Métodos cromatográficos en el análisis de biomarcadores de exposición a contaminantes ambientales

Gabriela Romero[1,2], Aura Palencia[1,3], Rodolfo Contreras[4].

[1]Unidad de Toxicología Molecular, Escuela de Bioanálisis, Universidad de Carabobo. [2]Departamento de Ciencias Básicas, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo. [3]Departamento de Investigación y Desarrollo Profesional. Escuela de Bioanálisis, Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo. [4]Escuela de Bioanálisis, Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo.

Recibido para publicación 1 diciembre 2024. Aceptado: 22 diciembre 2024

RESUMEN:
Diversos contaminantes liberados al medio ambiente generan impactos negativos en los ecosistemas y en la salud humana, destacando la importancia de su monitoreo mediante biomarcadores. La cromatografía se ha consolidado como una herramienta esencial para el análisis de estos compuestos, permitiendo la separación y detección precisa de analitos en matrices complejas. Esta revisión aborda los avances en las técnicas cromatográficas emergentes utilizadas en la última década para la identificación de biomarcadores de exposición humana a contaminantes ambientales. Se discuten las matrices biológicas más relevantes, las estrategias de preparación de muestras y los enfoques analíticos dirigidos y no dirigidos, destacando la integración con tecnologías avanzadas como la espectrometría de masas. Además, se analiza la evolución hacia dispositivos portátiles y métodos más sostenibles. Esta revisión proporciona una perspectiva actualizada y práctica para investigadores y profesionales en toxicología ambiental y bioanálisis.

Palabras clave: Biomarcadores, Cromatografía, Contaminantes ambientales, Toxicología ambiental.

Chromatographic methods for analyzing biomarkers of exposure to environmental contaminants

ABSTRACT
Numerous contaminants released into the environment have detrimental effects on ecosystems and human health, underscoring the need for monitoring through biomarkers. Chromatography has become a critical tool for analyzing these compounds, enabling precise separation and detection of analytes in complex matrices. This review explores advances in emerging chromatographic techniques over the past decade for identifying human exposure biomarkers to environmental contaminants. It discusses the most relevant biological matrices, sample preparation strategies, and both targeted and non-targeted analytical approaches, emphasizing integration with advanced technologies such as mass spectrometry. Furthermore, it examines the evolution towards portable devices and more sustainable methods. This review offers an updated and practical perspective for researchers and professionals in environmental toxicology and bioanalysis.

Keywords: Biomarkers, Chromatography, Environmental contaminants, Environmental toxicology.

Introducción

Los contaminantes antropogénicos (emisiones industriales y el uso de productos químicos), impactan significativamente la salud humana y los ecosistemas (1), estos se encuentran en diversos compartimentos ambientales representando un desafío global en términos de monitoreo y control. Estimar el riesgo de exposición mediante proyecciones y modelos matemáticos derivados de la monitorización ambiental es una de las opciones frecuentemente utilizadas (2). No obstante, esto constituye una medición indirecta por lo que la biomonitorización humana es reconocida como la medición directa de la exposición a sustancias catalogadas como prioritarias debido a su amplia presencia en el medio ambiente y a su toxicidad (3-4).

La biomonitorización requiere métodos que impliquen la medición sensible y precisa de biomarcadores asociados al exposoma, en fluidos biológicos o matrices ambientales (5). Estas mediciones deben ser validadas en procesos de selección y aprobación, teniendo en cuenta aspectos como la especificidad, fiabilidad, sensibilidad y medida de riesgo de éstos, estableciéndose la exactitud, precisión y la calidad del procedimiento analítico (6).

Correos de contacto: Gabriela Romero, gvromero@uc.edu.ve; Aura Palencia, adpalencia@uc.edu.ve; Rodolfo Contreras, rcontreras11@uc.edu.ve

Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas. 2024; Vol 27(2): 78-93.
https://doi.org/10.71034/SVBE.2024.27.2.06

La cromatografía es uno de los métodos de mayor utilidad en la evaluación ambiental y el monitoreo biológico. Permite la separación, identificación y determinación de los componentes químicos en mezclas complejas (7). En los últimos años, ha habido un notable avance en las tecnologías cromatográficas, incluyendo mejoras en la resolución, velocidad y sensibilidad de los métodos. La introducción de nuevas fases estacionarias y el acoplamiento con técnicas como la espectrometría de masas han ampliado las aplicaciones de la cromatografía, permitiendo el análisis más preciso de mezclas complejas (8). Cabe decir que, los sistemas analíticos instrumentales utilizados para el análisis cromatográfico han sido muy variados y de diferente naturaleza, estos han permitido alcanzar límites de detección tan bajos, que es difícil encontrar muestras blanco, libres del compuesto a analizar, dado su carácter ubicuo (9-11).

Un aspecto relevante en las fases analíticas de biomarcadores son las matrices, las más utilizadas en la actualidad son las tradicionales (orina, sangre), sin embargo, existe un permanente interés en la búsqueda de alternativas menos invasivas. Recientemente se han propuesto otras con mayor estabilidad, como pelo, uñas, leche materna, saliva, meconio y aire exhalado (12-15), además, se han planteado matrices alternativas, cuya validez se encuentra en estudio (16, 17) y serán desarrolladas ampliamente en esta revisión.

Otro aspecto considerado relevante en esta investigación, es la fase pre-analítica, dado que la identificación y determinación cuantitativa de los contaminantes y/o sus metabolitos en las mencionadas matrices biológicas, requiere de una instrumentación adecuada (18). Este paso de preparación de la muestra se aplica principalmente para eliminar las interferencias de la matriz, realizar la limpieza de la muestra y preconcentrar los compuestos diana, a fin de minimizar la complejidad de la muestra antes de su inyección en el cromatógrafo, lo que puede mejorar la señal de respuesta del analito (19, 20).

Lo antes expuesto pone en evidencia que las técnicas cromatográficas y su aplicación en la toxicología ambiental constituyen un área de conocimiento en constante desarrollo. Durante las últimas tres décadas, se han cuantificado varios cientos de biomarcadores de exposición. Particularmente persisten desafíos en la optimización de las fases preanalíticas y en la validación de métodos analíticos sostenibles y precisos. Esta revisión aborda estos retos, examinando los contaminantes ambientales desde el enfoque de la biomonitorización, así como los biomarcadores de mayor importancia. Finalmente se destacan los avances más recientes en técnicas cromatográficas aplicadas en dichos análisis químicos-toxicológicos, con el fin de proporcionar una visión integral de los criterios a considerar en la selección de los biomarcadores, sus matrices y la técnica idónea para la medición de estos.

Criterios de búsqueda y extracción de datos

Se desarrolló una revisión de alcance con el propósito de actualizar la información acerca de los métodos cromatográficos empleados para la determinación de biomarcadores de exposición ambiental (21,22), enfocando la investigación en estudios de biomonitorización realizados en personas expuestas ambientalmente. Esta revisión se enmarca dentro de un enfoque cualitativo y se adscribe a la línea de investigación de Tóxicos ambientales de la Unidad de Investigación en Toxicología Molecular de la Escuela de Bioanálisis-Sede Carabobo.

Se realizó una búsqueda extensa sobre los avances e innovaciones en métodos cromatográficos utilizados en el análisis de biomarcadores de exposición a contaminantes ambientales en las bases de datos Web of Science, SCIELO y PubMed. Complementados con filtros de temporalidad y criterios lingüísticos, estos recursos garantizan acceso a literatura actualizada, arbitrada y representativa, para optimizar la pertinencia de los estudios seleccionados. Se utilizaron términos de búsqueda estandarizados como "Chromatography", "Exposure Biomarkers", "Environmental Toxicology", "Cromatografía", "Biomarcadores", y "Toxicología Ambiental", junto con operadores booleanos como AND y comillas para frases exactas.

Primero, se identificaron publicaciones que mencionaban términos relevantes; luego, se seleccionaron artículos cuyo resumen indicara una contribución significativa al tema. Los criterios considerados para incluir artículos en esta revisión de alcance se basaron en la selección de estudios originales realizados en población humana, acerca de biomarcadores de exposición a contaminantes ambientales, determinados mediante cromatografía y publicados en revistas especializadas, arbitradas e indexadas en bases de datos reconocidas, a partir de 2015. No se consideraron artículos incompletos, publicaciones no indexadas, páginas web, artículos no

relacionados directamente con el tema, así como los publicados en idiomas diferentes del español, portugués o inglés.

Para el análisis de la calidad metodológica y selección final se aplicó una lista de verificación (23), evaluando aspectos clave como claridad en la descripción de los métodos cromatográficos, esto es, si los estudios describían detalladamente las fases analíticas y preanalíticas. También se consideró la relevancia de los biomarcadores estudiados, en tanto su pertinencia para el tipo de exposición analizada y la adecuación de la muestra en relación con su tamaño y selección; finalmente, la consistencia en la presentación de resultados, considerando que estuvieran presentados de manera clara y coherente con los objetivos del estudio.

Resultados de la búsqueda

La búsqueda en las tres bases de datos seleccionadas resultó en un total de 690 artículos relacionados con el tema de esta investigación, después de eliminar los duplicados, se obtuvo un conjunto final de 274 artículos. Con esta selección previa, se procedió a revisar los títulos, excluyendo aquellos que no se alineaban con el objetivo de la revisión, conservando 108 artículos para una revisión más detallada.

Posteriormente, se examinaron los resúmenes de estos últimos y se seleccionaron aquellos que abordaban específicamente el enfoque ecotoxicológico, y que detallaban el uso de los métodos cromatográficos en la determinación de biomarcadores de exposición a contaminantes ambientales. Esta selección redujo el número de estudios a 88, de los cuales solo 70 estaban disponibles para su descarga y revisión completa. Finalmente se realizó una segunda búsqueda a partir de las referencias de los artículos seleccionados. Tras la lectura detallada, se identificaron 76 estudios que se ajustaban plenamente a los criterios establecidos para esta revisión y que constituyen la base de los resultados presentados, el proceso completo de selección de la literatura se resume en la Figura 1.

Los estudios incluidos en esta revisión se caracterizaron por su enfoque en la aplicación de métodos cromatográficos, como la cromatografía líquida y de gases, en la detección y cuantificación de biomarcadores de exposición a diversos contaminantes ambientales. La mayoría de los estudios seleccionados emplearon técnicas avanzadas de preparación de muestra y análisis cuantitativo, lo que les permitió alcanzar límites de

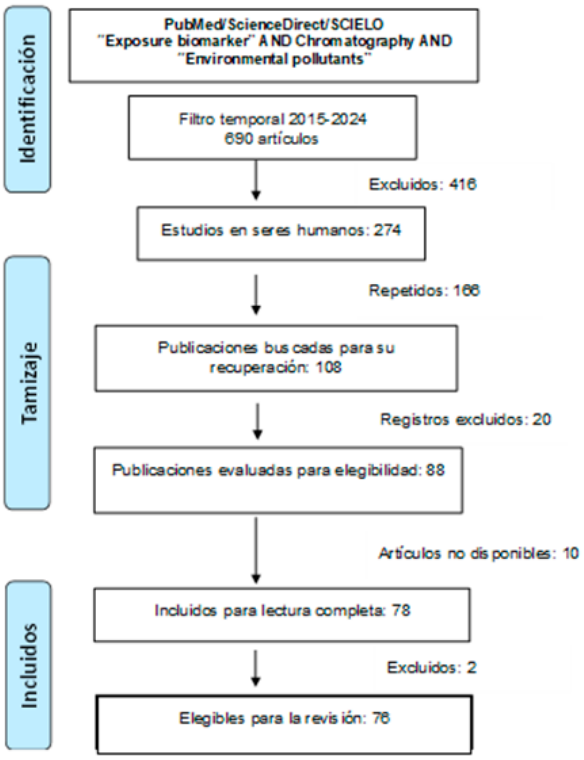

Figura 1. Diagrama de la búsqueda.
Fuente: propias de la investigación

detección muy bajos y una alta especificidad en la identificación de los biomarcadores.

Síntesis y análisis

Estudios de Biomonitoreo humano

Con el fin de evaluar la exposición a xenobióticos y los efectos sobre la salud, así como la susceptibilidad individual, se desarrollan los estudios de biomonitoreo humano (HBM), un enfoque que fue introducido hace más de tres décadas y que abarca varios pasos químicos y biológicos, comenzando con la medición externa, que incluye el aire, los alimentos, el agua, el suelo y el polvo; luego se evalúa la exposición interna, que ocurre a través de la inhalación, ingestión o absorción dérmica, como en el caso de la presencia del compuesto original o sus metabolitos en sangre u orina; otros estudios evalúan la dosis biológicamente efectiva, que puede observarse, por ejemplo, mediante la formación de aductos en proteínas ó ADN (24).

Finalmente, también se miden los efectos biológicos tempranos, como la aparición de micronúcleos, o

tardíos, como cambios en la estructura o función celular, desarrollo de tumores u otras enfermedades. Este enfoque del biomonitoreo ha sido simplificado en un esquema que se centra en la búsqueda de resultados adversos (25). Según esto, se resume en las fases exposición (absorción, distribución, metabolismo y excreción), los eventos moleculares iniciales, los eventos clave tempranos y los eventos clave tardíos, tal como se observa en la figura 2.

Contaminantes ambientales y potenciales efectos tóxicos

Los contaminantes ambientales representan una amenaza significativa para la salud humana, ya que la exposición a ellos es constante y a través de diversas fuentes. Estos contaminantes, que pueden encontrarse en el aire, agua, suelo y alimentos, pueden ser absorbidos por el organismo a través de la inhalación, ingestión o contacto dérmico (26). Para evaluar el grado de exposición y sus posibles efectos adversos, se han identificado una serie de biomarcadores específicos que permiten medir la presencia y el impacto de estos contaminantes en el cuerpo humano. En la tabla 1 se presentan contaminantes ambientales considerados los más importantes para el desarrollo de estudios de biomonitoreo humano en la Unión Europea y los biomarcadores relacionados con la exposición a estos compuestos (27). No se conoce que esta iniciativa se haya desarrollado para América Latina.

Se ha estudiado la asociación de la exposición a PFAS con la expresión de proteínas vinculadas a la inflamación, inmunidad y estrés oxidativo (35), también se han relacionado los niveles altos de PFAS con enfermedades cardiovasculares (36); diversos autores exponen que las alteraciones en el perfil proteómico podrían proporcionar una visión de los posibles mecanismos moleculares de la toxicidad de los PFAS (38,49). Del mismo modo, se han relacionado altos niveles de dioxinas con la alteración de varios procesos biológicos, incluyendo el metabolismo de glicerofosfolípidos y la interconversión de pentosa y glucuronato (50), encontrando niveles más altos de dioxinas en el suero de pacientes con diabetes.

Por su parte, los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos están clasificados como carcinógenos del grupo 1A , y se reconoce su presencia en emisiones vehiculares y material particulado (51); en relación con esto, se ha demostrado que la exposición materna a la contaminación del aire relacionada con el tráfico, durante el embarazo, aumenta el riesgo de resultados adversos en el nacimiento y trastornos del neurodesarrollo, por alteración de vías relacionadas con el estrés oxidativo y la inflamación, incluyendo las vías del linolenato, leucotrienos y prostaglandinas (52). En relación con los Ftalatos, la exposición ambiental se ha asociado con alteración en la función tiroidea y la homeostasis de la hormona del crecimiento (49). Algunos estudios sobre exposición a Compuestos Orgánicos Volátiles (COVs) relacionan altos niveles con complicaciones en la diabetes y la enfermedad de Parkinson, lo que podría estar relacionado con mecanismos de estrés oxidativo (52,53).

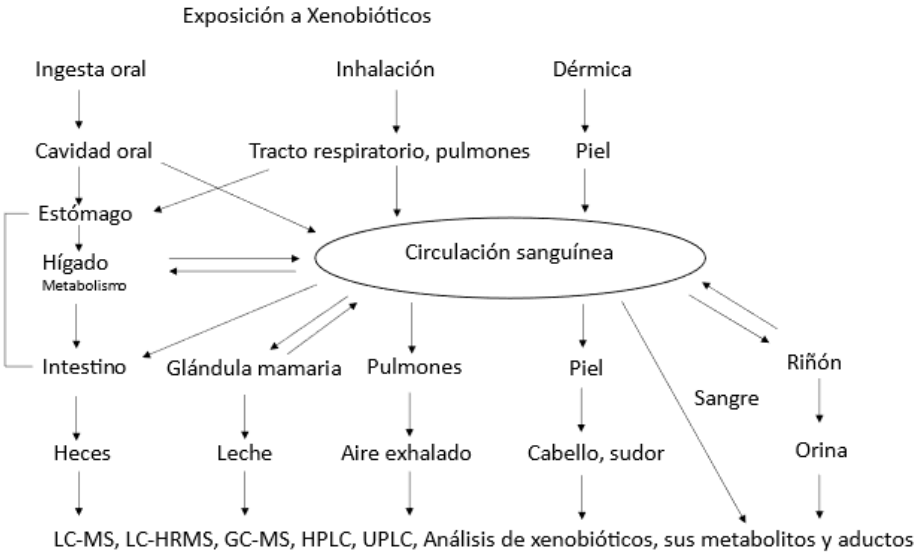

Figura 2. Exposición a contaminantes y biomonitoreo. Adaptado de Sabbioni, 2022

Tabla 1. Contaminantes ambientales, fuentes, potenciales efectos tóxicos y biomarcadores relacionados.

Contaminantes	Fuentes	Efectos tóxicos	Biomarcadores	Ref
Fenoles Ambientales	Resinas epoxi, policarbonatos, plastificantes.	Disruptores endocrinos	Bisfenol A, 2,5-diclorofenol (2,5-DCP)	(28,29)
Dioxinas	Herbicidas, Policloruro de vinilo (PVC), Emisiones vehiculares	Teratogénesis	Deshidroepiandrosterona (DHEAS) Androsterona 3α-sulfato dihidroxiandrosterona sulfato androsterona 3α-glucurónido	(30)
Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (PAHs)	Combustión incompleta de combustibles fósiles	Cáncer, mutagenicidad, inmunosupresión, disruptores endocrinos	Especies reactivas de Oxígeno (ROS) metabolitos monohidroxilados de PAH (OH-PAHs)	(31-34)
Perfluoroalquilados PFAS	Telas, extintores, utensilios de cocina, envases de alimentos.	Disruptores endocrinos, efectos en el neurodesarrollo	Ácido perfluorohexano sulfónico (PFHxS) Ácido perfluorononanoico (PFNA) Ácido perfluorodecanoico (PFDA) Ácido perfluorooctanoico (PFOA) Ácido perfluorohexanoico (PFHxA) Ácido perfluoroundecanoico (PFUdA) Ácido perfluorooctanosulfónico (PFOS)	(35-38)
Benceno	Emisiones de vehículos de motor, Humo de Tabaco Ambiental (HTA), pinturas	Cáncer	Ácido S-fenilmercaptúrico (S-PMA), Ácido trans, trans-mucónico (t,t-MA) Benceno Urinario (U-B).	(39)
Triclosán (TCS)	Productos cosméticos, tejidos, plásticos.	Disruptor metabolismo lípidos	Triclosán	(40, 41)
Parabenos	Comida, productos cosméticos y farmacéuticos	Disruptores endocrinos	Metil-Parabeno, Etil-parabeno, N-Propil parabeno N-Butil Parabeno, Bencil Parabenos.	(42, 43)
Benzofenonas	Productos cosméticos	Disruptor endocrino	4-Hidroxibenzofenona (4-OHBP) 2,4-dihidroxibenzofenona(BP-1) 2,2',4,4'- tetrahidroxibenzofenona (BP-2) 2-hidroxi-4-metoxibenzofenona (BP-3) 2,2'-dihidroxi-4-metoxibenzo-fenona (BP-8)	(44)
Organofosforados	Exposición a través de la dieta, inhalación de aire, aguas contaminadas	Cáncer, neurotoxicidad	Dialquilofosfatos (DAP): dimetilfosfato (DMP), dietilfosfato (DEP), dimetiltiofosfato (DMTP), dietiltiofosfato (DETP), dimetilditiofosfato (DMDTP) dietilditiofosfato (DEDTP)	(45)
Retardantes de Fuego Bromados (BFRs)	Textiles, retardantes de llama y plastificantes en polímeros	Disrupción de homeostasis tiroidea, efectos en el neurodesarrollo	2-Etil-5-hidroxihexil-difenilo Fosfato (HO-EHDPHP), Bis(2-butoxietilo) 3′-hidroxi-2-butoxietilo Fosfato (HO-TBOEP), 1-hidroxi-2-Propilo-bis(1-cloro-2-propilo) Fosfato (BCIPHIPP), Difenil Fosfato (DPHP) tris(2-cloroetil) fosfato (TCEP)	(46)
Ftalatos	Productos de cuidado personal, pisos de vinilo, envases de alimentos.	Disruptores endocrinos, efectos en el desarrollo del tubo neural	Mono(2-etilhexilo) Ftalato (MEHP), Mono(2-etil-5-hidroxihexilo) Ftalato (MEHHP), Mono(2-etil-5-oxohexilo) Ftalato (MEOHP) Mono(2-etil-5-carboxipentilo) Ftalato (MECPP).	(47-48)

Respecto a otros compuestos, durante la pandemia, el uso de agentes antibacterianos y productos de lavado antisépticos, como aquellos que contienen triclosán (TCS), se incrementó considerablemente para controlar y prevenir la propagación de virus altamente contagiosos. Sin embargo, el uso excesivo y la eliminación de estos desinfectantes han generado preocupación debido a sus efectos adversos sobre el medio ambiente y la salud humana (54). Diversas revisiones han analizado la presencia, exposición y toxicidad del TCS, aportando información importante sobre cómo afecta a los seres humanos (40). No obstante, aún queda por resumir

adecuadamente cómo evoluciona su toxicidad durante la transformación medioambiental y el metabolismo humano, ya que estos procesos pueden inducir efectos más perjudiciales para la salud.

Todo este escenario deriva hacia la tendencia de promover investigaciones que apunten a la necesidad de caracterizar el exposoma, lo que requiere más estudios de biomonitorización humana que incluyan fármacos de uso veterinario y productos de cuidado personal, así como evaluar la implementación de estudios multianalitos dirigidos a grupos de químicos potencialmente tóxicos (55).

Biomarcadores de exposición

En toxicología, un biomarcador es una característica biológica que se puede medir de manera objetiva y utilizada como un indicador de procesos biológicos normales, procesos patogénicos o respuestas farmacológicas a una intervención terapéutica (1). De este modo, son herramientas cruciales para la evaluación de la exposición a agentes químicos, la susceptibilidad a sus efectos, y la presencia de efectos tóxicos en el organismo. Por lo general, los biomarcadores se dividen en tres categorías principales: de exposición, de susceptibilidad y de efecto (56). Esta investigación aborda a los primeros, específicamente los relacionados con la exposición no ocupacional a contaminantes ambientales.

En este orden de ideas, los biomarcadores de exposición se definen como los indicadores de la presencia y cantidad de un agente químico o sus productos de transformación en el organismo. Estos biomarcadores reflejan la dosis interna del tóxico y pueden medirse en matrices biológicas como sangre, orina, cabello o tejido adiposo. Son esenciales para evaluar la cantidad de un xenobiótico a la que una persona ha estado expuesta, así como el tiempo o cronicidad de la exposición (26). El uso de biomarcadores de exposición es crucial para comprender la relación dosis-respuesta en toxicología, lo que permite estimar el riesgo asociado a la exposición a sustancias tóxicas y desarrollar políticas de salud pública para la protección de las poblaciones expuestas.

En la tabla 2 se muestran biomarcadores de exposición medidos en diferentes fluidos corporales y en diferentes poblaciones. Para compuestos como las dioxinas, los bifenilos policlorados (PCB) similares a las dioxinas entre otros, que son estables en el cuerpo humano, se mide la concentración del compuesto original en sangre, suero u orina (30, 50). En el caso de sustancias que son metabolizadas, como los pesticidas organofosforados o los ftalatos, se suelen utilizar los metabolitos del compuesto original, los cuales generalmente se miden en la orina (55, 57-59).

Por su parte, la Unión Europea ha publicado una base de datos específica para biomarcadores de exposición a factores de riesgo ambiental, conocida como Exposome-Explorer (http://exposome-explorer.iarc.fr), que proporciona detalles sobre el tipo de biomarcadores, sus concentraciones en muestras humanas, las técnicas analíticas aplicadas para su detección, las poblaciones en las que se han medido y las correlaciones con las mediciones de exposición externa (60).

Mas recientemente, ha surgido el término volatolómica, como un enfoque esencial dentro del campo de la metabolómica. La volatolómica se centra en el estudio de los metabolitos volátiles, que son productos finales del metabolismo, y permite una comprensión integral de las emisiones volátiles tanto en microorganismos como en organismos superiores, incluyendo insectos, plantas y humanos. Dado que el metaboloma humano es influenciado por factores ambientales, dietéticos y de estilo de vida, el estudio de estos compuestos volátiles ofrece un enfoque prometedor para la detección y el monitoreo de la exposición a contaminantes ambientales. Además, las recientes innovaciones en sistemas analíticos miniaturizados y portátiles abren la posibilidad de realizar investigaciones en esta área en tiempo real y en vivo, ampliando el horizonte para aplicaciones futuras en análisis químicos de campo (61-63).

Estudios más recientes evalúan la posibilidad de utilizar los patrones epigenómicos, como metilaciones en el ADN, para detectar la exposición a contaminantes ambientales, sobre todo durante el embarazo y la infancia temprana, sin embargo, aún son necesarias muchas investigaciones para determinar su especificidad y desarrollar algoritmos predictivos y puntuaciones de metilación que puedan utilizarse para evaluar los factores de riesgo de los primeros años en relación con los resultados de salud a lo largo de toda la vida (64).

Matrices, preparación de la muestra y métodos analíticos

Existe gran variedad de muestras biológicas que pueden ser utilizadas para determinar biomarcadores

de exposición a contaminantes ambientales, las principales diferencias y los criterios para su selección están relacionadas con la ventana de detección (65). En análisis clínicos, las muestras más utilizadas tradicionalmente son el suero y el plasma, ya que la sangre completa requiere más pasos de manipulación y procedimientos de laboratorio que consumen más tiempo. Esta muestra es especialmente útil porque la detección de compuestos tóxicos indica con mayor precisión una exposición reciente, además, existe una correlación significativa entre los niveles de químicos en sangre y sus efectos en el cuerpo, por lo que es ideal para análisis cuantitativos (66,67). Una alternativa para el manejo de esta matriz ha sido el uso de muestras de sangre seca (DBS, por sus siglas en inglés), para medir marcadores no específicos de respuesta biológica interna a exposiciones ambientales usando HPLC-MS; la medición de biomarcadores en DBS trae consigo ventajas sobre la punción venosa y tienden a mostrar altas correlaciones con análisis de muchos biomarcadores de exposición, incluidos cotinina, plomo, mercurio total, metilmercurio y otras sustancias químicas consideradas disruptores endocrinos (EDC) (17).

Por otro lado, la orina se usa comúnmente para investigar metabolitos, aunque un pequeño porcentaje del tóxico se excreta sin cambios; la orina es fácil de recolectar, no invasiva, está disponible en grandes cantidades y presenta menos interferencias en comparación con otras muestras. Además, tiene una gran estabilidad cuando se congela, lo que permite su almacenamiento a largo plazo. Sin embargo, la orina es una muestra susceptible a manipulaciones, ya que se recolecta sin supervisión por razones de privacidad. En relación con la ventana de aparición del tóxico o metabolito, la mayoría de los compuestos permanecen en la orina entre 2 y 5 días después de su consumo. Su uso es especialmente adecuado para ensayos inmunoenzimáticos, que permiten un análisis rápido tanto de compuestos como de metabolitos. Los niveles urinarios de estas moléculas indican exposición a las sustancias, pero no permiten determinar el momento exacto de la exposición ni los efectos fisiológicos probables (65).

El cabello también ha sido utilizado en la detección de biomarcadores de exposición (68,69); compuesto principalmente por queratina, agua, lípidos y minerales, presenta una tasa de crecimiento de entre 0.6 y 1.4 cm al mes, su recolección es no invasiva, facilitada por un simple corte, y ofrece una ventana de detección más amplia (semanas a años) en comparación con sangre u orina. Sin embargo, existen limitaciones, como la falta de correlación directa con las concentraciones sanguíneas y la posibilidad de detectar sustancias por exposición pasiva (57,69).

Por su parte, la saliva ha ganado relevancia debido a avances en los métodos analíticos y su facilidad de recolección no invasiva. Este fluido refleja la fracción libre y activa de las sustancias en la sangre, con una ventana de detección de 24 a 36 horas. No obstante, la obtención de muestras suficientes puede ser difícil y existe el riesgo de falsos positivos por exposición residual en la cavidad oral tras la inhalación de sustancias (70).

En cuanto a la exposición a sustancias durante el embarazo, la placenta y el meconio son matrices comunes; la primera, recolectada de forma no invasiva tras el parto, sirve como depósito de drogas, mientras que el meconio, excretado por el recién nacido, refleja la exposición a sustancias durante el último trimestre de gestación. Pese a sus ventajas, el meconio puede contaminarse con orina del recién nacido o perderse durante su excreción intrauterina (71).

Igualmente se ha utilizado el sebo de glándulas sebáceas para la determinación de compuestos orgánicos volátiles, que podrían estar relacionados con diabetes y la enfermedad de Parkinson. Zhang y cols. (53), utilizaron desorción térmica-cromatografía de gases-espectrometría de masas, para analizar las muestras que fueron tomadas con hisopos de poliester-rayón y algodón. Se identificaron 23 y 18 COVs en el sebo recolectado, con 14 COVs comunes a ambos tipos de hisopos, lo que resalta la potencial interferencia de los materiales o implementos para la recolección en la toma de las muestras (53).

Una matriz poco frecuente, pero que ha sido utilizada para evidenciar la exposición a contaminantes ambientales son los dientes deciduos. El análisis desarrollado por Palmer y cols. (72), comenzó con la pulverización de la muestra, la extracción con solventes orgánicos, la adición de un estándar interno y el análisis en un sistema de Cromatografía líquida acoplada a la espectrometría de masas por ionización por electrospray (LC-ESI-MS). Con esta técnica fue posible detectar sustancias químicas orgánicas semivolátiles (SVOC) específicas en dientes deciduos de niños con trastornos del espectro autista (TEA). Las tasas de detección de estas SVOC fueron similares en dos muestras diferentes de niños con TEA, una de Estados Unidos y otra de México y además, la exposición declarada por las

madres se correspondía con las concentraciones de estas sustancias químicas detectadas en los dientes de sus hijos (72).

Las distintas matrices utilizadas para analizar metabolitos o compuestos, así como el tratamiento de la muestra se presentan en la tabla 2.

La elección de la matriz más adecuada también implica considerar la practicidad. Los contaminantes orgánicos persistentes son lo suficientemente estables para acumularse en tejidos ricos en lípidos y en sangre, lo que hace que la leche materna y el suero sean matrices adecuadas para estos compuestos (89). Sin embargo, la

Tabla 2. Matrices, pretratamiento de la muestra y biomarcadores

MATRIZ	PREPARACIÓN DE LA MUESTRA	METABOLITO	MÉTODO CROMATOGRÁFICO	REF
PLASMA	Extracción de fase sólida (SPE)	PFAS	UPLC-MS/MS	(35,36)
	Precipitación de proteínas, SPE	No dirigido	LC-MS/MS	(38, 52)
	Deconjugación enzimática. Derivatización química	Dioxinas	LC-MS/MS- GC-MS	(50)
		Metabolitos de Hidrocarburos aromáticos policíclicos.		(31, 33, 73, 74, 75, 76)
		Pesticidas		(46, 58)
	Deconjugación enzimática, Derivatización	Ftalatos	GC-MS	(47, 49)
ORINA	Deconjugación enzimática, extracción LL, SPE; Ultrasonido	BPA y Triclosán		(41)
		No dirigido		(55, 77, 78, 80)
		Fenoles, parabenos		(29)
		Benceno, Tolueno, Xileno (BTX)		(79)
		Metabolitos urinarios de pentosas asociados con la exposición a material particulado		(51)
		Benzotriazol – Benzotiazol		(80)
		COVs		(81)
	Extracción SPE, LL, Filtración y limpieza para la separación de los lípidos	Retardantes de llama organofosforados	Cromatografía líquida con espectrometría de masas de alta resolución LC-HRMS	(82)
SALIVA	Estándar Interno	Cotinina	HPCL	(48,83)
		Ftalatos		(69)
		Ftalatos	LC-MS/MS	(68)
CABELLO	Digestión alcalina	Nicotina-cotinina		(70)
		Pesticidas		(57)
SUDOR	Desproteinización	VOCs	LC-MS/MS.	(53)
MECONIO	Hidrólisis alcalina- SPE	Cotinina- OHcotinina	CG-MS/MS	(84)
PLACENTA	Licuefacción con Colagenasa. Microextracción líquido-líquido dispersiva (DLLME), Derivatización.	Bisfenol, parabenos y benzofenona	GC-MS.	(85)
AIRE EXHALADO		No dirigido	Cromatógrafo de Gases.	(34)
		Percloroetileno		(86)
		Benzo (a)pireno		(87)
DIENTES DECIDUOS	Pulverización	Compuestos orgánicos persistentes	LC-MS -MS	(72)
TEJIDO ADIPOSO	Extracción sólido-líquido	COP	Espectrometría de masas de ultra alta resolución (UHRMS)	(88)

naturaleza invasiva del muestreo de sangre limita a veces su aplicabilidad, lo que ha llevado a investigar matrices alternativas como uñas o cabello, aun así, el uso de matrices no invasivas podría entrar en conflicto con los criterios de especificidad y sensibilidad biológica, y por tanto no cumplir con los requisitos de adecuación para combinaciones de biomonitoreo ambiental y biológico (EB/M). Los químicos no persistentes, o sus metabolitos, se excretan rápidamente, lo que hace de la orina una matriz más adecuada. Los metabolitos en orina típicamente reflejan la exposición reciente, lo cual podría ser engañoso en casos de exposición intermitente. Además, las tasas de excreción varían según los grupos demográficos y el peso corporal, y las concentraciones de sustancias químicas en la orina se ven afectadas por el estado de hidratación (90). Por lo tanto, estas concentraciones suelen corregirse por el contenido de creatinina o la gravedad específica (89). Como la excreción de creatinina en los niños aumenta con la edad, la corrección por creatinina podría introducir un sesgo en el análisis de los datos de las muestras de orina de los niños, haciendo que la gravedad específica sea un factor de corrección más robusto y adecuado para este grupo etario (91).

En el análisis químico toxicológico, la preparación de la muestra es un paso fundamental para asegurar que el material recolectado sea adecuado para la evaluación precisa del analito de interés. Esta preparación implica convertir la muestra, que comúnmente se presenta como una mezcla del analito, interferentes y una matriz, en un formato óptimo para su análisis. Este proceso, conocido como preparación de la muestra, busca modificar el material con el fin de facilitar un análisis químico detallado o mejorado. Aunque a menudo es tedioso y requiere de trabajo manual intensivo, tiene un impacto significativo en el tiempo total del análisis y en la calidad de los datos obtenidos. Las técnicas de preparación, como la precipitación, digestión o preconcentración, son esenciales y se seleccionan según el tipo específico de muestra y analito. En ocasiones, el éxito del método analítico depende de la correcta integración de estas técnicas o de la derivatización, un proceso que convierte el analito en un formato con funcionalidad detectable por el instrumento utilizado (92).

Los principales métodos se presentan en la tabla 3.

Es así como, el foco de muchas investigaciones está puesto en el desarrollo de métodos de pretratamiento más fáciles, con menos pasos y en ocasiones, acoplados a los sistemas de separación, siempre considerando las propiedades fisicoquímicas de los analitos, las cuales condicionan el desarrollo de metodologías relativamente completas que permitan la extracción, enriquecimiento/purificación y separación de un amplio rango de grupos de compuestos desde matrices biológicas complejas (47, 76).

Baduel y cols. (96), aplicaron un método de extracción QuEChERS modificado que les permitió el análisis simultáneo de una amplia gama de sustancias químicas (pesticidas, bifenilos policlorados, polibromados, Hidrocarburos aromáticos policíclicos, entre otros), en leche materna. Las modificaciones propuestas se relacionaron con los materiales utilizados en los métodos de extracción, con adsorbentes a base de dióxido de circonio para compuestos no polares y semipolares, y cartuchos filtrantes de eliminación de proteínas y lípidos para compuestos polares; los extractos fueron analizados mediante GC-MS/MS y Cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem con tiempo de vuelo cuadrupolar (LC-QTOF-MS/MS)para cubrir una amplia gama de compuestos, concluyendo que el método desarrollado no sólo era adecuado para el análisis multiobjetivo, sino también para el cribado no dirigido (97). También se aplicó esta metodología en la medición de biomarcadores urinarios de exposición a pesticidas organofosforados, con un tratamiento previo de hidrólisis enzimática, extracción líquido-líquido y luego de la extracción QuEChERS, se inyectaron los extractos en un sistema de cromatografía líquida UHPLC acoplado a masas de alta resolución en modo de ionización por electrospray (58).

Por otro lado, Zhu y cols. (97), desarrollaron un método de biomonitoreo que utilizó la extracción en fase sólida (SPE) acoplada a la cromatografía líquida con espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) para medir simultáneamente 121 sustancias químicas ambientales, incluyendo plastificantes, fenoles ambientales y pesticidas en muestras de orina tratadas con β-glucuronidasa/arylsulfatasa para optimizar la deconjugación, y posterior extracción LL y SPE (94). También se ha utilizado la derivatización como pretratamiento de muestras de orina, sobre todo en casos en los que se requiere implementar cromatografía de gases acoplada a masas. Tal es el caso de la detección de PFAS, en los que la baja volatilidad del compuesto, debido a su carácter polar, hace que sea difícil extraerlo de la matriz, entonces al derivatizar con un compuesto

Tabla 3. Métodos de extracción del analito desde la matriz

Método	Fundamento	Ventajas	Desventajas	Ref
Extracción Líquido-Líquido (LLE):	Reparto del compuesto deseado y las impurezas entre el medio orgánico y el acuoso.	Alta selectividad de separación, bajo consumo de energía, bajo costo, método rápido	Dificultad para automatizar, uso de grandes cantidades de solventes tóxicos, formación de emulsiones	(31,33,73)
Extracción de fase Sólida (SPE):	Retención selectiva de analitos en una fase adsorbente seguida de su elución por un disolvente	Simple, muy selectivo, bajo consumo de solventes, reproducible	Alto costo, no hay adsorbentes para todas las aplicaciones, algunos elementos de la matriz pueden ser absorbidos	(35,36.38)
Microextracción en Fase Sólida (SPME)	Extracción de los analitos de la matriz mediante una fibra de sílice fundida recubierta de un adsorbente	Simple, rápido, reproducible, no usa solventes	El material utilizado puede quebrarse y generar problemas	(93)
Extracción por Adsorción con Barras Agitadoras (SBSE):	Extracción de analitos mediante la agitación de una barra magnética recubierta de un polímero que adsorbe los compuestos, para luego ser desorbidos mediante un segundo paso de desorción térmica o química.	Simple, gran capacidad de adsorción, alta eficiencia de extracción	Limitado para ciertos analitos, según la disponibilidad en la fase estacionaria, sensible a los efectos de la matriz	(94)
Microextracción en Fase Líquida (LPME):	Extracción con un pequeño volumen de un disolvente inmiscible en agua y una fase acuosa que contiene los analitos de interés	Pequeñas cantidades de solvente, altas posibilidades de automatización, reducción en el número de pasos de la operación, adaptabilidad al campo de muestreo	Dificultad para extraer el analito luego de la extracción	(95)
QuEChERS	Extracción en fase sólida dispersiva (dSPE) utilizada para la preparación de muestras. Los analitos de interés se extraen de la matriz de la muestra utilizando disolventes miscibles en agua (normalmente acetonitrilo) y elevadas concentraciones de sal o amortiguadores	Tasa elevada de recuperación de analitos, rápido,	No sirve para moléculas grandes	(58,96)
Extracción con solventes asistida con Ultrasonido (UASE)	Se basa en el fenómeno de cavitación que se da por la formación, crecimiento y colapso de burbujas de vapor o gas generadas por la acción de las ondas de una frecuencia determinada	Simple, bajo costo, reproducible, alto rendimiento de extracción, bajo consumo de energía, bajo consumo de solventes,	En ocasiones, difícil de optimizar, tiempo de la extracción.	(92)
Extracción con solventes asistida con Microondas (MWASE)	Se calienta el solvente (extractor) que se encuentra en contacto con la muestra, esto se da por la capacidad de un campo eléctrico para polarizar las cargas en el solvente y la incapacidad para alinearse a las inversiones del campo eléctrico	Corto tiempo de extracción, eficiente	Difícil de optimizar, alto consumo de energía	(92)

menos polar, (ésteres o radicales alquilo), se convierte el grupo carboxilo en menos polar, facilitando la extracción del metabolito de interés (98)

Métodos cromatográficos

Los recientes avances en los métodos cromatográficos han mejorado considerablemente la biomonitorización de los contaminantes ambientales. La cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS) se ha convertido en la técnica más utilizada para analizar biomarcadores de plaguicidas en diversas matrices biológicas, como la sangre, la orina y la leche materna (58). Para medir la exposición a material particulado, la LC-MS es el método preferido para su detección debido a su alta sensibilidad y selectividad (73). La cromatografía de gases con detección por captura de electrones (GC-ECD) se ha utilizado para analizar la exposición no ocupacional a pesticidas (59). Además, se ha desarrollado la LC-tándem MS precedida de un método QuEChERS para detectar metabolitos de nicotina en cabello y uñas de personas expuestas al humo del tabaco (12). Aunque estas técnicas avanzadas ofrecen capacidades analíticas superiores, su elevado costo sigue siendo un factor limitante para su adopción generalizada.

En el caso de la volatolómica, la GC-MS es la técnica analítica tradicional más utilizada y se considera

el método de elección en el análisis químico de compuestos volátiles (COVs) y semi-covs, combinando características que permiten la identificación cualitativa y la cuantificación de componentes a nivel de trazas a partir de matrices de muestras complejas (63).

Un aspecto innovador relacionado con la ecotoxicología lo representan los análisis no dirigidos, que son un enfoque en cromatografía y otras técnicas analíticas donde se intenta identificar y cuantificar tantos compuestos como sea posible en una muestra, sin tener una lista previa de sustancias objetivo. En este sentido, la evolución de la espectrometría de masas de alta resolución y precisión de masa ha impulsado esta tendencia; sin embargo, para mantener el ritmo de esta evolución en las estrategias analíticas, se necesitan metodologías de preparación de muestras genéricas que ofrezcan un análisis rápido y confiable de un gran número de compuestos (99).

En relación con esto, Li y col (77), utilizaron un enfoque metabolómico no dirigido utilizando cromatografía de gases y líquidos acoplada a espectrometría de masas (GC-MS y LC-MS) para analizar metabolitos urinarios en 92 participantes jóvenes y saludables expuestos a ambientes con material particulado (PM), e identificaron 155 metabolitos diferenciales asociados con la exposición a bioaerosoles, incluyendo aminoácidos, ácidos grasos y nucleótidos, entre los metabolitos identificados, la 16-dehidroprogesterona y el 4-hidroxifeniletanol fueron destacados como posibles biomarcadores urinarios para predecir o diagnosticar enfermedades relacionadas con la exposición a PM o bioaerosoles (77).

Por su parte, Geer y cols. (34), aplicaron una metodología de análisis dirigido y no dirigido en muestras de aire exhalado en personas expuestas a incendios, mediante desorción térmica automatizada-GC/MS (ATD-GC/MS) en modo de monitoreo de iones seleccionados (SIM)/escaneo, y se revisaron en busca de químicos prominentes. Los compuestos dirigidos incluían productos de la combustión, como benceno, tolueno, xileno e hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH), que sirven como evaluación estándar de la exposición. Se identificaron sesenta características químicas únicas representativas de químicos exógenos y compuestos endógenos, incluyendo aromáticos de anillo simple, hidrocarburos aromáticos polinucleares, compuestos volátiles que contienen azufre, aldehídos, alcanos y alquenos utilizando el flujo de trabajo de análisis no dirigido. Los datos demuestran que hay compuestos no dirigidos que son indicativos de exposición ambiental (34). En esta matriz también se han determinado metabolitos para evaluar la exposición a percloroetileno (86) y metabolitos del benzopireno (87).

Sin duda, ambas técnicas, la cromatografía líquida (HPLC) y la cromatografía de gases (GC) ofrecen ventajas y limitaciones distintas en el análisis químico-toxicológico. Mientras que la HPLC es ideal para compuestos que no son volátiles o que se descomponen a altas temperaturas, la GC es preferida para analizar compuestos volátiles y térmicamente estables. La HPLC permite el análisis de una amplia gama de sustancias, incluyendo compuestos polares y de alto peso molecular, sin necesidad de derivatización, lo cual simplifica la preparación de la muestra. Sin embargo, la GC suele ofrecer una mejor resolución y tiempos de análisis más cortos, además de ser más eficiente en términos de separación cuando se trabaja con compuestos volátiles. A pesar de sus diferencias, la combinación de ambas técnicas con un detector de masas ha marcado un hito revolucionario en el análisis toxicológico, brindando una capacidad sin precedentes para identificar y cuantificar trazas de sustancias tóxicas con gran precisión y sensibilidad. Los límites de detección y cuantificación se han mejorado significativamente gracias al uso de la espectrometría de masas, permitiendo la identificación de compuestos presentes en concentraciones muy bajas y proporcionando resultados confiables, fundamentales para el estudio de biomarcadores de interés toxicológico (99).

Conclusiones

La identificación de biomarcadores para la exposición a contaminantes ambientales es un desafío cambiante, en la misma medida en la que surgen nuevos productos y tecnologías. Una comprensión más profunda de los perfiles metabólicos de los compuestos involucrados constituye una herramienta fundamental para identificar las sustancias más apropiadas como biomarcadores de exposición. Si bien los avances en las técnicas cromatográficas han permitido detectar y cuantificar con mayor precisión un amplio rango de contaminantes en diferentes matrices biológicas, aún existen limitaciones en la capacidad de diferenciar entre fuentes de exposición y la correlación precisa con respuestas dosis-dependientes.

El uso de matrices biológicas como sangre, orina, saliva y cabello ha demostrado ser útil, pero se requiere una

mayor investigación para optimizar la recolección y preparación de estas muestras, especialmente en lo que respecta a la eliminación de interferencias y la mejora en la reproducibilidad de los resultados. La necesidad de métodos más sostenibles y automatizados en la preparación de muestras, así como la implementación de tecnologías más sensibles como la espectrometría de masas de alta resolución, será crucial para el futuro del análisis cromatográfico. La integración de estas tecnologías con enfoques como la metabolómica tiene el potencial de identificar biomarcadores más precisos y específicos, que no solo permitan monitorear la exposición a contaminantes ambientales de forma más eficaz, sino también evaluar los efectos a largo plazo en la salud humana. En este sentido, el futuro de la biomonitorización se orienta hacia una combinación de métodos cromatográficos avanzados y una comprensión más profunda del exposoma humano. Este enfoque amplio no solo permitirá una mejor comprensión de la exposición a contaminantes ambientales en diversas formas, sino que también facilitará el desarrollo de metodologías analíticas más precisas y eficaces para el monitoreo de la exposición humana a través de distintos biomarcadores y matrices biológicas.

Referencias

1. Lionetto MG, Caricato R, Giordano ME. Pollution biomarkers in environmental and human biomonitoring. Open Biomark J 2019;9(1):1-9. https://doi.org/10.2174/1875318301909010001
2. Seung-Han Hong, Dong-Chun Shin, Yong-Jin Lee, Se-Hyung Kim, Young-Wook Lim. Health risk assessment of volatile organic compounds in urban areas. Hum Ecol Risk Assess 2017;23(6):1454-1465. https://doi.org/10.1080/10807039.2017.1325714
3. Louro H, Heinälä M, Bessems J, Buekers J, Vermeire T, Woutersen M, et al. Human biomonitoring in health risk assessment in Europe: Current practices and recommendations for the future. Int J Hyg Environ 2019;222(5):727-737. https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2019.05.009
4. Longo V, Forleo A, Giampetruzzi L, Siciliano P, Capone S. Human biomonitoring of environmental and occupational exposure by GC-MS and gas sensor system: a systematic review. Int J Environ Res Public Health 2021;18(19):10236. https://doi.org/10.3390/ijerph181910236
5. Vicente-Herrero MT, Ramírez MV, Capdevila LM, Terradillos MJ, López-González AA, Aguilar E, et al. Exposoma: un nuevo concepto en Salud Laboral y Salud Pública. Rev Asoc Esp Espec Med Trab 2016;25(3):176-183. [citado 18 abr 2024]. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1132-62552016000300008&lng=es
6. Marugán MR, Pelechà VY. Biomonitorización Humana de contaminantes ambientales. Nemus. Revista de l'Ateneu De Natura 2014;3:59-69. [citado 30 abr 2024]. https://raco.cat/index.php/Nemus/article/view/275550.
7. Corzo A. Técnicas de análisis en Química Orgánica: cromatografía. 1a ed. - Santiago del Estero: Universidad Nacional de Santiago del Estero. Facultad de Ciencias Forestales. 2019;7-19. [citado 30 abr 2024]. Disponible en: https://fcf.unse.edu.ar/archivos/series-didacticas/SD-44-Cromatografia-CORZO.pdf
8. Rahimi F, Chatzimichail S, Saifuddin A, Surman AJ, Taylor-Robinson SD, Salehi-Reyhani A. A Review of Portable High-Performance Liquid Chromatography: The Future of the Field? Chromatographia 2020;83(10):1165-1195. https://doi.org/10.1007/s10337-020-03944-6
9. Yusa V, Ye X, Calafat AM. Methods for the determination of biomarkers of exposure to emerging pollutants in human specimens. TrAC 2012;38:129-142. https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.05.004
10. Ulrich EM, Sobus JR, Grulke CM, Richard AM, Newton SR, Strynar MJ, et al. EPA's non-targeted analysis collaborative trial (ENTACT): genesis, design, and initial findings. Anal Bioanal Chem 2019;411(4):853-866 https://doi.org/10.1007/s00216-018-1435-6
11. Guo Z, Huang S, Wang J, & Feng YL. Recent advances in non-targeted screening analysis using liquid chromatography—High resolution mass spectrometry to explore new biomarkers for human exposure. Talanta 2020;219:121339. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121339.
12. Kim J, Cho H-D, Suh JH, Lee J-Y, Lee E, Jin CH, et al. Analysis of Nicotine Metabolites in Hair and Nails Using QuEChERS Method Followed by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. Molecules 2020;25:1763. https://doi.org/10.3390/molecules25081763
13. Mathias PI, B'Hymer C. Mercapturic acids: Recent advances in their determination by liquid chromatography/mass spectrometry and their use in toxicant metabolism studies and in occupational and environmental exposure studies. Biomarkers 2016;21(4):293-315. https://doi.org/10.3109/1354750X.2016.1141988
14. Esparza-López J. El pelo como matriz toxicológica. GICF. 2019;30:10-18. [citado 30 abr 2024]. Disponible en: https://www.uv.es/gicf/3R1_Esparza_GICF_30.pdf
15. Aquino R, Barrios C, Lobos C, Álvarez A. Determinación de nicotina, cotinina y cafeína por CG-NPD-EM en leche materna de puérparas atendidas en hospital" Las Higueras", Talcahuano, Chile. Rev Toxicol 2006;23(2-3):108-112. [citado 30 abr 2024]. Disponible en: https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=91923303
16. Palmer KL, Krasowski MD. Alternate Matrices:

Meconium, Cord Tissue, Hair, and Oral Fluid. Methods Mol Biol 2019;1872:191-197. http://doi.org/10.1007/978-1-4939-8823-5_18.

17. Gug IT, Tertis M, Hosu O, Cristea C. Salivary biomarkers detection: Analytical and immunological methods overview. TrAC 2019; 113: 301-316. https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.02.020
18. Vasconcelos E, Toffoli A, Sobieski E, Domingues C, Lanças F. New materials in sample preparation: Recent Advances and Future Trends. TrAC 2019;119:115633. http://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115633.
19. Viera S, Santana J. Técnicas analíticas avanzadas para la extracción y preconcentración de contaminantes emergentes en muestras líquidas. Rev Acad Canar Cienc 2013;25(2):77-95. [citado 30 abr 2024]. Disponible en: https://www.studocu.com/latam/document/universidad-nacional-autonoma-de-honduras/quimica-general-i/tecnicas-analiticas-avanzadas/63172359
20. Jacobson TA, Kler JS, Bae Y, Chen J, Ladror DT, Iyer R, et al. A state-of-the-science review and guide for measuring environmental exposure biomarkers in dried blood spots. J Expo Sci Environ Epidemiol 2023;33(4):505-523. http://doi.org/10.1038/s41370-022-00460-7.
21. Martinovich V. Búsqueda bibliográfica: Cómo repensar las formas de buscar, recopilar y analizar la producción científica escrita. Universidad Nacional de Lanús, Secretaría de Investigación y Posgrado. EDUNLa Cooperativa: Buenos Aires, Argentina, 2022; 82 p. http://doi.org/10.18294/9789878926162
22. Codina L. Revisiones tradicionales, sistemáticas o de alcance: ¿cómo elegir el tipo de revisión de la literatura que corresponde en cada caso? Infonomy 2024;2(2):e24021. https://doi.org/10.3145/infonomy.24.021
23. Cascaes SF, Valdivia ABA, Da Rosa IR, Barbosa PJ, Da Silva R. Escalas y listas de evaluación de la calidad de estudios científicos. Rev Cub inf Cienc Salud 2013;24(3):295-312. [citado 30 abr 2024]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2307-21132013000300007&lng=es&nrm=iso
24. Sabbioni G, Castaño A, López ME, Göen T, Mol H, Riou M, et al. Literature review and evaluation of biomarkers, matrices and analytical methods for chemicals selected in the research program Human Biomonitoring for the European Union (HBM4EU). Environ Int 2022;169:07458. https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107458
25. Zare M, Hopf NB, Viegas S, Price AB, Paini A, van Thriel C, et al. Towards a systematic use of effect biomarkers in population and occupational biomonitoring. Environ Int 2021;146:106257. https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106257
26. Vorkamp K, Castaño A, Antignac JP, Boada LD, Cequier E, Covaci A, et al. Biomarkers, matrices and analytical methods targeting human exposure to chemicals selected for a European human biomonitoring initiative. Environ Int 2021;146:106082. https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106082
27. Buekers J, David M, Koppen G, Bessems J, Scheringer M, Lebret E, et al. Development of Policy Relevant Human Biomonitoring Indicators for Chemical Exposure in the European Population. Int J Environ Res Public Health 2018;15(10):2085. https://doi.org/10.3390/ijerph15102085
28. İyïgündoğdu İ, Üstündağ A, Duydu Y. Toxicological evaluation of bisphenol A and its analogues. Turk J Pharm Sci 2020;17(4):457-462. https://doi.org/10.4274/tjps.galenos.2019.58219
29. Klimowska A, Wynendaele E, Wielgomas B. Quantification and stability assessment of urinary phenolic and acidic biomarkers of non-persistent chemicals using the SPE-GC/MS/MS method. Anal Bioanal Chem 2023;415(12):2227-2238. https://doi.org/10.1007/s00216-023-04633-7
30. Jeanneret F, Tonoli D, Hochstrasser D, Saurat J-H, Sorg O, Boccard J, et al. Evaluation and identification of dioxin exposure biomarkers in human urine by high-resolution metabolomics, multivariate analysis and in vitro synthesis. Toxicol Lett 2016;240(1):22-31. http://doi.org/10.1016/j.toxlet.2015.10.004
31. Zhang JJ, Zheng Y, Vermeulen R, Liu XL, Dai Y, Hu W, et al. Urinary Amino-PAHs in relation to diesel engine emissions and urinary mutagenicity. Int J Hyg Environ Health 2023;253:114223. https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2023.114223
32. Yan P, Kong L, Qin T, Luo Z, Zhang X, Tie C. Disturbance of OH-PAH metabolites in urine induced by single PAH lab exposure. Environ Sci Pollut Res Int 2023;30(39):91226-91236. https://doi.org/10.1007/s11356-023-28600-y
33. Oliveira M, Capelas S, Delerue-Matos C, Morais S. Grill Workers Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Levels and Excretion Profiles of the Urinary Biomarkers. Int J Environ Res Public Health 2020;18(1):230. https://doi.org/10.3390/ijerph18010230
34. Wallace MA, Pleil JD, Oliver KD, Whitaker DA, Mentese S, Fent KW, et al. Non-targeted GC/MS analysis of exhaled breath samples: Exploring human biomarkers of exogenous exposure and endogenous response from professional firefighting activity. J Toxicol Environ Health A 2019;82(4):244-260. https://doi.org/10.1080/15287394.2019.1587901
35. Chen JC, Goodrich JA, Walker DI, Liao J, Costello E, Alderete TL, et al. Exposure to per- and polyfluoroalkyl substances and high-throughput proteomics in Hispanic youth. Environ Int 2024;186:108601. https://doi.org/10.1016/j.envint.2024.108601
36. Arredondo EA, Tunc E, Mehta D, Yoo JY, Yilmaz HE, Emren SV, et al. PFAS and their association with the increased risk of cardiovascular disease in postmenopausal women. Toxicol Sci 2024;200(2):312-323. https://doi.org/10.1093/toxsci/kfae065

37. Manojkumar Y, Pilli S, Rao PV, Tyagi RD. Sources, occurrence and toxic effects of emerging per-and polyfluoroalkyl substances (PFAS). Neurotoxicol Teratol 2023;97:107174. https://doi.org/10.1016/j.ntt.2023.107174
38. Zeng T, Chen X, van de Lavoir M, Robeyns R, Zhao L, Delgado MDM, et al. Serum untargeted lipidomic characterization in a general Chinese cohort with residual per-/polyfluoroalkyl substances by liquid chromatography-drift tube ion mobility-mass spectrometry. Sci Total Environ 2024;15(929):172483. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.172483
39. Boogaard PJ. Human Biomonitoring of Low-Level Benzene Exposures. Crit Rev Toxicol 2022;52(10):799-810. https://doi.org/10.1080/10408444.2023.2175642
40. Luo N, Chen J, Chen X, Wang M, Niu X, Chen G, et al. Toxicity evolution of triclosan during environmental transformation and human metabolism: Misgivings in the post-pandemic era. Environ Int 2024;190:108927. https://doi.org/10.1016/j.envint.2024.108927
41. Lv Y, Rui C, Dai Y, Pang Q, Li Y, Fan R, et al. Exposure of children to BPA through dust and the association of urinary BPA and triclosan with oxidative stress in Guangzhou, China. Environ Sci Process Impacts 2016;18(12):1492-1499. https://doi.org/10.1039/C6EM00472E
42. Nowak K, Ratajczak–Wrona W, Górska M, Jabłońska E. Parabens and their effects on the endocrine system. Mol Cell Endocrinol 2018;474:238-251. https://doi.org/10.1016/j.mce.2018.03.014
43. Kim JH, Moon N, Heo SJ, Jeong YW, Kang DR. Repeated measurements and mixture effects of urinary bisphenols, parabens, polycyclic aromatic hydrocarbons, and other chemicals on biomarkers of oxidative stress in pre-and postpartum women. Environ Pollut 2024;342:123057. https://doi.org/0.1016/j.envpol.2023.123057
44. Silva JG, Burached DR, Suguieda EHV, Macedo GE, Mascarenhas AN. Disruptores endócrinos ambientais e obesidade: uma revisão de coortes. BJHR 2024;7(4):e72273 https://doi.org/10.34119/bjhrv7n4-414.
45. Herrera-Moreno JF, Medina-Díaz IM, Bernal-Hernández YY, Barrón-Vivanco BS, González-Arias CA, Moreno-Godínez ME, et al. Organophosphorus pesticide exposure biomarkers in a Mexican population. Environ Sci Pollut Res Int 2021;28(36):50825-50834. http://doi.org/10.1007/s11356-021-14270-1
46. Jayatilaka NK, Restrepo P, Davis Z, Vidal M, Calafat AM, Ospina M. Quantification of 16 urinary biomarkers of exposure to flame retardants, plasticizers, and organophosphate insecticides for biomonitoring studies. Chemosphere 2019;235: 481-449 http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.181
47. Heffernan AL, Thompson K, Eaglesham G, Vijayasarathy S, Mueller JF, Sly PD, et al. Rapid, automated online SPE-LC-QTRAP-MS/MS method for the simultaneous analysis of 14 phthalate metabolites and 5 bisphenol analogues in human urine. Talanta 2016;1(151):224-233. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.01.037
48. Vu THV, Lim HH, Shin HS. Determination of 15 biomarkers of endocrine disrupting chemicals in human saliva by gas chromatography–mass spectrometry. Bull Korean Chem Soc 2020;41(4):424-432. https://doi.org/10.1002/bkcs.11986
49. Huang HB, Pan WH, Chang JW, Chiang HC, Guo YL, Jaakkola JJ, et al. Does exposure to phthalates influence thyroid function and growth hormone homeostasis? The Taiwan Environmental Survey for Toxicants (TEST) 2013. Environ Res 2017;153:63-72. https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.11.014
50. Liang M, Gao Y, Shen Y, Zhang X, Gu J, Ji G. Serum metabolism distribution in individuals exposed to dioxins: A case study of residents near the municipal solid waste incinerators in China. Sci Total Environ 2024;947:174431. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.174431
51. Park S, Shim M, Lee G, You YA, Kim SM, Hur YM, et al. Urinary metabolite biomarkers of pregnancy complications associated with maternal exposure to particulate matter. Reprod Toxicol 2024;124:108550. https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2024.108550
52. Yan Q, Liew Z, Uppal K, Cui X, Ling C, Heck JE, et al. Maternal serum metabolome and traffic-related air pollution exposure in pregnancy. Environ Int 2019;130:104872 https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.05.066
53. Zhang JD, Le MN, Hill KJ, Cooper AA, Stuetz RM, Donald WA. Identifying robust and reliable volatile organic compounds in human sebum for biomarker discovery. Anal Chim Acta 2022;1233:340506. https://doi.org/10.1016/j.aca.2022.340506
54. Romero G. Uso de compuestos potencialmente tóxicos en el contexto de la pandemia por COVID-2019. Salus 2022;25(3):6-7. https://doi.org/10.54139/salus.v25i3.125
55. Hossain MZ, Feuerstein ML, Gu Y, Warth B. Scaling up a targeted exposome LC-MS/MS biomonitoring method by incorporating veterinary drugs and pesticides. Anal Bioanal Chem 2024;416(19):4369-4382. https://doi.org/10.1007/s00216-024-05374-x.
56. de Jesus JR, Arruda M. Human disease biomarkers: challenges, advances, and trends in their validation. J Integr OMICS 2021;11(2):18-30. https://doi.org/10.5584/jiomics.v11i2.207
57. Macheka LR, Palazzi P, Iglesias-González A, Zaros C, Appenzeller BM, Zeman FA. Exposure to pesticides, persistent and non– persistent pollutants in French 3.5-year-old children: Findings from comprehensive hair analysis in the ELFE national birth cohort. Environ Int 2024;190:108881. https://doi.org/10.1016/j.envint.2024.108881
58. Llop S, Murcia M, Iñiguez C, Roca M, González L, Yusà V, et al. Distributions and determinants of urinary biomarkers of organophosphate pesticide exposure in a

prospective Spanish birth cohort study. Environ Health 2017;16(1):46. https://doi.org/10.1186/s12940-017-0255-z

59. Vera-Herrera L, Sadutto D, Picó Y. Non-Occupational Exposure to Pesticides: Experimental Approaches and Analytical Techniques. Molecules 2021;26:3688. https://doi.org/10.3390/molecules26123688
60. Neveu V, Moussy A, Rouaix H, Wedekind R, Pon A, Knox C, et al. Exposome-Explorer: a manually-curated database on biomarkers of exposure to dietary and environmental factors. Nucleic Acids Res 2017;45(D1):D979-D984. http://doi.org/10.1093/nar/gkw980
61. Gurrani S, Prakasham K, Huang PC, Wu MT, Wu CF, Lin YC, et al. Simultaneous biomonitoring of volatile organic compounds' metabolites in human urine samples using a novel in-syringe based fast urinary metabolites extraction (FaUMEx) technique coupled with UHPLC-MS/MS analysis. Chemosphere 2023;329:138667. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.138667
62. Gunathilake TM, Sampath U, Yern C, Kadokami K. An overview of organic contaminants in indoor dust, their health impact, geographical distribution and recent extraction/analysis methods. Environ Geochem HLTH 2022;44(3):677-713. https://doi.org/10.1007/s10653-021-01013-x
63. Giannoukos S, Agapiou A, Brkić B, Taylor S. Volatolomics: A broad area of experimentation. J Chromatogr B Biomed Appl 2019;(1105):136-147 https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.12.015
64. Schrott R, Song A, Ladd-Acosta C. Epigenetics as a biomarker for early-life environmental exposure. Curr. Environ. Health Rep 2022;9(4):604-624. https://doi.org/10.1007/s40572-022-00373-5.
65. Marques H, Cruz-Vicente P, Rosado T, Barroso M, Passarinha LA, Gallardo E. Recent Developments in the Determination of Biomarkers of Tobacco Smoke Exposure in Biological Specimens: A Review. Int J Environ Res Public Health 2021;18:1768. https://doi.org/10.3390/ijerph18041768
66. Kerrigan S. Sampling, storage and stability. In Clarke's Analytical Forensic Toxicology; Pharmaceutical Press: London, UK, 2011; pp. 445–457. [citado 30 abr 2024]. Disponible en: https://www.semanticscholar.org/paper/Sampling-%2C-storage-and-stability-Kerrigan/a919b24c9667844c627ab9f61df157bc0856dff2
67. Committee of Systematic Toxicological Analysis Recommendations on Sample Collection. Int Assoc Forensic Toxicol 2008; XXIX(1):1–7. [citado 30 abr 2024]. Disponible en: https://www.tiaft.org/data/uploads/documents/tiaft-sta-recommendations-on-sample-collection.pdf
68. Hsu JF, Chang WC, Ho WY, Liao PC. Exploration of long-term exposure markers for phthalate esters in human hair using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Anal Chim Acta 2022;(1200):339610. https://doi.org/10.1016/j.aca.2022.339610.
69. Kataoka H, Kaji S, Moai M. Risk Assessment of Passive Smoking Based on Analysis of Hair Nicotine and Cotinine as Exposure Biomarkers by In-Tube Solid-Phase Microextraction Coupled On-Line to LC-MS/MS. Molecules 2021;(26):7356. https://doi.org/10.3390/molecules26237356
70. Kataoka H, Miyata S, Ehara K. Simultaneous Determination of Tobacco Smoke Exposure and Stress Biomarkers in Saliva Using In-Tube SPME and LC-MS/MS for the Analysis of the Association between Passive Smoking and Stress. Molecules 2024;(29):4157. https://doi.org/10.3390/molecules29174157
71. Fernández-Cruz T, Álvarez-Silvares E, Domínguez-Vigo P, Simal-Gándara J, Martínez-Carballo E. Prenatal exposure to organic pollutants in northwestern Spain using non-invasive matrices (placenta and meconium). Sci Total Environ 2020;731: 138341. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138341.
72. Palmer RF, Heilbrun L, Camann D, Yau A, Schultz S, Elisco V, et al. Organic Compounds Detected in Deciduous Teeth: A Replication Study from Children with Autism in Two Samples. J Environ Public Health 2015;862414. https://doi.org/10.1155/2015/862414
73. Wu X, Lintelmann J, Klingbeil S, Li J, Wang H, Kuhn E, et al. Determination of air pollution-related biomarkers of exposure in urine of travellers between Germany and China using liquid chromatographic and liquid chromatographic-mass spectrometric methods: a pilot study. Biomarkers 2017;22(6):525-536. https://doi.org/10.1080/1354750X.2017.1306753.
74. Gupta MK, Jain R, Singh P, Ch R, Mudiam MK. Determination of Urinary PAH Metabolites Using DLLME Hyphenated to Injector Port Silylation and GC-MS-MS. J Anal Toxicol 2015;39(5):365-373. https://doi.org/10.1093/jat/bkv023.
75. Hu H, Liu B, Yang J, Lin Z, Gan W. Sensitive determination of trace urinary 3-hydroxybenzo[a]pyrene using ionic liquids-based dispersive liquid-liquid microextraction followed by chemical derivatization and high performance liquid chromatography-high resolution tandem mass spectrometry. J Chromatogr B Biomed Appl 2016;1027:200-206. https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.05.041.
76. Martinefski M, Feizi N, Lunar ML, Rubio S. Supramolecular solvent-based high-throughput sample treatment platform for the biomonitoring of PAH metabolites in urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Chemosphere 2019;237:124525. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124525.
77. Li GX, Duan YY, Wang Y, Bian LJ, Xiong MR, Song WP, et al. Potential urinary biomarkers in young adults with short-term exposure to particulate matter and bioaerosols identified using an unbiased metabolomic approach. Environ Pollut 2022;15;305:119308. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119308.
78. Caballero-Casero N, Castro G, Bastiaensen M, Gys C, van Larebeke N, Schoeters G, et al. Identification of chemicals of emerging concern in urine of Flemish adolescents using a new suspect screening workflow for LC-QTOF-MS. Chemosphere 2021;280:130683. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130683.

79. Brajenović N, Karačonji IB, Bulog A. Evaluation of Urinary Btex, Nicotine, and Cotinine as Biomarkers of Airborne Pollutants in Nonsmokers and Smokers. J Toxicol Environ Health A 2015;78(17):1133-1136. https://doi.org/10.1080/15287394.2015.1066286
80. Li YJ, Ding WH. Determination of benzotriazole and benzothiazole derivatives in human urine by eco-friendly deep eutectic solvent-based ultrasound-assisted liquid-liquid microextraction followed by ultrahigh performance liquid chromatography quadrupole-time-of-flight mass spectrometry. Environ Pollut 2021;284:117530. https://doi.org/ 10.1016/j.envpol.2021.117530.
81. Kuang H, Li Y, Jiang W, Wu P, Tan J, Zhang H, et al. Simultaneous determination of urinary 31 metabolites of VOCs, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, and trans-3'-hydroxycotinine by UPLC-MS/MS: 13C- and 15N-labeled isotoped internal standards are more effective on reduction of matrix effect. Anal Bioanal Chem 2019;411(29):7841-7855. https://doi.org/10.1007/s00216-019-02202-5.
82. Hu L, Tao Y, Luo D, Feng J, Wang L, Yu M, et al. Simultaneous biomonitoring of 15 organophosphate flame retardants metabolites in urine samples by solvent induced phase transition extraction coupled with ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Chemosphere 2019;233:724-732. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.242.
83. Vernerová A, Krčmová LK, Heneberk O, Radochová V, Strouhal O, Kašparovský A, et al. Chromatographic method for the determination of inflammatory biomarkers and uric acid in human saliva. Talanta 2021;233:122598. http://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122598
84. López-Rabuñal A, Lendoiro E, González-Colmenero E, Concheiro-Guisán A, Concheiro-Guisán M, Peñas-Silva P, et al. Assessment of Tobacco Exposure During Pregnancy by Meconium Analysis and Maternal Interview, J Anal Toxicol 2020;44(8):797-802. https://doi.org/10.1093/jat/bkaa027
85. Fernández MF, Mustieles V, Suárez B, Reina-Pérez I, Olivas-Martinez A, Vela-Soria F. Determination of bisphenols, parabens, and benzophenones in placenta by dispersive liquid-liquid microextraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry. Chemosphere 2021;274:129707 http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129707
86. Dias CM, Menezes HC, Cardeal ZL. Use of exhaled air as an improved biomonitoring method to assess perchloroethylene short-term exposure. Environ Res 2017;156:108-112. https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.03.025.
87. Grova N, Hardy EM, Meyer P, Appenzeller BM. Analysis of tetrahydroxylated benzo[a]pyrene isomers in hair as biomarkers of exposure to benzo[a]pyrene. Anal Bioanal Chem 2016;408(8):1997-2008. https://doi.org/10.1007/s00216-016-9338-x.
88. Valvi D, Walker DI, Inge T, Bartell SM, Jenkins T, Helmrath M, et al. Environmental chemical burden in metabolic tissues and systemic biological pathways in adolescent bariatric surgery patients: A pilot untargeted metabolomic approach. Environ Int 2020;143:105957. https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105957.
89. World Health Organization. Human biomonitoring: facts and figures. No. WHO/EURO: 2015-3209-42967-60040. World Health Organization. Regional Office for Europe, 2015. [citado 30 abr 2024]. Disponible en: https://www.who.int/europe/publications/i/item/WHO-EURO-2015-3209-42967-60040
90. Hays SM, Aylward LL, Blount BC. Variation in urinary flow rates according to demographic characteristics and body mass index in NHANES: potential confounding of associations between health outcomes and urinary biomarker concentrations. EHP 2015;123(4):293-300. https://doi.org/10.1289/ehp.1408944
91. Kuiper JR, O'Brien KM, Ferguson KK, Buckley JP. Urinary specific gravity measures in the U.S. population: Implications for the adjustment of non-persistent chemical urinary biomarker data. Environ Int 2021;156:106656. https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106656.
92. Kanu AB. Recent developments in sample preparation techniques combined with high-performance liquid chromatography: A critical review. J Chromatogr A 2021;1654:462444. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462444
93. Zambonin C, Aresta A. Recent Applications of Solid Phase Microextraction Coupled to Liquid Chromatography. Separations 2021;8(3):34. https://doi.org/10.3390/separations8030034
94. Nazyropoulou C, Samanidou V. Stir bar sorptive extraction applied to the analysis of biological fluids. Bioanalysis 2015;7(17):2241-2250. https://doi.org/10.4155/bio.15.129.
95. Dugheri S, Mucci N, Bonari A, Marrubini G, Cappelli G, Ubiali D, et al. Liquid phase microextraction techniques combined with chromatography analysis: a review. Acta Chromatogr 2020;32(2):69-79. https://doi.org/10.1556/1326.2019.00636
96. Baduel C, Mueller JF, Tsai H, Ramos MJG. Development of sample extraction and clean-up strategies for target and non-target analysis of environmental contaminants in biological matrices. J Chromatogr A 2015;1426:33-47. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.11.040.
97. Zhu H, Chinthakindi S, Kannan K. A method for the analysis of 121 multi-class environmental chemicals in urine by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. J Chromatogr A 2021;1646:462146. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462146
98. Stróżyńska M, Schuhen K. Extraction and derivatization for perfluorocarboxylic acids in liquid and solid matrices: A review. Anal Sci Adv 2020;2(7-8):343-353. https://doi.org/10.1002/ansa.202000089.
99. Savelieva EI. Scopes of bioanalytical chromatography–mass spectrometry. J Anal Chem 2021;76:1198-1210. https://doi.org/10.1134/S106193482108013X