



IKER  
GAZTE  
NAZIOARTEKO  
IKERKETA EUSKARAZ

## IV. IKERGAZTE NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2021eko ekainaren 9, 10 eta 11a  
Gasteiz, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:  
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)

### ZIENTZIAK ETA NATURA ZIENTZIAK

**Ikusezina ikusgai bihurtzearen  
erronka: analisi bideratutik ez-  
bideratura jauzia bereizmen altuko  
masa espektrometriari esker**

*Mikel Musatadi Larrucea, Maitane  
Olivares Zabalandicoechea,  
Ailette Prieto Sobrino eta  
Olatz Zuloaga Zubieta*

21-27 or.

<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.iv.05.02>



## Ikusezina ikusgai bihurtzearen erronka: analisi bideratutik ez-bideratura jauzia bereizmen altuko masa espektrometriari esker

Musatadi, M.<sup>1,2</sup>, Olivares, M.<sup>1,2</sup>, Prieto, A.<sup>1,2</sup> eta Zuloaga, O.<sup>1,2</sup>

Kimika Analitikoa Saila (UPV/EHU)<sup>1</sup>, Plentziako Itsas Estazioa (PIE-UPV/EHU)<sup>2</sup>  
mikel.musatadi@ehu.eus

### Laburpena

Konposatu organikoek gure eguneroko bizitzan ezinbesteko garrantzia izan arren, horiekiko daukagun esposizioa kezkarria da. Izan ere, eurentariko asko kaltegarriak izan daitezke bai gizakiontzat zein ingurumenarentzat. Kimika analitikoaren ikuspuntutik, beharrezkoa da ahalik eta konposatu gehien detektatzeko metodoen garapena; hots, analisi bideratutik susmagarrien analisisira eta analisi ez-bideratura igarotzea. Erronka horri aurre egin nahian, lan honetan hainbat matrizerako (giza-zein animalia-esnea eta arrain-muskulua) garatutako metodo analitikoak laburbiltzen dira, bereizmen altuko masa espektrometrian (HRMSan) oinarrituta. Susmagarrien analisiari esker, askotan jarraitzen ez diren konposatu organiko anitz identifikatzea posible izan da matrize bakoitzean.

Hitz gakoak: konposatu organiko, esposizioa, susmagarrien analisisa, analisi ez-bideratua, HRMS

### Abstract

*Although organic compounds are extremely important in our daily lives, the level of exposure that we have towards them is concerning, as they may pose a serious threat to humans and environment. From an analytical chemistry point of view, the development of methods for the detection of as many compounds as possible is mandatory. That means that the transition from target analysis to suspect screening or non-target analysis is needed. To overcome this challenge, different methods based on high resolution mass spectrometry (HRMS) to detect organic compounds in several matrices (human and animal origin milk and fish muscle) are described in the present work. The performed suspect analysis enabled identifying a wide variety of non-monitored compounds in each matrix.*

*Keywords: organic compounds, exposure, suspect screening, non-target analysis, HRMS.*

## 1. Sarrera eta motibazioa

Azken urteotan, ustekabeko gaixotasunen eta gaitzen igoerek, ingurumeneko kutsatzaileen aurreko esposizioaren inguruko kezka sortu dute. Ildo horretatik, esposoma kontzeptua garatu da, gizakiok bizitzan zehar kutsatzaile kimikoekiko izan ditzakegun esposizio guztiak jaso eta ulertu nahian (Wild, 2005). Halaber, ikerketek erakutsi dutenez, arlo genetikoak ezin dezake minbizia, diabetesa edota gaixotasun kardiobaskularrak bezalako gaitz konplexuen oinarria osotasunean azaldu, beharrezkoa da esposoma ezagutzea (Cui Yuxia et al., 2016).

Konposatu kimikoekiko esposizioa kezkarria baldin bada ere, substantzia edota espezie kimiko gutxi batzuk bakarrik daude debekatuta, araututa edo jarraipen-zerrendetan presente. Nagusiki, metal astunak eta konposatu organiko klasikoak (bifenilo polikloratuak, hidrokarburo aromatiko poliziklikoak, furanoak edota dioxinak) dira, haien kalteak sakon ikertuak eta ezagunak baitira (Stefanidou et al., 2009). Hala ere, konposatu organikoen espektroa oso zabala da, eta euren erabilera zeharo hedatua dago gaur egun. Izan ere, ezinbestekoak dira gure eguneroko bizitzan, edonon aurki ditzakegularik; hala nola, kosmetikoetan, ultramore iragazkietan, farmakoetan, plagizidetan, plastikoetan, zein itsaspenaren aurkako bezalako produktu industrialetan eta abar (Tousova et al., 2017).

Konposatu horien toxikotasunaren inguruko ezagutza urria den arren, beraiekiko daukagun etengabeko esposizioak eta erregulazio ezak arreta berezia bereganatzea eragin dute. Hori dela eta, kutsatzaile emergente bezala izendatu dira (Čelić et al., 2017), eta mundu mailan garrantzia handikoak diren erakundeek haien jarraipen zerrendetan sartu dituzte, adibidez, Estatu Batuetako Ingurumena Babesteko Agentziak<sup>1</sup> (US EPA, *United States Environmental Protection Agency*), Europako Uraren Zuzentarauak<sup>2</sup> (*European Water Framework Directive*) edota

<sup>1</sup> <https://www.epa.gov/>

<sup>2</sup> [https://ec.europa.eu/environment/water/water-framework/info/intro\\_en.htm](https://ec.europa.eu/environment/water/water-framework/info/intro_en.htm)

NORMAN sarea<sup>3</sup> delakoak. Halaber, konposatu hauen metabolitoek eta eraldaketa-produktuek kezka areagotzea eragin dute. Izan ere, konposatu baten eraldaketa-produktu jakin bat jatorrizko espeziea baino toxikoagoa izan daiteke, kremetan aurkitzea ohikoa den oxibentzonaren kasuan gertatzen bezala, adibidez (Kunisue et al., 2012).

Gizakiok konposatu kimikoak erraz barnera ditzakegu arnasaren, ahoaren edota azalaren bidez (Nickerson, 2006). Gorputzean, hainbat jariakinetan eta ehunetan meta daitezke, molekularen propietate fisiko-kimikoen eta farmako-zinetikoen arabera. Halaber, ohikoa da kutsatzaile horiek metabolizatzea eta, gero, gerneraren bidez kanporatzea (Adenuga et al., 2020). Hala ere, odolera ere igaro daitezke, eta bertatik, gorputz osoan zehar hedatu. Zenbait konposatu organiko bular-esnera hel daitezke, eta hortik kanporatu bularra ematerakoan (Garwolińska et al., 2019). Ondorioz, bular-esnean egon daitezkeen konposatu organikoen jarraipena azken urteetako erronka izan da, ez bakarrik kutsatzaileekiko jaioberrien esposizio-iturri nagusia izategatik, baizik eta bular minbiziaren arrazoi garrantzitsu bat delako ere (Siddique et al., 2016).

Ildo beretik, bestelako esne laginak ere analizatu dira, batez ere, animalia jatorria dutenak. Izan ere, esnekiak gizakion dietaren osagai garrantzitsuenetarikoak dira eta, eskari handi horri erantzuteko, nekazaritzan zein abeltzaintzan erabiltzen den konposatu kimikoen koktela izugarria da (Jadhav et al., 2019). Gainera, azken urteotan legez kanpoko pestizidek eta sendagaiek gora egin dute, nahiz eta hainbat erregulazio-protokolo egon (Beyene, 2015).

Halaber, izaki itsastarrek ere gero eta arreta handiagoa bereganatu dute, gure gizartean oso hedatua baitago haien kontsumoa. Ikusi dugunez, kutsatzaile organikoak ingurumenera erraz hel daitezke aipaturiko erabilera hedatuaren ondorioz, baina, bestelako iturriak ere badaude; adibidez, araztegiak. Azken horien kasuan, ohiko ezabatze-prozesuak ez dira gai konposatu organiko txikiak eliminatzeko (McArdell et al., 2003). Gainera, kutsatzaile horien iraunkortasun erlatiboa dela eta, luzaroan egon daitezke ingurumenean, bertako biota kutsatuz eta kaltetuz (Mijangos et al., 2018). Are gehiago, ikerketek erakutsi dute konposatu organikoak itsaskietan bio-akumulatzeko eta bio-kontzentratzeko joera daukatela (Arnot & Gobas, 2006).

Esposomaren auzi honetan, non milaka konposatu dauden, beharrezkoa da metodo analitikoak garatzea konposatu organiko anitz berean determinatzeko. Horrela, kutsatzaile organikoen, eta, zehazki, kutsatzaile emergenteen inguruko informazioa areagotu daiteke, erregulazio- eta jarraipen-zerrendak osatuz, eta esposomaren inguruko zalantzak argituz.

## 2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Analisi bideratuan, laginean alde aurretik ezagunak diren konposatuak determinatzen dira, euren estandar puruak eskuratu ostean. Hala ere, aipatutako esposomaren inguruko informazioa lortu nahi denean, hots, laginean dauden ahalik eta konposatu gehien analizatu nahi direnean, beharrezkoa da analisi ez-bideratua (Milman & Zhurkovich, 2017). Hala ere, analisi guztiz ez-bideratua errealitatetik urruntzen den hurbilketa da eta, horren ordez, susmagarrien analisisa deritzona egiten da. Kasu horretan, analisi bideratuko ehunka konposatuko zerrendak milaka konposatu susmagarri dituzten zerrendetara handitzen dira. Hala ere, analito zerrenda horren handia denean, ez da ekonomikoki bideragarria konposatu guztien estandarrak eskuratzea, konposatuak identifikatzeko bestelako estrategia bat bilatzea beharrezkoa izanik (Hernández et al., 2012).

Azken urteotan, bereizmen altuko masa espektrometriak (HRMSak) bultzada itzela izan du susmagarrien analisisa aurrera eramateko informazioa eskaintzen duelako (Menger et al., 2021). Izan ere, laginean dauden molekulen egituren inguruko informazio aberatsa lortzen da, batez ere, tandem eran lan eginez (HRMS/MS). Lan moldaketa horretan, konposatu bakoitzaren lehen masa espektroa (MS1, ioi pseudomolekularra eta profil isotopikoa) eta bigarren masa espektroa (MS2, ioi pseudomolekularraren apurketak) bereizmen altuan lortzen dira eta, horri esker, posible da estandarrak erabili gabe susmagarriak identifikatzea (Andra et al., 2017). Horretarako, susmagarrien formula molekularra eta masa zehatza biltzen dituzten zerrendak erabiltzen dira MS1 espektroa konfirmatzeko. MS2 espektroa konfirmatzeko, ordea, datu-baseak edota *in-silico*

<sup>3</sup> <https://www.norman-network.net/>

fragmentazioa erabiltzea ohikoa da. Behin susmagarriak identifikatuta, estandarrak eskuratu daitezke identifikatu diren konposatuen erabateko konfirmazioa egiteko (Gago-Ferrero et al., 2016).

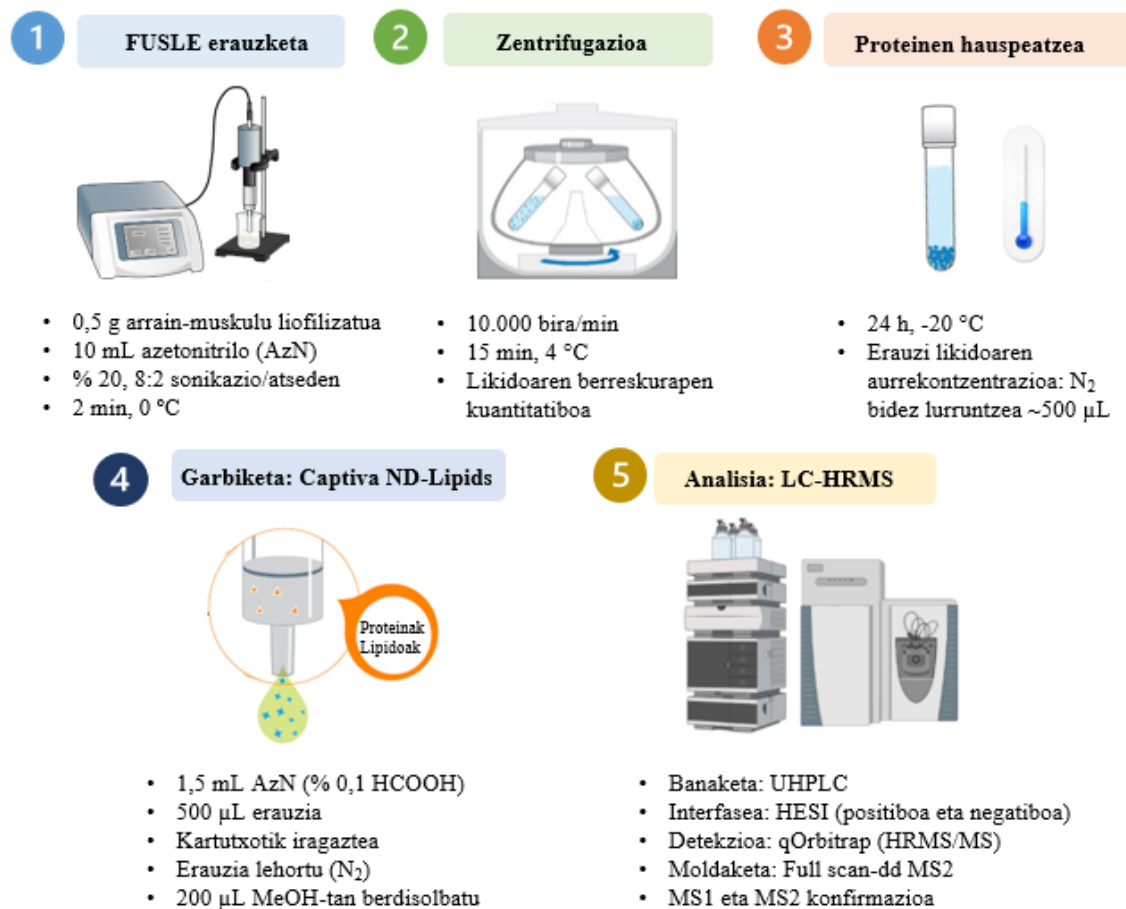
Susmagarrien analisiko prozedura analitikoaren inguruan, beharrezkoa da diskriminazio-maila oso txikia izatea, helburua ahalik eta konposatu gehien detektatzea delako. Hala ere, gomendagarria da garbiketa-urratsak sartzea detekzioan egon daitekeen matrize-efektua minimizatzeko. Analisia dela eta, lehenik konposatuen banaketa egiten da teknika kromatografikoak (likido- zein gas-kromatografia; LC eta GC, hurrenez hurren) erabilia, eta ostean, HRMS bidezko detekzioa (Baduel et al., 2015).

Susmagarrien analisia eta analisi ez-bideratua, gaur egun, kimika analitikoan dauden erronka nagusienetarikoak dira. Horregatik, lan honetan, arrain-muskulan eta esne laginetan (giza- eta animalia-esnea eta esne-hautsa) metatutako konposatu organikoen analisi bideratuz gain, susmagarrien analisiak ere laburbiltzen dira LC-HRMS/MS erabilia. Helburu nagusi hori aurrera eramateko, matrize bakoitzerako metodo analitikoa optimizatu eta berretsi da.

### 3. Ikerketaren muina

#### 3.1. Konposatu organikoen analisi bideratua eta susmagarrien analisia arrain-muskulan LC-HRMS/MS bidez

Konposatu organikoak arrain-muskulan determinatzeko prozedura analitiko optimoa 1. irudian laburbildu da.



#### 1. irudia. Konposatu organikoak arrain-muskulan determinatzeko prozedura analitikoa

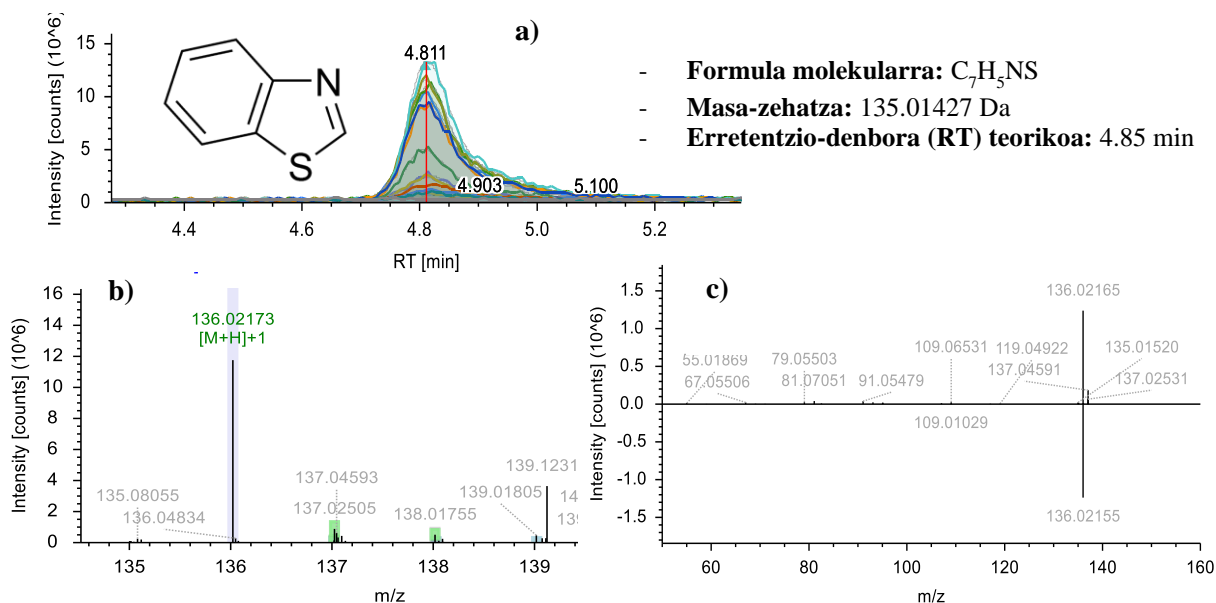
Arrain-xerrak birrindu, homogeneizatu eta liofilizatu ostean, konposatuen erauzketa ultrasoinu fokatu (FUSLE, *focused ultrasound solid-liquid extraction*) bidez egin zen. FUSLEren selektibitate ezaren ondorioz, arrain-muskuluko lipidoak eta proteinak erauzi ziren konposatu organikoekin batera. Horiek baztertzeke, erauzi likidoa zentrifugatu, temperatura

baxuan gorde, eta Captiva ND-Lipids delako iragazki bidezko garbiketa eraman zen aurrera. Azkenik, konposatuen banaketa LC erabilia eta identifikazioa kuadrupolo-Orbitrap (qOrbitrap, Q Exactive Focus, Thermo Fisher Scientific) masa-analizatzaile hibridoaren bidez egin zen *Full scan - data dependent (dd) MS2* moldaketan ionizazio positibo zein negatiboan. Horrela, konposatu bakoitzaren MS1 eta MS2 espektroak bereizmen altuan eskuratu ziren. Lan honen xehetasun gehiagorako, ikus Musatadi et al. (2020) argitalpena. Lan horretan bertan analisi bideratuan erabilitako analitoen zerrenda aurki ere daiteke.

Metodo analitikoak hiru kontzentrazio-mailetan (20, 100 eta 200 ng/g) berretsi zen emaitza egokiak lortuz, eta hainbat arrain mota analizatu ziren kutsatzaile organikoak determinatzeko helburuarekin, hain zuzen ere, lupia (*Dicentrarchus labrax*), urraburua (*Sparus aurata*) legatza (*Merluccius australis*), otarrainxka (*Penaeus sp.*) eta hondoetako korrokoia (*Chelon labrosus*). Analisi bideratuaren bidez erabilera anitzeko 200 kutsatzaile organiko bilatu ziren, eta susmagarrien analisi bidez, ordea, analito zerrenda kutsatzaileak izan daitezkeen 8.000 inguru konposatu susmagarrira hedatu zen.

Emaitzak direla eta, analisi bideratuaren bidez zenbait konposatu kuantifikatzea lortu zen laginetan. Horretarako, 200 kutsatzaileen estandar puruak analizatu eta MS1 eta MS2 bidezko konfirmazioa egin zen. Kuantifikatu ziren konposatuen artean, 2-hidroxibentzotiazola (polimeroen prestaketarako eta bakterio kultiboetako osagaia), bentzotiazola (katalizatzailea gomen fabrikazioan, korrosio inhibitzailea eta biozida), albendazola (botika antihelmintikoa) edota azido perfluorooktanosulfonikoa (PFOS, itsaspenaren aurkako kimikoa) aipa daitezke.

Susmagarrien analisi bidez, ordea, analisi bideratuko zerrendan ez zeuden beste hainbat konposatu identifikatzea lortu zen. Horretarako, MS1etik susmagarrien formula molekularra atera ostean, MS2 esperimentalak *mzCloud* (Thermo Fisher) liburutegian biltzen diren teorikoekin erkatu ziren. Konposatu baten identifikazioa ontzat emateko, masa zehatz esperimentalaren eta teorikoaren arteko diferentzia 5 ppm baino txikiagoa izan behar da, eta MS2 espektro esperimentalak eta *mzCloud* liburutegikoak % 70ean bat egin behar dute. Erretentzio-denborari dagokionez, esperimentala *Retention Time Indices*<sup>4</sup> plataformaren bidez simulatutakoaren konfiantza-tartean egon behar du estandar purua ez dugunean, eta  $\pm 0.1$  minutuko tartean estandar purua dugunean. Identifikatutako konposatu aipagarrien artean, kaprolaktama (nylonaren sintesian erabilia), ftalatoak (plastikoen osagaiak), alkilfenolak (herbizidak edota plastikoen osagaiak), 2-naftilaminaren deribatuak (koloratzaileen sintesian erabiliak zein kautxuaren gehigarri antioxidatzaileak) edota pisu desberdineko polietilen glikolak (erabilera anitz industrian) daude. Adibide gisa, bentzotiazolaren emaitzak 2. irudian erakusten dira.



**2. irudia. Bentzotiazolaren LC-HRMS/MS emaitzak: a) egitura, seinale kromatografikoa eta informazio fisiko-kimikoa, b) MS1 espektroa eta c) MS2 espektro esperimentala (goian) eta teorikoa (behean).**

<sup>4</sup> <http://rti.chem.uoa.gr/>

### 3.2. Konposatu organikoen analisi bideratua eta susmagarrien analisisa esnetan LC-HRMS/MS bidez

Analisisa egiteko baldintza optimoen arabera, -20 °C-an gordetako esne-laginak giro tenperaturara eraman ostean, 1 mL esneri 3 mL azetonitrilo gehitu zitzaizkion erauzketa burutzeko. Erauzketaren eraginkortasuna hobetzeko, sodio sulfato anhidroaren 0,5 g eta sodio kloruroaren 0,1 g gehitu ziren, eta nahastea minutu batez irabiatu zen potentzia maximoan zurrumbilo nahasgailuaren laguntzaz. Prozeduraren jarraipena, 1. irudiko 2, 3, eta 4 urratsen baliokidea da, hain zuzen, erauzia zentrifugatu, hotsean gorde eta garbiketa gehigarria Captiva ND-Lipids bidez egin zen matrize-efektua minimizatzeko. Azkenik, analisisak ere 1. irudiko 5. urratsean laburbildutako baldintzetan egin ziren LC-HRMS/MS bitartez. Lan honen zehaztasun guztiak ere Musatadi et al. (2021) artikuluan aurki daitezke.

Metodo analitiko optimoa bi kontzentrazio-mailatan (10 eta 40 ng/g) berretsi zen ingurumeneko ohiko kutsatzaileak diren 245 konposaturako analisi bideratua eginez. Horretarako, lehenik konposatu horien estandar puruak analizatu ziren. Analisi bideratuko metodoa susmagarrien analisisira ere hedatu zen 17.800 inguruko zerrenda bat erabiliz, eta hainbat esne-lagin analizatu ziren konposatu organikoak detektatzeko helburuarekin. Aztertutako laginak direla eta, esne komertzialak (behi esne tratatua, tratatu gabea eta esne-hautsa) eta giza-esneak (borondatezko 4 emaile osasuntsu) erabili ziren. Giza-laginen manipulazioa Euskal Herriko Unibertsitateko etika batzordeko (HIEB-UPV/EHU, 2014/2/17ko 32. EHAA) protokoloak jarraituz egin zen, oniritzia jaso ostean (M10\_2020\_230 proiektua).

Analisi bideratuaren bidez, paracetamola (hanturaren kontrako sendagaia) eta ftalato bat determinatu ziren behi esnean. Esne hautsean ordea, bentzotiazola, kafeina (estimulatzailea), genisteina, genistina eta glizitina (fitoestrogenoak) eta 2-etilhexil-4,4-dimetilaminobentzoatoa (ultramore iragazkia) detektatu ziren. Ama-esneetan determinatutako konposatuak, ordea, bentzofenona (ultramore iragazkia), bentzotiazola, kafeina, kaprolaktama, ftalatoak, 2-etilhexil-4,4-dimetilaminobentzoatoa, orlistat (pisua galtzeko sendagaia) eta trietil fosfatoa (katalizatzaile industriala) izan ziren.

Susmagarrien analisiari esker, aurretiaz aipatutako konposatuez gain beste hainbat konposatu identifikatzea posible izan zen. Esne komertzialetan ohikoa izan zen 4-indolkarbaldehidoa (landare metabolitoa), bis(2-etilhexil) amina (surfaktantea), isokinolina (alkaloidea) edo sakarina (gozagarri artifiziala) aurkitzea. Giza-esne laginetan ordea, azido 2-(8-hidroxi-4a,8-dimetildekahidro-2-naftalenil) akrilikoa (terpenoa), 2,5-di-tert-butilhidrokinona (kimiko industriala), 4-indolkarbaldehidoa, butil metoxidibentzoilmetanoa (ultramore iragazkia), piperina (alkaloidea), sakarina edota metoxibentzenoa (landare osagaia) identifikatu ziren.

### 4. Ondorioak

Kontuan izanda gure eguneroko bizitzan erabiltzen dugun produktu kimikoen kantitatea izugarria dela, bai ingurumenean zein gure gorputzean metatuta aurki daitezkeen konposatuen zerrenda amaigabea da. Hortaz, lagin konkretu batean egon daitezkeen konposatu kimikoak determinatzeko, analisi bideratu klasikotik susmagarrien analisisira eta analisi ez-bideratura jauzia ematea beharrezkoa dela ikusi da. Horretarako, laborategian aurrera eraman beharreko prozedura analitikoak ahalik eta diskriminazio txikienekoak izan behar dira, konposatu guztiak detektatu nahi direlako. Analisi urratsari dagokionez, HRMS ezinbesteko erreminta dela ikusi da lagineko konposatuen zerrenda oso luzea (susmagarrien analisisa) denean eta guztien estandarrak aldeztu aurretik eskuratzea bideragarria ez denean. Halaber, arrain-muskulan eta esne-lagin desberdinetan detektatutako konposatuak behatuz, kutsatzaile klasikoetan baino, kutsatzaile emergenteetan sakondu behar dela ondorioztatu da, lehen multzokoak zorrozki erregulatuta edota debekatuta daudelako, baina emergenteak ordea, ez.

## 5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Lan honetatik abiatuta etorkizunerako planteatzen den erronka nagusia susmagarrien analisia eta analisi ez-bideratua sakonki ikertzea da HRMS erabilita. Batez ere, helburu garrantzitsua analisi mota hauen gaur egungo lan-fluxu luze eta neketsuak sinplifikatzea da. Monitorizatu nahi diren laginen artean, interesgarriak dira giza-gernua eta odola. Alde batetik, gernua da gizakiok konposatu kimikoak kanporatzeko daukagun bide nagusia. Bestetik, odola da gure gorputzeko jariakin garrantzitsuena, konposatu kimikoak gorputz osoan zehar barreiatzeko gai izanik. Horregatik, gernuan zein odolean dauden konposatu kimikoak identifikatuz, esposomaren auziko inguruko galderen erantzunak bila daitezke, horien artean aipagarriena genetikoki azaltzea posible ez diren gaixotasunen arrazoia izanik.

## 6. Erreferentziak

- Adenuga, A. A., Ayinuola, O., Adejuyigbe, E. A., & Ogunfowokan, A. O. (2020). Biomonitoring of phthalate esters in breast-milk and urine samples as biomarkers for neonates' exposure, using modified quechers method with agricultural biochar as dispersive solid-phase extraction absorbent. *Microchemical Journal*, *152*, 104277. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104277>
- Andra, S. S., Austin, C., Patel, D., Dolios, G., Awawda, M., & Arora, M. (2017). Trends in the application of high-resolution mass spectrometry for human biomonitoring: An analytical primer to studying the environmental chemical space of the human exposome. *Environment International*, *100*, 32-61. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.11.026>
- Arnot, J. A., & Gobas, F. A. (2006). A review of bioconcentration factor (BCF) and bioaccumulation factor (BAF) assessments for organic chemicals in aquatic organisms. *Environmental Reviews*, *14*(4), 257-297. <https://doi.org/10.1139/a06-005>
- Baduel, C., Mueller, J. F., Tsai, H., & Gomez Ramos, M. J. (2015). Development of sample extraction and clean-up strategies for target and non-target analysis of environmental contaminants in biological matrices. *Journal of Chromatography A*, *1426*, 33-47. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.11.040>
- Beyene, T. (2015). Veterinary Drug Residues in Food-animal Products: Its Risk Factors and Potential Effects on Public Health. *Journal of Veterinary Science & Technology*, *07*(01). <https://doi.org/10.4172/2157-7579.1000285>
- Čelić, M., Farré, M., Lopez de Alda, M., Perez, S., Barceló, D., & Petrović, M. (2017). Chapter 15 - Environmental analysis: Emerging pollutants. En S. Fanali, P. R. Haddad, C. F. Poole, & M.-L. Riekkola (Eds.), *Liquid Chromatography (Second Edition)* (pp. 451-477). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805392-8.00015-3>
- Cui Yuxia, Balshaw David M., Kwok Richard K., Thompson Claudia L., Collman Gwen W., & Birnbaum Linda S. (2016). The Exposome: Embracing the Complexity for Discovery in Environmental Health. *Environmental Health Perspectives*, *124*(8), A137-A140. <https://doi.org/10.1289/EHP412>
- Gago-Ferrero, P., Schymanski, E. L., Hollender, J., & Thomaidis, N. S. (2016). Chapter 13—Nontarget Analysis of Environmental Samples Based on Liquid Chromatography Coupled to High Resolution Mass Spectrometry (LC-HRMS). En S. Pérez, P. Eichhorn, & D. Barceló (Eds.), *Comprehensive Analytical Chemistry* (Vol. 71, pp. 381-403). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.coac.2016.01.012>
- Garwolińska, D., Namieśnik, J., Kot-Wasik, A., & Hewelt-Belka, W. (2019). State of the art in sample preparation for human breast milk metabolomics—Merits and limitations. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *114*, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.02.014>
- Hernández, F., Sancho, J. V., Ibáñez, M., Abad, E., Portolés, T., & Mattioli, L. (2012). Current use of high-resolution mass spectrometry in the environmental sciences. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, *403*(5), 1251-1264. <https://doi.org/10.1007/s00216-012-5844-7>
- Jadhav, M. R., Pudale, A., Raut, P., Utture, S., Ahammed Shabeer, T. P., & Banerjee, K. (2019). A unified approach for high-throughput quantitative analysis of the residues of multi-class veterinary drugs and pesticides in bovine milk using LC-MS/MS and GC-MS/MS. *Food Chemistry*, *272*, 292-305. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.033>
- Kunisue, T., Chen, Z., Buck Louis, G. M., Sundaram, R., Hediger, M. L., Sun, L., & Kannan, K. (2012). Urinary Concentrations of Benzophenone-type UV Filters in U.S. Women and Their Association with Endometriosis. *Environmental Science & Technology*, *46*(8), 4624-4632. <https://doi.org/10.1021/es204415a>

- McArdell, C. S., Molnar, E., Suter, M. J.-F., & Giger, W. (2003). Occurrence and Fate of Macrolide Antibiotics in Wastewater Treatment Plants and in the Glatt Valley Watershed, Switzerland. *Environmental Science & Technology*, 37(24), 5479-5486. <https://doi.org/10.1021/es034368i>
- Menger, F., Ahrens, L., Wiberg, K., & Gago-Ferrero, P. (2021). Suspect screening based on market data of polar halogenated micropollutants in river water affected by wastewater. *Journal of Hazardous Materials*, 401, 123377. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123377>
- Mijangos, L., Ziarrusta, H., Ros, O., Kortazar, L., Fernández, L. A., Olivares, M., Zuloaga, O., Prieto, A., & Etxebarria, N. (2018). Occurrence of emerging pollutants in estuaries of the Basque Country: Analysis of sources and distribution, and assessment of the environmental risk. *Water Research*, 147, 152-163. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.09.033>
- Milman, B. L., & Zhurkovich, I. K. (2017). The chemical space for non-target analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 97, 179-187. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.09.013>
- Musatadi, M., González-Gaya, B., Irazola, M., Prieto, A., Etxebarria, N., Olivares, M., & Zuloaga, O. (2020). Focused ultrasound-based extraction for target analysis and suspect screening of organic xenobiotics in fish muscle. *Science of The Total Environment*, 740, 139894. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139894>
- Musatadi, Mikel, González-Gaya, B., Irazola, M., Prieto, A., Etxebarria, N., Olivares, M., & Zuloaga, O. (2021). Multi-Target Analysis and Suspect Screening of Xenobiotics in Milk by UHPLC-HRMS/MS. *Separations*, 8(2), 14. <https://doi.org/10.3390/separations8020014>
- Nickerson, K. (2006). Environmental Contaminants in Breast Milk. *Journal of Midwifery & Women's Health*, 51(1), 26-34. <https://doi.org/10.1016/j.jmwh.2005.09.006>
- Siddique, S., Kubwabo, C., & Harris, S. A. (2016). A review of the role of emerging environmental contaminants in the development of breast cancer in women. *Emerging Contaminants*, 2(4), 204-219. <https://doi.org/10.1016/j.emcon.2016.12.003>
- Stefanidou, M., Maravelias, C., & Spiliopoulou, C. (2009). Human Exposure to Endocrine Disruptors and Breast Milk. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets*, 9(3), 269-276. <https://doi.org/10.2174/187153009789044374>
- Tousova, Z., Oswald, P., Slobodnik, J., Blaha, L., Muz, M., Hu, M., Brack, W., Krauss, M., Di Paolo, C., Tarcai, Z., Seiler, T.-B., Hollert, H., Koprivica, S., Ahel, M., Schollée, J. E., Hollender, J., Suter, M. J.-F., Hidasi, A. O., Schirmer, K., ... Schulze, T. (2017). European demonstration program on the effect-based and chemical identification and monitoring of organic pollutants in European surface waters. *Science of The Total Environment*, 601-602, 1849-1868. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.032>
- Wild, C. P. (2005). Complementing the Genome with an "Exposome": The Outstanding Challenge of Environmental Exposure Measurement in Molecular Epidemiology. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 14(8), 1847-1850. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-05-0456>

## 7. Eskerrak eta oharrak

- Lan hau ondorengo aldizkari artikuluetatik eratorria da: "Musatadi, M., González-Gaya, B., Irazola, M., Prieto, A., Etxebarria, N., Olivares, M., & Zuloaga, O. (2020). Focused ultrasound-based extraction for target analysis and suspect screening of organic xenobiotics in fish muscle. *Science of The Total Environment*, 740, 139894" eta "Musatadi, M., González-Gaya, B., Irazola, M., Prieto, A., Etxebarria, N., Olivares, M., & Zuloaga, O. (2021). Multi-Target Analysis and Suspect Screening of Xenobiotics in Milk by UHPLC-HRMS/MS. *Separations*, 8(2), 14".
- Lan hau aurrera eramateko ezinbestekoa izan da Estatuko Ikerkuntza Agentziaren eta Eskualde Garapenerako Europako Funtsaren finantzazioa CTM2017-84763-C3-1-R eta CTM2017-90890-REDT proiektuen bitartez (Ekonomia, Industria eta Lehiakortasun Ministerioa), baita Eusko Jaurlaritzaren Hezkuntza Saileko Unibertsitate eta Ikerketa Sailordetzaren finantzazioa ikerketa talde kontsolidatu gisa (IT1213-19).
- Pertsonalki eskertzea gustatuko litzaidake Eusko Jaurlaritzaren Hezkuntza Saileko Ikasiker-lankidetzak beka (A eredu, 2018/2019) eta doktoreak ez diren ikertzaileak prestatzeko Doktoratu Aurreko Programako laguntza (Ikerketa Orokorra, 2020/2021) jaso izana.