



IKER
GAZTE
NAZIOARTEKO
IKERKETA EUSKARAZ

I. IKERGAZTE

NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2015eko maiatzaren 13, 14 eta 15
Durango, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)

ZIENTZIA ZEHATZAK ETA NATUR ZIENTZIAK

**Substantzia alergenak,
kontserbagarriak eta ultramore-
iragazkiak kuantifikatzeko
metodoen garapena eta aplikazioa**

J. Lopez-Gazpio eta E. Millán

281-286 or.
<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.i.37>

ANTOLATZAILEA:



BABESLEAK:



LAGUNTZAILEAK:



Substantzia alergenokoak, kontserbagarriak eta ultramore-iragazkiak kuantifikatzeko metodoen garapena eta aplikazioa

Lopez-Gazpio, J., Millán, E.

Kimika Aplikatua Saila. Kimika Fakultatea. Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU)
j.lopezgazpio@gmail.com

Laburpena

Lan honetan kosmetikoen osagaiak kuantifikatzeko bi metodo aurkezten dira. A metodoa 7 kontserbagarri eta 8 lurrin alergenoko determinatzeko garatu zen. B metodoa mota desberdinetako 14 kontserbagarri eta bentzofenonaren deribatuak diren 2 ultramore-iragazki determinatzeko garatu zen. Hautatutako konposatuak asko erabiltzen dira kosmetikoen eta zainketa pertsonalerako zein etxeko beste produktuen osagai gisa, eta Europako legedian aipatzen dira. Bi metodoak kromatografia elektrokinetiko mizelarrean eta lerrotutako diodoen detekzioan oinarritzen dira. Optimizatutako eta balioztatutako metodoak lagin komertzialetan aukeratutako osagaiak kuantifikatzeko erabili ziren eta emaitza arrakastatsuak lortu ziren.

Hitz gakoak: Lurrin alergenokoak, Kontserbagarriak, UV-iragazkiak, Kosmetikokoak, MEKC-DAD

Abstract

In this work two methods for determination of cosmetic ingredients are presented. Method A was developed for determination of 7 preservatives and 8 fragrance allergens. Method B was developed for determination of 14 multiclass preservatives and 2 benzophenone-type ultraviolet-filters. The selected target compounds are widely used as ingredients in many cosmetic, household and personal care products, and are included in the European Regulation on cosmetic products. Both methods are based on micellar electrokinetic chromatography and diode array detection. Optimized and validated methods were successfully applied to quantify the selected ingredients in commercial samples.

Keywords: Fragrance allergens, Preservatives, UV-filters, Cosmetics, MEKC-DAD

1. Sarrera eta motibazioa

Kosmetikoen, etxeko produktuen eta zainketa pertsonalerako produktuen (PCP, *personal care products*) analisiak interes handia piztu du azken hamarkadetan. PCPak edonon erabiltzen direnez, gizartean kezka dago kosmetikoen osagaien segurtasunari buruz eta baita kontsumitzaileengan izan ditzaketen albo-ondorioei buruz ere. Europar Batasunaren kasuan, 2009ko abenduaren 22an EBko aldizkari ofizialean 1223/2009 araudia argitaratu zen (European Parliament, 2009), 2013ko uztailaren 13an indarrean jartzekoa. Araudi horrek legedia nabarmen aldatu zuen, aurreko zuzentarauari hobekuntzak eta zuzenketak eginez. Era berean 1223/2009 araudiak legedia sinplifikatu, harmonizatu eta argitu zuen. Produktu kosmetikoen segurtasunari dagokionez, kontzeptu aldaketa interesgarria ekarri zuen 1223/2009 araudiak, aurreko legedia baino zorrotzagoa delako. Araudiaren 4. kapituluak kosmetikoetan erabili ezin diren edo erabilpen mugatua duten substantziak sailkatzen dira. Muga horiek kontzentrazio maximoari, produktu motari edo produktuaren etiketari buruzkoak izan daitezke, besteak beste. Kosmetikoetan dauden osagaien kuantifikazioa oinarritzeko atala da produktuen kalitate-kontrola. Hortaz, ikerkuntza honetan lurrin alergenokoak, kontserbagarriak eta ultramore-iragazkiak izan ziren aztergai.

Lurrinak edonon aurki daitezke kosmetikoen osagai gisa, eta 3.000 lurrin baino gehiago daude eskuragarri kosmetikan. Horietatik guztietatik, SCCS EBko erakundeak 26 lurrin alergenoko (PAS, *potentially allergenic substances*) identifikatu zituen: substantzia horiek alergia kasu askoren erantzuleak dira. PASak etiketan identifikatuta egon behar dira kontzentrazioa %0,001 baino handiagoa bada kosmetiko iraunkorren kasuan (perfumeak, kremak, eta abar), eta %0,01 baino handiagoa bada elimintatzekoak diren produktuen kasuan (gelak, xaboiak, xanpuak, eta abar). Ikerketa honetan 8 PAS aukeratu ziren, bai erabilpen-maila eta baita talde kimikoak kontuan hartuta: alkoholak (bentzil alkohola, anisil alkohola, linaloola eta geraniola), laktonak (kumarina), konposatu karbonilikoak (zitrala) eta fenolak (eugenola eta isoeugenola).

Kontserbagarriei dagokienez, produktuen egonkortasuna bermatzeko erabiltzen diren substantziak dira eta produktu askotan gehitzen dira, hala nola kosmetikoetan, zainketa pertsonalerako produktuetan eta etxeko beste produktuetan. Kontserbagarriak bi talde handitan sailkatzen dira: antimikrobianoak eta antioxidatzaileak. Kontserbagarri antimikrobianoak ura duten produktuetan hazkuntza mikrobianoa saihesteko gehitzen dira. Ikerketa honetan, hainbat motatako kontserbagarri antimikrobianoak izan ziren aztergai: azido organikoak (azido salizilikoa, azido bentzoikoa eta azido sorbikoa), azido 4-hidroxibentzoikoaren esterrak (metil-, etil-, propil- eta butil-parabenoa), isotiazolinonak (metilisotiazolinona, klorometilisotiazolinona eta bentzisotiazolinona) eta triklosana. Kontserbagarrien bigarren talde handia antioxidatzaileena da: oxigenoaren ondorioz gertatzen diren erreakzioak saihestea dute helburu. Kosmetikan erabiltzen diren antioxidatzaileetatik, arruntenak aukeratu ziren analisirako, alegia, butil hidroxitoluenoa (BHT) eta butil hidroxi-anisolen bi isomero (2-BHA eta 3-BHA).

Ultramore-iragazkiak ere maiz egoten dira zainketa pertsonalerako produktuetan. UV-iragazkien helburua larruazala babestea izan ohi da, baina, beste kasu batzuetan produktu kosmetikoa bera eguzki-izpien kalteetatik babesteko gehitzen dira. EBk 26 UV-iragazki onartu ditu PCPtan erabiltzeko. Horietatik, bentzofenonaren deribatuak dira arruntenak, hain zuzen ere, bentzofenona-3 eta bentzofenona-4 dira gehien erabiltzen diren bentzofenonaren deribatuak.

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Azken urteotan intereseko esparrua da kosmetikoen hainbat osagai aldi berean kuantifikatu ahal izatea: hori eginez gero, analisi bakarrean mota desberdinetako konposatuak errazago eta azkarrago kuantifika daitezke. Literatura zientifikoan aurki daitezkeen ikerketetan, kontserbagarrien kasuan nagusiki gas-kromatografia eta masa-detektagailuak (GC-MS) edo likido-kromatografian (LC) oinarritutako teknikak erabiltzen dira (Yang et al., 2010; Sanchez-Prado et al. 2013). Lurrin alergenoen eta UV-iragazkien kasuan ere, GC eta LC dira teknika erabilienak (Asimakopoulou et al., 2014; Liao eta Kannan, 2014). Elektroforesi kapilarra (CE), aldiz, ez da hain arrunta aipatutako osagaiak aztertzeke eta, azken urteotan indarra hartzen ari den analisi-teknika da. Gainera, CE teknika berdea da: disolbatzaile eta errektibo kontsumo txikia du aures aipatutako teknikekin alderatzen bada. Metodo elektroforetikoez geroz eta interes handiago dute eta, zenbait kasutan, aipatutako osagaiak bereizita aztertzeke aplikatu dira (Furlanetto et al., 2010; Maij et al., 2013), baina ez osagaiak aldi berean kuantifikatzeko.

Ikerketa honen helburua kromatografia elektroinetiko mizelarrean (MEKCen, alegia, CErn aldaera batean) oinarritutako metodoen garapena izan zen, zainketa pertsonalerako produktuetan lurrin alergenoez, kontserbagarriak eta UV-iragazkiak banatzeko eta kuantifikatzeko. A metodoa erabiliz 7 kontserbagarri eta 8 lurrin alergenoez kuantifika daitezke (Lopez-Gazpio et al. 2014) eta B metodoa erabiliz, aldiz, 14 kontserbagarri (A metodokoak barne) eta bentzofenonaren deribatuak diren 2 ultramore-iragazki kuantifika daitezke (Lopez-Gazpio et al., 2015). Horretaz gainera, ikerketaren helburua erantzun-funtzio kromatografiko berri bat garatzea izan zen, metodoetan eragin adierazgarria duten aldagaiak identifikatzeko eta ikertutako baldintza esperimentalen erantzun optimoa bilatzeko.

3. Ikerketaren muina

3.1 Prozedura orokorra

Instrumentazioari dagokionez, esperimentu guztiak Agilent 7100A CE ekipoa egin ziren (Agilent Technologies, Suitza). Ekipo horrek lerrokatutako diodoen detektagailu ultramorea (DAD) zuen. Lagina eta estandarrek injektatzeko 45 mbar-eko presioa aplikatu zen 8 segundoz (injekzio hidrodinamikoa) eta banaketa lortzeko 30 kV-eko potentzial-diferentzia erabili zen. Detektagailuan 210 nm-ko uhin-luzera finkatu zen analitoak kuantifikatzeko (zenbait salbuespenekin), eta barne-patroiaren metodoa erabili zen.

Metodoen optimizazioari dagokionez, honako prozedura hau jarraitu zen: 1) hasierako esperimentuetan oinarrituta metodoan eragin handiena duten aldagaiak eta haien mugak

aukeratu ziren. 2) CCD motako diseinu esperimentala erabiliz aldagaien balio desberdinak aztertu ziren, era antolatuan. 3) Diseinu esperimentalean lortutako elektroferograma bakoitzari, erantzun-funtzio kromatografiko aldatuaren arabera (MCRF), balio bat esleitu zitzaion (Lopez-Gazpio et al., 2014). 4) MCRF optimoa ahalbidetzen zuten aldagaien balioak finkatu ziren behin-betiko metodoan.

Aldagai adierazgarrien balio optimoak finkatu ondoren, metodoen ezaugarri analitikoak aztertu ziren: kalibraketa zuzenak, linealtasuna, detekzio mugak (LOD), kuantifikazioa mugak (LOQ), doitasuna eta zehaztasuna. Detekzio eta kuantifikazio mugak lortzeko $3,3 \times SD/b$ eta $10 \times SD/b$ ekuazioak erabili ziren, hurrenez hurren (SD : ordenatu jatorriaren desbideraketa; b : kalibraketa zuzenaren malda). Doitasunaren kasuan, bi parametro aztertu ziren: errepikakortasuna (jarraian egindako analisisien desbideraketa) eta bitarteko doitasuna (epe luzeagoan egindako analisisien desbideraketa). Zehaztasuna ebaluatzeko, aldiz, berreskuratze probak egin ziren (*recovery test*). Ezaugarri analitikoaren ebaluazioa egokia izan zen bi metodoetan, ohikoak diren irizpideak oinarritzat hartuta (Lopez-Gazpio, 2014).

Azkenik, optimizatutako eta ebaluatutako metodoekin hainbat laginetan hautatutako osagaiak kuantifikatu ziren. Laginen prestaketa prozedura sinplea izan zen. Zehazki pisatutako lagin kantitatea % 25 metanol zen ur-disoluziotan disolbatu ziren. Beharrezkoa zenean, ultrasonikazioa aplikatu zen 2-4 minutuz lagina disolbatzeko. Ondoren, barne-patroia gehitu zen (bentzazetona) eta disoluzioa 0,45 μm -ko iragazkiak erabiliz iragazi zen. Aztertutako lagin guztiak Gipuzkoako hainbat dendatan lortutakoak ziren.

1. taula. A metodoaren ezaugarri analitiko garrantzitsuenak.

	Konposatua	Tarte lineala ($\mu\text{g/mL}$)	R^2	LOD ^a ($\mu\text{g/mL}$)	LOQ ^b ($\mu\text{g/mL}$)	Doitasuna ^c (%RSD)	Zehaztasuna ^d (%)
1	Bentzil alkohola	5,54 – 35,59	0,9984	1,85	5,54	3,9 – 5,2	106,8 – 109,3
2	Anisil alkohola	3,44 – 35,50	0,9994	1,15	3,44	4,6 – 7,0	112,0 – 115,4
3	Metilparabenoa	6,22 – 32,71	0,9978	2,07	6,22	4,9 – 6,4	104,7 – 112,9
4	Azido sorbikoa	3,29 – 21,26	0,9986	1,10	3,29	3,9 – 6,1	95,0 – 113,0
5	Kumarina	4,34 – 21,34	0,9976	1,45	4,34	2,4 – 5,9	94,4 – 107,4
6	Azido salizilikoa	3,51 – 21,38	0,9984	1,17	3,51	3,7 – 5,7	110,4 – 114,6
7	Azido bentzoikoa	5,14 – 32,58	0,9985	1,71	5,14	3,4 – 10,8	100,4 – 113,2
8	Etilparabenoa	4,25 – 20,90	0,9976	1,42	4,25	2,5 – 6,4	98,4 – 113,2
9	Propilparabenoa	4,64 – 21,25	0,9972	1,55	4,64	3,1 – 4,4	109,4 – 112,2
10	Eugenola	8,41 – 28,12	0,9947	2,80	8,41	7,2 – 13,3	99,5 – 105,2
11	Isoeugenola	8,12 – 44,91	0,9979	2,71	8,12	11,1 – 19,2	91,9 – 105,2
12	Zitralla	17,56 – 66,33	0,9941	5,85	17,56	12,6 – 14,8	99,0 – 106,2
13	Linaloola	33,12 – 120,10	0,9956	11,04	33,12	6,8 – 12,7	102,0 – 111,6
14	Butilparabenoa	9,65 – 32,84	0,9948	3,22	9,65	7,4 – 11,6	107,2 – 110,9
15	Geraniola	6,20 – 36,20	0,9984	2,07	6,20	4,9 – 16,7	88,9 – 111,2

^aLOD = $(3,3 \times SD)/b$; ^bLOQ = $3 \times LOD$; ^cErrepikakortasuna eta bitarteko doitasuna; ^dBerreskuratze probaren emaitzak

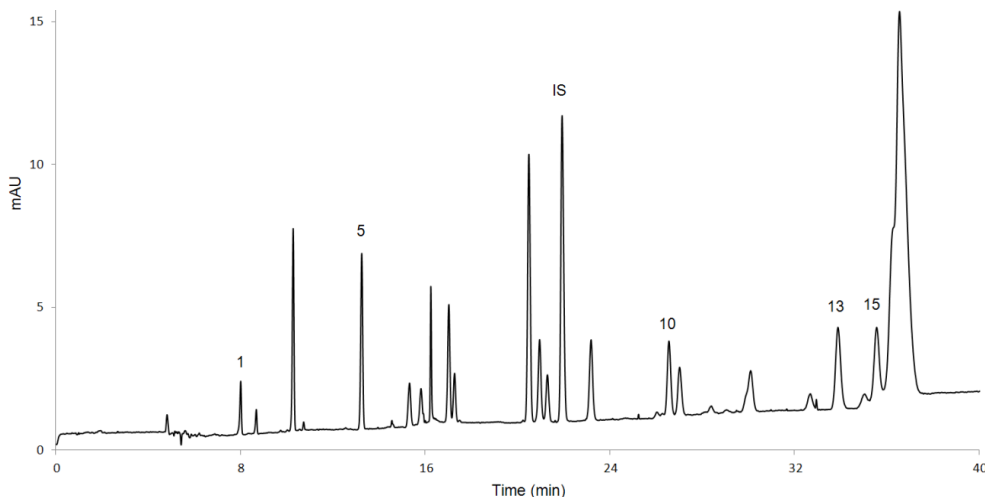
3.2 A metodoa: lurrin alergenoen eta kontserbagarrien analisisa

A metodoaren kasuan, diseinu esperimentalean aztertutako aldagaiak elektrolito kontzentrazioa (STB, sodio tetraboratoa), surfaktante kontzentrazioa (SDS, sodio dodezilsulfatoa) eta pHa izan ziren. Analisi esperimentala eta MCRF funtzioaren balio egokienak aztertu ondoren, aldagai horiek honako balio hauetan finkatu ziren: 24 mM STB, 100 mM SDS eta pH = 9,0.

Ondoren, baldintza horietan metodoaren ezaugarri analitikoak ebaluatu ziren. A metodoarekin kuantifika daitezkeen konposatuen zerrenda eta metodoaren ezaugarri analitikoak 1. taulan jasota daude. MEKCen oinarritutako metodoaren ezaugarri analitikoak egokiak zirela frogatu ondoren, lagin komertzialak aztertu ziren, aurreko atalean azaldutako laginen prestaketa prozedura jarraituz. 15 osagaiak 29 PCP eta etxerako produktuetan kuantifikatu ziren, lagin bakoitza bi aldiz analizatuz. Lortutako emaitzetatik azpimarragarria da linaloola izan zela PAS arruntena (14 laginetan zegoen, alegia, % 48,3an). Beste analito guztiak ere aurkitu ziren

aztertutako laginetan, azido sorbikoa izan ezik. Hauek izan ziren emaitza positiboak (osagai kantitate kuantifikagarria zuten laginak): bentzil alkohola (% 31,0), anisil alkohola (% 3,4), metilparabenoa (% 13,8), kumarina (% 34,5), azido salizilikoa (% 13,8), azido bentzoikoa (% 37,9), etilparabenoa (% 6,9) propilparabenoa (% 6,9), eugenola (% 31,0), isoeugenola (% 3,4), zitrala (% 24,1), butilparabenoa (% 3,4) eta geraniola (% 24,1). Analizatutako gel baten kasuan lortutako elektroferograma 1. irudian dago ikusgai.

1. irudia. Gel baten analisia (S23 lagina) A metodoa erabiliz. Identifikazioa: 1) bentzil alkohola, 5) kumarina, 10) eugenola, 13) linaloola, 15) geraniola eta IS) barne-patroia.



3.3 B metodoa: kontserbagarrien eta UV-iragazkien analisia

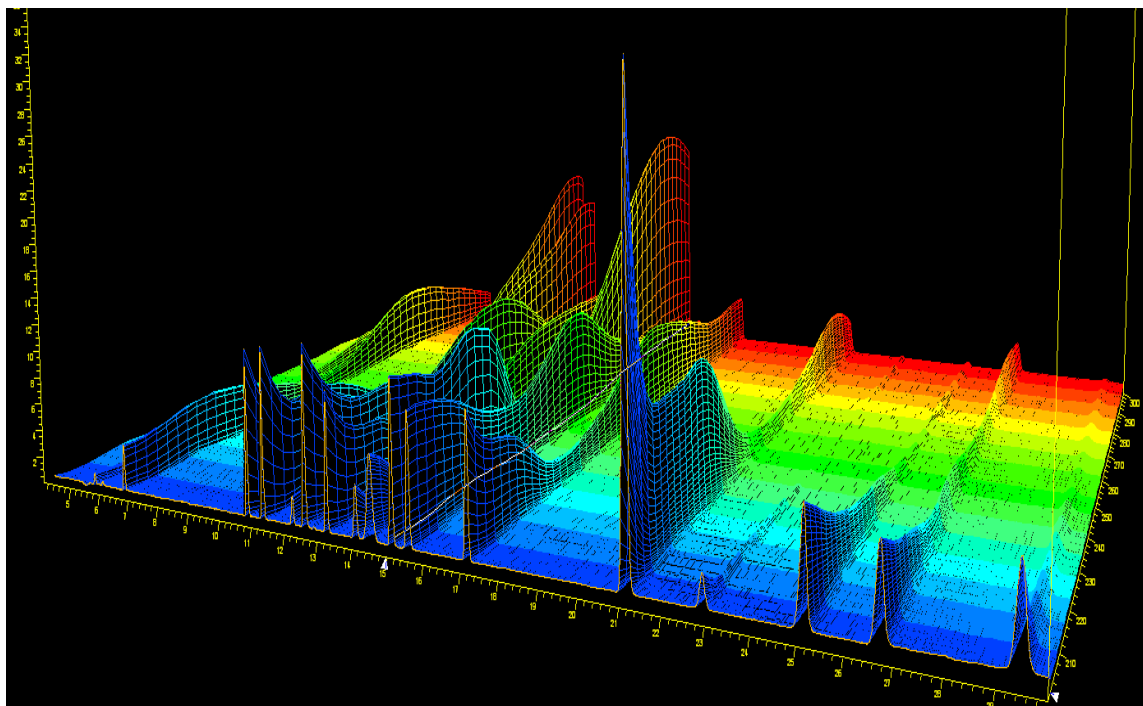
B metodoari dagokionez, diseinu esperimentalean aztertutako aldagaiak STB kontzentrazioa, SDS kontzentrazioa, pHa eta metanol (MeOH) ehunekoa izan ziren. Aurreko kasuan bezala, diseinu esperimentala erabiliz baldintza desberdinetan lortuako MCRFa aztertu zen. B metodoaren kasuan, konposatuen banaketa optimoa lortzeko erabili beharreko baldintzak hauek izan ziren: 18 mM STB, 60 mM SDS, pH = 9,4 eta % 10 MeOH. Balio horietan metodoaren ezaugarri analitikoak aztertu ziren (2. taula) eta egokiak zirela egiaztatu ondoren, metodoa laginen analisisan aplikatu zen.

2. taula. B metodoaren ezaugarri analitiko garrantzitsuenak.

	Konposatua	Tarte lineala ($\mu\text{g/mL}$)	R^2	LOD ^a ($\mu\text{g/mL}$)	LOQ ^b ($\mu\text{g/mL}$)	Doitasuna ^c (%RSD)	Zehaztasuna ^d (%)
1	Metilisotiazolinona	3,92 – 83,51	0,9996	1,31	3,92	3,8 – 7,4	94,5 – 105,6
2	Klorometilisotiazolinona	3,50 – 51,24	0,9969	1,17	3,50	3,3 – 6,6	91,4 – 102,4
3	Metilparabenoa	4,32 – 65,25	0,9991	1,44	4,32	5,8 – 8,3	97,7 – 100,8
4	Etilparabenoa	4,79 – 64,64	0,9994	1,60	4,79	4,6 – 13,5	93,7 – 103,8
5	Azido sorbikoa	4,71 – 65,42	0,9981	1,57	4,71	5,6 – 10,6	94,9 – 100,4
6	Bentzisotiazolinona	8,17 – 62,71	0,9938	2,72	8,17	5,3 – 8,2	92,0 – 97,3
7	Butilparabenoa	5,78 – 64,88	0,9968	1,93	5,78	3,2 – 8,4	95,8 – 107,6
8	Azido bentzoikoa	4,31 – 64,80	0,9951	1,44	4,31	5,0 – 6,1	98,6 – 109,8
9	Azido salizilikoa	5,19 – 65,55	0,9938	1,73	5,19	3,8 – 7,6	93,4 – 101,5
10	Bentzofenona-4	2,72 – 63,82	0,9921	0,91	2,72	5,7 – 7,2	90,4 – 107,4
11	Propilparabenoa	5,97 – 64,53	0,9920	1,99	5,97	3,6 – 7,1	96,5 – 102,2
12	3-BHA	4,97 – 64,01	0,9952	1,66	4,97	3,0 – 14,2	95,3 – 114,8
13	2-BHA	6,23 – 62,49	0,9991	2,08	6,23	2,0 – 11,5	104,6 – 109,0
14	Triklosana	6,92 – 62,52	0,9958	2,31	6,92	3,9 – 8,7	101,8 – 105,2
15	Bentzofenona-3	6,79 – 69,64	0,9972	2,26	6,79	4,6 – 12,0	90,8 – 107,0
16	BHT	8,41 – 101,71	0,9933	2,80	8,41	5,1 – 13,8	101,1 – 111,8

^aLOD = $(3,3 \times \text{SD})/b$; ^bLOQ = $3 \times \text{LOD}$; ^cErrepikakortasuna eta bitarteko doitasuna; ^dBerreskuratze probaren emaitzak

2. irudia. Lerrokatutako diodoen detektagailu ultramoreari esker lortutako elektroferograma tridimentsionala. Lagina: B metodoaren bidez kuantifika daitezkeen osagai guztien nahastea.



Metodoa optimizatu eta balioztatu ondoren, zainketa pertsonalerako produktuen eta etxeko beste zantzu produktuen analisisan aplikatu zen (guztira 24 lagin). 2. irudian laborategian prestatutako lagin baten analisisan lortutako hiru dimentsioko elektroferograma dago ikusgai. Bertan, B metodoa erabiliz kuantifika daitezkeen 16 osagaien banaketa bereizten da. Laginei dagokienez, azido bentzoikoa izan zen kontserbagarri arruntena (8 laginetan kuantifikatu zen, hau da, laginen % 33,3an). Aipatzekoa da kontserbagarri eta UV-iragazki guztiak aurkitu zirela laginetan, azido sorbikoa eta bentzisotiazolinona izan ezik (azken hori ez dago araudian onartuta). Gainontzeko osagaiak laginen ehuneko hauetan zeuden kontzentrazio kuantifikagarrian: metilparabenoa (% 25,0), propilparabenoa (% 16,7), etilparabenoa (% 12,5), butilparabenoa (% 12,5), azido salizilikoa (% 8,3) 3-BHA (% 8,3), triklosana (% 8,3), metilisotiazolinona (% 8,3), bentzofenona-3 (% 8,3), 2-BHA (% 4,2), BHT (% 4,2), klorometilisotiazolinona (% 4,2) eta bentzofenona-4 (% 4,2).

4. Ondorioak

Hasieran finkatutako helburuen arabera, hauek dira ikerketa honen ondorio nagusiak bi dira: alde batetik, lurrin alergenoen eta kontserbagarri antimikrobiano hidrofilo eta hidrofoboak aldi berean kuantifikatzeko MEKC teknikan oinarritutako metodoa garatu da (A metodoa) eta; bestetik, kontserbagarri antimikrobiano hidrofiloak eta hidrofoboak, antioxidatzaileak, isotiazolinonak eta UV-iragazkiak aldi berean kuantifikatzeko metodoa garatu da (B metodoa).

Diseinu esperimental eta erantzun-gainazalen metodologia aplikatu dira ikertutako sistemetan eragina duten aldagai adierazgarriak identifikatzeko eta baldintza analitiko optimoak aukeratzeko. Bestalde, MCRF funtzioa aplikatu da, eta diseinu esperimentalarekin batera metodo elektroforetikoa optimizatzeko tresna erraz eta eraginkorra dela frogatu da. Garatutako bi metodoen ezaugarri analitikoen ebaluazioa egokia izan da. Azkenik, garatutako eta optimizatutako metodoak erabiliz etxeko eta zainketa pertsonalerako produktu desberdinetan hautatutako osagaiak analizatu dira, metodoak matrize-mota desberdinetan aplika daitezkeela egiaztatuz. Aztertutako produktu guztien kasuan, EBko 1223/2009 araudia betetzen dutela baieztatu da.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Lan honetatik abiatuta geroko lan interesgarria dago egiteko. Alde batetik, hautatutako osagai guztien aldi bereko banaketa eta kuantifikazioa oraindik ez da lortu eta, bestetik, osagai gehiago kuantifikatu ahal izatea erronka handia da, esaterako, ultramore-iragazki gehiago (kanforraren deribatuak, azido 4-aminobentzoikoaren deribatuak, zinamotoak, salizilatoak, eta abar) edo beste osagai mota batzuk (adibidez, ftalatoak).

6. Erreferentziak

- Asimakopoulos, A.G., Wang, L., Thomaidis, N.S. eta Kannan, K. (2014), A multi-class bioanalytical methodology for the determination of bisphenol-A diglycidyl ethers, p-hydroxybenzoic acid esters, benzophenone-type ultraviolet filters, triclosan, and triclocarban in human urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1324, 141-148.
- European Parliament and Council (2009): Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council of 30 November 2009 on cosmetic products (recast), *Official Journal of the European Union*, L342, 59-209.
- Furlanetto, S., Orlandini, S., Giannini, I., Pasquini, B. eta Pinzauti, S. (2010) Microemulsion electrokinetic chromatography: an application for the simultaneous determination of suspected fragrance allergens in rinse-off products, *Talanta*, 83, 72-77.
- Liao, C. eta Kannan, K. (2014) Widespread occurrence of benzophenone-type UV light filters in personal care products from China and the United States: an assessment of human exposure, *Environmental Science & Technology*, 48, 4103-4109.
- Lopez-Gazpio, J. (2014) *Kosmetikoen osagai hautatuak determinatzeko kromatografia elektrozinetiko mizelarrean oinarritutako metodoen garapena eta aplikazioa*, EHUKo Argitalpen Zerbitzua, Leioa. [<https://addi.ehu.es/bitstream/10810/14110/1/LopezGazpio-Tesia.pdf>]
- , Garcia-Arrona, R. eta Millán, E. (2014) Application of response function methodology for the simultaneous determination of potential fragrance allergens and preservatives in personal care products using micellar electrokinetic chromatography, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 406, 819-829.
- , Garcia-Arrona, R. eta Millán, E. (2015) Simultaneous determination of multiclass preservatives including isothiazolinones and benzophenone-type UV-filters in household and personal care products by micellar electrokinetic chromatography, *Electrophoresis*, in Press.
- Maijón, I., Fontanals, N., Borull, F., Neusüss, C., Calull, M. eta Aguilar, C. (2013) Determination of UV filters in river water samples by in-line SPE-CE-MS, *Electrophoresis*, 34, 374-382.
- Sanchez-Prado, L., Alvarez-Rivera, G., Lamas, J.P., Llompарт, M., Lores, M. eta Garcia-Jares, C. (2013), Content of suspected allergens and preservatives in marketed baby and child care products, *Analytical Methods*, 5, 416-427.
- Yang, T.-J., Tsai, F.-J., Chen, C.-Y., Yang, T.-C. eta Lee, M.-R. (2010), Determination of additives in cosmetics by supercritical fluid extraction on-line headspace solid-phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, 668, 188-194.

7. Eskerrak eta oharrak

Lan hau *Kosmetikoen osagai hautatuak determinatzeko kromatografia elektrozinetiko mizelarrean oinarritutako metodoen garapena eta aplikazioa* doktore-tesiaren atal batzuetan oinarrituta dago. Aipatutako doktore-tesia EHUKo Kimika Aplikatua Saileko analitikako taldean gauzatu da, Eusko Jaurlaritzaren Hezkuntza, Hizkuntza Politika eta Kultura Sailaren ikertzaileak prestatzeko laguntzari esker. Era berean, eskertzekoa da EHUKo Ikerketa Errektoreordetzak ikertzaileak espezializatzeko deialdiaren bidez emandako diru-laguntza.