



IKER
GAZTE
NAZIOARTEKO
IKERKETA EUSKARAZ

V. IKERGAZTE

NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2023ko maiatzaren 17, 18 eta 19a
Donostia, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)



Aitortu-PartekatuBerdin 3.0

ZIENTZIAK ETA NATURA ZIENTZIAK

**Nola ezagutu dezakegu gure
esposoma?**

*Mikel Musatadi Larrucea,
Claudia Caballero,
Asier Andrés Maguregi,
Paula Bustamante,
Eider Gerekaetxebarria,
Jon Zumalabe,
Maitane Olivares Zabalandikoetxea
eta Olatz Zuloaga Zubieta*

285-291 or.

<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.v.05.36>

ANTOLATZAILEA:



BABESLEAK:



LAGUNTZAILEAK:



Nola ezagutu dezakegu gure esposoma?

Mikel Musatadi^{1,2}, Claudia Caballero¹, Asier Andrés-Maguregi¹, Paula Bustamante¹,
Eider Gerekaetxebarria¹, Jon Zumalabe¹, Maitane Olivares^{1,2}, Olatz Zuloaga^{1,2}
Kimika Analitikoa Saila (UPV/EHU)¹, Plentziako Itsas Estazioa (PIE-EHU/UPV)²
mikel.musatadi@ehu.eus

Laburpena

Esposoma gizakiok bizitza osoan zehar jasaten ditugun esposizio guztiek osatzen dute. Horien artean, konposatu kimikoekiko esposizioa nabarmendu daiteke. Substantzia kimikoak gure egunerokoan nonahi daude eta etengabeko erabileraren ondorioz, gorputz barrura barnera ditzakegu. Gorputzean ematen diren erreakzio metabolikoen ondorioz, konposatuak eraldatu eta gernutik kanporatu ohi dira. Hori dela eta, gernua esposoma aztertzeko jariakin interesgarria da. Lan honetan, konposatu kimikoen bi familia (disruptore endokrinoak eta konposatu mugikor eta iraunkorrak) eta hauen metabolitoak gernuan analizatzeko metodo analitikoak deskribatzen dira likido kromatografia-masa espektrometria erabilita.

Hitz gakoak: esposoma, konposatu kimikoak, gernua, prozedura analitikoak, likido kromatografia, masa espektrometria

Abstract

The exposome is the collection of all exposures we suffer throughout our lifespan. Precisely, the exposure to chemicals can be highlighted. Chemicals are present everywhere in our daily lives, and due to their constant use, they can be introduced to our bodies. Within our bodies, chemicals are metabolized and excreted through urine. Consequently, urine is a very interesting biological fluid for understanding the exposome. In this work, analytical methods for analyzing two chemical families (endocrine disruptors and persistent and mobile compounds) are described by means of liquid chromatography-mass spectrometry.

Keywords: exposome, chemicals, urine, analytical methods, liquid chromatography, mass spectrometry

1. Sarrera eta motibazioa

Gaixotasunen etiologia ezagutu nahian, erabat beharrezkoa da gizakion genetika ezagutzeaz gain, gure ingurumena tentuz aztertzea. Izatez, ingurugiroak gaixotasun kronikoen hiru laurden batekin zerikusia duela erakutsi dute ikerketek (Viet et al., 2021). Testuinguru horretan, esposomaren paradigma plazaratu zuen Wild ikertzaileak 2005ean eta, gaur egun, banako batek bizitza osoan zehar jasaten dituen esposizioen bilduma bezala defini daiteke (Jamnik et al., 2022). Beraz, gizakion esposoma karakterizatu ahal izateko, ikerketa holistikoek ingurugiro- eta barne-faktoreak, eta hauei dagozkien erantzun biologikoak ikertu behar dituzte. Hala ere, ekimen horrek azertu behar dituen ingurugiro-faktoreak anitzak dira, kanpo-inguruko esposizio orokorraz gain (klima, erradiazioa, giro urbanoa eta abar), pertsona bakoitzaren bizimoduarekin lotuta dauden esposizioak ere kontuan hartu behar direlako; hala nola, ohiturak, dieta, etxebizitza pertsonala edota estresa (Andra et al., 2017; Jobst & Godri Pollitt, 2020).

Esposizio eta faktore gehienek atzean, konposatu kimikoak ezkututzen dira. Gizakiok iraultza industrialetik aurrera sintetizatu ditugun substantzia kimikoak asko diren arren, erregistratuta dauden 120 milioi substantzia kimikoen artean, % 0,1 baino gutxiago daude toxiko bezala identifikatuta (Andra et al., 2017). Gainera, Europar Batasunak ingurumenaren eta gizakion ongizatea bermatzeko hainbat konposatu kimiko debekatu edo arautu dituen arren, egungo legedia lausoa dela esan daiteke. Izan ere, ez ditu konposatu kimikoen familia guztiak, ezta horien eraldaketa-produktuak, edota isuri-iturri alternatiboak kontuan hartzen (Caballero-Casero et al., 2021). Ondorioz, 30000 substantzia kimiko ezagun baino gehiago ohikoak dira gure eguneroko bizitzan. Adibidez, konposatu kimiko organikoak dira nagusi plastikoetan, zaintza pertsonalerako produktuetan, farmakoetan, itsaspenaren aurkako agenteetan, biozidetan, erreketak-produktuetan, zein suaren atzeratzaileetan (Andra et al., 2017).

Konposatu organiko anitz horiekin uneoro kontaktua izanik, gure gorputzera sar daitezke aho-bidetik, arnastuta, zein azaletik xurgatuta (Calafat et al., 2010). Terminologiaren ikuspuntutik, gorputzean naturalki aurkitzen ez diren eta kanpotik barneratu diren substantziei xenobiotiko deritze (“xeno” kanpotar, “bio” bizitza). Gorputz barruan, xenobiotikoek ibilbide desberdinak jarrai ditzakete bakoitzaren ezaugarri fisiko-kimikoen arabera. Oro har, behin barneratuta odolaren bidez barreiatzen dira. Xenobiotiko ez-polarren joera, gorputzeko matrize lipidikoagoetan metatzea da eta, hortaz, odolean bertan, bular-esnean, zein gantzetan aurki daitezke. Xenobiotiko polarren kasuan, ordea, urarekiko daukaten afinitatearen ondorioz, gernura heldu eta bertatik kanporatu ohi dira (Asimakopoulos et al., 2016; Hallberg et al., 2021; Nickerson, 2006).

Hala ere, giza gorputzak estrategia desberdinak dauzka gorputzean metatu diren xenobiotikoak kanporatzeko, zehazki, gibelean ematen diren lehen eta bigarren faseko erreakzio metabolitoak direlakoak. Lehen faseko erreakzio nagusiak, jatorrizko konposatuaren oxidazioa, erredukzioa eta hidrolisia dira. Horien ondorioz, xenobiotikoa polarragoa den metabolito batera eraldatzen da. Bigarren faseko erreakzioan, ordea, konjugazio-erreakzio bat gertatzen da, hots, jatorrizko xenobiotikoari edo lehen faseko metabolitoari oso polarra den talde bat gehitzen zaio, nagusiki, glukuronidoa, baina baita sulfato edo glizina taldeak ere. Ondorioz, uretan disolbagarria den metabolitoa lortzen da gernuaren bitartez kanporatzeko helburuarekin. Esandako guztiagatik, gernua esposoma aztertzeke jariatzen interesgarria da (Lu & Xue, 2019).

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Esposomaren deskodetzearen erronkan, kimika analitikoaren zeregin nagusia giza jariatzen xenobiotikoak eta horien metabolitoak analizatzeko metodo sendoak garatzea da. Izan ere, gizakiok jasaten ditugun esposizioak hobeto ezagututa, egun martxan dauden biomonitorizazio-programak indartu daitezke eta, ildo horretatik, konposatu kimikoak arautu eta erregulatzen dituzten legeak eta politikak definitu.

Konposatu xenobiotikoen artean, disruptore endokrinoak direlakoak (EDC-ak, ingeleseko *Endocrine Disrupting Compounds*) arreta berezia bereganatu dute izaki bizidunen sistema endokrinoan daukaten eragina dela eta. EDC-ak, hormonon produkzioan, askapenean, garraioan, metabolismoan edota ekintza biologikoan eragina izan dezaketen konposatu kimikoak dira. Adibidez, garapen neuronalean eragin dezakete edota ugalkortasuna murriztu. Talde heterogeneo honen barruan aurki daitezke plastikoaren industrian eta zaintza pertsonaletarako produktuetan oso erabiliak diren parabenoak, ftalatoak, bisfenolak, edota bentzofenonak (Kahn et al., 2020).

Hala ere, egun abian dauden biomonitorizazio-programetan jarraitzen diren xenobiotiko organiko gehienak ez-polarrak edo erdi-polarrak izan ohi dira. Konposatu oso polarrak eta ionikoak, ordea, alde batera uzten dira euren analisiak suposatzen duen zailtasuna dela eta. Konposatu polarrak eta ionikoak ere kontuan hartu beharko liriteke esposomaren azterketa osoa egin ahal izateko, batez ere, matrize urtsuetan. Izan ere, alde aurretik aipatutako metabolito polarrez gain, bestelako ingurumeneko kutsatzaile polar eta ionikoen menpe ere egon gaitezke ikerketa desberdinek erakutsi dutenaren arabera (Reemtsma et al., 2016; Schulze et al., 2019). Konposatu polarrak eta ionikoak uretan oso disolbagarriak izanik, erraz barreiatzen dira ingurumeneko uretan zehar. Horietako batzuk, gainera, iraunkorrak dira eta, hortaz, ez dira ezabatzen ohiko araztegiko eliminazio-prozesuetan. Ondorioz, edateko uretara hel daitezke eta gizakion ongizatea arriskuan jarri nolabaiteko toxikotasuna badute. Konposatu multzo hori konposatu iraunkor eta mugikor bezala (PMOCs, ingeleseko *Persistent and Mobile Organic Compounds*) ezagutzen da gaur egun komunitate zientifikoan (Montes et al., 2019).

PMOCs konposatuaren analisisian dagoen erronka nagusia euren polaritatearekin lortuta dator. Izan ere, ez dira ondo banatzen ohiko alderantzizko faseko likido-kromatografiaren bidez eta, hortaz, euren aldibereko analisisa zaila da. Hori konpontzeko, estrategia bat modu mistoko kromatografia erabiltzea da. Hurbilketa horretan, pH-a funtsezko faktore bilakatzen da zutabe kromatografikoak eta analitoek kontrako karga izan dezaten eta, ondorioz, elkarrekintza ioniko bidez zutabera atxiki daitezken. Ildo beretik, PMOCs konposatuak oso polarrak izanik, nekez

erauzi daitezke gernutik. Beraz, azken urteotako joera gernu-laginen diluzioa eta neurketa zuzena egitea izan da (DS, ingeleseko *Dilute and Shoot*). Prozedura horrekin, nahiz eta diluzioaren eta garbiketa ezak suposa dezakeen matrize-efektuaren ondorioz kontzentrazio baxuetako xenobiotikoak ez detektatzea gerta daitekeen, ez dago PMOCs-en galerarik prozedura analitikoan (Hale et al., 2022).

Analisi kimikoan, hurbilketa desberdinak daude helburuaren arabera. Aztertu nahi den konposatuaren zerrenda ezaguna eta mugatua denean, analisi bideratu bidezko metodoak erabiltzen dira. Metodo horietan, giza jariakin eta intereseko konposatuaren (analitoen) ezaugarriak kontuan izanda, laginaren tratamendu sakonak egin ohi dira analitoak matritzetik isolatzeko. Horrela, tratamendu osteko analisisian egon daitezkeen interferentziak minimizatzen dira. Analisi horri dagokionez, konposatu organikoetarako detektagailu bati akoplatutako banaketa teknika kromatografikoak dira erabilienak. Detektagailuen inguruan, bereizmen baxuko masa-espektrometria (MS) da erabiliena eskaintzen dituen abantailak direla eta, hala nola, analitoen kuantifikaziorako beharrezkoak diren sentikortasun eta selektibitate altuak (Pourchet et al., 2020).

Hala ere, esposomikako testuinguruan, konposatuaren zerrenda oso luzea eta, askotan, ezezaguna izan daiteke, batez ere, aurretiaz aipatutako metabolitoak kontuan hartzen badira. Hortaz, analisi ez-bideratuko hurbilketak egokiagoak dira esposoma ezagutu nahi baldin bada. Kasu horietan, laginaren tratamendu xumea hobesten da, ezaugarri fisiko-kimiko desberdinak dituzten xenobiotikoak galdu ez daitezen. Analisisian, ordea, guztiz beharrezkoa da bereizmen altuko masa-espektrometria (HRMS) ezagunak ez diren substantziak identifikatu ahal izateko. Testuinguru honetan, ikerketa honen helburua natura eta erabilera askotariko xenobiotikoak eta horien metabolitoak gernuan analizatzeko metodo bideratuaren eta ez-bideratuaren garapena da.

3. Ikerketaren muina

Lan honen muina hiru atal nagusitan banatzen da; hala nola, (1) disruptore endokrinoen analisi bideratua eta ez-bideratua, (2) konposatu mugikor eta iraunkorren determinazioa, eta (3) bigarren faseko metabolitoen jarraipena.

3.1 Disruptore endokrinoen analisi bideratua eta ez-bideratua gernuan

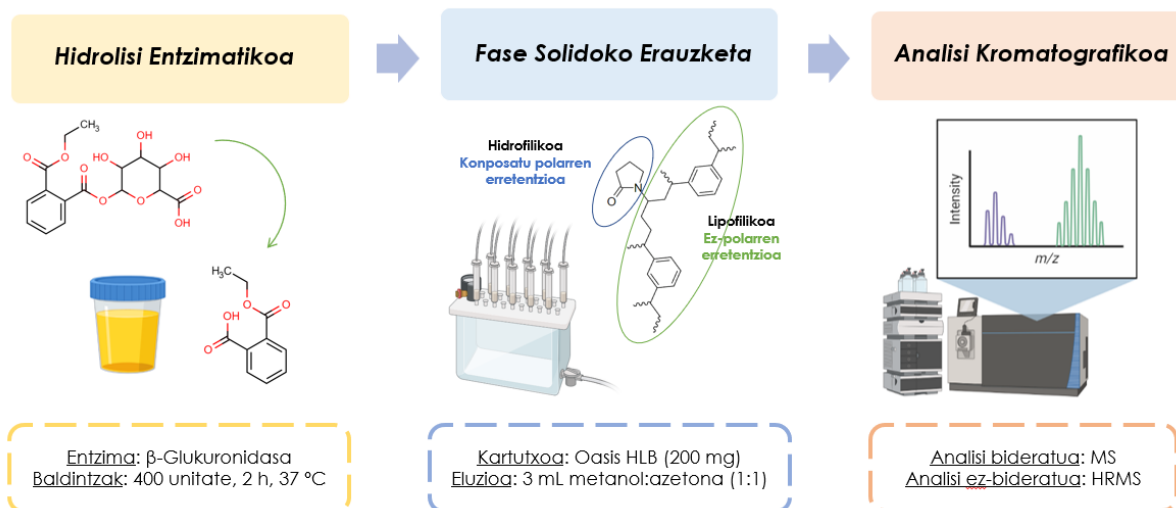
Familia desberdinetako 24 EDC (parabenoak, bentzofenonak, ftalatoak, bisfenolak eta bakterizidak) gernuan determinatzeko, 1. irudian laburbiltzen den prozedura analitikoa garatu dugu (Musatadi et al., 2022). Laburki, gernu laginen hidrolisi entzimatikoa egiten da β -glukuronidasa entzima erabilita. Horrela, bigarren faseko glukuronidoen apurketa ematen da jatorrizko xenobiotikoa kuantifikatzeko helburuarekin. Izan ere, kuantifikaziorako estandarrak beharrezkoak dira eta glukuronidoen estandar gutxi batzuk bakarrik daude salgai. Behin hidrolisia bukatuta, gernuko interferentziak baztertzeko (nagusiki ioiak eta gatzak) fase solidoko erauzketa (SPE, ingeleseko *Solid Phase Extraction*) garbiketa-teknika erabili da Oasis HLB kartutxo polimerikoak erabilita. Azkenik, laginen analisi bideratua eta ez-bideratua alderantzizko faseko likido-kromatografiari lotutako bereizmen baxuko eta altuko masa-espektrometriaren bidez aurrera eraman da (LC-MS eta LC-HRMS), hurrenez hurren.

Garatutako metodoa, lau bolondresen gernu laginetan aplikatu dugu, alde batetik, analisi bideratuaren bitartez 24 EDCen kontzentrazioak determinatzeko, eta bestetik, analisi ez-bideratuaz baliatuta bestelako xenobiotikoak bilatzeko. Analisi bideratuari dagokionez, 24 EDCtik 16 kuantifikatu ditugu, kontzentrazio altuetan ondorengo konposatuak aurkitu ditugularik: ultramore iragazkietan dagoen bentzofenona-3 (0,2–13 ng/mL), plastikoen industrian erabiltzen diren A bisfenola (7,7–13,7 ng/mL) eta mono butil ftalatoa (2–17 ng/mL), metil 3,5-dihidroxibentzoato (8–254 ng/mL) parabenoa, eta triklosan bakterizida (0,3–9 ng/mL). Aipagarria da, konposatu hauek produktu kosmetikoak egunero erabiltzen dituen bolondresean determinatu direla kontzentrazio handiengan.

Analisi ez-bideratuan, bi hurbilketa jarraitu ditugu; alde batetik, esposomarekin zerikusia duten 3000 xenobiotikoren zerrenda erabilita eta, bestetik, bilaketa mugatzea kloro, bromo edo sulfre

atomoak dituzten konposatueta. Lehen hurbilketaren bitartez, 33 xenobiotiko gehigarri bilatu ditugu, elikagaiekin eta gure elikadurarekin zerikusia dutenak (gozagarri artifizialak eta kafeina bezalako estimulatzaileak) batez ere, baina baita bizimoduarekin elkarlotzen direnak ere. Adibide gisa, nikotinaren metabolitoa den kotinina, edota parasetamol farmakoa. Bigarren estrategia erabilita, 4 xenobiotiko gehigarri detektatu ditugu, bestek beste, hotzeriaren sintomen aurkako farmakoak.

1. irudia. EDC-ak gernuan determinatzeko prozedura analitikoaren laburpena.



3.2 Konposatu iraunkor eta mugikorren determinazioa gernuan

Propietate kimiko desberdinetako eta familia askotariko 33 PMOCs gernuan determinatzeko, 5 gernu errealeen nahastea azetonitriloarekin diluitu eta modu mistoko likido-kromatografiari lotutako bereizmen baxuko masa-espektrometriaren bidez analizatu dugu (MMLC-MS). Kuantifikatuko konposatuen artean, kontzentrazio altuenetan (200 ng/mL gernuan), akrilamida, aspartamoa eta azido 6-kloropiridin-3-karboxilikoa determinatu ditugu. Akrilamida, polimeroen sintesian erabiltzeaz gain, karbohidratoetan aberatsak diren jakiak berotzean sortzen den albo-produktu bat da ere. Gainera, tabakoaren kean ere aurki daitezkeen substantzia da. Aspartamoa, elikagai askotan dagoen gozagarri artifiziala da, eta azido 6-kloropiridin-3-karboxilikoa, ordea, pestizida neonikotenoideen metabolitoa.

Kontzentrazio baxuagoetan determinatu ditugun PMOCs-en artean, amonio glufosinato herbizida eta S bisfenola aipa daitezke. Geroz eta ohikoagoa da giza laginetan S bisfenola neurtzea merkaturan debekatutako A bisfenolaren alternatiba gisa erabiltzen delako (*All News - ECHA*). Horrelako konposatu polarrak giza laginetan aurkitu izanak konposatu kimikoen erregulazioan lagundu beharko luke etorkizunean.

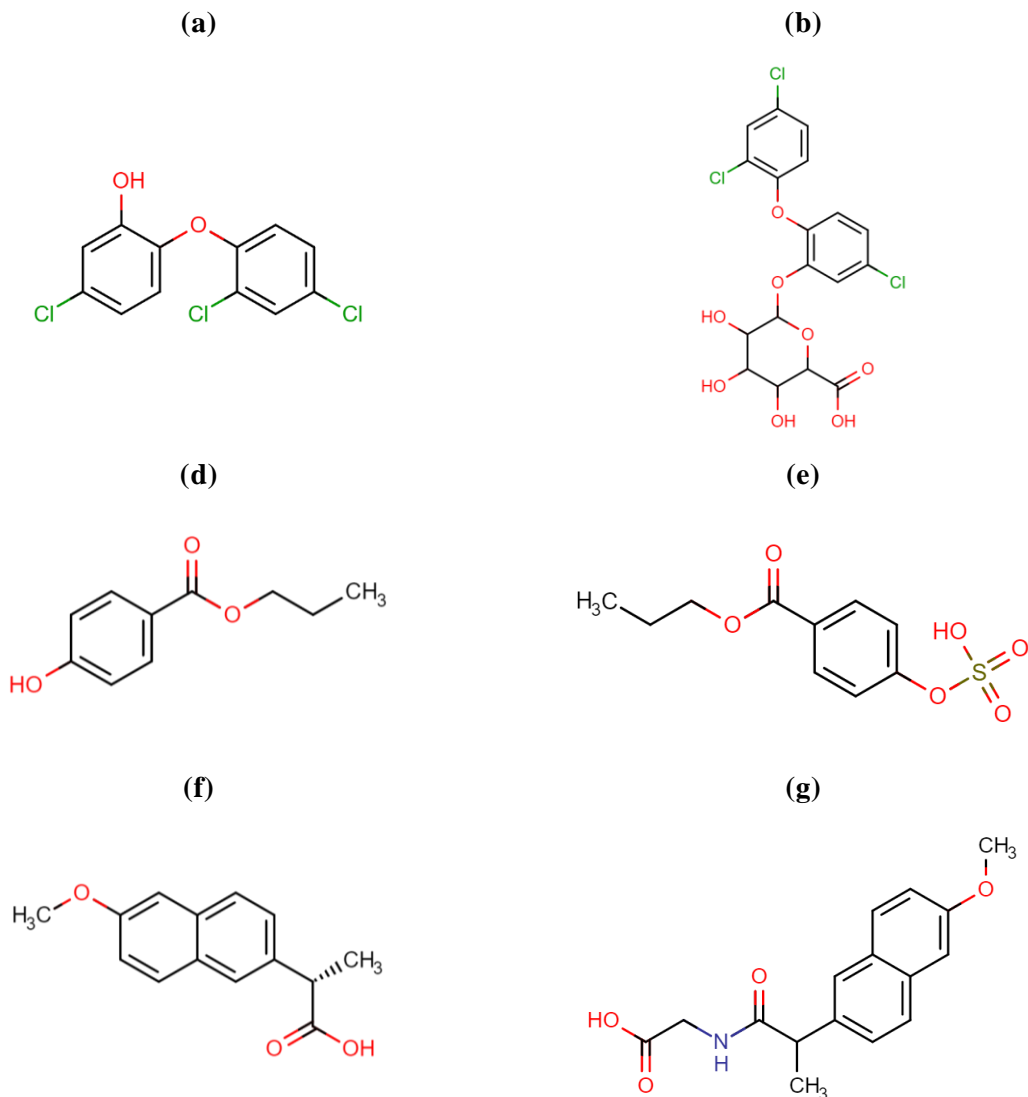
3.3 Xenobiotikoen bigarren faseko metabolitoen identifikazioa gernuan

Aurreko ataletan gernuan egon daitezkeen jatorrizko xenobiotikoen determinazioa egin baldin badugu ere, posible da bigarren faseko metabolitoen jarraipena egitea bereizmen altuko masa-espektrometriari esker. Horretarako, lan honetan esposomarekin zerikusia duten kutsatzaileen zerrenda baten bigarren faseko metabolitoak (glukuronidoak, sulfatoak eta glizidak) simulatu ditugu BioTransformer 3.0 programa erabilita. Laginaren tratamenduari dagokionez, hiru prozedura frogatu ditugu oso desberdinak izan daitezkeen metabolitoak aldi berean identifikatzeko. Aurreko ataletan erabilitako SPE eta DS protokoloek gain likido-likido erauzketa (LLE) ere erabili dugu. Azken horretan, etil azetatoa gatzekin eta gatz gabe, eta azetonitriloa gatzekin frogatu ditugu erauzle gisa. Izan ere, gatzek ur-fasea asetu eta konposatuen erauzketa fase organikora faboratua egon daiteke. Horretarako, hidrolizatu gabeko eta entzimarekin

hidrolizatutako 5 gernu lagin prozedura analitiko desberdinekin (5 guztira) tratatu ditugu eta UHPLC-HRMS bidez neurtu.

Hidrolizatu gabeko laginetan identifikatutako metabolitoak direla eta, 58 glukuronido, 32 sulfato eta 24 glizina identifikatu ditugu gernu-laginetan. Eraldaketa-produktu horien artean, erabilera pertsonalerako produktuetan dauden metil eta propil parabenoen, hanturaren aurkako naproxeno farmakoaren, edota aurretiaz aipatutako triklosan bakterizidaren metabolitoak identifikatu ditugu (2. irudia). Bestalde, laginaren tratamenduari dagokionez, SPE bidez LLE eta DS teknikekin baino konposatu gehiago identifikatu ahal izan ditugu. Ondorio hau garrantzitsua da biomonitorizazio lanetarako, izan ere, ehunka lagin analizatu behar badira beharrezkoa da aurretratamendurako teknika bakarra erabiltzea.

2. irudia. Gernuan identifikatu ditugun xenobiotikoak eta euren metabolitoak: (a) triklosana, (b) triklosan glukuronidoa, (d) propil parabenoa, (e) propil paraben sulfatoa, (f) naproxenoa eta (g) naproxeno-glizina.



Konposatu horien jatorrizko xenobiotikoak hidrolizatutako laginetan ere determinatu baldin baditugu ere, beste hainbat konposatu bakarrik determinatu ahal izan dira metabolito gisa. Adibide bat emateko, ibuprofenoaren glukuronidoa identifikatu dugu hidrolisi entzimatikoa egin ez den gernu lagin batean. Hala ere, hidrolisia aplikatu den bolondres bereko laginean ezin izan dugu ibuprofenoa determinatu. Izan ere, metabolito askoren, batez ere, glukuronidoen eta sulfatoen ionizazio-ahalmena dela eta, seinale analitiko intentsuagoa lortzen da, eta hortaz, identifikazio ziurra egiteko kalitate hobeko masa espektroa.

4. Ondorioak

Lan honetan aztertu ahal izan dugun bezala, gizakiok konposatu kimikoen zerrenda amaigabe baten eraginpean gaude. Izan ere, konposatu horiek zeintzuk diren ezagutzeko egindako gerneraren analisi kimikoek, bai jatorrizko xenobiotikoen, bai euren metabolitoen presentzia erakutsi dute. Oro har, SPE bidezko laginaren tratamenduak emaitza interesgarriak eman ditu. Laginen hidrolisia eginda eta LC-MS bidezko detekzioari esker, maila baxuko EDC-ak kuantifikatu ahal izan dira. Hala ere, HRMS-ri esker, ohiko jarraipen zerrendetatik at dauden beste hainbat xenobiotiko identifikatu dira. Gainera, hidrolisi entzimatikoa egin ez den laginetan bigarren faseko metabolitoak ere identifikatu ahal izan dira, esposomaren inguruko informazio gehigarria jasoz. Hala ere, DS bezalako laginaren diluzioak, SPE bidezko tratamenduan galdu daitezkeen xenobiotiko oso polar eta ionikoen, hots, PMOCs-en, determinazioa ahalbidetzen duela ikusi da. Kasu horretan, modu mistoko likido-kromatografiaren abantailak agerian geratu dira ere eta MMLC ohiko alderantzizko faseko kromatografiaren osagarri dela esan daiteke.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Esposoma guztiz deskodetzea ezinezkoa baldin bada ere, hobeto ulertzeko beharrezkoa da giza jariakin desberdinetan xenobiotikoak eta horien metabolitoak analizatzeko metodoak garatzea. Horren inguruan, bestelako kasu interesgarri batzuk dira giza listua, plasma edota jariakin folikularra. Listuan, nagusiki ura izanik, zentzuzkoa litzateke PMOCs-en analisia egitea, batez ere, gerneruan baino interferentzia ioniko gutxiago espero direlako. Gerneruari dagokionez, hurrengo erronka kutsatzaile organiko iraunkor hidroxilatuen jarraipena egitea da, likido-kromatografiatik gas-kromatografiara salto eginda. Azkenik, plasma eta jariakin folikularra ere kutsatzaileen gordailu izanik, analisi metodo bideratu eta ez-bideratuak garatzea beharrezkoa da. Horrela, metodo guztien bitartez, esposoma miatzen jarrai dezakegu.

6. Erreferentziak

- All news—ECHA.* (n.d.). Sarrera: Urtarrilaren 31, 2023. <https://echa.europa.eu/-/bpa-being-replaced-by-bps-in-thermal-paper-echa-survey-finds>
- 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>
- Asimakopoulos, A. G., Xue, J., De Carvalho, B. P., Iyer, A., Abualnaja, K. O., Yaghmoor, S. S., Kumosani, T. A., & Kannan, K. (2016). Urinary biomarkers of exposure to 57 xenobiotics and its association with oxidative stress in a population in Jeddah, Saudi Arabia. *Environmental Research*, *150*, 573–581. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.11.029>
- Caballero-Casero, N., Belova, L., Vervliet, P., Antignac, J.-P., Castaño, A., Debrauwer, L., López, M. E., Huber, C., Klanova, J., Krauss, M., Lommen, A., Mol, H. G. J., Oberacher, H., Pardo, O., Price, E. J., Reinstadler, V., Vitale, C. M., van Nuijs, A. L. N., & Covaci, A. (2021). Towards harmonised criteria in quality assurance and quality control of suspect and non-target LC-HRMS analytical workflows for screening of emerging contaminants in human biomonitoring. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *136*, 116201. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2021.116201>

- Calafat, A. M., Ye, X., Wong, L.-Y., Bishop, A. M., & Needham, L. L. (2010). Urinary Concentrations of Four Parabens in the U.S. Population: NHANES 2005–2006. *Environmental Health Perspectives*, 118(5), 679–685. <https://doi.org/10.1289/ehp.0901560>
- Hale, S. E., Neumann, M., Schliebner, I., Schulze, J., Averbek, F. S., Castell-Exner, C., Collard, M., Drmač, D., Hartmann, J., Hofman-Caris, R., Hollender, J., de Jonge, M., Kullick, T., Lennquist, A., Letzel, T., Nödler, K., Pawlowski, S., Reineke, N., Rorije, E., ... Arp, H. P. H. (2022). Getting in control of persistent, mobile and toxic (PMT) and very persistent and very mobile (vPvM) substances to protect water resources: Strategies from diverse perspectives. *Environmental Sciences Europe*, 34(1), 22. <https://doi.org/10.1186/s12302-022-00604-4>
- Hallberg, I., Plassmann, M., Olovsson, M., Holte, J., Damdimopoulou, P., Sjunnesson, Y. C. B., Benskin, J. P., & Persson, S. (2021). Suspect and non-target screening of ovarian follicular fluid and serum – identification of anthropogenic chemicals and investigation of their association to fertility. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 23(10), 1578–1588. <https://doi.org/10.1039/D1EM00211B>
- Jamnik, T., Flasch, M., Braun, D., Fareed, Y., Wasinger, D., Seki, D., Berry, D., Berger, A., Wisgrill, L., & Warth, B. (2022). Next-generation biomonitoring of the early-life chemical exposome in neonatal and infant development. *Nature Communications*, 13(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-30204-y>
- Jobst, K. J., & Godri Pollitt, K. (2020). Editorial overview: Exposomics, emerging exposures and analytical challenges. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 15, A1–A3. <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2020.08.001>
- Kahn, L. G., Philippat, C., Nakayama, S. F., Slama, R., & Trasande, L. (2020). Endocrine-disrupting chemicals: Implications for human health. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 8(8), 703–718. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(20\)30129-7](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(20)30129-7)
- Lu, J.-D., & Xue, J. (2019). Poisoning. In *Critical Care Nephrology* (pp. 600-629.e7). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-44942-7.00101-1>
- Montes, R., Rodil, R., Cela, R., & Quintana, J. B. (2019). Determination of Persistent and Mobile Organic Contaminants (PMOCs) in Water by Mixed-Mode Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 91(8), 5176–5183. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b05792>
- Musatadi, M., Caballero, C., Mijangos, L., Prieto, A., Olivares, M., & Zuloaga, O. (2022). From target analysis to suspect and non-target screening of endocrine-disrupting compounds in human urine. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. <https://doi.org/10.1007/s00216-022-04250-w>
- 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>
- Pourchet, M., Debrauwer, L., Klanova, J., Price, E. J., Covaci, A., Caballero-Casero, N., Oberacher, H., Lamoree, M., Damont, A., Fenaille, F., Vlaanderen, J., Meijer, J., Krauss, M., Sarigiannis, D., Barouki, R., Le Bizec, B., & Antignac, J.-P. (2020). Suspect and non-targeted screening of chemicals of emerging concern for human biomonitoring, environmental health studies and support to risk assessment: From promises to challenges and harmonisation issues. *Environment International*, 139, 105545. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105545>
- Reemtsma, T., Berger, U., Arp, H. P. H., Gallard, H., Knepper, T. P., Neumann, M., Quintana, J. B., & Voogt, P. de. (2016). Mind the Gap: Persistent and Mobile Organic Compounds—Water Contaminants That Slip Through. *Environmental Science & Technology*, 50(19), 10308–10315. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b03338>
- Schulze, S., Zahn, D., Montes, R., Rodil, R., Quintana, J. B., Knepper, T. P., Reemtsma, T., & Berger, U. (2019). Occurrence of emerging persistent and mobile organic contaminants in European water samples. *Water Research*, 153, 80–90. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.01.008>
- Viet, S. M., Falman, J. C., Merrill, L. S., Faustman, E. M., Savitz, D. A., Mervish, N., Barr, D. B., Peterson, L. A., Wright, R., Balshaw, D., & O'Brien, B. (2021). Human Health Exposure Analysis Resource (HHEAR): A model for incorporating the exposome into health studies. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 235, 113768. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2021.113768>

7. Eskerrak eta oharrak

Lan hau Eusko Jaurlaritzako Hezkuntza Sailaren eta Espainiar Estatuko Zientzia eta Berrikuntza Ministerioaren finantzazioei esker eraman da aurrera, IT-1446-22 ikerketa talde kontsolidatuari eta PID2020-117686RB-C31 proiektuari esker, hurrenez hurren. Halaber, Mikel Musatadik Eusko Jaurlaritzako Doktoratu Aurreko Programako beka jaso izana eskertu nahi du. Eider Gerekaetxebarriak eta Paula Bustamantek, ordea, Eusko Jaurlaritzako Ikasiker lankidetzak beka.