

Irakaskuntzak eta ikerkuntzak bat egiten dutenean: bentzofenona-4 ultramore-iragazkiaren kuantifikazioa

*Uxua Huizi¹, Estibalitz Otegi¹, Josu Lopez-Gazpio^{*2}*

¹ Kimikako Gradua. Kimika Zientzien Fakultatea (UPV/EHU)

² Kimika Aplikatua Saila. Kimika Zientzien Fakultatea (UPV/EHU)

* josu.lopez@ehu.es

Jasoa: 2014-06-14

Onartua: 2014-07-21

Laburpena: Kimikako ikasleek sarritan oso era sinplifikatuan ikusten dute kimika analitikoa. Artikulu honetan graduko ikasleei zuzendutako ikerkuntza proiektu simple bat proposatzen da, ikasleak ikerkuntza metodoekin ohitu daitezen. Zehazki, kromatografia elektroinetiko mizelarrean oinarritzen den bentzofenona-4 ultramore-iragazkia determinatzeko metodo erraz eta merke baten garapena deskribatzen da. Erradiazio ultramorea xurgatzeko, islatzeko edo sakabanatzeko duten gaitasunari esker, ultramore-iragazkiek azala babesten dute erradiazioaren kalteetatik. Ultramore-iragazkiak eguzkitarako produktu kosmetiko askoren formulazioetan erabiltzen dira osagai aktibo moduan. Proiektua amaitutakoan ikasleek eskuratu behar dituzten ikasketa-emaizkak ere deskribatzen dira.

Hitz gakoak: Bentzofenona, Ultramore-iragazki, Eguzkitarako produktu, Ikasleen trebakuntza.

Abstract: Chemistry students often have an oversimplified view of analytical chemistry. Here a simple research project in order to familiarize degree students with research methodology is presented. Specifically, this paper describes the development of an easy and cheap method, based on micellar electrokinetic chromatography, for the determination of the ultraviolet filter benzophenone-4. Ultraviolet filters are substances which are intended to protect the skin against certain UV radiation by absorbing, reflecting or scattering ultraviolet radiation. Ultraviolet filters are used as active ingredients in the formulation of sunscreen cosmetic products. Expected learning outcomes after completion of the project are also described.

Keywords: Benzophenone, UV filter, Sunscreen product, Student training.

1. SARRERA

Egungo unibertsitateen ikuspegitik, erronka handia da irakaskuntzaren eta ikerkuntzaren arteko loturak bilatzea eta sendotzea. Hain zuzen ere ikerkuntza eta irakaskuntza dira unibertsitateen bi oinarritzko funtzioak; lehenari esker ezagutza berriak lortzen dira, eta bigarrena ezinbestekoa da ezagutzak zabaltzeko. Bi arlo horien arteko harremana oso estua da eta, are gehiago, elkarrekin aberasten dira bi esparru hauek. Ikasleen garapenerako funtsezkoa da irakaskuntzaren eta ikerkuntzaren arteko loturak agerian jartzea, bereziki zientzia experimentalen alorrean. Helburu horrekin, *Esperimentazioa Kimika Analitikoan* irakasgaiaren Kimikako Gradu 3. mailako ikasleei, proposatu zitzaizen Kimika Analitikoko ikerkuntza laborategian garatutako metodoetako bat aplikatzea.

Metodo horren aplikazioak helburu modura du ikasleengan analisi instrumentalari buruzko gogoeta kritikoa bultzatzea eta, era berean, metodo analitikoaren konplexutasuna erakustea. Proiektuaren bidez, *Esperimentazioa Kimika Analitikoan* irakasgaiaren gaitasunak garatzen dira — 1. taulan jasotzen dira gaitasun horiek, kimikaren arloan orokorrak edo zeharkakoak diren adieraziz—. Irakaskuntzaren metodologiari eta garapenari dagokionez, hasiera batean ikasleei analisi instrumentalari eta elektroforesi kapila-

1. taula. Irakasgaiari dagozkion gaitasunak (irakaskuntza-gida ofizialekoak).

Kodea	Gaitasuna	Mota
M02CM04	Prozesu analitikoa eta bere urratsak ezagutzea, eta kasu jakin bakoitzean egokienak diren metodo analitikoak planifikatzeko, aplikatzeko eta kudeatzeko gai izatea.	Orokorra
TM02CM08	Teknika instrumental arruntak edo konbinatuak hautatzeko gaitasuna izatea, substantzia kimikoak ezaugarritzeko.	Zeharkakoa
TM02CM09	Ahoz eta idatziz, modu ulergarrian, kimikarekin eta antzeko gaiekin lotutako fenomenoak eta prozesuak aurkeztu ahal izatea.	Zeharkakoa
TM02CM10	Kimikaren arloan eta beste arlo zientifiko batzuetan informazioa bilatzeko eta hautatzeko gaitasuna izatea, bibliografia eta informazioaren eta komunikazioaren teknologiak erabiliz.	Zeharkakoa
TM02CM11	Kimika beste diziplina batzuekin lotzeko gai izatea, baita kimikak gaur egungo gizartean duen eragina eta kimikaren industria-sektorearen garrantzia ulertzeko ere gai izatea.	Zeharkakoa

rrari buruzko bibliografia eman zitzaien [1-3] eta informazioa eskuratzeko beste iturriei buruzko informazioa eman zitzaien, bereziki, sarean daudenei buruzkoa. Lehen saioan, praktikaren oinarriko argibideak dituen txostena aldean zutela, ikasleek beharrezkoak ziren aldaketak proposatu eta artikulua honetan deskribatzen den metodoa garatu zuten.

Erabili zuten analisi-ekipoaren automatizazioari esker, hurrengo eguneko saiorako analisi guztiak eskuragarri zituzten eta lortutako emaitzak aztertu eta haiei buruzko gogoeta egin behar izan zuten. Ikasle talde guztiek, binaka antolatuta, metodo bera aplikatu zuten eta, amaitzeko, txosten batean jaso zituzten emaitza esperimenterak eta taldeen arteko konparaketaren ondorioak. Ikasleen ondorioez gainera, artikulua amaitzeko ikasleek proiektua garatzeko landutako zereginei esker lortutako ikasketamaitzak (*learning outcomes*) jaso dira.

Proiektu honek helburu modura hartu du ultramore-iragazkia kuantifikatzeko balio duen metodo merke eta erraza garatzea eta, ondoren, eguzki-krema batean BZ4ren kontzentrazioa determinatzea. Bentzofenona-4 —izen kimikoa: azido 5-bentzoil-4-hidroxi-2-metoxi-benzenosulfonikoa— erradiazioa filtratzen laguntzen duen zetona aromatikoa da; alegia, erradiazioa xurgatu eta bero modura igortzen du; horrexegatik erabiltzen da UV-iragazki moduan eguzki-kremetan. Kuantifikazioa aurrera eramateko, MEKC teknika erabiliko da —elektroforesi kapilarra delako teknikaaren aldaera bat— eta Kimikako Gradu 2013/2014 ikasturteko 3. mailako ikasleek aplikatu dute. MEKC metodologia garatzeko, ikerkuntza-laborategian kosmetikoen analisirako era arrakastatsuan aplikatu den teknika hartu da abiapuntutzat [4], eta beharrezkoak gertatu diren moldaketak egin dira ikasleen laborategian aplikatu ahal izateko. Proiektuaren aplikazioari esker irakasgaiarentzat definitutako gaitasunak landu dira, nahiz eta jarraian deskribatzen dena ez den aurrera eraman den aktibitate bakarra.

2. PROIEKTUAREN OINARRI TEORIKOA

2.1. Erradiazio ultramore eta ultramore-iragazkiak

Eguzki-izpien %6,5a erradiazio ultramoreari (UV) dagokio, alegia, 100-400 nm tarteko uhin-luzerakoari. Lurrazalera iristen den erradiazio ultramore horren %98a A-motako erradiazio ultramore da (UVA) eta %2 a B-motako erradiazio ultramoreari dagokio (UVB). UVA izpiek 320-400 nm tarteko uhin-luzera dute. UVB izpiak, berriz, 290-320 nm-ko uhin-luzerakoak dira. Kontuan izan behar da uhin-luzera zenbat eta txikiagoa izan izpia orduan eta energetikoagoa dela eta, beraz, UVB izpiek energia gehiago dutela UVA izpiek baino. Zorionez, UVC izpiak —100-290 nm-koak— ez dira iristen lurrazalera atmosferak blokeatzen dituelako, UVB izpien zati garrantzitsu batekin batera [5]. Hala ere, erradiazio ultramore parametro

askoren menpe dago, esaterako, latitudea, urtaroa, eguneko ordua, baldintza meteorologikoak eta ozono-geruza. Adibidez, udako egunetan erradiazio ultramorearen UVB osagaia %3,5era irits daiteke [6].

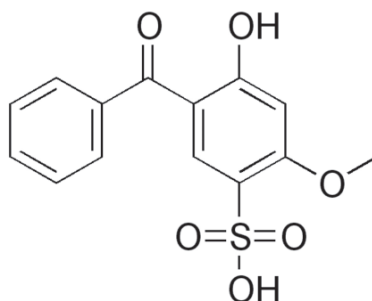
UV erradiazioak efektu terapeutikoak ditu eguzkipeko egonaldi laburren kasuan, D bitaminaren ekoizpen endogenoa handitzen duelako. Bitamina horri esker kaltzioaren absortzioa areagotu egiten da eta ondorioz, zenbait patologia saihestu daitezke —osteoporosia, kasu—. Horretaz gain, baditu beste hainbat efektu on artritisairen prebentzioan, odol-presioaren erregulazioan eta muskuluen indarrean. Bestalde, beltzarandutako azala edertasunaren eredu izan ohi da gizabanako kaukasiarretan. Aitzitik, gauza jakina da azken hamarkadetan erradiazio ultramore gehiago iristen ari dela lurrazalera, nagusiki ozono-geruza estratosferikoak jasandako kalteak direla eta. Horren ondorioz, UV erradiazioak sortzen dituen kalteekin lotutako gaixotasunak areagotu egin dira: azaleko minbizia, fotodermatosia, orbanak, narritadurak eta azaleko immunologia-sistemaren kaltea [7].

UVB erradiazioa UVA baino kaltegarriagoa zela uste zen arren —arrazoi energetikoaren ondorioz—, aspalditik ezagutzen da UVA izpiek azalean gehiago barneratzeko gaitasuna dutela [8]. Alde batetik, UVA erradiazioa Oxigeno-Espezie Erreaktiboak —ROS, *Reactive Oxygen Species*— ekoizteko gai da, kromoforo exogenoekin edo endogenoekin elkarrekintza duenean; ROS horiek gai dira DNA, zelulak, ehunak eta odol-hodiak kaltetzeko [9]. Bestetik, UVB erradiazioak —UVAren antzera— immunitate-sistema apaltzea dakar eta frogatuta dago azaleko minbiziaren eragilea dela, melanoma barne. Azaldutakoaren ildotik, ikusi izan da ezinbestekoa dela azalaren UVA eta UVB izpien peko egonaldia murriztea, eguzki-izpiak denbora luzez jasotzen direnean; horretarako, eguzki-kremak eta antzeko produktu kosmetikoak erabili ohi dira.

Eguzki-kremen konposizioan badaude hainbat konposatu kimiko, ultramore-iragazki izenekoak, eta erradiazio ultramore azalera iristea saihesten dutenak. Konposatu kimiko horiek organikoak edo ez-organikoak izan daitezke; organikoak gai dira UV erradiazioa xurgatzeko eta ez-organikoak UV erradiazioa islatzeko. Egun, UV-iragazkiak ez dira eguzki-kremetan bakarrik erabiltzen eta beste hainbat produktutan ere gehitzen dira: *aftershave* produktuak, lozio hidratatzaileak, xanpuak, zahartzearen aurkako produktuak eta abar. Kontsumitzaileen segurtasuna bermatzeko, herrialde askok UV-iragazki moduan erabili daitezkeen konposatu kimikoak arautu dituzte, eta haien kontzentrazio maximoak ezarri dituzte. Hiru araudi garrantzitsu daude aurki daitezke alor horretan: 1) Japoniako legedia, 2) AEBetako FDAren —*Food and Drug Administration*— Araudia eta 3) Europar Batasuneko Araudia [5].

Europar Batasunaren kasuan, 1223/2009 Legediak ezartzen ditu kosmetikoei buruzko mugak eta arauak [10]. Araudiaren VI. eranskinean ba-

dago UV-iragazki moduan erabil daitezkeen 27 konposatuen zerrenda, eta haietako bakoitzaren kontzentrazio maximoa zein den adierazten da. Hala ere, haietako bat (azido 4-aminobentzoikoa) 2013an debekatu zen, eta beraz, 26 konposatu dira guztira. Konposatu horien artean, bentzofenonak dira UV-iragazki ugarienetakoak eta, bentzofenonen artean bentzofenona-3 (BZ3) eta bentzofenona-4 (BZ4) deribatuak dira erabilienak (1. irudia). Hurrenez hurren %10 eta %5 dira bi iragazki horientzat Europako Araudiak onartzen dituen kontzentrazio maximoak; izan ere, frogatua dago konposatu horiek, izan ditzaketela zenbait albo ondorio izan ditzaketela frogatu da, hala nola narritadurak, erreakzio fotoalergenikoak eta aktibitate estrogenikoa [11-13].

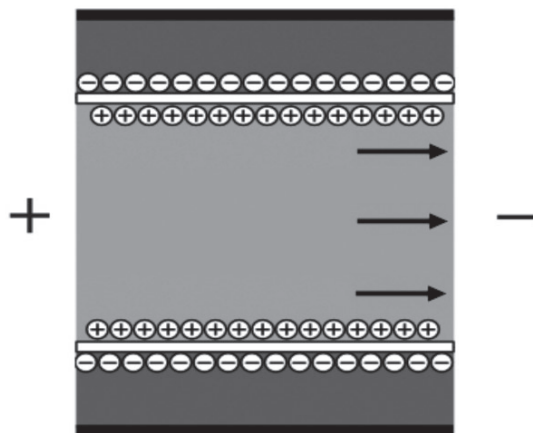


1. irudia. Bentzofenona-4 ultramore-iragazkiaren formula kimikoa.

2.2. Metodo analitikoa

Eguzkitarako produktuetan dauden UV-iragazkiak determinatzea garrantzitsua da kontsumitzaileen segurtasuna eta produktuen eraginkortasuna bermatzeko. Likido-kromatografia [14] eta gas-kromatografia metodoak dira [15] bentzofenona-iragazkiak kuantifikatzeko ohikoenak, baina hala ere, bibliografia espezializatuan aurki daiteke informazioa, metodo horiei buruz zein bestelakoei buruz. Ikerkuntza honen kasuan, berriz, elektroforesi kapilarra erabiltzen da BZ4 konposatua kuantifikatzeko eta zehazki, teknika horren Kromatografia Elektrozinetiko Mizelarra —MEKC, *Micellar Electrokinetic Chromatography*— deritzon aldaera. Elektroforesi kapilarra teknika analitikoa da, eta analito ezberdinen banaketa eta kuantifikazioa ahalbidetzen du detektagailu batekin konbinatzen denean [3]. Elektroforesi kapilarrean oinarritutako zenbait teknika edo aldaera daude, eta Zonako Elektroforesi Kapilarra da sinpleena —CZE, *Capillary Zone Electrophoresis*—. Kasu honetan elektroforesi fenomenoak eta fluxu elektrosmotikoak (2. irudia) baizik ez dute eragina banaketan.

Elektroforesi fenomenoak, partikula kargadunek eremu elektriko baten menpean duten mugimendua da eta, partikularen kargaren eta tamainaren



2. irudia. Fluxu elektroosmotikoaren noranzkoa, polaritate normala aplikatzen denean. Anodoa deritzo positiboki kargatutako elektrodoari, eta katodoa, berriz, negatiboki kargatutakoari. Irudia: jabego publikoan [3].

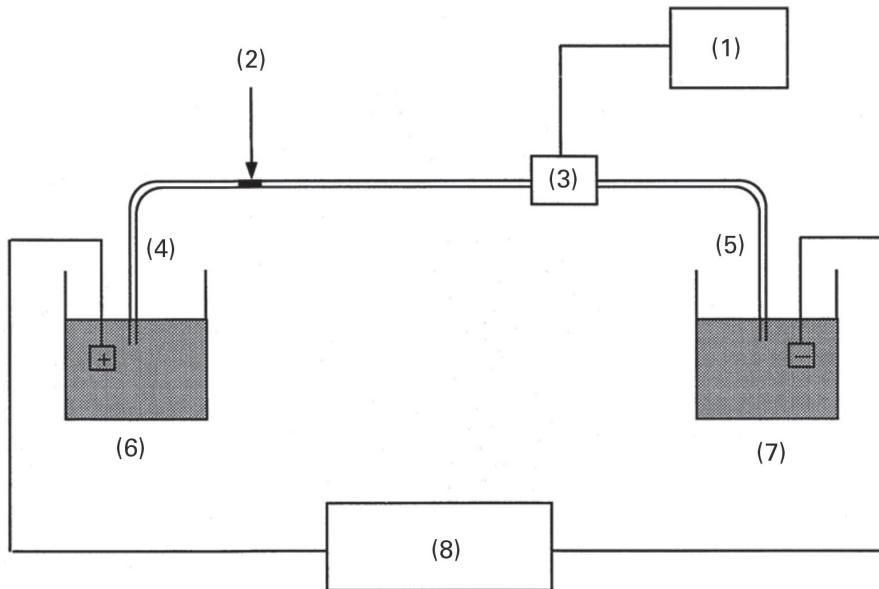
arabera gertatzen da. Fluxu elektroosmotikoa aldiz, kapilarraren ezaugarriei esker agertzen da eta konposatu guztiei eragiten die.

Elektroforesi kapilarrean erabiltzen diren silize urtuzko kapilarraren barne pareta silanol (-SiOH) taldez estalita dago; talde horiek, ingurune basikoan jarriz, protoia galdu eta ionizatu egiten dira, eta kapilarraren barruko gainazalari karga negatiboa ematen diote. Kapilarrak barne paretean karga negatiboa duenez, banaketa elektrolito-disoluzioa sartzean —BGE, *Background Electrolyte*—, karga positibodun partikulak erakarriko ditu, eta kargatutako beste geruza bat osatuko du. Ereku elektrikoa aplikatzean, katioiak katodorantz desplazatuko dira, eta elektrolito-disoluzio guztia norabide berdinean eramango dute (2. irudia). Higidura-fronte uniforme horri fluxu elektroosmotikoa deritzo eta bera da elektromigrazioan oinarritutako teknika guztien funtsa.

Partikula kargadunek elektroforesi jasaten dute eta partikula guztiek elektroosmosia, eta bi fenomeno horien batura da osoko mugimendu elektroforetikoa. Beraz, partikula neutroen kasuan fluxuaren abiadurak baizik ez du eragina, mugikortasun elektroforetikoa nulua delako. Horren ondorioz, konposatu neutroak ezin dira banatu CZE erabiliz, molekula neutro guztiek abiadura bera dutelako. MEKC teknika erabilita aldiz, ioiak eta molekula neutroak bana daitezke. Aplikazio horretarako, BGE disoluzioan mizelak osatzeko gai den surfaktante tentsoaktibo bat gehitzen da surfaktantearen kontzentrazio mizelar kritikoa baino kontzentrazio handiagoan,

BGE disoluzioan mizelak osa daitezten. Analito neutroek mizelekin jasaten dituzten elkarrekintzak konposatu bakoitzarentzat bereizgarriak direnez —hidrofobotasunaren arabera, normalean—, beste kontribuzio bat gehitu behar da osoko mugikortasunari. Horren ondorioz, analito neutroek beste osoko abiadura bat izaten dute, eta posible da beraien banaketa. BGE disoluzioan dauden mizelek osatzen duten bigarren faseari fase pseudogeldikorra deritzo. MEKC teknikaren eraginkortasuna beste teknika batzuen elementuen konbinazioari zor zaio; hain zuzen ere, MEKC aldaera likido-kromatografiaren eta elektroforesi kapilarraren arteko teknika hibridoa da [3].

Analizatu nahi den lagina anodoan (elektrodo positiboan) injektatzen da eta aplikatutako eremu elektrikoaren eraginez disoluzio guztia katorantz (elektrodo negatiborantz) desplazatzen da. Kapilarraren amaiera aldean, detektagailua kokatzen da (3. irudia) eta kasu honetan, ultramore-ikusgai detektagailua erabili da, hain zuzen ere. Kontuan izan behar da lagina detektagailura iristen denean oraindik analitoak banatzen ari direla eta horregatik, elektromigrazio tekniken kasuan, azalera normalizatuen bidez egin ohi dira kuantifikazioak (azalera/migrazio-denbora).



3. irudia. Elektroforesi-ekipo baten eskema: 1) ekipoa kontrolatzen duen ordenagailua, 2) kapilarrean injektatu den lagina, 3) detektagailua, 4) kapilarraren sarrera edo *inleta*, 5) kapilarraren irteera edo *outleta*, 6) sarrerako elektrodo eta elektrolyto-disoluzioa (BGE) duen biala, 7) irteerako elektrodo eta BGE duen biala, eta 8) goi tentsioko iturria. Irudia: jabetgo publikoan [3].

3. ATAL ESPERIMENTALA

3.1. Materiala eta errektiboak

Azido 5-bentzoil-4-hidroxi-2-metoxi-benzenosulfonikoa (BZ4), sodio tetraborato dekahidratatua (STB) eta sodio dodezilsulfatoa (SDS) Sigma-Aldrich enpresari (Alemania) erosi zaizkio eta metanola (MeOH) Panreac Química S.A. enpresari (Espainia). 0,45 μm -ko iragazkiak (Teknokroma, Espainia) ere beharrezkoak izan dira. Horretaz gain laborategiko ohiko beirazko materiala — 100 mL-ko eta 25 mL-ko matraze aforatuak, pipetak, hauspeakin ontziak —, elektroforesirako bialak eta mikropipetak erabili dira.

BZ4ren estandar-disoluzioak prestatzeko, 500 mg/L *stock* disoluzioa prestatu da %10(v/v) MeOH-tan.

3.2. Metodo analitikoa

Esperimentu guztiak aurrera eramateko Agilent G7100A CE ekipoa (Agilent Technologies, Suitza) erabili da; ekipo honek, lerrokatutako diodoen ultramore-ikusgai detektagailua du. Kapilarrak 50 μm -ko barne diametroa du eta 64,5 cm luze da; bestetik, 54,5 cm-ko luzera eraginkorra du —hau da, detektagailurainoko luzera—. Injekzio batetik bestera kapilarra garbitzeko 0,1 M den NaOH disoluzioa, ura eta BGE erabili dira, bakoitza 3 minutuz kapilarretik igaroaraziz. Lagina injektatzeko 45 mbar-eko presioa aplikatu da 8 segundoz —injekzio hidrodinamikoa— eta banaketa lortzeko 30 kV-ko potentzial-diferentzia aplikatu da. BZ4 kuantifikatzeko, 250 nm-ko uhin-luzeran jasotako seinalea erregistratu da detektagailuan. BGE disoluzioaren konposizioa honako hau da: 18 mM STB, 60 mM SDS, %10 (v/v) MeOH eta pH = 9,4.

3.3. Laginaren prestaketa

Analizatutako lagina eguzki-krema bat da, EAeko saltoki-gune batean erositakoa. Lagina prestatzeko, kosmetikoaren 0,30 g inguru zehaztasunez pisatu dira eta 50 mL-an disolbatu dira. Lagina disolbatzeko ere %10 (v/v) MeOH disoluzioa erabili da. Elektroforesi-ekipoan injektatu aurretik, 0,45 μm -ko filtrotik iragazi da lagina eta, ondoren, mikropipeta erabiliz 600 μL hartu dira elektroforesirako bialeetan sartzeko.

4. EMAITZAK

4.1. Kalibraketa

Kalibratzeorako disoluzioak prestatzeko, BZ4 *stock* disoluziotik abiatuz, 5 estandar-disoluzio egin dira kalibraketa zuzena egiteko: 20, 40, 60, 80 eta

100 mg/L kontzentraziokoak, ikasleek horrela erabakita. Disoluzio guztiak 0,45 μm -ko iragazkiak erabiliz iragazi dira elektroforesi kapilarreko eki-poan injektatu aurretik. 2. taulan jaso dira kalibraketa zuzena eraikitzeko erabili diren BZ4 estandar-disoluzioen emaitzak.

2. taula. BZ4 estandar-disoluzioen analisisa.

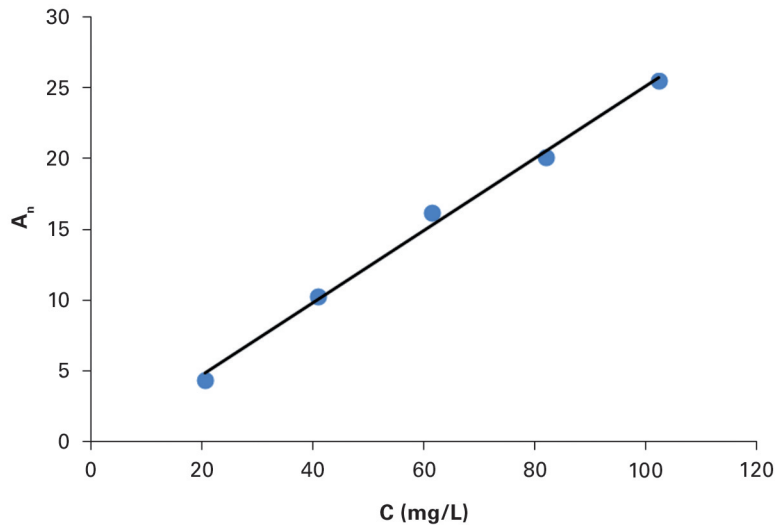
Kalibraketa	C (mg/L)	t_m (min) ^{a)}	A ^{b)}	A _n ^{c)}
1	20,48	18,16	79,70	4,3888
2	40,96	18,24	187,6	10,285
3	61,44	20,90	339,2	16,230
4	81,92	22,62	455,0	20,115
5	102,40	23,06	588,2	25,507

a) Migrazio-denbora.

b) Integratutako seinalearen azalera.

c) Azalera normalizatua: $A_n = A/t_m$.

Pikoen azalera normalizatua kalkulatu ondoren, balio hori dagokion estandar-disoluzioaren kontzentrazioarekiko irudikatzen da, erregresio zuzena lortzeko (4. irudia). Lortutako zuzenaren ekuazioa $A_n = 0,2542 \cdot C(\text{mg/L}) - 0,315$ da eta korrelazio koefizientearen balioak ($R^2 = 0,9951$) erregresio linealaren egokitasuna bermatzen du.



4. irudia. Kalibratze zuzenaren irudikapen grafikoa. Irudia: U. Huizi eta E. Otegi.

Metodoaren balioztatzeari dagokionez, detekzio-muga —LOD, *Limit of Detection*— kalkulatu da, ohikoa den $(3,3 \times SD/b)$ erabiliz. Ekua-zio horretan, SD *Y* ardatzaren desbideraketa estandarra da eta *b* erregresio zuzenaren malda. Kuantifikazio-limitea —LOQ, *Limit of Quantification*— kalkulatzeko $LOQ = 3 \cdot LOD$ adierazpena erabili da. Horren arabera, lortutako LOD eta LOQ balioak 8,7 mg/L eta 26,1 mg/L dira, hurrenez hurren. Orokorrean, metodo analitikoak LOQa baino handiagoak diren kontzentrazioak kuantifikatzeko erabil daitezkeenez, garatutako metodoaren tarte lineala 26,1 – 102,4 mg/L da —LOQetik kontzentrazio maximoa duen estandar-disoluzioaren kontzentrazioa artekora—. Metodoak balioztatzeko, aztertu beharrekoak dira beste hainbat, hala nola zehaztasuna, errepikakortasuna, matrize-efektua, eta abar [16]; hala ere, proiektu honen helburuetatik kanpo geratzen da metodo analitikoaren balioztatzen zorrotza egitea.

4.2. Metodoaren aplikazioa

Azkenik, eguzki-krema baten BZ4 kontzentrazioa kuantifikatu da. Horretarako 3.3 atalean azaldutako prozedura erabiliz prestatu da lagina eta estandar-disoluzioekin erabilitako metodo bera aplikatu da. Lagina hiru aldiz analizatu da, eta lortutako emaitzak 3. taulan ikus daitezke. Laginaren analisisian lortutako elektroferograma, berriz, 5. irudian.

3. taula. Eguzki-kremaren analisiaren emaitzak.

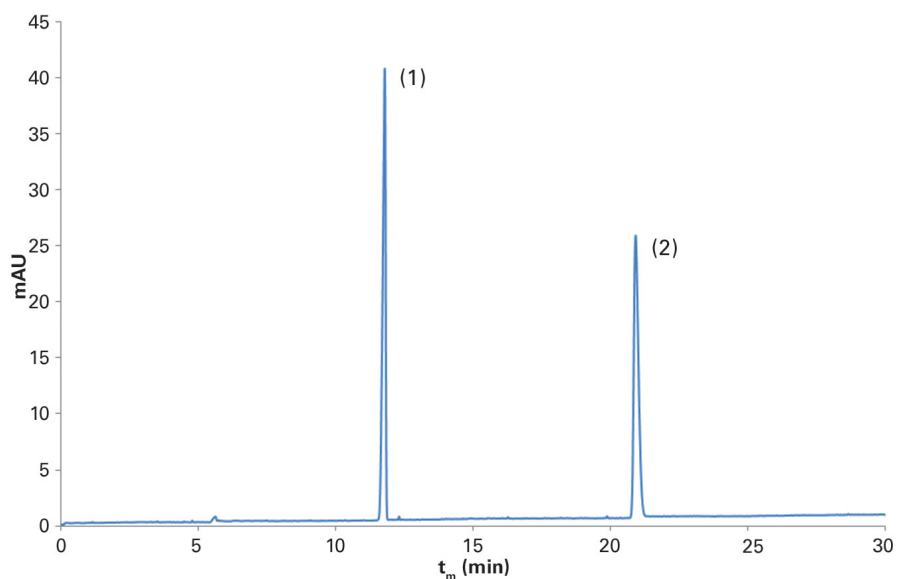
Lagina	t_m (min)	A	A_n	C_{dil} (mg/L) ^{a)}	%BZ4 ^{b)}
1	26,52	334,5	12,61	50,86	0,85
2	20,92	299,5	14,31	57,56	0,96
3	24,17	382,3	15,82	63,46	1,06

^{a)} BZ4 kontzentrazioa analizatu den lagin diluituan.

^{b)} BZ4 kontzentrazioa eguzki-kreman, (w/w) ehunekoa.

Lortutako BZ4 kontzentrazioaren batez bestekoa $\%(w/w)$ $0,9 \pm 0,1$ da eta desbideraketa estandar erlatiboa —%RSD, *Relative Standard Deviation*— %10,9; beraz, balio onargarria da. Erreferentziako ikasle taldeaz gain, 4. taulan jaso dira proiektuaren metodologia aplikatu duten beste taldeen emaitzak. Taulan ikus daitekeen bezala, ikasle taldeek lortutako emaitzek sakabanaketa nabarmena dute, baina, metodoa talde desberdinek aplikatzen dutenez, metodoaren sendotasuna aztertzei aukera ematen du. Azken batean, emaitza horiek aztertuta, ikasleek metodoaren garapenean ere parte hartzen dute.

*Irakaskuntzak eta ikerkuntzak bat egiten dutenean:
benzofenona-4 ultramore-iragazkiaren kuantifikazioa*



5. irudia. Produktu kosmetikoari dagokion elektroferograma, 250 nm-an erre-gistratua. Identifikatu gabeko konposatu bat (1) eta BZ4 (2) aurkitu dira. Irudia: U. Huizi eta E. Otegi.

4. taula. Ikasle talde guztien emaitzak (batez bestekoa \pm desbideraketa estandarra).

Taldea	C_{diti} (mg/L) ^{a)}	%BZ4 ^{b)}
1	76 ± 16	$1,2 \pm 0,2$
2	88 ± 15	$1,4 \pm 0,2$
3	71 ± 4	$1,13 \pm 0,07$
4	82 ± 8	$1,4 \pm 0,1$
5	$91,0 \pm 0,6$	$1,26 \pm 0,01$
6	$93,2 \pm 0,7$	$1,29 \pm 0,01$
7	69 ± 3	$1,15 \pm 0,05$
8	56 ± 2	$0,92 \pm 0,03$

a) BZ4 kontzentrazioa analizatu den lagin diluituan.

b) BZ4 kontzentrazioa eguzki-kreman, (w/w) portzentaia.

4.3. Irakaskuntza-proiektuaren emaitzak

Artikuluaren sarreran azaldu eta 1. taulan jaso diren gaitasun ofizia-
lez gainera egun ikasketa-emaitzak definitzea garrantzitsua da, alegia, irak-
kasgaia gainditzean ikasleek eskuratu behar dituzten emaitzak. Gaitasunak
eta ikasketa-emaitzak kontzeptu desberdinak dira eta argiro bereizi behar
dira elkarrengandik — irakurleak ANECAren txostenean aurki ditzake
xeheatasun guztiak [17]—. Bloomen taxonomiaren arabera, prozesu ge-
roz eta konplexuagoak diren hierarkiak ezartzen dira eta horrek ikasketa-
emaitzen egitura finkatzen du [18]. Taxonomia horri jarraituta, era argian
jaso dira bibliografian adibide gisa, biologiako laborategiko proiektuen
ikasketa-emaitzak [19]. Ildo horretatik, 5. taulan laburbildu dira proiektu
hau amaitzean ikasleek eskuratu behar dituzten ikasketa-emaitza generi-
koak —; kontuan izan behar da emaitza horiek ez direla guztiak; izan ere,
irakasgaiak baditu zeregin gehiago proiektu honetaz gainera—. Kontuan
izan dira ikasketa-emaitzak ebaluatzeko proiektuaren garapenaren jarrai-
pena, ikasgelako eztabaidak, txostenak eta irakaslearekin izandako atze-
raelikadura.

5. taula. Proiektuaren ikasketa-emaitzak.

Ikasketa-emaitzak		
Generikoak	Sistemikoak	Ikasketaren helburuak formulatzen ditu. Ikerkuntza-trebetasuna du. Ezagutza gabeziak identifikatzen ditu. Hipotesi zientifikoak proposa ditzake. Problema berrien aurrean ebazpen-estrategiak planteatzen ditu. Ezagutza era antolatuan adierazten ditu. Ezagutza analizatzen eta sintetizatzen du.
	Instrumentalak	Informazio-iturriak bilatzen eta identifikatzen ditu. Ahozko eta idatzizko komunikazioa landu du. Kalkuluak egiten trebea da. Ikerkuntza praktikoak planteatzen, diseinatzen eta aplikatzen ditu. Ezagutza teorikoak praktikan jartzen ditu. Instrumentazio kimikoa erabiltzen du. Laborategian behar diren trebetasunak ditu. Laborategian lortutako emaitza esperimentalak interpretatzen ditu. Datuak prozesatzen ditu.
	Interpertsonalak	Taldean lan egiten du. Erlazio interpertsonalak landu ditu. Entzuleria informatuari argudio zientifikoak aurkezten ditu, ahoz zein idatziz.

5. ONDORIOAK

5.1. Ikasleek lortutako ondorioak

europako Araudiak ezartzen duen BZ4 kontzentrazioaren muga %5 (w/w) da, eta beraz, kalkuluen arabera, laginak araudia betetzen duela frogatu da. Horretaz gain, *Esperimentazioa Kimika Analitikoan* irakasgaiaren era errazean, merkean eta eraginkorrean aplikatu daitezkeen metodo analitiko merke eta sinplea garatu da. Ikerkuntza-laborategian metodo bera aplikatuta eta eguzki-krema horren BZ4 kontzentrazioa $\%(w/w) = 1,0 \pm 0,1$ dela kontuan hartuz, ikasleek emaitzak orokorrean egokiak dira, konfiantza tartean sartzen direlako talde gehienak. Dena den, emaitza esperimentalen egokitasunaz gain, esperientziaren ikerkuntzan erabiltzen diren metodoak graduko ikasleek laborategira eramatea izan da faktore positibo garrantzitsua.

5.2. Irakaskuntza-ondorioak

Irakaskuntza-metodologia guztiekin gertatzen den gisara, ikasketa-emaitzak faktore askoren menpe daude, adibidez, ikasle kopurua, maila, motibazioa eta trebetasuna [20]. Dena den, garatutako proiektu hau egokia da 3. mailako kimikako graduko ikasleentzat; izan ere, ezagutza teoriko garrantzitsuak jada eskuratu dituzte, baina huts egiten dute ikerkuntza-laborategietako eguneroko lanaren ezagutzan. Ondorioz, proiektua amaitzean ikasleek 5. taulan adierazitako ikasketa-emaitzak lortu dituztela egiazta-tzea aurreratze handia izan da beraien garapenean. Irakaskuntza-ondorio gehiago lortzeko ikasturte gehiagotan zehar proiektuaren garapena aztertu eta hobetu beharko bada ere, esperientzia oso positiboa izan da, ikasleek laborategian jakinarazi duten bezala. Era berean, aurrerantzean ikasleek iritziak, iruzkinak eta kritikak jasotzeko tresnak prestatzea ere aberasgarria izango da irakaskuntza-proiektua hobetzeko.

6. ESKER ONAK

Egileek ikerkuntzaren atal esperimentalean parte hartu duten ikasle guztiei eskerrak eman nahi dizkiete: Ion Abad, Iker Aizpurua, Idoia Guruceaga, Maitane Lopez, Eider Matxinandiarena, Sara Mchichou, Jazmina Navarrete, Beñat Olave, Ane Olazagoitia, Andoni Perez, Iliane Rafanillo, Mireia Rollan, Asier Sanz, Juan Carlos Solis, Aitzol Torregerai, Esther Udabe eta Leire Villimar. Era berean, irakasgaiaren irakasle arduraduna izan den Iñaki Berregiren ardura eskertu nahi dute.

J. Lopez-Gazpiok Eusko Jaurlaritzaren Hezkuntza, Hizkuntza Politika eta Kultura Sailari doktorego-tesia sustatzeko emandako diru-laguntza eskertzen dio.

7. BIBLIOGRAFIA

- [1] GUITERAS J., RUBIO R., FONRODONA G. 2003. *Curso experimental en Química Analítica*, Síntesis, Madril.
- [2] HARRIS D.C. 2007. *Análisis Químico Cuantitativo*, 3. argitalpena, Reverté, Bartzelona.
- [3] LOPEZ-GAZPIO J. eta MILLÁN E. 2013. *Elektroforesi Kapilarraren Oinarriak*, Euskal Herriko Unibertsitateko Argitalpen Zerbitzua, Leioa.
- [4] LOPEZ-GAZPIO J., GARCIA-ARRONA R. eta MILLÁN E. 2014. «Application of Response Surface 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.
- [5] CHISVERT A. eta SALVADOR A. 2007. *UV Filters in Sunscreen and other Cosmetics. Regulatory Aspects and Analytical Methods*. In CHISVERT A. eta SALVADOR A. (ed.). *Analysis of Cosmetic Products*. Elsevier, Amsterdam.
- [6] FOURTANIER A., MOYAL D. eta SEITE S. 2012. «UVA filters in sun-protection products: regulatory and biological aspects». *Photochemical & Photobiological Science*, **11**, 81-89.
- [7] CHISVERT A., TARAZONA I. eta SALVADOR, A. 2013. «A Reliable and Environmentally-Friendly Liquid-Chromatographic Method for Multi-Class Determination of Fat-Soluble UV Filters in Cosmetic Products». *Analytica Chimica Acta*, **790**, 61-67.
- [8] BRULS W.A., SLAPER H., VAN DER LEUN J.C. eta BERRENS L. 1984. «Transmission of Human Epidermis and Stratum Corneum as a Function of Thickness in the Ultraviolet and Visible Wavelengths». *Photochemistry and Photobiology*, **40**, 485-494.
- [9] MOURET S., LECCIA M.T., BOURRAIN J.L., DOUKI T. eta BEANI J.C. 2011. «Individual Photosensitivity of Human Skin and UVA-Induced Pyrimidine Dimers in DNA». *Journal of Investigative Dermatology*, **131**, 1539-1546.
- [10] 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.
- [11] KERDIVEL G., LE GUEVEL R., HABAUZIT D., BRION F., AIT-AISSA S. eta PAKDEL F. 2013. «Estrogenic Potency of Benzophenone UV Filters in Breast Cancer Cells: Proliferative and Transcriptional Activity Substantiated by Docking Analysis». *Plos One*, **8**, 1-13.
- [12] GAO L., YUAN T., ZHOU C., CHENG P., BAI Q., AO J., WANG W. eta ZHANG H. 2013. «Effects of Four Commonly Used UV Filters on the Growth, Cell Viability and Oxidative Stress Responses of the *Tetrahymena thermophila*». *Chemosphere*, **93**, 2507-2513.

- [13] SCIENTIFIC COMMITTEE ON CONSUMER PRODUCTS. 2008. «SCCP Opinion on Benzophenone-3». *European Commission*, SCCP/1201/08.
- [14] 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.
- [15] BENEDÉ J.L., CHISVERT A., SALVADOR A., SÁNCHEZ-QUILES D. eta TOVAR-SÁNCHEZ, A. 2014. «Determination of UV Filters in both Soluble and Particulate Fractions of Seawaters by Dispersive Liquid-Liquid Micro-extraction Followed by Gas Chromatography-Mass Spectrometry». *Analytica Chimica Acta*, **812**, 50-58.
- [16] FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. 2001. «Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation». *Drug Information Branch (HFD-210)*.
- [17] ANECA. 2013. «Guía de Apoyo para la Redacción, Puesta en Marcha y Evaluación de los Resultados del Aprendizaje». www.aneca.es.
- [18] BLOOM B.S. 1956. *Taxonomy of Educational Objectives: The Classification of Educational Goals*. David McKay, New York.
- [19] VICARIO CASLA A. eta SMITH ZUBIAGA I. 2010. «My Dog's Cheeks: A PBL Project on Collagen for Cell Biology and Genetics Courses». *Biochemistry and Molecular Biology Education*, **38**, 410-415.
- [20] VICARIO CASLA A. eta SMITH ZUBIAGA I. 2010. «Paternity Testing in a PBL Environment». *Biochemistry and Molecular Biology Education*, **38**, 37-42.

