

## TENDENCIAS Y RETOS DE LA METROLOGÍA EN LA DETERMINACIÓN DE BIOMARCADORES DE EXPOSICIÓN HUMANA A SUSTANCIAS QUÍMICAS

Juan José Ramos Rodríguez<sup>(1,2)</sup>, Cristina Grande Vicente<sup>(1)</sup>, Susana Pedraza Díaz<sup>(1)</sup>,  
Marta Esteban López<sup>(1)</sup>, Argelia Castaño Clavo<sup>(1)</sup>, Ana Isabel Cañas Portilla<sup>(1)</sup>

(1) Instituto de Salud Carlos III, Centro Nacional de Sanidad Ambiental  
Ctra. de Majadahonda - Pozuelo km 2, 28220, Majadahonda-Madrid

(2) Teléfono: +34918223896, correo electrónico: jjramos@isciii.es

### RESUMEN:

El ser humano se encuentra expuesto a diario, y a lo largo de su vida, a una mezcla compleja de sustancias químicas, algunas de ellas tóxicas. Estos contaminantes pueden ser de origen natural o liberarse al medio desde productos de consumo que los contienen o emitirse como productos secundarios en procesos industriales o domésticos. La relación dosis-efecto hace que los niveles internos de estos compuestos en la población sea un pilar básico en salud ambiental, ya que buena parte de la legislación y restricciones se basan en el control de las concentraciones. Este contexto demanda la determinación de cada vez más biomarcadores de exposición en humanos, muchos emergentes, y a concentraciones cada vez más bajas. Para dar respuesta a esta evolución, se presentan las tendencias de la metrología enfocadas a estudiar nuevas matrices e identificar nuevos compuestos, y proporcionar procedimientos de análisis suficientemente sensibles, robustos, exactos, precisos e integrados en sistemas de calidad, que permitan la identificación inequívoca y/o la determinación cuantitativa de los biomarcadores a las concentraciones requeridas.

### 1. INTRODUCCIÓN

Existen múltiples factores ambientales externos (físicos, químicos y biológicos) que pueden afectar a la salud humana. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que 12,6 millones de personas mueren al año como consecuencia de la insalubridad del medioambiente y más de 100 enfermedades, entre ellas un 20% del total de casos de cáncer, pueden estar asociadas con estos factores ambientales [1]. La exposición a sustancias químicas tiene un peso importante en esta problemática. Un reciente estudio llevado a cabo por el ISGlobal sitúa a la ciudad de Madrid como la ciudad europea con mayor número de muertes atribuibles a la contaminación del aire y partículas en suspensión [2]. Según señala el Convenio de Rotterdam sobre la comercialización de sustancias químicas peligrosas, 1,6 millones de muertes al año están causadas por una mala gestión productos químicos y sus residuos (<http://www.pic.int>).

La exposición humana a productos químicos está en constante evolución, influenciada por diferentes factores como el progreso y modernización de la industria química, las demandas y necesidades sociales, los patrones de consumo y el marco regulatorio vigente en cada momento.

Así, después de la Segunda Guerra Mundial, gracias al potente desarrollo que la industria química experimentó durante este periodo y a los cuantiosos excedentes de productos químicos, principalmente clorados, se generalizó el uso de sustancias cloradas para el control de plagas y en aplicaciones industriales. Los primeros plaguicidas organoclorados, como el dicloro difenil tricloroetano (DDT), fueron empleados de forma masiva desde finales de los años 40, lo que dio lugar a un incremento significativo de la producción de alimentos. En cuanto a las aplicaciones industriales, los bifenilos policlorados (PCBs), una familia formada por 209 compuestos diferentes, extendieron su uso debido a su alta estabilidad térmica, empleándose en intercambiadores de calor y fluidos dieléctricos, en transformadores, condensadores o estaciones rectificadoras. En la década de los años 70 y 80, también con la contribución del desarrollo de técnicas instrumentales de medida, surgen las primeras sospechas sobre la toxicidad y persistencia de estos compuestos, lo que da lugar a la primera ley que regula estos contaminantes en 1972, con la prohibición del DDT en EE.UU. Estas familias de contaminantes

orgánicos, después denominadas Contaminantes Orgánicos Persistentes (COPs) fueron las primeras, junto con algunos metales pesados como el plomo, en generar un amplio interés científico, toxicológico, social y legislativo.

En las últimas décadas, la creciente demanda de productos de consumo y el gran desarrollo de la industria relacionada con la fabricación de polímeros, presentes en un amplio rango de aplicaciones, ha contribuido a cambiar el perfil de la exposición a los contaminantes ambientales. Se estima que la producción mundial de plástico superó los 348 millones de toneladas en 2017 y unos 13 millones de toneladas acaban en los océanos cada año [3]. Entre las sustancias que forman parte de los aditivos añadidos a los plásticos se encuentran las siguientes: retardantes de llama, colorantes, plastificantes, endurecedores, anti-oxidantes, anti-espumantes, catalizadores, filtros ultravioletas entre otros, y pueden estar presentes en productos de consumo como envases y materiales en contacto con alimentos, materiales de cocina, materiales de construcción, textiles, mobiliario y en todo tipo de aparatos eléctricos y electrónicos, pudiendo ser liberados al medio durante la vida útil del producto [3]. Además, estos aditivos pueden estar presentes en productos de limpieza, higiene y cuidado personal. Entre las familias de contaminantes orgánicos relacionados con estos productos y que despiertan un mayor interés están las sustancias perfluoroalquiladas y polifluoroalquiladas (PFAS), Bisfenoles (BPs), los retardantes de llama organofosforados, retardantes de llama organobromados y los ftalatos y sus sustitutos [4]. Por otro lado, continúan siendo de gran interés algunos plaguicidas como los organofosforados o piretroides, además, de otros contaminantes ambientales que pueden ser emitidos como productos secundarios en procesos industriales o domésticos, en especial. los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) o las dioxinas y furanos.

Nos encontramos, por tanto, ante un escenario complejo en el que existe una exposición combinada y simultánea a sustancias emergentes junto con las “históricas” ya que, a pesar de las prohibiciones en su uso, su persistencia hace que aun estén presentes tanto en el medio ambiente como en la población.

El control y gestión de productos químicos se apoya en la determinación de la exposición a los mismos. Tras la correspondiente evaluación de riesgo para el ser humano o el medioambiente, se establecen los límites y/o valores que garanticen su inocuidad o al menos un riesgo aceptable en las diferentes matrices ambientales o humanas (valores guía en salud, valores de referencia, límites máximos permitidos, carga tóxica total, ingesta diaria tolerable...). En respuesta a los posibles riesgos que, a medida que avanza el conocimiento de los efectos adversos que estas sustancias químicas pueden suponer, estos niveles son cada vez más restrictivos, requiriendo equipos analíticos y métodos cada vez más sensibles. Por otro lado, existe la necesidad de determinar cada vez más compuestos, en diferentes matrices, para adaptarse. En este contexto, la metrología, como ciencia que se ocupa de las mediciones, unidades de medida, de los equipos y procedimientos encara importantes retos.

En el campo de la biomonitorización humana (BMH), herramienta para evaluar la exposición de la población a las sustancias químicas, la metrología cobra importancia en la fase analítica aplicada a la identificación y/o determinación cuantitativa de sustancias químicas y/o sus metabolitos en muestras biológicas como orina, sangre o pelo, fundamentalmente. Los estudios de BMH son una excelente herramienta en esta situación, ya que permite realizar una valoración integrada de la exposición al considerar todas las posibles vías y fuentes de exposición y conocer así el grado de exposición del individuo. Además, en población general es eficaz para i) evaluar el grado de aplicación de medidas restrictivas, ii) estudiar o descubrir la presencia e incidencia de contaminantes emergentes, iii) evaluar tendencias temporales o diferencias territoriales, iv) identificar grupos de población altamente expuestos o vulnerables, v) encontrar determinantes asociados con la exposición. En definitiva, puede convertirse en un soporte para las

administraciones a la hora de elaborar o implementar medidas de protección para la salud. Sin embargo, a pesar de estas ventajas, la BMH cuenta con algunas consideraciones éticas y limitaciones técnicas derivadas de la propia naturaleza de las muestras a analizar.

En base a lo anterior, se presentan los principales retos de la metrología en la determinación de los biomarcadores de exposición en muestras humanas y las tendencias que han surgido para dar respuesta a las necesidades que impone el estudio de la exposición de la población a contaminantes ambientales y compuestos presentes en productos de consumo. Estos retos se presentan agrupados en los apartados de análisis instrumental, preparación de muestra y aseguramiento de la calidad, si bien tienen puntos en los que se interrelacionan. Aunque esta revisión se centra especialmente en la fase analítica, la fase pre-analítica, en concreto la toma de muestra es fundamental que se realice siguiendo estrictos controles de calidad (al igual que en laboratorio) para evitar contaminación de la muestra y llevar a cabo una correcta conservación de la muestra hasta su análisis químico.

## 2 ANÁLISIS INSTRUMENTAL

Reto 1. Procedimientos analíticos para la identificación y/o determinación de contaminantes emergentes.

Una consecuencia de las restricciones en el uso y aplicación de determinados productos químicos como consecuencia de su potencial toxicidad en el medio ambiente y en la salud humana, es la puesta en el mercado de alternativas o sustitutos, en principio, más seguros. Estas alternativas pueden pertenecer a la misma familia de compuestos y compartir una gran similitud estructural. Un claro ejemplo es el Bisfenol A (BPA), empleado como aditivo de polímeros, como el policarbonato. A raíz de las restricciones en productos como juguetes, biberones, tetinas y productos poliméricos en contacto con alimentos (Reglamento UE, 2018/213), se ha sustituido por otros bisfenoles como el BPF, BPS, BPFs, BPFs [4]. En otras ocasiones, las nuevas alternativas corresponden a compuestos químicos nuevos y estructuralmente diferentes al original, pero que proporciona similares propiedades al producto final, por ej. el plastificante Hexamol<sup>®</sup> DINCH, en sustitución de ftalatos regulados [5].

Para estos contaminantes emergentes y sus metabolitos, en muchos casos, no existen metodologías analíticas debidamente validadas y robustas. Por lo tanto, es necesario desarrollar procedimientos instrumentales que permitan su identificación y cuantificación de forma precisa. Para abordar este reto, la tendencia es el empleo de detectores que, además de presentar una alta sensibilidad, puedan ser muy selectivos y permitan dilucidar de forma precisa la estructura de un compuesto gracias a su alta resolución. Por lo tanto, la tendencia ha sido doble, mediante análisis dirigidos y no dirigidos.

- i) Cuando se conocen los contaminantes emergentes y precisa de información sobre compuestos concretos a bajas concentraciones, la aproximación más empleada sería el desarrollo de nuevos procedimientos o la adaptación de otros existentes, usando técnicas cromatográficas acopladas a detectores de alta especificidad como la espectrometría de masas en modo tándem (MS/MS). Estos análisis dirigidos se denominan “*target analysis*” y suelen ir precedidos de métodos de preparación de muestra selectivos, para evitar posibles interferentes y disminuir el efecto matriz. Una correcta optimización permite alcanzar una elevada sensibilidad, además del análisis de un gran número de compuestos. Como limitación, los compuestos deben ser de una misma familia o de familias con similares características [4] y es imprescindible disponer de patrones de los compuestos

para su identificación y cuantificación. Como ejemplo interesante, recientemente se ha optimizado y validado un método para la determinación mediante LC-MS/MS de 11 metabolitos de plastificantes emergentes en orina y suero [6]

- ii) La otra tendencia es el análisis no dirigido, en el que se realiza la búsqueda de compuestos sin necesidad de conocer *a priori* lo que se va a encontrar y que se conoce como “*non target analysis*”. En este caso es necesario una instrumentación específica que nos permita conocer la estructura química sin necesidad de patrones. Los MS de alta resolución o de “masas exactas” proporcionan, gracias a su configuración y su velocidad de adquisición, el espectro completo de cada señal obtenida y mediante programas de desconvolución y librerías de compuestos, generadas también en alta resolución, podemos realizar la identificación de un número muy elevado de compuestos diferentes. Los modelos más empleados para encontrar contaminantes emergentes o no esperables en muestras humanas [7] son el cuadrupolo acoplado a espectrómetro de masas de tiempo de vuelo (qTOF) y el Orbitrap, patentado por Thermo Scientific. En este caso, los métodos de preparación de muestra, al no estar buscando una familia determinada, son genéricos, evitando así cualquier discriminación con etapas de purificación. Su limitación reside principalmente en la cuantificación ya que, aunque permite realizar una estimación semi-cuantitativa, la cuantificación requiere de patrones. Un ejemplo de aplicación de esta estrategia es la búsqueda de casi 700 compuestos ácidos orgánicos, entre los que se encontraban los metabolitos de ftalatos y bisfenoles, en suero de mujeres embarazadas mediante LC-QTOF/MS [8].

Estas dos aproximaciones pueden aplicarse de forma complementaria, realizando por un lado un barrido amplio e identificando la presencia del compuesto de interés, para después realizar su cuantificación mediante métodos dirigidos.

Reto 2. Exposición a múltiples familias de contaminantes de forma simultánea. Procedimientos multiresiduales.

Para abordar de forma realista el escenario de la exposición humana, debemos considerar que estamos expuestos a una mezcla muy compleja de contaminantes de diferentes características y en general, presentes en el medio a concentraciones muy bajas. La tendencia de la metrología es proporcionar procedimientos que permitan el análisis cuantitativo de decenas o centenares de analitos en una sola inyección cromatográfica. Para ello, se hace imprescindible disponer de métodos de preparación de muestra, con una baja especificidad, pero que proporcionen extractos lo suficientemente limpios para su análisis mediante MS/MS. Algunas de las aplicaciones más relevantes de los últimos años para muestras humanas son, por ejemplo, la determinación de 260 plaguicidas en muestras de orina mediante LC-MS/MS [9], la validación de una metodología para la determinación de 379 plaguicidas en muestras de suero [10] o el análisis de 85 COPs en suero humano mediante GC-MS/MS [11].

En la primera década del siglo XXI, a fin de incrementar la capacidad de la cromatografía de separación y reducir las posibles incertidumbres que puede generar el proceso de desconvolución, se desarrolló la cromatografía de gases completa en dos dimensiones (GCXGC) [12]. Esta técnica instrumental, permite la separación cromatográfica completa de un extracto en dos columnas capilares de diferentes polaridades. El resultado son cromatogramas estructurados por familias de contaminantes permitiendo, por ejemplo, la separación de diferentes familias de contaminantes orgánicos persistentes [13]. En los últimos años esta capacidad de separación, acoplada a detectores de tiempo de vuelo (TOF), se ha usado también en el “*non-target analysis*”, por ejemplo, para la búsqueda de compuestos desconocidos en

muestras de leche materna mediante GCXGC-TOF, lo que dio lugar a la identificación de 172 compuestos orgánicos de origen antropogénico [14].

### 3 PREPARACIÓN DE MUESTRA

#### Reto 3. Limitaciones de las muestras humanas.

Las muestras humanas presentan unas características especiales en comparación con las muestras medioambientales o de alimentos. La matriz debe ser la adecuada para evaluar la exposición al compuesto de interés, y esto viene determinado por el metabolismo, distribución y excreción del compuesto o su metabolito. Además, la limitación en la cantidad de muestra sobre todo en la obtención de muestras invasivas como la sangre afecta a los límites de detección y cuantificación y puede hacer inviable la determinación de algunos compuestos si no se realiza una mezcla o pool de muestras, como ocurre en el análisis de algunos PCBs y de dioxinas y furanos [15].

Las matrices más empleadas en BMH son la orina y la sangre (plasma o suero), y en casos concretos la leche materna y el pelo. Por lo general, para aquellos biomarcadores de exposición que son liposolubles y persistentes, las muestras de suero (plasma) o leche materna son las matrices más idóneas, por ej. PFAS, COPs, retardantes de llama, mientras que los más polares y no persistentes, debido a los rápidos procesos de metabolización y/o excreción, se analizan preferiblemente en orina, bien en su forma nativa como el caso BPA o a través de los metabolitos que se generen como ftalatos o HAPs.

Para abordar los retos relacionados con las muestras biológicas en BMH, se han seguido desde hace ya varios años dos estrategias, el desarrollo de procedimientos con matrices humanas no invasivas y la reducción de los volúmenes, gracias a la miniaturización y automatización de las etapas de preparación de muestra.

- i) En relación con las muestras humanas no invasivas surgidas como alternativa a las tradicionales, algunos ejemplos de las que han requerido un mayor interés en los últimos años son las siguientes: Las uñas, recientes estudios presentan procedimientos para la determinación de 16 HAPs y 12 metabolitos hidroxilados de HAPs mediante LC-MS/MS y GC-MS/MS [16], o para la determinación y comparación de niveles de PCBs y retardantes de llama bromados [17]. En muestras de saliva podemos destacar el análisis de compuestos volátiles y bisfenoles [18] así como, la determinación de biomarcadores orgánicos y metales con carácter neurotóxico en población vulnerable [19]. En pelo se han estudiado diferentes familias de plaguicidas en población trabajadora, y un reciente estudio en China ha desarrollado un procedimiento para el análisis de retardantes de llama emergentes [20]. En el caso de recién nacidos, cada vez es más empleado el meconio para evaluar el grado de exposición tanto a metales [21] como a compuestos orgánicos de distinta polaridad [22]. Por último, se está explorando el análisis de aire exhalado, el análisis cromo y para compuestos de cierta volatilidad como los HAPs en personas con una elevada exposición laboral [23].

Existen otras matrices alternativas que se están investigando, como semen, sudor o placenta. Sin embargo, estas aproximaciones no han llegado en general a aplicarse a estudios de HBM en población, debido en parte a la complejidad de realizar una correcta interpretación del grado de exposición.

- ii) La limitación en el tamaño o volumen de muestra ha incentivado el desarrollo de nuevas estrategias basadas en la miniaturización, automatización y/o acoplamiento de las etapas de preparación de muestra [24]. Sin duda, esto ha sido posible gracias a la sensibilidad y especificidad de las técnicas instrumentales. Desde hace algún tiempo se ha buscado esta reducción de volúmenes, en especial en el caso de las muestras de suero, sin que por ello se comprometa la precisión, ni exactitud de la medida [12, 25]. En la actualidad se pretende ir más allá y realizar la determinación de los biomarcadores de interés en una gota de sangre, que implicaría la toma de muestra de forma no invasiva al ser recogida de forma similar a una prueba de azúcar en adultos o a las pruebas de talón en recién nacidos. Así se ha evaluado la determinación de 43 PFAS en tan solo 25 µl de muestra [26].

Cabe señalar que todas estas aproximaciones en el campo de la preparación de muestra, en combinación con técnicas instrumentales que permitan un gran barrido de compuestos mediante “*non target analysis*” o con métodos multiresiduales, representa un camino prometedor para disponer de mayores y mejores herramientas en la caracterización de la exposición.

#### 4. ASEGURAMIENTO Y CONTROL DE CALIDAD

Reto 4. Desarrollo de estrategias y programas para el aseguramiento y control de la calidad.

Para una correcta evaluación de las políticas restrictivas puestas en marcha o para la elaboración de nuevas iniciativas, es importante conocer la tendencia de los niveles en la población a lo largo del tiempo y/o poder compararlos con los obtenidos en otros países. Por ello, en el campo de la BMH es crucial que la metrología proporcione medidas sensibles, exactas, precisas y robustas, de forma que se permita su comparabilidad a lo largo del tiempo y en relación con otros estudios. Para ello, los programas de control y aseguramiento de la calidad son imprescindibles.

Sin embargo, en el análisis de muestras humanas nos encontramos con una serie de limitaciones que dificultan la validación de las metodologías y la implementación de los programas de aseguramiento de la calidad, entre las que se encuentran:

- i) Materiales de referencia certificados en matriz.

El número de materiales de referencias con niveles de concentración certificados en muestras humanas, incluso en muestras biológicas en general, es realmente limitado y se centran en metales pesados en orina o sangre proporcionados por el NIST (National Institute of Standards and Technology of the US Department of Commerce) y por el JRC de la Comisión Europea, concretamente del Instituto de Materiales de Referencia (IRMM-JRC). En ambos casos no se encuentran referencias para la mayor parte de las familias de contaminantes ambientales orgánicos o sus metabolitos. Además, en algunos casos las concentraciones no están en el rango de concentraciones observadas en la población general.

- ii) Ejercicios de intercomparación como método de control externo del laboratorio para asegurar la validez de sus resultados.

En el caso de los ejercicios de intercomparación, igualmente existen importantes carencias, tanto en el número de biomarcadores incluidos, como por las concentraciones presentes en las muestras, que en ocasiones se encuentran más cerca de la exposición ocupacional que de los niveles esperables en la población general. Algunos de los principales programas para el aseguramiento externo de la calidad son los desarrollados por el Centre de Toxicologie du Québec at the Institut National de Santé Publique du Québec

(<https://www.inspq.qc.ca/en/ctq/eqas>), que organiza los siguientes programas: AMAP Ring Test, para contaminantes orgánicos persistentes en muestras de suero y el QMEQAS y OSEQAS que incluyen biomarcadores orgánicos e inorgánicos en sangre y orina.

iii) Patrones de calibración,

Las limitaciones en este apartado son menores que en los anteriores, y se centran en la dificultad para encontrar patrones primarios de compuestos emergentes y especialmente, los marcados isotópicamente. El empleo de estos patrones primarios marcados es necesario para llevar a cabo la dilución isotópica. Este es el método más empleado en la actualidad para la cuantificación, ya que permite la reducción de la incertidumbre del proceso analítico.

Parte de las carencias mencionadas vienen determinadas por el limitado número, aunque cada vez mayor, de laboratorios especializados en estudios de BMH, a diferencia de lo que ocurre en otros campos como el medioambiental o el análisis de alimentos, con un recorrido e implantación mucho mayor tanto en el ámbito público como privado. Una diferencia notable es que en estos campos existe una regulación que obliga al control aplicando métodos de referencia. La tendencia desde el punto de vista metrológico para abordar este reto ha sido la de aunar esfuerzos y aprovechar sinergias a nivel europeo. Con este objetivo, se puso en marcha un ambicioso programa de control y aseguramiento de la calidad en el marco de la Iniciativa Europea de Biomonitorización Humana (HBM4EU), financiada por el programa Horizonte 2020 (<https://www.hbm4eu.eu>). Este programa, coordinado desde el Centro Nacional de Sanidad Ambiental del ISCIII, ha cubierto un amplio número de biomarcadores de diferentes familias de compuestos: metales, retardantes de llama halogenados, retardantes de llama fosforados, PFAS, bisfenoles, hidrocarburos aromáticos policíclicos o ftalatos, entre otros [27]. La selección de estas sustancias prioritarias realizó a propuesta de los países participantes y de grupos de expertos, y presentó la ventaja de incluir algunos compuestos emergentes de interés, como por ejemplo el DINCH o sustitutos del BPA. Así, este programa de aseguramiento de la calidad ha proporcionado una herramienta a los laboratorios analíticos de BMH, para la evaluación externa de los métodos propuestos y principalmente, para asegurar la calidad y comparabilidad de los resultados obtenidos.

Por último, cabe señalar que esta línea de actuación a nivel europeo está prevista que se mantenga y consolide en los próximos años gracias al Partenariado Europeo para la Evaluación de Riesgos de Sustancias Químicas (PARC), que ha dado comienzo en mayo de 2022 y mantiene entre sus objetivos continuar con la red europea de laboratorios de biomonitorización establecida en HBM4EU.

## 5. CONCLUSIONES

En la actualidad, la exposición humana a sustancias químicas se presenta como un escenario complejo, al que además de las exposiciones tradicionales relacionadas con la industria y la agricultura, hay que sumar la asociada a productos cotidianos de consumo. En este contexto, los estudios de biomonitorización humana son la herramienta ideal para conocer el grado de exposición del individuo y la metrología constituye un apoyo fundamental para asegurar la calidad de los datos analíticos generados en este campo. En este sentido, la metrología ha evolucionado de la mano de los desarrollos técnicos e instrumentales, para dar respuesta a la necesidad de analizar cada vez un mayor número de compuestos tóxicos y/o sus metabolitos, algunos de ellos emergentes, a bajas concentraciones, tal y como establece un marco regulatorio cada vez más restrictivo. Aproximaciones como el desarrollo de métodos rápidos, simples, miniaturizados y

multiresiduales, procedimientos basados en el análisis no dirigido, el empleo de matrices no invasivas o el fortalecimiento de programas de aseguramiento y control de calidad, se han revelado como caminos prometedores para un mejor y mayor control de la contaminación química y protección de la salud.

## 6. REFERENCIAS

- [1] Organización mundial de la Salud (OMS) Informe: Ambientes saludables y prevención de enfermedades. Segunda edición, 2016.
- [2] E.P. Barboza, M. Cirach, S. Khomenko, T. lungman, N. Mueller, J. Barrera-Gómez, D. Rojas-Rueda, M. Kondo, M. Nieuwenhuijsen. *The Lancet Planetary Health*, 5 (2021) e718–e730
- [3] A.B. Silva, A.S. Bastos, C.I. Justino, J.P. Costa, A.C. Duarte, *Anal Chim Acta*. 1017 (2018) 1.
- [4] K. Vorkamp, A. Castaño, J-P. Antignac, L.D. Boada, E. Cequiere, y col. *Environ Int*. 146 (2021) 106082.
- [5] Harmon P y Otter R. *Food Chem Toxicol*. 164 (2022) 112984.
- [6] F. Been, G. Malarvannan, M. Bastiaensen, S. Yin, A.L.N. van Nuijs y A. Covaci *Talanta* 198 (2019) 230.
- [7] M. Pourchet, L. Debrauwer, J. Klanova, E.J. Price, A. Covaci, N. y col. *Environ Int*. 2020 139 (2020) 105545.
- [8] A. Wang, R.R. Gerona, J.M. Schwartz, T. Lin, M. Sirota, R. Morello-Frosch y T.J. Woodruff, *Environ Health Perspect*. 126 (2018): 077009.
- [9] Y. Shin, J. Lee, E. Park, J. Lee, H.S Lee, J.H. Kim, *Molecules* 24 (2019):1330
- [10] Y. Shin, J. Lee, J. Lee, J. Lee, E. Kim, y col. *J Agric Food Chem*. 66 (2018):3550
- [11] J.E. Lee, H.B. Oh, H. Im, S.B. Han, K.H. Kim, *J Chromatogr A* 1623 (2020)461170.
- [12] P.J. Marriott, S.T. Chin y Y. Nolvachai, *J Chromatogr A*. 1636 (2021) 461788.
- [13] L.R. Bordajandi, J.J. Ramos, J. Sanz, M.J. González, L. Ramos, *J Chromatogr A*, 1186 (2008) 312.
- [14] D. C. Tran, N.G. Dodder, P.J.E. Quintana, K. Watanabe, J.H. Kim, M.F. Hovell, C.D. Chambers, E. Hoh, *Chemosphere* 238 (2020) 124677.
- [15] A. Bichteler, D.S. Wikoff, F. Loko, M.A. Harris, *Environ Int*. 105 (2017) 112
- [16] Z. Zeng, Y. Gao, J. Cui, M. Lin, J. Tang, F. Wang, Y. Yang, Y. Yu, S. Ma, *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 1188 (2021) 123057.
- [17] H.J Meng, B. Tang, J. Zheng, S.X. Ma, F.S. Cai, y col. *Environ Sci Process Impacts*. 22 (2020) 1710
- [18] G. Russo, F. Barbato, D.G. Mita y L. Grumetto, *Biomed Chromatogr*. 2019 33 (2019) e4427.
- [19] M.A. Oliveiraa, G.P. Arrifano, A.L. Araújo, L.S. Sacramento, R. R. Lima y col. *Environ, Res*. 200 (2021) 111432.
- [20] B. Tang, S.M. Xiong, J. Zheng, M.H. Wang, F.S. Cai, y col. *Chemosphere* 262 (2021)127807.

- [21] S. Michelsen-Correa, C.F. Martin y A.B. Kirk. Int J Environ Res Public Health. 18 (2021) 1975.
- [22] E. Álvarez-Silvares, P. Rubio-Cid, X. González-Gómez, P. Domínguez-Vigo, T. Fernández-Cruz, T. Seoane-Pillado y E. Martínez-Carbal, J Perinat Med 49 (2021) 884.
- [23] M.A.G. Wallace, J.D. Pleil, K.D. Oliver, D.A. Whitaker, S. Mentese, y col. J Toxicol Environ Health 82 (2019) 244
- [24] S. Seidi, M. Rezazadeh y R. Alizadeh Bioanalysis 11(2019) 119
- [25] J.J Ramos, B. Gómara, M.A Fernández, M.J. González, J Chromatogr A. 1152 (2007) 124.
- [26] K. Gao, J. Fu, Q. Xue, Y. Li, Y. Liang, y col. Anal Chim Acta 999 (2018) 76.
- [27] M. Esteban López, T. Göen, H. Mol, S. Nübler, K. Haji-Abbas-Zarrabi y col. Int J Hyg Environ Health 234 (2021) 113740.