

Substantzia alergenoen analisisa kosmetikoetan

Josu Lopez-Gazpio

Kimika Aplikatua Saila. Kimika Zientzien Fakultatea (UPV/EHU)

josu.lopez@ehu.eus

DOI: 10.1387/ekaia.14536

Jasoa: 2015-05-25

Onartua: 2015-07-14

Laburpena: Kosmetikoei buruzko Europako araudian, erreakzio alergikoak eragin ditzaketen 26 substantzia identifikatzen dira. Araudiaren arabera, halabeharrek da kosmetikoaren etiketan substantzien berri ematea, araudiak ezarritako kontzentrazioak gainditzen badira. 26 substantziatik, 24 ondo definitutako konposatu lurrunkorak dira, eta beste biak estraktu naturalak. Artikulu honek helburu modura hartuko du 24 substantzia alergeniko horiek kosmetikoetan kuantifikatzeko garatu diren analisi metodoak aztertzea eta laburtzea.

Hitz-gakoak: Alergenoa, Kosmetikoa, Kromatografia, Lurrina, Zainketa pertsonalerako produktua.

Abstract: The European regulation on cosmetic products identifies 26 fragrance-related substances classified as likely to cause allergic reactions. The regulation makes mandatory to declare the presence of these 26 substances on the cosmetic label when present at concentrations exceeding those stipulated. Of these 26 substances, known as potentially allergenic substances, 24 are well-defined volatile compounds whereas the other two are natural extracts. The present manuscript deals with analytical methods present in the literature that are applied for the quantification of those 24 potentially allergenic substances in cosmetics.

Keywords: Allergen, Chromatography, Cosmetic, Fragrance, Personal care product

1. SARRERA

1.1. Ikuspegi orokorra

Egun, nonahi erabiltzen dira produktu kosmetikoak eta industria kosmetikoaren sofistikazioa oso handia da. Mundu mailako merkatu garrantzitsua da: lau merkatu handienen batura —Europar Batasuna (EB), Amerike-

tako Estatu Batuak (AEB), Txina eta Japonia— 166 bilioi euro ingurukoa da, 2013. urteko datuen arabera. Produktu kosmetikoen erabilpen handia dela-eta, gizartean kezka dago kosmetikoen osagaien segurtasunari buruz eta kontsumitzaileengan eragin ditzaketen albo ondorioei buruz. Ondorioz, ezinbestez garatu behar dira kosmetikoen eta produktu horietan dauden osagaien segurtasuna eta eraginkortasuna bermatuko duten tresnak eta legediak. Tresna horiek, nagusiki, hainbat herrialdetan indarrean dauden araudiak dira.

EBren kasuan, merkatu bakarra ezarri zenean produktu kosmetikoei buruzko lehen araudia jarri zen indarrean, osasun publikoa babesteko. Adituek eztabaidak egin ondoren, 76/768/EEC zuzentaraua argitaratu zen 1976ko uztailaren 27an —Kosmetikoen Zuzentaraua zeritzona—. Geroago, hainbat zuzenketa egin zitzaizkion zuzentaruari eta, azkenean, araudi guztia elkarrekin uztartzeko, 1223/2009 araudia ezarri zen 2009ko abenduaren 22an [1].

Araudi hori da egun indarrean dagoena. 2013ko uztailaren 13rako araudiko artikuluko gehienak indarrean egon behar ziren, baina harrezkero zuzenketa batzuk ere egin dira. Araudiaren helburu garrantzitsuenak hiru izan ziren: alde batetik, terminologia eta prozedurak sinplifikatzea; bestetik, lege-baldintzak EB osoan berdin aplikatzea eta, azkenik, ingurugiro-kutsaduraren eta osasun-segurtasunaren inguruko arauak ezartzea. Araudiaren arabera, produktu kosmetikoak dira gorputzaren kanpoko atalekin, hortzekin edo ahoko mukosekin kontaktuan dauden substantzia edo haien arteko nahasteak. Kosmetikoek funtzio modura izan dezakete atal horiek garbitzea, perfumatzea, itxura aldatzea, babestea, ondo mantentzea edo usaina hobetzea. Era berean, egoera naturalean edo manufakturatua egon daitekeen edozein konposatu kimiko hartzen da substantziazat araudi honetan.

Kosmetikoen Zuzentaruarekin alderatuz gero, kontzeptu-aldaketa garrantzitsua dakar 1223/2009 araudiak osagaien segurtasunari dagokionez, muga zorrotzagoak ezartzen baititu. Araudi berrian debekatutako osagaien zerrenda jasotzen da, eta baita erabilpen-mugak dituzten hainbat osagai ere. Gehienetan, erabilpen motarekin lotuta daude muga horiek. Esate baterako, dibentzoi peroxidoa erabilpen profesionalean bakarrik baimentzen da. Produktuen etiketatzeari buruzko xehetasunak ere aipatzen dira eta, oro har, adierazten da kosmetikoan dauden osagaiak etiketan identifikatu behar direla. Dena den, zenbaitetan ezinezkoa da hori egitea: esate baterako, perfumeak ehundaka edo milaka lurrinez osatuta daude. Horrelakoetan, araudiak «*perfume*» edo «*aroma*» hitzak erabiltzea baimentzen du —beti ere alergenak aipatuta baldin badaude—. 1223/2009 araudiaren eranskinak dira, zalantzarik gabe, analisi-interes handienekoak, izan ere, bertan sailkatzen baitira kosmetikoetan erabili ezin diren edo erabilpen mugatua duten substantziak:

- Debeekatutako substantziak: II. eranskinean.
- Mugak dituzten substantziak: III. eranskinean. Bertan sailkatuta daude lan honetan aztertuko diren alergenok.
- Koloratzaileak: IV. eranskinean.
- Kontserbagarriak: V. eranskinean.
- Ultramore-iragazkiak: VI. eranskinean.

Alergenok, hortaz, mugak dituzten substantzia modura sailkatzen dira. Artikulu honetan, substantzia alergeno hauek aztertzeko azken urteotan garatutako analisi metodoen berrikuspena egingo da, nagusiki, bereizketa-teknikaren arabera. Kosmetikoetan dauden osagai alergenok kuantifikatzea garrantzitsua da produktuen kalitate-kontrollean —kosmetikoek araudia betetzen dutela bermatzeko, adibidez—.

Helburu hori ikusmiran, kosmetikoen analisirako zenbait metodo ofizial finkatu ziren. Europako zuzentarauetan 38 metodo ofizial plazaratu ziren [2], baina zalantzarik gabe, metodo horiek ez dira nahikoak kosmetikoen izan ditzaketen osagai guztiak analizatzeko: 10.000 baino gehiago daude guztira eta metodo ofizialek 60 osagai inguru bakarrik kuantifikatzeko balio dute.

1.2. Substantzia alergenok

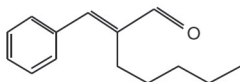
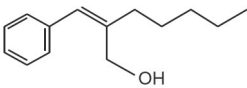
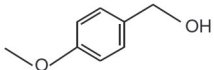
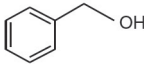
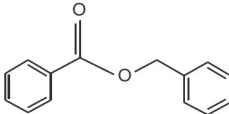
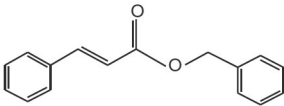
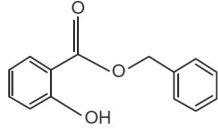
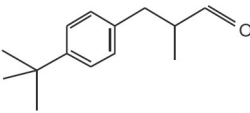
Sarreran esan den moduan, Europako araudiak «*perfume*» edo «*aroma*» hitzak erabiltzea baimentzen du, lurrin guztien izena adierazi ordez. Hala ere, hainbat substantzia alergia eragin ditzakete eta haiek ere ezinbestez sartu behar dira zerrendan. Substantzia horietako gehienak osagai usaintsuak direnez, lurrin alergeno edo PAS deritze (*potentially allergenic substances*).

Substantzia alergenok, 2003/15/EC zuzentaraan aipatu ziren lehen aldiz [3] eta bertan 26 substantzia alergeno identifikatzen ziren (1. taula). Egun, 1223/2009 araudian ere jasota daude substantzia horiek, erabilpen mugak eta guzti. Alergenoen kontzentrazioak —masa portzentaje (w/w) adierazita— araudiak finkatutakoa gainditzen badu, haren izena etiketan azaldu behar da. Kosmetiko iraunkorren kasuan —perfumeak, kremak, eta abar— muga kontzentrazioa %0,001 da eta eliminatzeko produktuen kasuan —gelak, xanpuak, xaboiak, eta abar— %0,01.

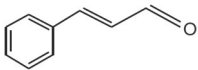
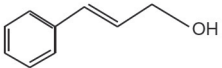
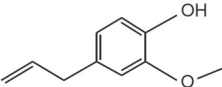
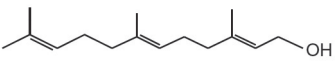
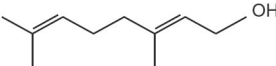
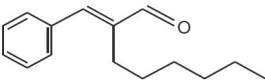
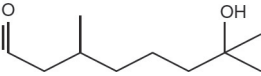
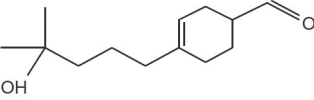
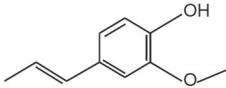
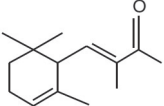
Kosmetikoen etiketan alergenoei buruzko informazio hori ematea garrantzitsua da, alergia saihestu edo kontrolatu behar dituzten gaixoentzat bereziki; izan ere, ukipen-alergien diagnosian lagungarria da eta, hartara, alergia duten kontsumitzaileek kosmetiko horien erabilpena saihas dezakete. Era berean, oso komenigarria da 26 lurrin alergenoei buruzko informazio toxikologikoa lortzea, alergia dituzten gaixoen kudeatze klinikoa errazte aldera. 2012an, Europako SCCS batzordeak (*Scientific Committee*

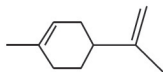
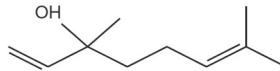

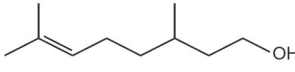
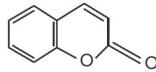
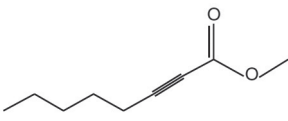
on Consumer Safety) PASEi buruzko txostena argitaratu zuen, informazioa berrikusteko eta eguneratzeko [4].

1. taula. 1223/2009 araudian identifikatutako 26 substantzia alergenokoak.

Izena(k) (ingelesez)	Sailkapen kimikoa	CAS	Egitura
Amil zinamala ^a <i>Amyl cinnamal</i>	Aldehidoa	122-40-7	
Amilzinamil alkohola ^a <i>Amylcinnamyl alcohol</i>	Alkohola	101-85-9	
Anis alkohola / Anisil alkohola <i>Anise alcohol / Anisyl alcohol</i>	Alkohola	105-13-5	
Bentzil alkohola <i>Benzyl alcohol</i>	Alkohola	100-51-6	
Bentzil benzoatoa <i>Benzyl benzoate</i>	Esterra	120-51-4	
Bentzil zinamatoa ^a <i>Benzyl cinnamate</i>	Esterra	103-41-3	
Bentzil salizilatoa <i>Benzyl salicylate</i>	Esterra	118-58-1	
Liliala ^a / Butilfenil metilpropionala <i>Lilial /Butylphenyl methylpropional</i>	Aldehidoa	80-54-6	

Substantzia alergenoen analisisa kosmetikoetan

Izena(k) (ingelesez)	Sailkapen kimikoa	CAS	Egitura
Zinamala ^a <i>Cinnamal</i>	Aldehidoa	104-55-2	
Zinamil alkohola ^a <i>Cinnamyl alcohol</i>	Alkohola	104-54-1	
Eugenola <i>Eugenol</i>	Fenola	97-53-0	
Farnesola ^a <i>Farnesol</i>	Alkohola	4602-84-0	
Geraniola <i>Geraniol</i>	Alkohola	106-24-1	
Hexil zinamala ^a <i>Hexyl cinnamal</i>	Aldehidoa	101-86-0	
Hidroxizitronelala ^a <i>Hydroxycitronellal</i>	Aldehidoa	107-75-5	
Lirala / Hidroxiisohexil 3-ziklohexeno karboxaldehidoa <i>Lyral /</i> <i>Hydroxyisohexyl</i> <i>3-cyclohexene</i> <i>carboxaldehyde</i>	Aldehidoa	31906-04-4	
Isoeugenola ^a <i>Isoeugenol</i>	Fenola	97-54-1	
Alfa-isometil ionona ^a / Alfa zetona <i>Alpha-isomethyl</i> <i>ionone / Cetone alpha</i>	Zetona	127-51-5	

Izena(k) (ingelesez)	Sailkapen kimikoa	CAS	Egitura
Limonenoa ^a <i>Limonene</i>	Hidrokarburua	5989-27-5	
Linalola ^a <i>Linalool</i>	Alkohola	78-70-6	
Zitrala ^a <i>Citral</i>	Aldehidoa	5392-40-5	
Zitronelola ^a <i>Citronellol</i>	Alkohola	106-22-9	
Kumarina <i>Coumarin</i>	Laktona	91-64-5	
Metil 2-oktinoatoa / Metilheptin karbonatoa <i>Methyl 2-octynoate / Methylheptin carbonate</i>	Esterra	111-12-6	
<i>Evernia prunastri</i> (Estraktua)			90028-68-5
<i>Evernia furfuracea</i> (Estraktua)			90028-67-4

^a Nahaste isomerikoak erabiltzen dira lurrintan (E/Z nahiz R/S isomeroak, kasuak kasu).

EBko araudiaz gainera, AEBetan ere lurriin alergenoei buruzko mugak ezarri dira. Bestalde, herrialde bakoitzak dituen araudiak osatzeko RIFM institutuak (*Research Institute for Fragrance Materials*) lurriinei buruzko azterketak egin eta informazio zientifikoa zabaltzen du. Ondoren, IFRAk (*International Fragrance Association*) lurriinen erabilpenari buruzko gidak osatzen ditu RIFMren aholkuen arabera. IFRA lurriinen industriaren elkar-tea da eta erakunde auto-erregulatuak lanak egiten ditu. Hala ere, azpimarratzekoa da gomendio horiek ez direla halaberrez betetzekoak eta horregatik, funtsezkoa da Europako araudia egotea

Egun, lurriinak produktu askotan aurki daitezke, eta ez bakarrik erabilpen kosmetikoa duten produktuetan, berdin aurki daitezke elikagaie-

tan, edarrietan, garbiketa produktuetan eta etxeko beste hainbat produktutan ere [5]. Kontsumitzaileek produktu horiekin duten kontaktu estua dela-eta, ezinbestekoa da osagaien eta lurrinen segurtasuna kontrolpean izatea; hala da bereziki produktu kosmetikoen kasuan, haiek baitira lurrin alergenogehien dituzten produktuak.

2. SUBSTANTZIA ALERGENOEN ANALISIA

2.1. Lehen urratsak

Aipatutako 26 PASetatik 24k, konposizio kimiko ezaguna dute, eta beste biak, estraktuak dira —alegia, hainbat konposaturen nahasteak—. 24 konposatuak talde kimiko oso desberdinetakoak dira: alkoholak, esterak, laktonak, fenolak eta abar (1. taula). Dena den, lurrinkorrak direnez, gas-kromatografia (GC, *gas chromatography*) da konposatu hauen analisisan gehien erabili den teknika.

Detekzioari dagokionez, detektagailu unibertsala bezalako detektagailuak —garraren bidezko ionizazio detektagailua (FID, *flame ionization detector*), esate baterako—, erabili dira. Hala ere, FIDak, selektibotasun eza dakar; izan ere, kosmetikoetan ehundaka edo milaka osagai aurki daitezke, eta gainera, kontzentrazio tarte oso desberdinetan, $\mu\text{g/mL}$ -tik hasi eta %20ra (w/w) bitarte, esaterako. Ondorioz, detektagailu selektiboagoak erabili behar izaten dira, koeluzio arazoak direla eta. Hortaz, masa-espektrometroa (MS, *mass spectrometer*) da detektagailurik egokienetakoa. Hala ere, gertatzen diren koeluzio arazoak saihesteko, MS detektagailuak SIM (*selected ion monitoring*) moduan erabiltzeko metodoak garatu dira, baina ezinezkoa da positibo eta negatibo faltsuak guztiz ekiditea [5].

Larruazala sentikor bihurtzen duten lurrin alergenoen arazoa aurreikusita, Rastogik 1995. urtean lehen aldiz proposatu zuen 11 PAS kuantifikatzeko metodoa [6]. Metodo horretan fase solidoko erauzketa (SPE, *solid-phase extraction*) eta GC teknika erabili ziren. Ondoren, MS detektagailua erabiltzen zen konposatuak identifikatzeko eta FID, berriz, kuantifikazioa egiteko. Hortaz, lan bikoitza egin behar zen analisi bakoitzean. Metodoak huts egiten zuen koeluzio arazoak saihesterakoan eta arazoak ematen zituen osagai asko zituzten laginen kasuan [7]. Rastogik berak, urte batzuk geroago, metodoari moldaketa batzuk egin eta 24 PASak kuantifikatzeko erabil zitekeen GC-MS analisi metodoa proposatu zuen [8]. Metodo honek, hobekuntza garrantzitsuak ekarri zituen.

Metodoa lagin mota desberdinetan erabiltzekoa zen —bai kosmetiko iraunkorretan, eta bai urarekin eliminatzekoak direnetan ere— eta kasu

guztietan metanola erabiltzen zen erauzketa-etaparako eluitzaile bezala. Ondoren, eluatoa silize-gelezko zutabeen purifikatu behar zen, gas-kromatografoan injektatu aurretik.

Geroago, Chaintreau eta bere lankideek frogatu zuten aipatutako metodo horrek positibo faltsuak ematen zituela lurrin-nahaste konplexuen analisisian [9] eta beste metodologia bat proposatu zuten, kasu horretan ere GC-MS oinarri izanik. Ikerketa horretan perfume kontzentratuak zuzenean injektatzeko metodoa garatu zuten eta, kromatografoen garbiketa egokiaren garrantziaz konturatu ziren. Hori dela eta, IFRAk PASen determinaziorako metodo ofizial gisa aukeratu zuen metodo hori [10], baina bi gomendio eman zituen koeluzioen eta migrazio-denboren aldaketen arazoak saihesteko: alde batetik, koeluzioa egon zitekeela uste zenean beharrezkoa zen ioi kualifikatzaileetako bat ioi kuantifikatzaile moduan erabiltzea eta, bestetik, beharrezkoa zen atxikipen-denboren aldaketa gertatzen zenean denbora tartea doitzea [5]. Arazo horiei aurre egiteko, era berean GC-MS azkarra —GC-MS *fast* deritzona— proposatu zen. Teknika horrekin, 24 lurrin alergenoen analisia 5 minutura laburtu zen, GC zutabeak baino zutabe motzagoak eta estuagoak erabiliz —10 m-ko luzera eta 0,10 mm-ko barne-diametrokoak— [11]. Hala ere, koeluzio arazoak ez ziren guztiz konpondu.

Koeluzioa saihesteko, sarritan beharrezkoa gertatzen da laginaren erauzketa egitea, eta horretarako, zenbait aurretratatamendu proposatu dira bibliografian, besteak beste, hagatxo birakarien bidezko erauzketa (SBSE, *stir bar sorptive extraction*), fase solidoko mikroerauzketa (SPME, *solid-phase microextraction*) eta matrizeko fase solidoko dispersioa (MSPD, *matrix solid-phase dispersion*). Aurretratatamendu horiei buruzko xehetasun guztiak literatura zientifikoan aurki ditzake irakurleak [5, 12, 13].

GCK dituen koeluzio arazoei aurre egiteko aurkitu ziren konponbideen artean dimentsio anitzeko GCxGC teknika aipatu behar da. Hori dela eta, erabateko GC (*comprehensive GC*) delakoaren eta GCxGC dimentsio biko gas-kromatografiaren garapena lagungarria izan zen kromatografian gertatu ohi diren koeluzio arazoei aurre egiteko [14], baita substantzia alergenok analizatzeko ere [5]. GCxGC-FID erabiliz 24 PAS eta beste bi konposatu bereizteko metodoa proposatu zuten [15], esate baterako, eta bai masa-espektrometria detektagailuan oinarritutako metodoak ere [16] —hau da, GCxGC-MS—. Lehen metodo horiek aurrekoekiko hobekuntza batzuk ekarri zituzten: GCxGC-MSen bidez koeluzio arazoak txikitu ziren —ez ziren guztiz ezabatu— eta selektibitate onak lortu zituzten, baina banaketadenbora luzeegiak behar ziren.

PASak analizatzeko, badira dimentsio biko teknika konplexuagoak ere. Horiei, bereizmen altuko teknikak deritze, esate baterako GCxGC-(TOF)

MS [17] —hau da, hegaldi denbora (TOF, *time of flight*) motako MS detektagailua duena— edo GCxGC-qMS delakoa [18].

Esan behar da teknika horiek hobekuntza handiak dituztela dimentsio bakarreko GCrekin alderatuta; hala ere, gehienak oso garestiak dira errutinako kalitate-kontrolerako analisisietan aplikatzeko [5].

2.2. Beste teknikak

PASak dituzten ezaugarriek esker, GC izan da kuantifikaziorako gehien erabiltzen den teknika; hala ere, beste zenbait teknika ere erabili dira. Literaturan argitaratutako bibliografia-berrikuspenaren arabera [5], 2013. urtera arte, PASak analizatzeko GC ez den beste teknikaren bat erabiltzen duten bi artikulua baizik ez dira argitaratu. Lehena likido-kromatografian (LC, *liquid chromatography*) oinarritzen da [19] eta bigarrena, aldiz, elektromigrazioan [20].

LCren kasuan, ultramore-detektagailua (UV, *ultraviolet*) erabili zuten PASak kuantifikatzeko [19]. Zutabe kromatografikoa, C₁₈ motakoa erabili zuten eta fase mugikorra, berriz, azetonitrilo/ur nahastea. Aipatutako ikerketan proposatutako laginaren aurretratamendua bakuna zen; izan ere, diluzio, sonikazio eta iragazketa pausoak nahikoak ziren injekzioa egin aurretik. Metodoaren koeluzio arazoak alde batera utziz, teknika interesgarria da, MS detektagailuaren ordez eskuragarriagoa —alegia, merkeagoa— den UV-detektagailua erabiltzen zutelako. LCn oinarritutako beste metodo bat ere plazaratu zen [21], baina kasu horretan aurretratamendu teknika aplikatzen zen PASak erauzteko: USAEME-SFOD (*ultrasound-assisted emulsification microextraction-solidification of floating organic drop*), hain zuzen ere.

Esan den bezala, proposatutako beste metodoa elektromigrazioan oinarritzen zen [20], zehazki esateko, mikroemulsio kromatografia elektrozinetikoan (MEEKC, *microemulsion electrokinetic chromatography*). Ikertzaileek, kasu horretan ere, UV-detektagailuaz baliatzen ziren kuantifikazioa egiteko, baina 24tik 18 PAS bakarrik analizatzen zituzten. Elektromigrazioan oinarrituta, kromatografia elektrozinetiko mizelar (MEKC, *micellar electrokinetic chromatography*) aldaera erabiliz 8 PAS kuantifikatzea ere lortu zen [22], UV-detektagailua eta aurretratamendu erraza erabilia (ultrasonikazioa eta diluzioa besterik ez).

Amaitzeko, laburpen modura jaso dira 2. taulan azken urteotan —2013. urtetik 2015. urtera— zientzia-literaturan argitaratutako zenbait ikerketa, arloaren egoera zein den erakusteko.

2. taula. PASak analizatzeko metodo batzuk (2013-2015)

Lagin-mota	PAS kopurua	Analisi-mota	Erref.
Kosmetikoak	24	HS ^a -GC-MS	[23]
Umeentzako eskuoihalak	24	PLE ^b -GC-MS	[24]
Zainketa pertsonalerako produktuak	24	MSPD ^c -GC-MS/MS	[25]
Umeentzako kosmetikoak	24	MSPD ^c -GC-MS/MS	[26]
Kosmetikoak eta ura	18	USAEME ^d -HPLC-DAD ^e	[21]
Zainketa pertsonalerako produktuak	3	LC-MS	[27]
Zainketa pertsonalerako produktuak	8	MEKC-DAD	[22]

^a Headspace.

^b Pressurized Liquid Extraction.

^c Matrix-Solid-Phase Dispersion.

^d Ultrasound-Assisted Emulsification Microextraction.

^e Diode Array Detector.

3. ONDORIOAK

Artikulu honetan substantzia alergenoen inguruko araudiaren laburpena egin da, eta alergenok kosmetikoetan kuantifikatzeko zientzia-literaturan dauden analisi metodoen berrikuspena ere. Lurrin alergenoen analisisa interes handiko alorra izan da azken urteotan, kontsumitzaileen segurtasuna bermatzeko nahia dela-eta. Berrikusi diren metodo gehienak GCn oinarrituta daude, eta haiek izan ziren garatu ziren lehenak. Hala ere, izan dira era berean bestelako teknikan oinarritutako metodologiak, hala nola LCn eta elektromigrazioan oinarritzen direnak. GCxGC metodoak, bestalde, zehaztasun handiko analisiak egitea ahalbidetzen du, baina kostu ekonomikoa handiagokoa da beste teknikekin alderatzen bada. Era berean, etorkizuneko erronka handia da araudian gehitzen ari diren beste zenbait substantzia alergeno analizatzeko metodoak garatzea. Izan ere, artikulu honetan aztertu diren 26 PAS *klasiko* horietaz gain, badira beste batzuk Europako araudian gehitzen ari direnak —metileugenola, esate baterako, 1223/2009 araudian dago jada—. Guztira 82 dokumentatu dira, oraingoz —54 konposatu bakun eta 28 estraktu—, eta beraz, etorkizunerako analisi-erronkak ez dira txikiak.

4. ESKER ONAK

Lan hau *Kosmetikoen osagai hautatuak determinatzeko kromatografia elektrozinetiko mizelarrean oinarritutako metodoen garapena eta apli-*

kazioa doktore-tesiarene atal batzuetan oinarrituta dago. Tesia EHUKo Kimika Aplikatua Saileko analitikako taldean gauzatu da, Esmeralda Millán EHUKo irakaslearen zuzendaritzapean.

Eusko Jaurlaritzaren Hezkuntza, Hizkuntza Politika eta Kultura Sailari doktore-tesia aurrera eramane ahal izateko emandako diru-laguntza eskertzen diot. Era berean eskertzen dut EHUK *Doktorego ondoko prestakuntza-programetan sartu arte doktore berriak kontratatze*ko deialdiaren bidez emandako diru-laguntza.

5. BIBLIOGRAFIA

- [1] 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.
- [2] EUROPEAN COMMISSION. 1999. «Cosmetics legislation. Cosmetic products. Methods of analysis». *Office for Official Publications of the European Communities*, **2**.
- [3] EUROPEAN PARLIAMENT AND COUNCIL. 2003. «Directive 2003/15/EC of the European Parliament and of the Council of 27 February 2003 amending Council Directive 76/768/EEC on the approximation of the laws of the member States relating to cosmetic products». *Official Journal of the European Union*, **L66**, 26-35.
- [4] SCIENTIFIC COMMITTEE ON CONSUMER SAFETY. 2012. «Opinion on fragrance allergens in cosmetic products». SCCS/1459/11.
- [5] CHISVERT, A., LÓPEZ-NOGUEROLES, M. eta SALVADOR, A. 2013. «Essential oils: analytical methods to control the quality of perfumes». In RAMAWAT, K.G. eta MÉRILLON, J.M. *Natural Products*, Springer-Verlag, Berlin.
- [6] RASTOGI, S.C. 1995. «Analysis of fragrances in cosmetics by gas chromatography-mass spectrometry». *Journal of High Resolution Chromatography*, **18**, 653-658.
- [7] CHAINTREAU, A. 2007. «Analytical methods to determine potentially allergenic fragrance-related compounds in cosmetics». In SALVADOR, A. eta CHISVERT, A. *Analysis of Cosmetic Products*, Elsevier, The Netherlands.
- [8] RASTOGI, S.C. 2002. «Survey of chemical compounds in consumer products. Selected fragrance materials in cleaning products and other consumer products». *National Environmental Research Institute Survey*, **8**, 1-29.
- [9] CHAINTREAU, A., JOULAIN, D., MARIN, C., SCHMIDT, C.-O. eta VEY, M. 2003. «Quantification of fragrance compounds suspected to cause skin reactions». *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 6398-6403.

- [10] INTERNATIONAL FRAGRANCE ASSOCIATION (IFRA). 2007. «Analytical procedure, GC/MS quantification of potential fragrance allergens in fragrance compounds». *International Fragrance Association*, version 3, 1-12.
- [11] MONDELLO, L. SCIARRONE, D., CASILLI, A. TRANCHIDA, P.Q., DUGO P. eta DUGO, G. 2007. «Fast gas chromatography-full scan quadrupole mass spectrometry for the determination of allergens in fragrances». *Journal of Separation Science*, **30**, 1905-1911.
- [12] WANG, L.-H. 2013. «Fragrances: from essential oils to human body and atmospheric aerosols». *Analytical Methods*, **5**, 316-322.
- [13] CABALEIRO, N., DE LA CALLE, I. eta LAVILLA, I. 2013. «Current trends in liquid-liquid and solid-liquid extraction for cosmetic analysis: a review». *Analytical Methods*, **5**, 323-340.
- [14] OMAR, J., VALLEJO, A., OLIVARES, M. eta ETXEBARRIA, N. 2012. «Dimentsio biko gas-kromatografia dimentsio bakarreko gas-kromatografiaren beharrak asetzen». *Ekaia*, **25**, 79-95.
- [15] LIU, Z. eta PHILIPS, J.B. 1991. «Comprehensive two-dimensional gas chromatography using an on-column thermal modulator interference». *Journal of Chromatographic Science*, **29**, 227-231.
- [16] DEBONNEVILLE, C. eta CHAINTREAU, A. 2004. «Quantitation of suspected allergens in fragrances: part II. Evaluation of comprehensive gas chromatography-conventional mass spectrometry». *Journal of Chromatography A*, **1027**, 109-115.
- [17] LECO SEPARATION SCIENCE. 2004. «Quantitative analysis of allergens in perfumes using comprehensive two-dimensional GC and time-of-flight mass spectrometry». *LECO Application Note No. 203-821-237*.
- [18] CORDERO, C., BICCHI, C., JOULAIN, D. eta RUBIOLO, P. 2007. «Identification, quantitation and method validation for the analysis of suspected allergens in fragrances by comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled with quadrupole mass spectrometry and with flame ionization detector». *Journal of Chromatography A*, **1150**, 37-49.
- [19] VILLA, C., GAMBARO, R., MARIANI, E. eta DORATO, S.. 2007. «High performance liquid chromatographic method for the simultaneous determination of 24 fragrance allergens to study scented products». *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **44**, 755-762.
- [20] 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.
- [21] PÉREZ-OUTEIRAL, J., MILLÁN, E. eta GARCIA-ARRONA, R. 2015. «Ultrasound-assisted emulsification microextraction coupled with high-performance liquid chromatography for the simultaneous determination of fragrance allergens in cosmetics and water». *Journal of Separation Science*, **38**, 1561-1569.

- [22] LOPEZ-GAZPIO, J., 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». *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **406**, 819-829.
- [23] DESMEDT, B., CANFYN, M., PYPE, M., BAUDEWYNS, S., HANOT, V., COURSELLE, P., DE BEER, J.O., ROGIERS, V., DE PAEPE, K. eta DECONINCK, E. 2015. «HS-GC-MS method for the analysis of fragrance allergens in complex cosmetic matrices». *Talanta*, **131**, 444-451.
- [24] CELEIRO, M., LAMAS, J.P., GARCIA-JARES, C. eta LLOMPART, M. 2015. «Pressurized liquid extraction-gas chromatography-mass spectrometry analysis of fragrance allergens, musks, phthalates and preservatives in baby wipes». *Journal of Chromatography A*, **1384**, 9-21.
- [25] CELEIRO, M., GUERRA, E., LAMAS, J.P., LORES, M., GARCIA-JARES, C. eta LLOMPART, M. 2014. «Development of a multianalyte method based on micro-matrix-solid-phase dispersion for the analysis of fragrance allergens and preservatives in personal care products». *Journal of Chromatography A*, **1344**, 1-14.
- [26] SANCHEZ-PRADO, L., ALVAREZ-RIVERA, G., LAMAS, J.P., LLOMPART, M., LORES, M. eta GARCIA-JARES, C. 2013. «Content of suspected allergens and preservatives in marketed baby child care products». *Analytical Methods*, **5**, 416-427.
- [27] FAMIGLINI, G., TERMOPOLI, V., PALMA, P., CAPRIOTTI, F. eta CAPPUELO, A. 2014. «Rapid LC-MS method for the detection of common fragrances in personal care products without sample preparation». *Electrophoresis*, **35**, 1339-1345.