strumento software che consente all'utente di consultare il database protetto dei campioni acquisiti utilizzando l'applicazione Scan. Utilizzando la funzione Load Spectrum, lo spettro della soglia di assorbanza dell'impurezza è stato sovrapposto agli spettri dei campioni in esame, come mostrato nella Figura 5.

La funzione Load Spectrum garantisce inoltre la tracciabilità e la responsabilità, registrando ogni volta un audit trail specifico, come illustrato nella Figura 6.



**Figura 5.** La funzione Load Spectrum consente all'utente di caricare uno spettro da un batch di origine nel batch attualmente aperto. L'interfaccia utente offre un modo intuitivo per esplorare i batch e selezionare lo spettro desiderato.

| Created By | Date and Time    | Description  | Reason for change | Category     | Reviewed by  | Review date  | Username     | Application  | Data version | Project      |
|------------|------------------|--------------|-------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| John       | 2023-04-21 11:05 | Sample 11-05 | Sample 11-05      | Sample 11-05 | Sample 11-05 | Sample 11-05 | Sample 11-05 | Sample 11-05 | Sample 11-05 | Sample 11-05 |
| John       | 2023-04-21 11:05 | Sample 11-05 | Sample 11-05      | Sample 11-05 | Sample 11-05 | Sample 11-05 | Sample 11-05 | Sample 11-05 | Sample 11-05 | Sample 11-05 |
| John       | 2023-04-21 11:05 | Sample 11-05 | Sample 11-05      | Sample 11-05 | Sample 11-05 | Sample 11-05 | Sample 11-05 | Sample 11-05 | Sample 11-05 | Sample 11-05 |

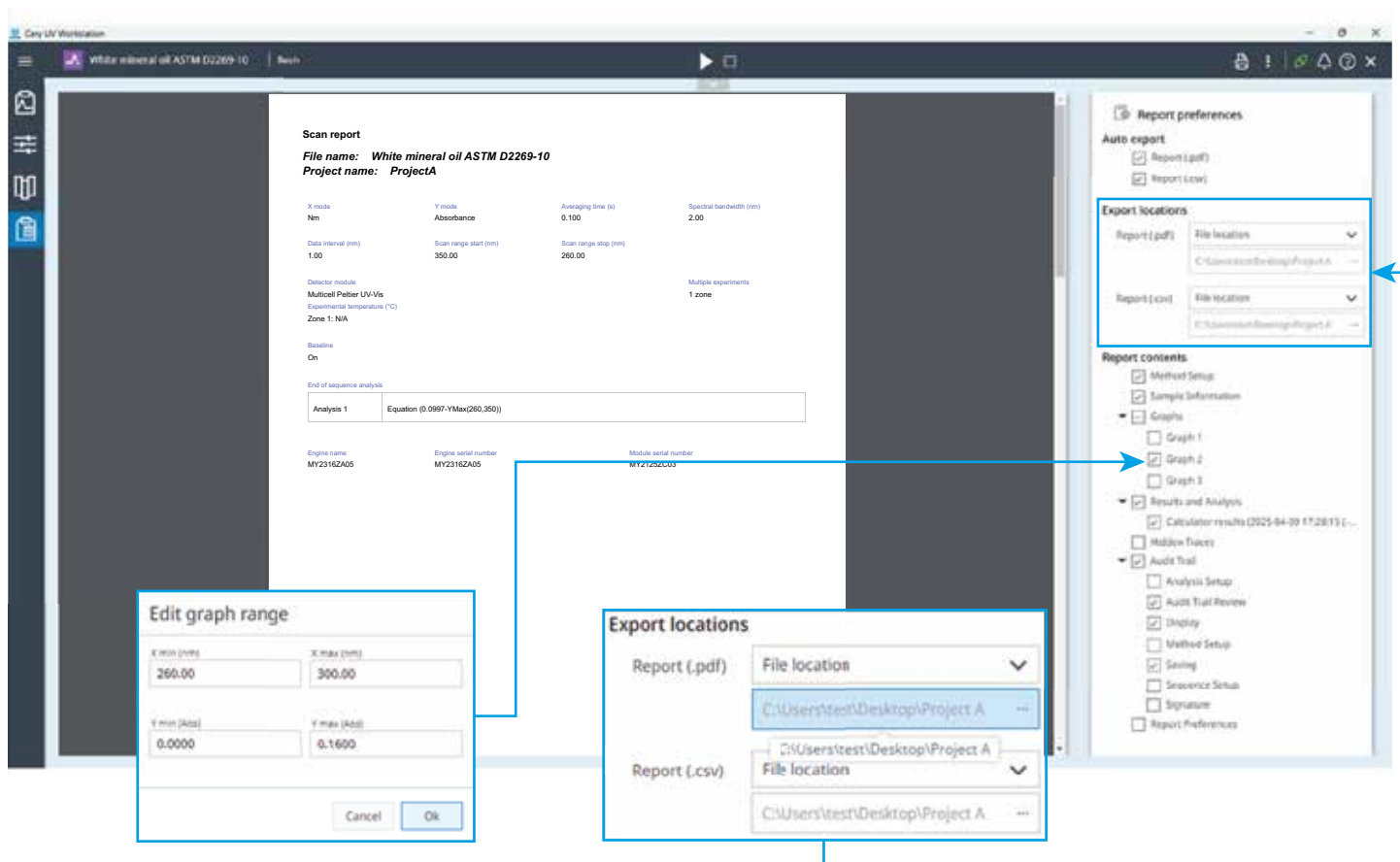
**Figura 6.** Audit trail generato utilizzando la funzione Load Spectrum.

Il software Cary UV Workstation consente all'utente di ridimensionare i grafici, facilitando ulteriormente i confronti. Come mostrato nella Figura 5 (e nella Figura 7), il grafico è stato ingrandito per mostrare l'intervallo compreso tra 260 e 290 nm. Per un campione di prova, un assorbimento nell'intervallo di lunghezze d'onda che superi il limite di assorbanza dell'impurezza a 275 nm (0,0977 Abs) indica una concentrazione significativa di naftalene (impurezza). Il grafico mostra che i campioni di olio minerale 1 e 2 contenevano livelli non significativi di naftalene, poiché nessuno dei due spettri ha superato la soglia di assorbanza dell'impurezza. Tuttavia, il campione 3 ha superato il limite, probabilmente a causa di contaminazione durante la fase di preparazione del campione.

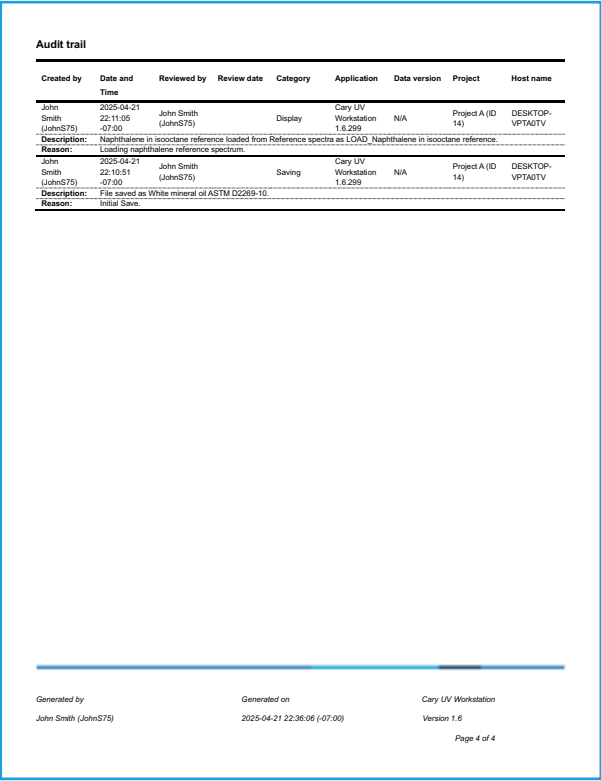
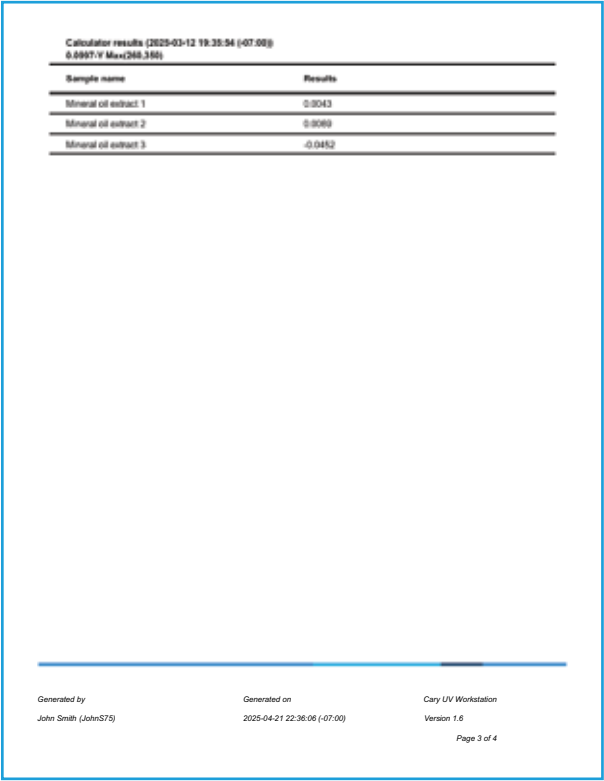
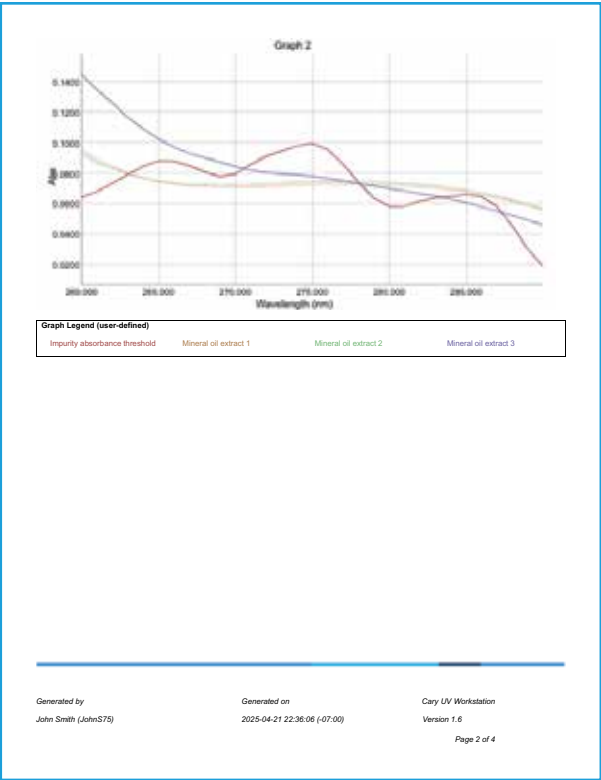
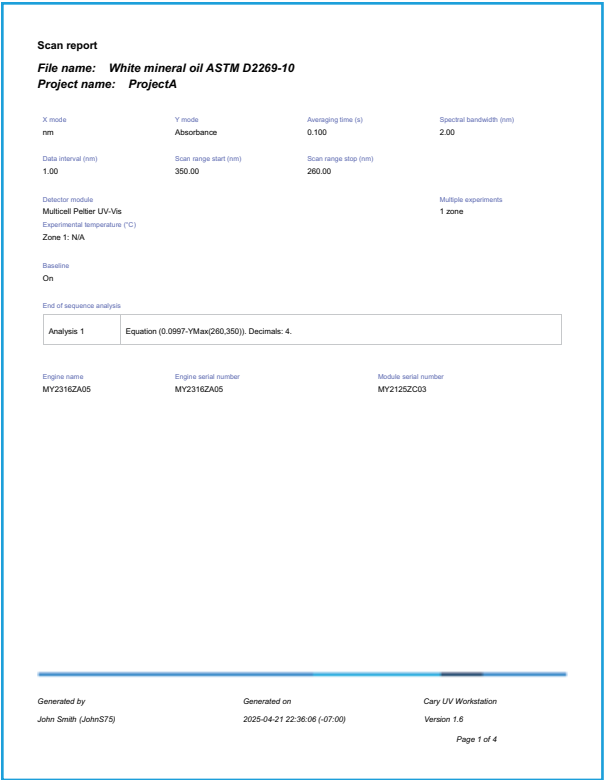
## Generazione del report

Il software Cary UV Workstation ha consolidato i risultati in un unico report. Le informazioni rilevanti, come la tabella dei valori di analisi, i grafici in scala e l'audit trail, sono state selezionate per essere incluse nel report (Figura 7). Il report finale è stato generato automaticamente in formato PDF ed esportato in una posizione definita dall'utente, per un trasferimento delle informazioni senza interruzioni.

I parametri di raccolta dati, la configurazione dell'analisi di fine sequenza e le preferenze di report sono stati salvati come metodo nel software Cary UV Workstation. La disponibilità del metodo ottimizzato consente di semplificare le misurazioni future degli oli minerali, automatizzando i calcoli e la generazione dei report, inclusa l'esportazione automatica in posizioni definite dall'utente.



**Figura 7.** Agilent Cary UV Workstation consente all'utente di selezionare o deselectare i contenuti del report, in base alle preferenze personali.



**Figura 8.** Report Scan (quattro pagine: (1) report di scansione, (2) grafico, (3) risultati dei calcoli, (4) audit trail).



## Precisione del metodo

I test di precisione sono stati eseguiti su tutti e tre i campioni di olio minerale utilizzando lo spettrofotometro UV-Vis multicella Cary 3500. Conformemente alla norma ASTM D2269-10, per ciascun campione sono state effettuate 20 misure di assorbanza nell'intervallo di lunghezze d'onda compreso tra 275 e 280 nm.

Il test di ripetibilità ha valutato la coerenza interna dello strumento. Secondo il criterio previsto dal metodo, la differenza tra risultati successivi può superare 0,014 Abs in un solo caso su 20. In questo studio, tutte le deviazioni standard calcolate ( $n = 20$ ) sono risultate entro  $\pm 0,014$  Abs, con una variazione massima di  $\pm 1,28 \times 10^{-3}$  Abs osservata per il campione di olio minerale 3, come riportato nella Tabella 2.

**Tabella 2.** Variazione massima su 20 misurazioni nell'intervallo scansionato di lunghezze d'onda da 275 a 280 nm, inclusi.

| Campione                    | Variazione massima nell'intervallo da 275 a 280 nm (Abs) |
|-----------------------------|----------------------------------------------------------|
| Estratto di olio minerale 1 | $1,93 \times 10^{-4}$                                    |
| Estratto di olio minerale 2 | $3,05 \times 10^{-4}$                                    |
| Estratto di olio minerale 3 | $1,28 \times 10^{-3}$                                    |

Il test di riproducibilità ha valutato la coerenza tra strumenti diversi. Secondo il criterio previsto dal metodo, la differenza tra due risultati di prova singoli e indipendenti può superare 0,044 Abs in un solo caso su 20. Le differenze tra le deviazioni standard ( $n = 20$ ) sono state calcolate tra operatori indipendenti ( $\Delta$ SD). Tutte le differenze osservate rientravano nell'intervallo di  $\pm 0,044$  Abs, con una differenza massima di  $\pm 1,16 \times 10^{-3}$  Abs osservata per il campione di olio minerale 3, come riportato nella Tabella 3.

**Tabella 3.** Variazione massima tra strumenti, calcolata come differenza nella variazione tra operatore 1 e operatore 2. Sono state eseguite 20 misurazioni per ottenere una deviazione standard, nell'intervallo di lunghezze d'onda da 275 a 280 nm, inclusi.

| Campione                    | Variazione massima tra operatori nell'intervallo 275–280 nm (Abs) |
|-----------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| Estratto di olio minerale 1 | $3,05 \times 10^{-5}$                                             |
| Estratto di olio minerale 2 | $1,79 \times 10^{-4}$                                             |
| Estratto di olio minerale 3 | $1,16 \times 10^{-3}$                                             |

Il metodo di prova ASTM D2269-10 definisce requisiti rigorosi in merito alla precisione fotometrica, al fine di determinare in modo affidabile la purezza utilizzando questo metodo di analisi spettroscopica UV-Vis. I risultati dei test di precisione hanno dimostrato l'affidabilità dello spettrofotometro UV-Vis Cary 3500 nell'analisi della purezza dei campioni di olio minerale.

## Conclusione

Uno spettrofotometro UV-Vis multicella Cary 3500 di Agilent, in combinazione con il software Cary UV Workstation, ha determinato in modo efficiente la purezza (naftalene) di tre oli minerali bianchi disponibili in commercio. Gli oli sono stati testati rispetto a un limite di accettazione per il naftalene, definito nella monografia USP-NF secondo il metodo di prova ASTM D2269-10. Il metodo UV-Vis Cary 3500 ha soddisfatto i criteri di precisione stabiliti dall'ASTM D2269-10 per la misurazione del naftalene, rendendolo idoneo per il controllo qualità di oli di grado farmaceutico.

Con otto posizioni disponibili per le celle, il design multicella dello spettrofotometro UV-Vis Cary 3500 consente di misurare simultaneamente fino a sette campioni e un riferimento, migliorando la produttività. La configurazione multicella consente inoltre di evitare variazioni nelle condizioni ambientali, operative e strumentali tra le misurazioni dei campioni, garantendo l'accuratezza e la precisione dei risultati. Il software Cary UV Workstation ha semplificato i test sperimentali e l'analisi dei dati, consentendo agli utenti di caricare gli spettri acquisiti in precedenza per eseguire confronti e generare grafici chiari per la reportistica.

Lo studio ha dimostrato l'idoneità dell'uso dello spettrofotometro UV-Vis multicella Cary 3500 con il software Cary UV Workstation per l'analisi di routine della purezza delle materie prime farmaceutiche a base di olio minerale, in conformità agli standard del settore.



## Bibliografia

1. Pirow, R.; Blume, A.; Hellwig, N.; Herzler, M.; Huhse, B.; Hutzler, C.; Pfaff, K.; Thierse, H.-J.; Tralau, T.; Vieth, B.; *et al.* Mineral Oil in Food, Cosmetic Products, and in Products Regulated by Other Legislations. *Critical Reviews in Toxicology* **2019**, 49(9). <https://doi.org/10.1080/10408444.2019.1694862>
2. Weber, S.; Schrag, K.; Mildau, G.; Kuballa, T.; Walch, S. G.; Lachenmeier, D. W. Analytical Methods for the Determination of Mineral Oil Saturated Hydrocarbons (MOSH) and Mineral Oil Aromatic Hydrocarbons (MOAH)—A Short Review. *Analytical Chemistry Insights* **2018**, 13. <https://doi.org/10.1177/1177390118777757>
3. The United States Pharmacopeial Convention. USP-NF Mineral Oil, 2024, Retrieved from United States Pharmacopoeia USP: [https://doi.org/10.31003/USPNF\\_M54081\\_02\\_01](https://doi.org/10.31003/USPNF_M54081_02_01)
4. ASTM International. ASTM D2269-10 (2020) Standard Test Method for Evaluation of White Mineral Oils by Ultraviolet Absorption. *ASTM Volume 05.01: Petroleum Products, Liquid Fuels, and Lubricants*. doi: 10.1520/D2269-10R20

[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

DE-005995

Le informazioni fornite possono essere soggette a modifica senza preavviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2025  
Stampato negli Stati Uniti, 25 aprile 2025  
5994-8265ITE