



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Facultad de Ciencias Experimentales

Trabajo Fin de Grado

Técnicas directas basadas en sustratos de papel para la monitorización y análisis de alimentos

Alumno: José Daniel Huertas Huertas

JULIO, 2024



Universidad de Jaén



Trabajo Fin de Grado

Técnicas directas basadas en sustratos de papel para la monitorización y análisis de alimentos

Alumno: José Daniel Huertas Huertas

Jaén, Julio, 2024

Índice.

RESUMEN / ABSTRACT	1
1. OBJETIVO.....	2
2. INTRODUCCIÓN.....	2
2.1 Análisis químico de alimentos.....	2
2.2 Espectrometría de masas (MS) para el análisis de alimentos.....	5
<i>2.2.1 Instrumentación y principios básicos de la MS.....</i>	<i>5</i>
<i>2.2.2 Aplicación de la MS en el análisis de alimentos.....</i>	<i>7</i>
<i>2.2.2.1 Métodos acoplados con cromatografía.....</i>	<i>7</i>
<i>2.2.2.2 Métodos directos.....</i>	<i>8</i>
2.3 Paper-Spray (PS).....	9
<i>2.3.1 Principios básicos y funcionamiento.....</i>	<i>9</i>
<i>2.3.2 Tipos de papel.....</i>	<i>10</i>
<i>2.3.3 Materiales para el recubrimiento del papel.....</i>	<i>11</i>
<i>2.3.4 Compuestos analizados por PS-MS en matrices alimentarias.....</i>	<i>13</i>
<i>2.3.5 Ventajas del uso del Paper-Spray para el análisis alimentario.....</i>	<i>18</i>
3. ANALISIS BIBLIOGRÁFICO.....	19
4. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....	22
4.1 PS con sustrato de papel sin recubrimiento.....	22
4.2 PS con recubrimiento de sílice.....	29
4.3 PS con recubrimiento de polímeros de impronta molecular (MIP).....	32
4.4 PS con recubrimiento de nanotubos de carbono (CNT).....	35
5. CONCLUSIONES.....	38
6. BIBLIOGRAFÍA.....	39

RESUMEN

Dentro del sector agro-alimentario, el análisis de alimentos es un proceso fundamental para garantizar la seguridad y la calidad alimentaria. Durante estos análisis es importante aplicar metodologías que puedan detectar niveles trazas de los diferentes compuestos presentes en el alimento, ya sean compuestos intrínsecos, posibles adulteraciones o contaminaciones. Es por ello, que su monitorización, y el desarrollo de nuevas metodologías analíticas más eficaces, rápidas y de bajo coste, ha tenido un creciente interés en los últimos años.

El presente Trabajo Fin de Grado recoge una discusión crítica de técnicas directas basadas en sustratos de papel (conocidas como Paper-Spray) para la monitorización y análisis de alimentos. Dichas técnicas son clasificadas teniendo en cuenta los diferentes tipos de recubrimientos empleados en el sustrato de papel, incluyendo cuatro grupos: papel sin recubrimiento, papel con recubrimientos basados en sílice, papel con sustratos de alta especificidad como son los polímeros de impronta molecular y papel recubierto con nanotubos de carbono.

ABSTRACT

Food analysis is a fundamental process to guarantee food safety and quality in agri-food sector. It is important to use methodologies able to detect trace levels of the different compounds present in the food, such as intrinsic compounds, possible adulterations or contaminations. The monitorization of these compounds, and the development of new, more effective, fast and low-cost analytical methodologies, has had growing interest in recent years.

This End Degree Project includes a critical discussion of direct techniques based on paper substrates (known as Paper-Spray) for food monitoring and analysis. These techniques have been classified considering the different types of coatings. Along the discussion are included four groups: uncoated paper, paper with silica-based coatings, paper with highly specific substrates such as molecularly imprinted polymers and coated paper with carbon nanotubes.

1. OBJETIVO

El principal objetivo del presente Trabajo Fin de Grado es realizar una discusión crítica de técnicas directas basadas en sustratos de papel para la monitorización y análisis de alimentos, más concretamente de la técnica de “spray por sustrato de papel” (Paper-Spray, en inglés). Para ello, se desarrollarán una serie de objetivos secundarios:

- Evaluar los diferentes tipos de recubrimientos empleados en el sustrato de papel en función de su efectividad para diferentes combinaciones de analitos y matrices alimenticias.
- Desarrollar la tendencia actual o estado del arte en la combinación de la técnica Paper-Spray con instrumentación de espectrometría de masas.

2. INTRODUCCIÓN

2.1 Análisis químico de alimentos.

El análisis de alimentos, así como su monitorización, son procesos esenciales para garantizar la calidad, autenticidad y seguridad alimentaria, aportando a los consumidores una información adecuada sobre los productos en cuestión. Además, permite la retirada de alimentos en los que se perciba alguna anomalía, ya sea por una mala conservación, por valores intrínsecos anómalos o por un mal procesado del mismo.

La calidad y autenticidad de los alimentos a menudo se relaciona con la presencia de fitoquímicos bioactivos. Por ejemplo, los carotenoides, los ácidos fenólicos y los flavonoides presentes en el tomate, son metabolitos encargados de aportar color y sabor a esta verdura (Wang y Seymour, 2022). Dichas características organolépticas son imprescindibles para que el alimento en cuestión sea elegido por el consumidor. Sin embargo, el medio de producción en el que se encuentre puede afectar a las propiedades físico-químicas del alimento, disminuyendo así el interés de su consumo. Es por ello que la industria agroalimentaria emplea diversos compuestos, como estabilizantes, saborizantes y otros aditivos, no sólo para evitar un rápido deterioro del alimento, sino para hacer más apetecible el producto para su consumo.

En el ámbito de la seguridad alimentaria, existe una creciente preocupación por problemas toxicológicos que surgen de la interacción entre el envase y el alimento. Algunos componentes del envasado pueden migrar a los alimentos, causando un

efecto perjudicial para la salud (Blanco-Zubiaguirre *et al.*, 2020; Vilarinho *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2021). Por ejemplo, sustancias perfluoroalquiladas se pueden encontrar en el agua, debido a la migración de estas del envasado a la bebida (Sznajder-Katarzyńska *et al.*, 2020).

Por otra parte, el uso de pesticidas para el cuidado de plantas genera un residuo que puede encontrarse en alimentos tanto de origen vegetal como animal. El principal problema de los pesticidas es que algunos de ellos presentan una elevada persistencia en el medio ambiente, y pueden entrar dentro del ciclo alimentario de los organismos vivos a través del consumo de alimentos y bebidas contaminadas, poniendo en riesgo la salud del consumidor (Abdollahdokht *et al.*, 2022). Con respecto a posibles contaminantes intrínsecos del alimento, podemos destacar los aldehídos. Estos pueden producirse de modo natural por distintas rutas metabólicas *post-mortem* en muchas matrices alimentarias como mariscos, los cuales se describen como posibles compuestos cancerígenos. Estos se pueden acumular durante los procesos de refrigeración y después de la muerte los crustáceos (Sibirny *et al.*, 2011; FAO, 2024).

La demanda de alimentos seguros y saludables está en constante crecimiento en todo el mundo, siendo así la capacidad para la evaluación y vigilancia de la composición y la seguridad alimentaria un proceso esencial para la salud pública y la confianza del consumidor. Son varios los organismos y protocolos/leyes establecidos para la determinación de contaminantes en muestras alimentarias. Entre las más importantes, podemos destacar el Reglamento (CEE) N° 315/93 del Consejo, en donde se establecen procedimientos comunitarios en relación con los contaminantes presentes en los productos alimenticios, así como la prohibición de comercialización de productos alimentarios que contengan contaminantes en porciones inaceptables y el mantenimiento de estos contaminantes en el mínimo nivel, haciendo una buena práctica de ellos en toda la cadena alimentaria, desde el proceso hasta el consumo. En el Reglamento (UE) 2023/915 de la Comisión, en donde se regulan ciertos contaminantes como metales pesados, micotoxinas, toxinas vegetales, entre otros. Además de estos, existe otra legislación específica en donde se regulan residuos de plaguicidas Reglamento (CE) N° 396/2005, y residuos de medicamentos veterinarios en alimentos de origen vegetal Reglamento (UE) N° 37/2010 (AESAN, 2024).

Para asegurar todo lo mencionado anteriormente, se lleva a cabo, el análisis químico de los alimentos. Este se hace frecuentemente siguiendo el método analítico, que consiste en una serie de operaciones para la determinación de analitos en una muestra. Este proceso consta de tres etapas principales, las cuales vienen reflejadas en la Figura 2.1. La fase de toma de muestra o muestreo, en donde se procede a la toma de esta de forma representativa de la matriz a analizar; la fase de preparación de la muestra, en el cual se adecúa la muestra para el análisis dependiendo en el estado en el que se encuentre; y la determinación por una técnica analítica (Nielsen *et al.*, 2008).

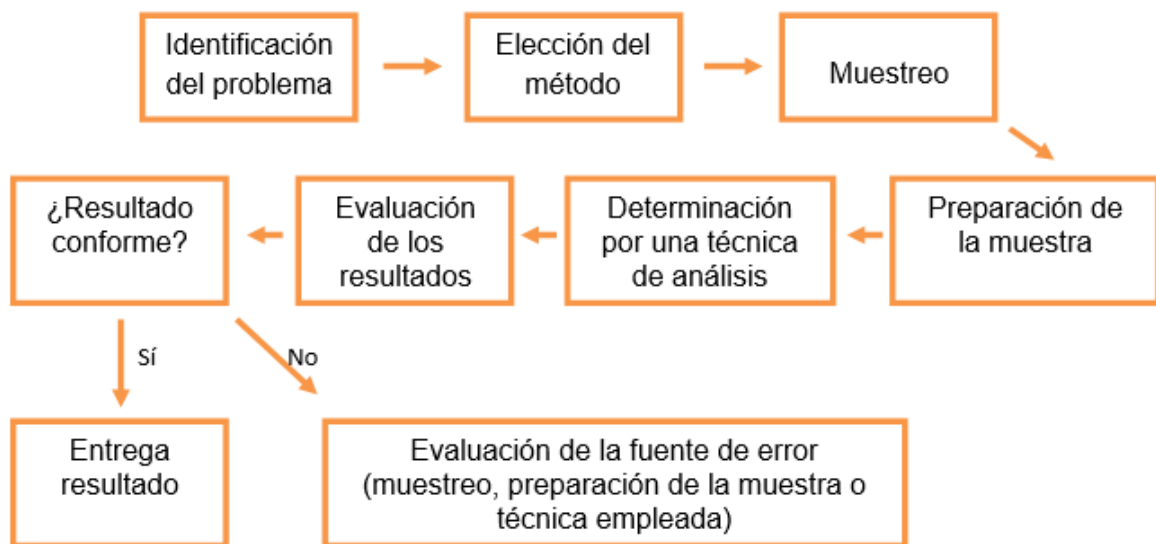


Figura 2.1. Esquema del procedimiento del método analítico.

Las técnicas de análisis han ido evolucionando, en función de la demanda en términos de sensibilidad y selectividad. Es por ello que han pasado desde las técnicas clásicas tales como volumetrías y gravimetrías, hacia técnicas instrumentales específicas, aunque algunas técnicas clásicas aún se sigan empleando en análisis de rutina. Dentro de las técnicas instrumentales, se encuentran, las técnicas espectroscópicas, como espectrofotometría UV-Vis con una alta sensibilidad, rapidez y simplicidad pero con altas interferencias ocasionadas por los múltiples componentes que absorben a la misma longitud de onda, baja sensibilidad y selectividad, así como del requerimiento del pre-tratamiento de las muestras; y fluorimetría con una alta selectividad y sensibilidad, pero con interferencias por la presencia de otros compuestos fluorescentes, foto degradación en donde algunos compuestos pueden degradarse

por su exposición a la luz. Estas técnicas han sido ampliamente usadas para el análisis de alimentos. Las técnicas cromatográficas son también muy utilizadas, pero en ambos casos, tanto las técnicas espectroscópicas como separativas, requieren de una preparación previa de la muestra. Esto último, requiere de un elevado consumo de tiempo y costes de reactivos, por lo que se intenta minimizar el proceso siempre que sea posible (Gu *et al.*, 2024, Gallo *et al.*, 2016, Fakhlaei *et al.*, 2024).

En los últimos años, la espectrometría de masas ha ganado gran interés por la posibilidad de realizar el análisis directo o con mínima preparación de la muestra (Ambient Mass Spectrometry) (Huang *et al.*, 2011). En el siguiente apartado se desarrolla esta técnica, junto con sus aplicaciones en el análisis de alimentos.

2.2 Espectrometría de masas (MS) para el análisis de alimentos.

La espectrometría de masas (MS, por sus siglas en inglés) es una de las técnicas analíticas empleadas para la monitorización y análisis de alimentos debido a la alta sensibilidad, selectividad, precisión y alto rendimiento (Awad *et al.*, 2015).

2.2.1 Instrumentación y principios básicos de la MS.

La MS es una técnica utilizada para la identificación de compuestos químicos en una matriz, en base a su estructura molecular. La instrumentación para MS consta de cuatro partes fundamentales: sistema de introducción de la muestra, fuente de ionización, analizador de iones y detector, las cuales pueden verse ilustradas en la Figura 2.2.

- Introducción de la muestra: en función de la naturaleza de la misma (si es líquida, sólida o gas), la introducción de la muestra será distinta debido a la necesidad de convertir las moléculas en iones en estado gaseoso para su análisis. En el caso de muestras líquidas, se puede realizar mediante una aguja capilar a alto voltaje: ionización por electrospray (ESI, por sus siglas en inglés). En otro caso, las muestras sólidas, se puede llevar a cabo, mezclando la muestra con una matriz, que absorba la energía del láser o colocando un solvente cargado sobre la muestra sólida, causando la ionización directa. Por último, en el caso de muestras gaseosas, se hace su inyección de manera directa o través de capilares.

- Fuente de ionización: consiste en obtener iones cargados a partir de moléculas gaseosas, mediante una fuente de ionización. Esta genera un bombardeo de electrones, iones, moléculas o fotones, sobre las muestras cargadas. Alternativamente, la ionización se lleva a cabo por energía térmica o eléctrica. Una de la técnica de ionización más usada, es la ionización por electrospray (ESI), donde la muestra se dispersa en forma de spray una vez sale del capilar, formando pequeñas gotas cargadas, las cuales se evaporan de manera rápida por desorción del campo eléctrico o evaporación del disolvente (Ghosh *et al.*, 2012).
- Analizador: los iones se aceleran con la ayuda de un campo eléctrico y se mide la relación masa/carga (m/z) de las partículas cargadas eléctricamente de una muestra para estudiarla composición y estructura de los compuestos presentes en la muestra. Actualmente se pueden diferenciar dos grandes grupos de analizadores de iones (Holcapek *et al.*, 2012): analizadores de baja resolución, que discriminan entre una unidad de m/z (los más potentes llegan a separar moléculas que se diferencian en 0,1 m/z), y los analizadores de alta resolución, que discriminan valores en el rango 0,001 – 0,00001 m/z . En el primer grupo se encuentran analizadores de masas más sencillos, como los de cuadrupolo (Q) o trampa de iones (IT), mientras que en el segundo se encuentran analizadores como el tiempo de vuelo (TOF) o el Orbitrap (Zubarev *et al.*, 2013).
- Detector: se genera un espectro de masas en función de la intensidad con la que los iones llegan al analizador de masas, mostrando así, la distribución de estos analitos en función de su relación m/z .

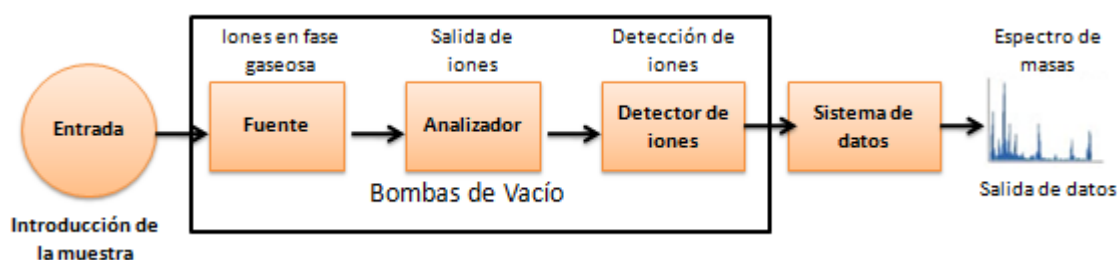


Figura 2.2. Esquema de un espectrómetro de masas. Adaptación de (Aryal, 2022).

Una de las combinaciones más potentes en el análisis químico instrumental es la MS en tándem o MS/MS, la cual proporciona gran cantidad de información estructural. Al mismo tiempo, aumenta la selectividad permitiendo la identificación y cuantificación de compuesto coeluidos (Di Stefano *et al.*, 2012). En esta, no únicamente se obtiene información del ion precursor, sino que también se obtiene de su fragmentación, cediendo información más precisa del analito.

2.2.2 Aplicación de la MS en el análisis de alimentos.

2.2.2.1 Métodos acoplados con cromatografía.

- Acoplamiento Cromatografía de Gases - Espectrometría de Masas (GC-MS): En la GC se precisa de una fase estacionaria, pudiendo ser un sólido adsorbente o un líquido retenido en una superficie sólida denominada columna. En dicha fase estacionaria, se llevan a cabo equilibrios de reparto entre los analitos y dicha fase. Se trata de una técnica dinámica, en la cual hay un gas inerte/portador que recorre de forma continua el sistema. Este gas, se denomina fase móvil (Valcarcel *et al.*, 2005).

Con ella, se analizan compuestos volátiles, proporcionando información estructural y molecular de los compuestos, permitiendo la identificación de compuestos de matrices alimentarias. Además, ofrece una alta sensibilidad, ya que es capaz de detectar concentraciones muy bajas, siendo muy importante para la detección de contaminantes como hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs, por sus siglas en inglés) o residuos de plaguicidas en alimentos. Esto produce unas ventajas sobre esta técnica sobre otros detectores como el de ionización de llama (FID, por sus siglas en inglés), con una menor sensibilidad, ya que no es capaz de detectar niveles traza de contaminantes y no diferencia entre compuestos que produzcan la misma señal en la llama.

Unas de las principales aplicaciones de la GC-MS en el análisis alimentario es el seguimiento del procesado y la frescura de los alimentos, así como la evaluación y determinación tanto de la autenticidad como contaminación de los productos (Putri *et al.*, 2022).

- Acoplamiento Cromatografía de Líquidos - Espectrometría de Masas (LC-MS): la LC consta también de una fase estacionaria pero esta vez, la fase móvil es

un líquido, y no un gas como en el caso anterior. Su función es la misma, portar los analitos y favorecer algunos coeficientes de reparto con la fase estacionaria, los cuales son imprescindibles para la su separación. En este acoplamiento, es indispensable la existencia de una fuente de ionización, la cual genere la transformación de los líquidos a estado gaseoso. La más extensamente empleada es la ionización por electrospray (ESI), ya mencionada en el apartado anterior en donde la muestra se pasa a través de un capilar al cual se le aplica un potencial, de manera que la solución sale del capilar en pequeñas gotas cargadas que se evaporan por la desorción del campo eléctrico o por la evaporación del disolvente, generando moléculas ionizadas a la fase gaseosa (Gourgiotis *et al.*, 2017).

En cuanto a sus aplicaciones en el análisis agroalimentario, se usa para el análisis de compuestos no volátiles orgánicos e inorgánicos en diversas matrices.

2.2.2.2 Métodos directos.

- Espectrometría de masas de desorción/ionización láser, asistida por matriz (MALDI-MS): estos instrumentos incorporan un láser de alta potencia para ionizar compuestos en la superficie de la muestra. La matriz, de bajo peso molecular, absorbe fácilmente la energía. Esta recubre toda la superficie de la muestra mezclándose y produciendo la cristalización con las moléculas de interés, seguido de la desorción o ionización con un rayo láser (Darie-Ion *et al.*, 2022).

Una de sus grandes aplicaciones en el análisis alimentario es para la determinación de lípidos en alimentos. Además, permite la identificación, caracterización y cuantificación de diversos alérgenos, patógenos y contaminantes químicos en distintas matrices alimentarias.

- Espectrometría de masas de ionización por desorción con electrospray (DESI-MS): esta técnica emplea una corriente de gotas de disolvente cargadas hacia la superficie de la muestra. La muestra es extraída por el disolvente produciendo iones secundarios, los cuales se impulsan hacia el analizador de masas ya ionizadas. Este análisis se realiza a presión atmosférica (Morisasa *et al.*, 2019).

Una de las aplicaciones es para la cuantificación de carbohidratos simples presentes en la muestra, pero también es útil para la determinación de compuestos apolares (Yoshimura *et al.*, 2020).

- Espectrometría de masas de iones secundarios (SIMS-MS): la muestra se une a una superficie conductora y es sometida a un haz de iones primarios de elevada energía. Se utilizan diferentes fuentes de iones como Ar^+ , Au^{3+} , Bi^{3+} . Tras la colisión del haz con la muestra, la energía de los iones primarios se transfiere al analito para generar una ionización secundaria. El haz primario permite que este instrumento guarde píxeles de tamaño de nanómetros generando imágenes de alta resolución y permitiendo la localización espacial de las moléculas con alta resolución (Morisasa *et al.*, 2019). Se ha aplicado a la cuantificación de micronutrientes como manganeso, calcio, sodio, potasio, selenio, en alimentos (Moore *et al.*, 2010; Kyriacou *et al.*, 2014).
- Paper-Spray (PS): técnica analítica basada en el uso de un sustrato de papel empleada para la detección de compuestos mediante la ionización de estos por el empleo de un solvente. En el siguiente apartado, se explica esta técnica en profundidad, junto con los tipos de papel y sus recubrimientos, y las aplicaciones en el análisis alimentario.

2.3 Paper-Spray (PS).

2.3.1 Principios básicos y funcionamiento.

El empleo de PS como método de análisis directo en alimentos, ha crecido hasta convertirse en uno de los métodos de ionización más exitoso (McBride *et al.*, 2019).

Su metodología consiste en un soporte de papel que normalmente finaliza en una punta cuyo ángulo es de 30°, en el que se deposita la muestra de interés. Se le aplica un solvente al sustrato de papel que promueve tanto la extracción como la ionización del analito. Finalmente se aplica un alto voltaje (pudiendo ser negativo o positivo) rondando entre 2,0 - 5,5 kV, produciendo una ionización similar a una electropulverización en la punta del papel, y esta entra al MS donde es detectado y cuantificado (McBride *et al.*, 2019). Este procedimiento, queda reflejado en la Figura 2.3.

Los solventes utilizados con mayor frecuencia son las combinaciones de metanol y agua. El metanol puro a alta concentración facilita el proceso de ionización por pulverización. Además, la tensión superficial es mucho menor al igual que, la carga necesaria para la ionización (Liu *et al.*, 2010). Por otro lado, se puede hacer uso de otros tipos de disolventes no polares para la detección de analitos como péptidos y fosfolípidos que pueden analizarse empleando disolventes como hexano, obviando su baja solubilidad (Yang *et al.*, 2012).

El solvente actúa tanto para la extracción como la ionización de los analitos de interés, y por ello, este tipo de procedimiento apenas implica tratamiento de muestra previo cuando se trata de muestras líquidas. Sin embargo, en el caso de muestras sólidas, normalmente sí necesita pre-tratamiento.

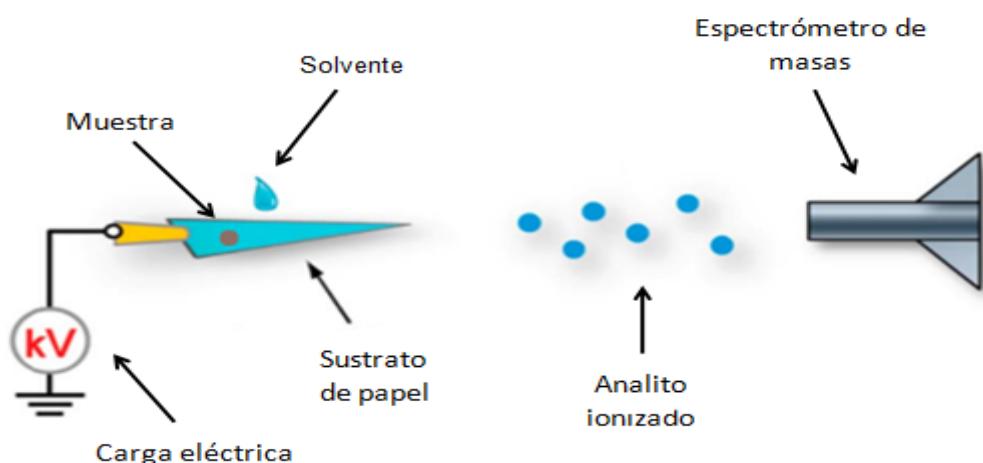


Figura 2.3. Procedimiento de la técnica PS. Adaptación de (McBride *et al.*, 2019).

Diversos estudios han revelado que en PS factores como el ángulo de la punta del papel, la distancia de la punta a la entrada del espectrómetro de masas y la composición del solvente, podrían afectar drásticamente a la estabilidad de la formación de iones, estabilidad de la señal y al campo eléctrico. Es por ello, que la elección del tipo de papel también es importante, los cuales quedan reflejados en el siguiente apartado.

2.3.2 Tipos de papel.

El papel se compone principalmente de fibras de celulosa comprimida que cuando se forman hojas, producen una serie de canales porosos dentro de la estructura, permitiendo que el papel sea capaz de absorber y transportar el solvente por capilaridad, permitiendo que el disolvente re-solubilice el analito seco o líquido contenido en el papel (Bills *et al.*, 2018). Hay varios tipos de papeles, como el papel de filtro de Whatman de grado 40, papel de cromatografía de grado 3 y papel de cromatografía de grado 17 (Nguyen *et al.*, 2022).

- Papel de filtro de Whatman de grado 40: se trata de un papel de celulosa constituido principalmente por pulpa de algodón de alta calidad. Posee un grosor de 210 μm , y un grado de poro de 8 μm , por lo que puede retener a partículas de pequeño tamaño, permitiendo así una distribución uniforme de las muestras, facilitando su ionización. Es altamente resistente a la rotura y al desgaste, así como a una alta variedad de solventes y sustancias químicas. Esto le hace que sirva de un buen soporte para el proceso de ionización del analito.
- Papel de cromatografía de grado 3: papel de celulosa fabricado principalmente con linteras de algodón. Tiene un grosor de entre 0,1 – 0,5 mm y un tamaño de poro mayor, de 3 mm. Sirve para retener analitos más grandes, y es altamente resistente a la oxidación y degradación.
- Papel de cromatografía de grado 17: tiene la capacidad de absorción y homogeneidad de la acción capilar. Papel de celulosa, fabricado principalmente por algodón. Tiene un grosor de 0,92 mm y un tamaño de poro de 17 mm.

Un estudio ha demostrado que los papeles más delgados y los diámetros de poro más pequeños tienden a disminuir el flujo a través del papel, mientras que al mismo tiempo aumentan la eficiencia de ionización y disminuye la recuperación (Bills *et al.*, 2018). Por esto, podemos afirmar que el papel más eficaz para el PS es el papel de celulosa de grado 40, ya que es el que posee menor grosor y tamaño de poro, con lo que podemos detectar analitos de menor tamaño. Esto permite que la muestra sea más uniforme sobre la superficie del papel, quedando más retenida por este tipo de papel,

permitiendo una adecuada concentración del analito. Además, ocasiona un mejor control de ionización del analito y reduce el ruido de fondo, ya que hay menos posibilidad de que se ionice el solvente o contaminantes de la muestra.

Estos tipos de sustratos de papel pueden o no, estar recubiertos de diferentes materiales, mejorando la eficacia de este en función de la muestra que se quiera determinar.

2.3.3 Materiales para el recubrimiento del papel.

Para la mejora de la absorción en el soporte de papel y en algunas ocasiones ionización de analitos, se pueden emplear diversos recubrimientos del papel con composites. Estos también favorecen la mejora de la difusión y formación de iones en comparación con un papel convencional de celulosa (Nguyen *et al.*, 2022). Entre los descritos en la literatura, podemos destacar recubrimientos en sílice, membranas de impronta molecular (MIP) y nanotubos de carbono (CNT).

- Sílice: conocido químicamente como dióxido de silicio (Figura 2.4), el cual tiene un elevado punto de fusión y dureza. Se trata de un recubrimiento altamente poroso, facilitando así la retención y concentración de los analitos. Esto produce una mejora en la sensibilidad y precisión del análisis. Se considera un recubrimiento con alta estabilidad térmica y química, siendo útil para diferentes condiciones termoquímicas (Lin *et al.*, 2020). Algunos estudios han demostrado que produce una mejora en la superficie hidrofílica, mejorando la disposición de las muestras líquidas, siendo crucial para la ionización (Silva *et al.*, 2019).

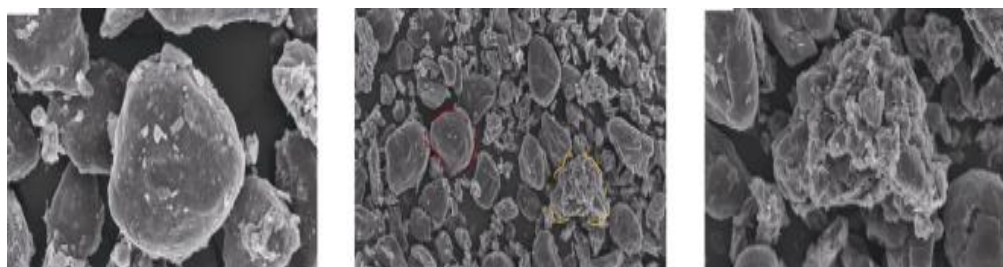


Figura 2.4. Imagen de microscopio electrónico de barrido (SEM) de sílice. Adaptación de (Wu *et al.*, 2021).

- Membranas de impronta molecular (MIP): se trata de polímero de impronta molecular (Figura 2.5), con elevada especificidad y selectividad, permitiendo la

discriminación de otros posibles interferentes en la muestra. Posee una elevada estabilidad en diversas condiciones químicas y térmicas (Sfoog *et al.*, 2022). Además, tiene una elevada sensibilidad, pudiendo detectar compuestos en concentraciones bajas (Silva *et al.*, 2019, Pereira *et al.*, 2018). Al poseer una elevada superficie específica, se ha demostrado que tienen alto poder de adsorción, ya que tienen elevada fuerza iónica, ocasionando que los analitos queden más retenidos (Díaz-Liñán *et al.*, 2019).

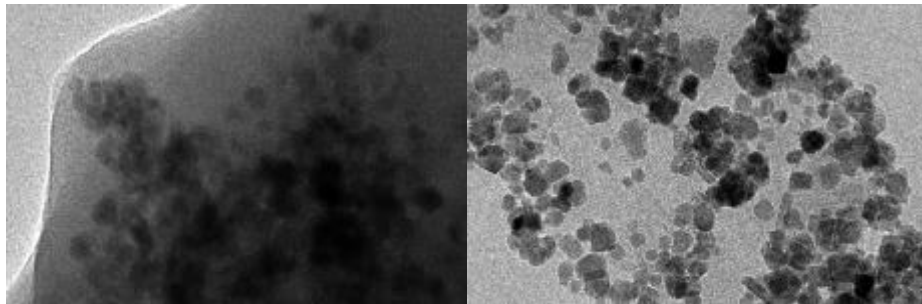


Figura 2.5. Imagen (SEM) de MIPs. Adaptación de (Zeng *et al.*, 2021).

- Nanotubos de carbono (CNT): son estructuras nanométricas (Figura 2.6.) basadas en carbono con una alta resistencia y una conductividad eléctrica y térmica mayor. Se ha demostrado que este tipo de papel posee una mayor superficie, así como un menor tamaño de poro. Varios estudios han demostrado que el papel CNT puede ampliar las capacidades de pulverización de papel y pueden ser empleados para compuesto menos polares y con punto de ebullición más altos. Este recubrimiento puede actuar como electrodo, facilitando la ionización del analito (Zheng *et al.*, 2015; Han *et al.*, 2015).

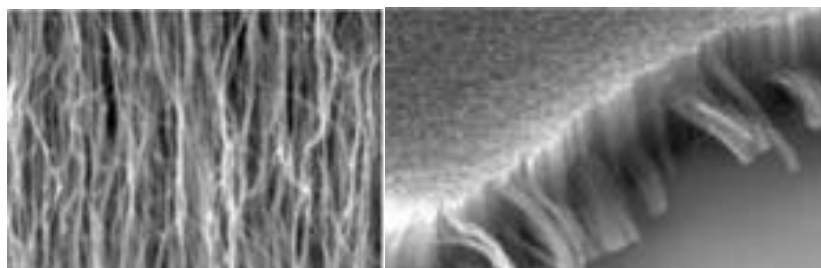


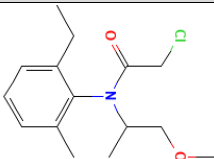
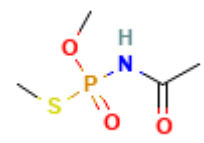
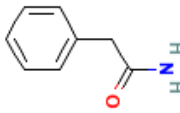
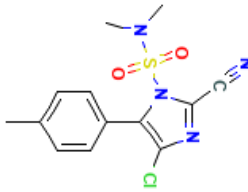
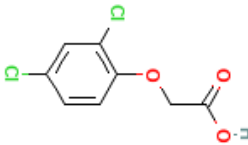
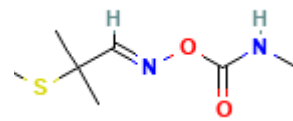
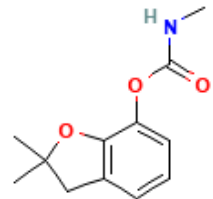
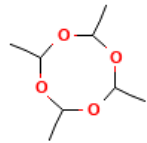
Figura 2.6. Imagen (SEM) de recubrimiento de CNTs. Adaptación de (Guzman *et al.*, 2016).

2.3.4. Compuestos analizados por PS-MS en matrices alimentarias.

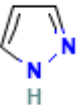
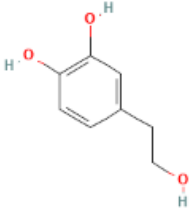
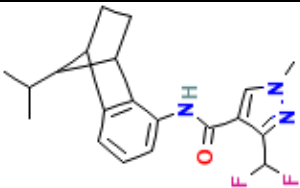
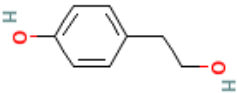
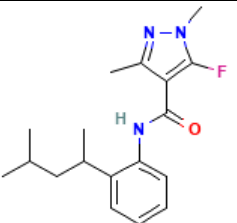
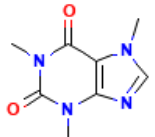
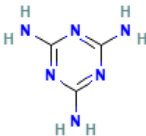
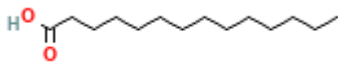
La PS-MS es una técnica muy amplia en cuanto a sus aplicaciones en el análisis alimentario, debido a su alta capacidad para la identificación y cuantificación de compuestos presentes en un alimento. Entre estos compuestos, podemos diferenciar los que se añaden a los alimentos como plaguicidas (herbicidas, fungicidas, pesticidas, insecticidas), y aditivos alimenticios (antioxidantes, adulterantes, emulsionantes); compuestos que aparecen en el alimento por la mala conservación del mismo, como micotoxinas; y los compuestos intrínsecos como ácidos grasos y vitaminas. Algunos ejemplos representativos se muestran en la Tabla 2.1.

- Plaguicidas (herbicidas, fungicidas, pesticidas, insecticidas): son productos fitosanitarios que se utilizan para mantener saludable los cultivos, evitando que estos sean destruidos por enfermedades e infecciones. Sin embargo, un mal uso de ellos, puede provocar efectos nocivos contra el ser humano o animal (EFSA, 2024).
- Aditivos alimentarios (antioxidantes, conservantes, adulterantes y emulsionantes): son sustancias que se añaden principalmente a los alimentos, con el fin de producir mejoras en el mismo, como la mejora de la inocuidad, aumentar su periodo de conservación o la modificación de sus propiedades sensoriales. Su consumo excesivo, pueden generar grandes problemas en la salud como efectos carcinogénicos, entre otros (AESAN, 2024).
- Micotoxinas: son sustancias producidas en el metabolismo secundario de especies de hongos como mohos, que pueden crecer sobre los alimentos en determinadas condiciones de humedad y temperatura. Se generan en el proceso de la cosecha o almacenamiento, y pueden generar diversos efectos como mutagenicidad (AESAN, 2024).
- Nutrientes: ácidos grasos, polifenoles y vitaminas, son sustancias con efecto nutricional o fisiológico. En concreto, los ácidos grasos, son biomoléculas de lípidos cuya principal función es servir de fuente de energía, entre otras. Sin embargo, un consumo elevado de los mismos puede provocar daños hepáticos en el ser humano o animal (EFSA, 2024).

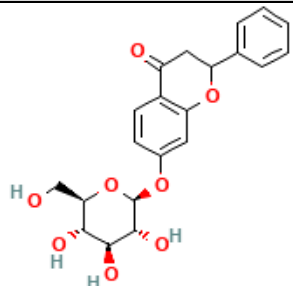
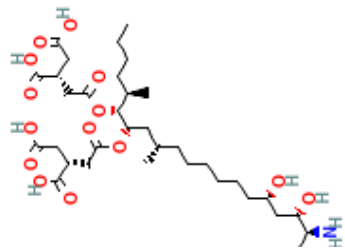
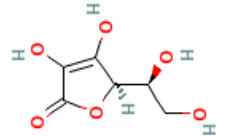
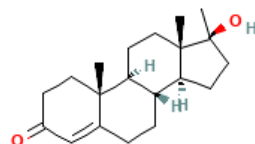
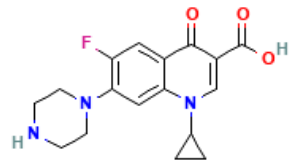
Tabla 2.1. Ejemplos representativos de algunas familias de compuestos presentes en alimentos detectados mediante PS-MS.

Compuesto	Fórmula	Estructura	Compuesto	Fórmula	Estructura
Herbicidas			Plaguicidas		
Metolacoloro	$C_{15}H_{22}ClNO_2$		Acefato	$C_4H_{10}NO_3PS$	
Bencenoacetamida	C_8H_9NO		Ciazofamida	$C_{13}H_{13}ClN_4O_2S$	
Ácido 2,4-diclorofenoxiacético	$C_8H_6Cl_2O_3$		Aldicarb	$C_7H_{14}N_2O_2S$	
Insecticidas			Pesticidas		
Carbofurano	$C_{12}H_{15}NO_3$		Metaldehído	$C_8H_{16}O_4$	

Continuación Tabla 2.1. Ejemplos representativos de algunas familias de compuestos presentes en alimentos detectados mediante PS-MS.

<i>Compuesto</i>	<i>Fórmula</i>	<i>Estructura</i>	<i>Compuesto</i>	<i>Fórmula</i>	<i>Estructura</i>
Fungicidas			Antioxidantes		
Pirazol	$C_3H_4N_2$		Hidroxitirosol	$C_8H_{10}O_3$	
Isopirazam	$C_{20}H_{23}F_2N_3O$		Tirosol	$C_8H_{10}O_2$	
Penflufeno	$C_{18}H_{24}FN_3O$		Cafeína	$C_8H_{10}N_4O_2$	
Adulterantes			Ácidos grasos		
Melamina	$C_3H_6N_6$		Ácido tetradecanoico	$C_{14}H_{28}O_2$	

Continuación Tabla 2.1. Ejemplos representativos de algunas familias de compuestos presentes en alimentos detectados mediante PS-MS.

<i>Compuesto</i>	<i>Fórmula</i>	<i>Estructura</i>	<i>Compuesto</i>	<i>Fórmula</i>	<i>Estructura</i>
Flavonoides			Emulsionantes		
Flavone-O-glucosídicos	$C_{21}H_{22}O_8$		Octadecilamina	$C_{18}H_{39}N$	
Micotoxinas			Vitaminas		
FumosinaB ₁	$C_{34}H_{59}NO_{14}$		Vitamina C	$C_6H_8O_6$	
Hormonas			Antibióticos		
Metiltestosterona	$C_{20}H_{30}O_2$		Ciprofloxacina	$C_{17}H_{18}FN_3O_3$	

Información obtenida de la base de datos PubChem (último acceso junio 2024) (PubChem, 2024).

2.3.5 Ventajas del uso del Paper-Spray para el análisis alimentario.

El uso del PS en alimentos tiene numerosas ventajas, entre ellas podemos destacar, la posibilidad de fabricar sustratos desechables y de muy bajo coste para la medida de cada muestra.

A demás, la facilidad de fabricación y posible modificación química, abarcan múltiples funciones, ya sea para favorecer la ionización, aumentar la pre-concentración o evitar posibles interferencias debido a la matriz de muestras complejas (Carrilho *et al.*, 2009; Vesel *et al.*, 2007).

Entre otras de las ventajas, podemos hacer referencia a su simplicidad y rapidez. Es una técnica directa, la cual requiere de una menor cantidad de muestra para el análisis, y evitando o al menos reduciendo de modo considerable un posible tratamiento de muestra. Es una técnica que puede emplearse para la determinación simultanea de sustancias polares y apolares, no depende de sistemas de separación previos en los cuales no pueden emplearse cualquier tipo de disolventes o fases. Presentan una elevada versatilidad, pudiéndose detectar contaminantes y pesticidas y a su vez, hacer una monitorización de los nutrientes y compuesto bioactivos de los alimentos. Al estar acoplada a la MS, presenta también una alta sensibilidad y selectividad, pudiendo detectar niveles muy bajos de analitos.

A medida que avanzan las investigaciones basadas en la generación de un spray a través de un sustrato, nacen nuevas aplicaciones y también nuevos sustratos que no están basados en papel. Hay autores que han descrito el uso de la propia matriz como sustrato para generar el spray. Malaj *et al.* (2012), han descrito la posibilidad de generar un spray directamente de la propia piel/cáscara o pulpa de una variedad de matrices como frutas y verduras (manzana, pera, limón, naranja, zanahoria, pepino). El trabajo recogido en la literatura es capaz de determinar pesticidas como acetamiprid, difenilamina o imazalil. En lugar de emplear papel, la pulpa o piel se cortaron en forma de triangulo, se agregó un estándar y se le aplicó un voltaje de 3,5 kV. Los analitos ionizados entraron dentro del MS, siendo detectados y cuantificados mediante espectrometría de masas en tándem (Malaj *et al.*, 2012). Este punto sería un avance aún más sostenible, pues no generará ningún tipo de residuo adicional, como es el papel hasta ahora descrito.

3. ANALISIS BIBLIOGRÁFICO.

Este Trabajo de Fin de Grado, se centra en la búsqueda y discusión crítica de la bibliografía acerca de la aplicación de la técnica de Paper-Spray en el análisis de alimentos. Los pasos llevados a cabo para la realización de la búsqueda bibliográfica quedan recogidos en la Figura 3.1.

Para la búsqueda bibliográfica se han usado diversas bases de datos, como *Scopus*, *ScienceDirect* y *PubChem*. *PubChem* es una base de datos de moléculas, con la cual se ha obtenido información sobre las propiedades químicas de los diferentes compuestos presentes en este trabajo. *Scopus* y *ScienceDirect* pertenecen a la editorial Elsevier, de manera que mientras *Scopus* contiene una gran variedad de publicaciones procedentes de diversas editoriales, *ScienceDirect* es un buscador que solo ofrece resultados de las revistas de Elsevier. Una vez seleccionadas las bases de datos, se procede a la búsqueda de la bibliografía por medio de pautas de inclusión y exclusión. Dentro de estas pautas, se introducen palabras relacionadas con el tema de estudio, año de publicación y tipo de publicación entre otros. Además, se incluye también el uso de operadores *booleanos*, que son un conjunto de limitado de palabras, las cuales ayudan a la búsqueda, la cual se ha realizado en inglés, ya que es considerada como la lengua principal y común en el ámbito científico.

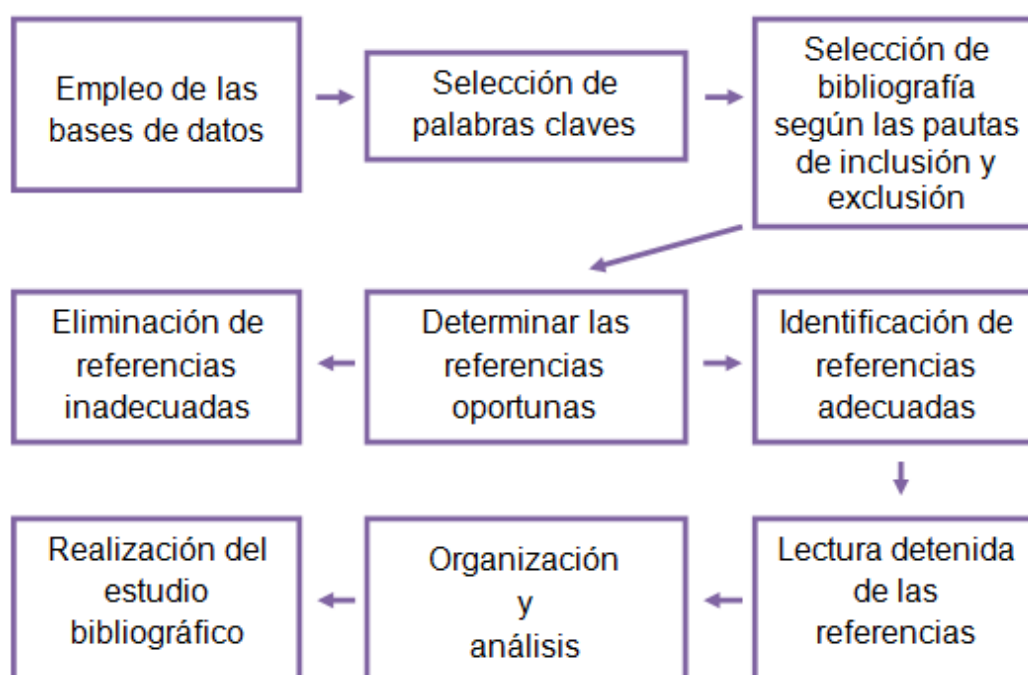


Figura 3.1. Diagrama general para la revisión bibliográfica.

De este modo, pueden seleccionarse referencias según la idoneidad que estas tengan con la búsqueda, como las que incluyan el análisis químico de los alimentos mediante la técnica de PS-MS y eliminando así referencias inoportunas como las que incluyan análisis de muestras biológicas. Una vez seleccionada las referencias adecuadas, se procede a la correcta lectura de ellas, realizando un análisis profundo y una organización de la información que nos aporta.

En este trabajo, se realizó una primera búsqueda basada en conceptos relacionados con este estudio. Las palabras claves usadas para las correspondientes bases de datos fueron: food analysis AND Paper-Spray AND Mass Spectrometry.

Inicialmente, con este simple criterio, se han encontrado 76 documentos en el caso de la base de datos de *Scopus*. Posteriormente, se filtró estos resultados en los últimos 10 años, desde el 2014 hasta 2024, obteniendo así 66 resultados. Para finalizar, se seleccionó *review* y artículo como tipo de documento, encontrándose 49 artículos y 13 *review*, es decir, un total de 62 documentos.

En la base de datos de *ScienceDirect*, con el uso de estas palabras claves y los operadores, se obtuvieron 13.128 resultados. Para simplificar la búsqueda, se hizo uso de comillas entre las diferentes bases de datos, quedando “food analysis” AND “Paper-Spray” AND “Mass Spectrometry”, obteniéndose así, 78 resultados. También, filtrando por los 10 últimos años, se encontraron 74 resultados. Se filtró por *review* y artículos encontrándose 26 artículos de revisión y 22 artículos de investigación, es decir, un total de 48 documentos.

Finalmente, con ayuda del gestor bibliográfico *Mendeley*, un software de gestión bibliográfica que permite la creación de referencias para la inserción de citas y bibliografías, se exportaron las 110 referencias obtenidas por ambas bases de datos, y se procedió a la eliminación de artículos duplicados, quedando 100 referencias en los últimos 10 años. Se filtran los artículos manualmente en función de su título completo y resumen, excluyendo aquellos en donde se emplee la MS acoplada a otra técnica o el análisis de muestras biológicas, como fluidos sanguíneos, orina, saliva, tejidos, entre otros, quedando 50 documentos. Este procedimiento queda reflejado en la Figura 3.2. A partir del número de documentos obtenidos, se consiguieron, dentro de estos, otros artículos de investigación más específicos para completar los diferentes apartados de este TFG.

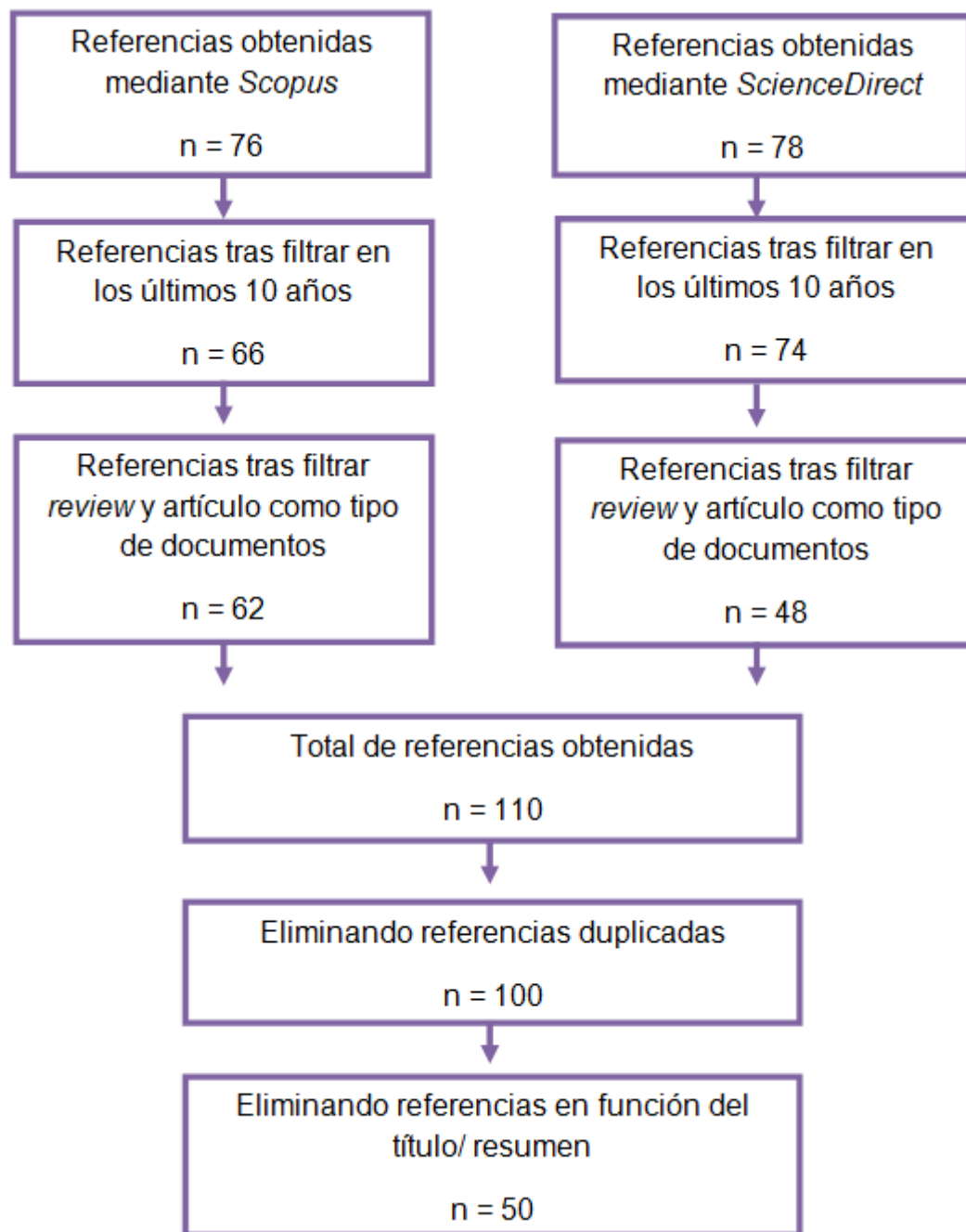


Figura 3.2. Esquema de las referencias encontradas y empleadas según las bases de datos.

4. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.

El análisis de compuestos tanto añadidos, tóxicos que aparecen en los alimentos y/o intrínsecos en el propio alimento, no es una tarea fácil de realizar debido a la complejidad en las distintas matrices alimentarias (Gallart-Ayala *et al.*, 2013).

Debido a la escasa concentración de ciertos compuestos en las matrices alimentarias y a la abundante complejidad que conlleva el análisis de muestras, son muy pocos los métodos directos incluidos en la literatura. Como se ha mencionado anteriormente, en PS-MS no es necesario tratamiento de la muestra previo a su análisis, sino que en la mayoría de los casos se deposita directamente la muestra alimentaria sobre el sustrato de papel (Evard *et al.*, 2015). Ocasionalmente, en el caso de matrices sólidas, es necesaria la realización de un tratamiento previo de la muestra, puesto que normalmente, es necesario que se encuentre en estado líquido para depositarlo sobre el papel.

Una característica a tener en cuenta para hacer uso de la técnica de PS es la adecuada elección tanto del sustrato de papel como de su recubrimiento en el caso de que sea necesario. Esto dependerá del tipo de matriz y del tipo de analito que se quiera determinar. Según los artículos seleccionados después del proceso de análisis bibliográfico descrito en la Sección 3, la mayoría de los trabajos encontrados no hacen ningún tipo de recubrimiento del papel, sólo algunos autores han descrito el uso de MIP y CNTs. Estos recubrimientos se emplean atendiendo a sus características, así como sus propiedades físico-químicas indicadas en el apartado 2.3.2. La elección de los diferentes solventes en el sustrato de papel se lleva a cabo en base a la solubilidad del analito. Este debe ser compatible con el papel utilizado, volátil para la rápida evaporación y polar o no polar en función del analito a ionizar y posteriormente detectar. Entre los más ampliamente empleados, se encuentran metanol, agua y ácido fórmico. En los siguientes apartados se discuten las aplicaciones más relevantes de la técnica PS con diferentes recubrimientos y solventes para el análisis de alimentos.

4.1 PS con sustrato de papel sin recubrimiento.

Cuando se describe la técnica PS sin recubrimiento, hacer referencia al empleo de papel sin ningún tipo de tratamiento, simplemente papel (algunos de ellos referenciados en el apartado 2.3.2). Entre las matrices más analizadas, se incluyen vegetales como

rúcula, repollo, lechuga y col rizada (Pereira *et al.*, 2016); vinos (Ren *et al.*, 2016, Bartella *et al.*, 2022), frutas como las naranjas, pomelos, uvas, limones o tomate (Evard *et al.*, 2015, Liu *et al.*, 201, Moura *et al.*, 2020), leche (Basuri *et al.*, 2019) y otro tipo de bebidas (Yu *et al.*, 2018, Mazzotti *et al.*, 2021, Taverna *et al.*, 2016), diferentes tipos de aceites (Bartella *et al.*, 2020), miel (Hassanzadeh *et al.*, 2019). En la Tabla 4.1 se encuentran recogidos los diferentes estudios realizados en estas matrices alimentarias mediante PS-MS haciendo uso de papel sin ningún tipo de tratamiento.

Los pesticidas tienen un gran impacto, y la mayoría de los trabajos incluidos en la literatura se centran en la monitorización de los residuos de los mismos en alimentos. Uno de estos estudios se basa en la detección de acefato, clorpirifos y ciazofamida en tomates (Moura *et al.*, 2020). En este caso, los autores hicieron uso de la piel de esta fruta, debido al tipo de aplicación que normalmente tiene este tipo de tratamiento con plaguicidas. En este caso se describe un tratamiento previo, aunque sencillo. La piel del tomate se centrifugó en un tubo de polipropileno, se agregó 5 ml de agua para muestras con acefato y 5 ml de acetronitrilo para muestras con clorpirifos y ciazofamida. Se filtró a vacío, y el extracto obtenido, se depositó sobre el sustrato de papel y se le agregó 0,1 % (v/v) de ácido fórmico en metanol, actuando como solvente y el cual mostró una considerable mejora de la ionización. Al mismo tiempo, se hizo una evaluación de las curvas de calibración de todos los pesticidas. Para ello, estos se disolvieron en los extractos y se diluyó en la misma matriz para obtener concentraciones que oscilaban desde 0,03 a 20 ppm. Se obtuvieron resultados favorables, como rectas de calibrado con $R^2 > 0,99$ para todos los pesticidas y unos límites de detección por debajo de los permitidos de 0,01 µl/L. Este proceso, también se llevó a cabo durante el inicio, mitad y final previos a la cosecha para la monitorización de estos analitos, en donde la fruta separó en grupos de campo y almacenados. En el caso de los de campo, se demostró que la concentración de estos analitos disminuyó en el transcurso de los días, en un 96% para el acefato, un 98% para el clorpirifos y un 76% para la ciazofamida. En el caso de frutas almacenadas, disminuyó un 87% para el acefato, 94% para el clorpirifos y 39% para la ciazofamida. Con esto se demostró la importancia de adoptar protocolos de cosecha adecuados, para evitar daños en la salud del consumidor.

En el caso del limón, al igual que en el caso descrito anteriormente, se hizo uso de su piel para la detección de imazalil y tiabenzadol (Liu *et al.*, 2010). En este caso, se agregó

metanol a un papel cromatográfico, y se limpió con este papel toda la piel del limón. Una vez secado el metanol, se cortó en triángulo el propio papel con el que se limpió, y se pulverizó sobre él una solución de 10 µl metanol/agua (1:1, v/v). Se le aplicó un potencial de 4,5 kV, generando un flujo de iones siendo detectado por MS/MS. Los resultados obtenidos se compararon con otra técnica como DESI, concluyendo que la recolección de la muestra mediante la limpieza con papel tiene una ventaja de recolectar una cantidad de muestra mayor en una superficie más grande, alcanzando unos límites de detección 1 µl/L. A su vez, posee menos preparación de muestra, por lo que su tiempo de análisis es menor.

También se ha descrito el análisis de polifenoles, que son compuestos hidrosolubles que constituyen uno de los grupos más importantes de pigmentos vegetales. Estos son de vital importancia, ya que poseen efecto antiinflamatorio, así como vasodilatador, mejorando el perfil lipídico (Quiñones *et al.*, 2012). Se encuentran en mayor concentración en alimentos como uvas o té, entre otros. Por ello, se ha aplicado la técnica PS-MS con papel sin recubrir para el análisis cualitativo de polifenoles como ácido fenólico y flavonoides, en vino (Bartella *et al.*, 2022). Los autores depositaron directamente unos 10 µL de la muestra de vino sin tratar sobre el sustrato de papel. Cada 20 segundos se agregó metanol como solvente mientras se aplicaba un voltaje de -5 kV de manera continua. De esta manera, se produjo un transporte y generación constante de iones para ser analizados por MS con analizador de trampa de iones lineal (LIT). El análisis de estos analitos se llevó a cabo también con otras técnicas directas basadas en la ionización con plasmas a baja temperatura generados por descarga de barrera dieléctrica (LTP y DBDI). Comparando los resultados, se concluyó que con ionización mediante plasma se obtiene un fondo más limpio en el espectro; sin embargo, con PS la abundancia relativa de los polifenoles fue mayor. Por otro lado, con PS se detectaron más iones, viéndose menos afectada por el efecto matriz. Con todo esto, se demostró que DBDI y LTP sirven para el análisis de compuestos menos polares, siendo más adecuado detectar la naturaleza polar de los polifenoles mediante PS.

Otras bebidas sometidas a PS-MS son las bebidas cítricas (Mazzotti *et al.*, 2021), donde se detectaron otros polifenoles como la flavanona-O-glucósido. Para ello, se le agregó 200 µl/L de un estándar interno, quercetina-3-O y β-D-glucósido a la muestra, diluyéndose con agua. Esta dilución se agregó al papel pulverizando con metanol para

producir la desorción de los iones. Se aplicó un potencial de 5,0 kV y generó un spray de iones entrando así al MS/MS para ser detectados. Estas muestras, se sometieron también a Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento con detección ultravioleta (HPLC-UV). En la comparación, se evaluó que estos polifenoles estaban sobreestimados mediante el análisis de HPLC-UV, debido a la coelución de la muestra, produciendo una escasa selectividad en este método y un mayor tiempo de análisis. Sin embargo, en el caso de PS-MS, se obtuvieron unos mayores límites de detección de 0,70 – 0,79 µl/L y se consiguió un tiempo de análisis menor.

Otro de los análisis llevados a cabo con este sustrato de papel fue la detección de antioxidantes como hidroxitirosol y tirosol totales en el aceite de oliva virgen extra (Bartella *et al.*, 2020). Para ello, se realizó un pre-tratamiento de la muestra sencillo. Se agregó 56 µl de una solución madre de 2000 ppm que contenía D2-hidroxitirosol y D2-tirosol a la muestra. Esta se mezcla se homogeneizó en el vortex y se extrajo con 4 ml de una disolución etanol en agua (7:2, v:v) mediante centrifugación. 500 µl del extracto se mezcló con 500 µl de ácido clorhídrico y se sometió a hidrólisis en un microondas. La mezcla resultante se diluyó en 5 ml de agua y se cargó en un cartucho para extracción en fase sólida (SPE), en donde primero se lavó tres veces con 5 ml de agua, y posteriormente se eluyó con 2 ml de metanol. Esta solución obtenida se depositó sobre el papel, al cual se le aplica hexano y metanol. Con la aplicación de un potencial de 5,0 kV, genera un spray que es detectado por MS/MS. Los valores de detección obtenidos, de 0,5 y 1,6 µl/L respectivamente, indicaron que este método proporciona una buena sensibilidad para la determinación de este analito. La linealidad se estudió con las curvas de calibrado obtenidas en el análisis de cinco soluciones de hidroxitirosol y tirosol con un rango de concentración de 2,5-20 ppm. Los resultados obtenidos fueron lineales con un coeficiente de correlación mayor a 0,998.

La melamina puede estar presente en los alimentos como consecuencia de su uso en los materiales de contacto en los alimentos. Sin embargo, en 2008 se produjo una alerta mundial por los altos niveles encontrados en productos lácteos destinados a la alimentación especial de lactantes y niños pequeños procedentes de China. Estos altos niveles de melamina generan cristales en las vías urinarias y se dieron casos de muertes de lactantes a consecuencia del consumo de estos alimentos (AESAN, 2024). Es por esto que se considera de vital importancia el análisis de estos alimentos. Para detectar la melamina en leche mediante MS de ionización por pulverización de papel

de pre-concentración súper hidrófoba (SHPPSI-MS) se añadió una concentración de melamina de 630 ppm sobre una muestra de leche sin este analito (Basuri *et al.*, 2019). Una vez realizada la pre-concentración de la muestra, se agrega sobre el papel de celulosa y se le aplica metanol como solvente. Al aplicar un rango de potencial de 3-5 kV, generó un gas siendo detectado por MS. Se compararon los espectros obtenidos en el análisis de la leche con y sin la adicción de melanina, concluyendo que la melamina detectada es 200 µg/kg en la leche adulterada. A demás, se vio, que esta técnica necesitaba de menos volumen de muestra e implicaba una fácil preparación de la muestra, así como un menor tiempo de análisis, ya que la muestra no requería de pre-tratamiento como en el caso comentado anteriormente.

Tabla 4.1. Análisis de compuestos en alimentos mediante métodos basados en PS-MS con sustrato de celulosa.

Sustrato de papel	Analito	Matriz	Solvente / Voltaje	Instrumentación	Límite de detección	Referencia
Celulosa	Acefato, clorpirifos y ciazofamida	Piel de tomate	MeOH (0,1% FA) / 4 kV	MS/MS	0,01 µl/L	(Moura <i>et al.</i> , 2020)
Celulosa	Pirazol, isopirazam, fluxapiraxad, penflufen y piraclostrobina	Vinos enriquecidos	MeOH / 2,5 kV	QqQ-MS/MS	0,002 µl/L	(Ren <i>et al.</i> , 2016)
Celulosa	Beta-cipermetrina	Zumo de manzana	MeOH (0,1% FA) / 3,5 kV	QTRAP-MS/MS	0,03 µl/L	(Yang <i>et al.</i> , 2015)
Celulosa	Aldicarb, imazalil, metiocarb, metomilo, y tiabendazol	Naranjas, pomelos, uvas, limones	H ₂ O (0,1% FA): ACN (2:8, v:v) / 3,2 kV	QqQ-MS / MS	< 0,005 µl/L	(Evard <i>et al.</i> , 2015)
Celulosa	Imazalil y Tiabendazol	Piel del limón	MeOH:H ₂ O (1:1, v:v) / 4,5 kV	MS/MS	1 µl/L	(Liu <i>et al.</i> , 2010)
Celulosa	Melamina	Leche adulterada	MeOH/ 3-5 kV	SHPPSI-MS	200 µg/kg	(Basuri <i>et al.</i> , 2019)
Celulosa	Ácido benzoico y Vitamina C	Bebidas	ACN :H ₂ O (9:1, v:v) / -3.0 kV	MS/MS	0.1 µg/mL 0.3 µg/mL	(Yu <i>et al.</i> , 2018)

Continuación Tabla 4.1. Análisis de compuestos en alimentos mediante sustrato de celulosa.

Sustrato de papel	Analito	Matriz	Solvente / Voltaje	Instrumentación	Límite de detección	Referencia
Celulosa	Atracina, diuron y metomilo	Rúcula, repollo, lechuga y col rizada	MeOH (0,1 % FA) / 3,5 kV	Q-Orbitrap-MS / MS	0,00123–0,025 µl/L	(Pereira <i>et al.</i> , 2016)
Celulosa	Ácido fenólico y flavonoides	Vino	MeOH / -5 kV	LIT-MS	-	(Bartella <i>et al.</i> , 2022)
Celulosa	Hidroxitirosol y tirosol	Aceite de oliva virgen extra	Hexano y MeOH / -5 kV	MS/MS	Hidroxitirosol: 0,5 µl/L Tirosol: 1,6 µl/L	(Bartella <i>et al.</i> , 2020)
Celulosa	Flavanone-O-glucósidos	Bebidas cítricas	MeOH / 5 kV	QqQ-MS/MS	0,70 – 0,79 µl/L	(Mazzotti <i>et al.</i> , 2021)
Celulosa	Cafeína	Bebidas gaseosas	MeOH/ 5 kV	MS/MS	0,0016 µl/L	(Taverna <i>et al.</i> , 2016)
kV = Kilovoltios LIT= Trampa de Iones Lineal MS= Espectrometría de Masas IT= Trampa de Iones QqQ= Triple Cuadripolo				QTRAP= Triple Cuadripolo con Trampa de Iones Lineal Q-Orbitrap= Cuadripolo-Orbitrap MS/MS= Espectrometría de Masas en Tandem SHPPSI= Espectrometría de Masas de ionización por pulverización de papel de preconcentración superhidrófoba		
FA= Ácido Fórmico MeOH= Metanol				ACN= Acetonitrilo		

4.2 PS con recubrimiento de sílice.

Las matrices más analizadas mediante PS con recubrimiento de sílice han sido matrices complejas como leche (Wang *et al.*, 2015) y muestras de carne (Zhang *et al.*, 2012).

El sustrato de papel recubierto por sílice se basa en un papel de celulosa recubierto por partículas de sílice. Este se puede preparar *in-situ*, quedando reflejado en la Figura 4.1. Se suspenden partículas de sílice en agua desionizada con almidón de maíz cuya función es actuar como agente adhesivo. Esta suspensión se filtra por un embudo a vacío directamente sobre el papel de filtro. Finalmente se aplica alcohol para eliminar el agua restante. Este papel también se puede adquirir comercialmente. Sin embargo, diversos estudios han demostrado que el papel preparado *in-situ* posee mejores propiedades, como resistencia térmica y capacidad de absorción, además de ser más económico (Wang *et al.*, 2015).

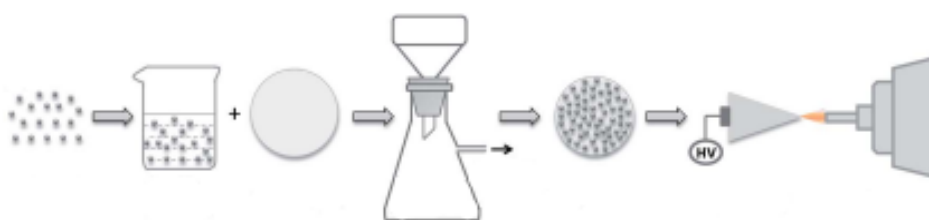


Figura 4.1. Proceso de preparación de papel recubierto de sílice. Adaptación de (Zheng *et al.*, 2015).

Una vez obtenido el papel recubierto, ha sido de interés en varias aplicaciones alimentarias, todas ellas incluidas en la Tabla 4.2.

Dentro de sus aplicaciones, la más empleada es el análisis de pesticidas. Un analito común en la literatura es el metolacloro. El metolacloro se trata de un compuesto químico usado como herbicida. Hasta el 2023 ha estado permitido su uso, sin embargo, en 2024, la EFSA lo ha retirado según establece en el Reglamento de Ejecución (UE) 2024/20. Se ha detectado un alto riesgo de toxicidad de esta sustancia activa, ya que se puede encontrar en las aguas subterráneas y suelos y por consecuencia en algunos animales y alimentos (EFSA, 2023).

El análisis del metolacloro, acetocloro, alacloro, napropamida, pretilacloro, butacloro y bencenoacetamida en la leche tratada (Wang *et al.*, 2015) se llevó a cabo preparando soluciones de dichos pesticidas por dilución en metanol/agua (1:1, v:v), con una concentración de 0.001µg/mL. Estas soluciones se agregaron a muestras de leche,

pipeteando 5 µl del estándar en 495 µl de leche con una concentración de pesticida de 10000 µl/L. Las muestras de leche con menor concentración de pesticidas se prepararon con una serie de diluciones, cada una con un pequeño volumen de muestra de pesticida. 2 µl de estas muestras de leche se agregaron sobre diferentes tipos de papeles, como el papel recubierto de sílice, papel sin recubrir y papel recubierto comprado comercialmente. Se pulverizó metanol/agua (1:1, v/v) y al aplicarle un voltaje de 3,5 kV produjo un spray con los analitos, siendo detectado por MS/MS. Al papel preparado recubierto de sílice se le agregó almidón de maíz modificado como agente adhesivo de la muestra a este sustrato. Esto demostró una mejora de 2 veces en el rendimiento óptimo y en la sensibilidad del análisis del metolaclo. Además, la señal este herbicida junto con el de alacloro, son 5,7 y 11,3 veces mayores con el papel recubierto de sílice preparado que con el comprado. Los límites de detección obtenidos utilizando el papel preparado recubierto de sílice fueron de 3,3 – 33 µl/L, 2 a 10 veces mayores que los obtenidos con el papel comprado o papel sin recubrimiento, demostrando que el papel recubierto de sílice preparado es mejor para obtener una alta sensibilidad de pesticidas en leche, ya que estos son analitos se retienen mejor en el sustrato de papel en lugar de penetrar a través de este.

Con respecto a las matrices de carne, se han descrito la determinación de aditivos alimentarios. Estos son compuestos que se encuentran hoy en día en la mayoría de los alimentos, no sólo para conservar, sino también para aportar un aspecto más apetitoso para el consumidor. Sin embargo, un mal uso de ellos puede generar grandes riesgos en la seguridad alimentaria y el clenbuteroles uno de ellos. Zang y colaboradores realizan un análisis cuantitativo del mismo (Zhang *et al.*, 2012). Para ello se procedió a la homogenización de la muestra de carne de cerdo y se depositó sobre el sustrato de papel, se empleó una solución de metanol en agua (9:1, v:v) y se generó el espray tras aplicarle 3,5 kV. Los resultados obtenidos demostraron la dependencia del clenbuterol con la del mismo en la muestra. A su vez, se obtuvo una relación lineal de $R^2 > 0,998$, y un límite de detección de 1,0 µg/kg, entrando dentro del rango establecido por el Reglamento (UE) N° 37/2010, en donde, el límite máximo establecido es de 1000 – 5000 µg/kg, por lo que demuestra que se trata de un método rápido y eficaz para la determinación de este compuesto en carne.

Tabla 4.2. Análisis de compuestos en alimentos mediante sustrato recubierto de sílice.

Sustrato de papel	Analito	Matriz	Solvente / Voltaje	Instrumentación	Límite de detección	Referencia
Celulosa recubierto de sílice	Metolacoloro	Leche tratada	MeOH:H ₂ O (8:2v:v) / 3,5 kV	MS/MS	3,3 µl/L	(Wang <i>et al.</i> , 2015)
Celulosa recubierto de sílice	Acetocloro, alacoloro, napropamida, pretilacoloro, butacoloro y bencenoacetamida	Leche tratada	MeOH:H ₂ O (8:2v:v) / 3,5 kV	QqQ-MS / MS	3,3 – 33,0 µl/L	(Wang <i>et al.</i> , 2015)
Celulosa recubierto de sílice	Clenbuterol	Carne	MeOH:H ₂ O (9:1 v:v) / 3,5 kV	MS / MS	1,0 µg/kg	(Zhang <i>et al.</i> , 2012)
kV = Kilovoltios				MS/MS= Espectrómetro de masas tandem		
MS= Espectrometría de Masas				QqQ= Triple Cuádrupolo		
MeOH= Metanol						

4.3 PS con recubrimiento de polímeros de impronta molecular (MIP).

Con PS recubierto con polímeros de impronta molecular (MIP) se han analizado diferentes matrices, entre ellas: frutas como manzana, plátanos y uvas (Pereira *et al.*, 2018), maíz (Ramalho *et al.*, 2022), y leche (Li *et al.*, 2017).

Los MIP son materiales selectivos con sitios de reconocimiento generados hacia una molécula de control o un análogo (Zink *et al.*, 2018; Samah *et al.*, 2018). Este se puede preparar *in-situ*, tratándose de una polimerización de monómeros, en donde se disuelven con un solvente adecuado. A continuación, se agrega el analito de interés y, una vez disuelto, se deposita sobre un sustrato de papel (papel de filtro, papel de celulosa) y se deja evaporar el solvente. Finalmente se lava con algún solvente como metanol y agua, y retira el analito, dejando así unos huecos, denominados espacios de unión, en donde se produce la captura selectiva del analito durante el análisis. Esto queda representado en la Figura 4.2.

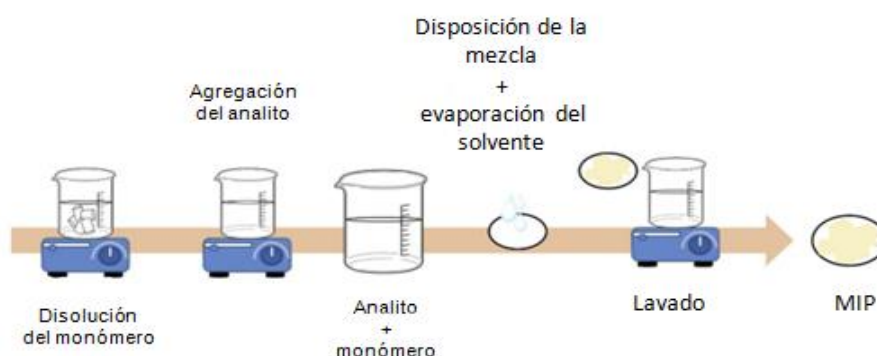


Figura 4.2. Preparación de un papel recubierto con membranas de impronta molecular. Adaptación de (Díaz-Liñan *et al.*, 2019).

Una vez generado el recubrimiento de papel, ha generado, una gran importancia en el análisis de algunos analitos en alimentos. Algunos de ellos, quedan recogidos en la Tabla 4.3.

Entre estos, está el análisis de plaguicidas como el caso de herbicidas. En el análisis del ácido 2,4-diclorofenoxiacético en frutas (Pereira *et al.*, 2018), los autores optaron por un pre-tratamiento de la muestra, en donde 15 g de las diversas muestras como manzanas, plátanos y uvas, se centrifugaron en tubos de polipropileno, con metanol en porción 1:1, p/v. Estas mezclas se filtraron a vacío, y en el extracto obtenido se sumergió el sustrato de papel recubierto por MIP. Después se procedió a lavar el papel

con agua descalcificada para la eliminación del componente de la matriz en la matriz polimérica. Se dejó secar, y se le aplicó 15 µL de metanol con 0,1% de FA para los análisis del modo de ionización positiva y con 0,1% de NH₄OH para el modo de ionización negativa. Al aplicarle 3,5kV, generó un spray de iones con el analito de interés, detectándose con el Q-Orbitrap-MS. Los límites de detección obtenidos fueron para la manzana, 0,60 µL/L plátano, 0,31 µL/L y para la uva, 0,17 µL/L lo que demostró que la técnica PS-MS con MIP, genera una superficie químicamente selectiva para el análisis de estos analitos. Además, se obtuvieron rectas de calibrado lineales, así como un tiempo de análisis de segundos, ya que las muestras no necesitan casi tratamiento.

Otro de los análisis llevados a cabo con este recubrimiento, es la determinación de micotoxinas en alimentos. Su análisis es de especial interés, ya que se encuentran en mohos y por consecuencia, con el paso del tiempo, en alimentos. En el análisis de la Fumosina B1 en maíz (Ramalho *et al.*, 2020) se llevó a cabo una extracción de la matriz mediante una dilución de metanol en agua (8:2, v/v) en un tubo de centrifuga de polipropileno. El sustrato de papel MIP se sumergió en el extracto del mismo modo que lo comentado anteriormente, aplicando metanol 0,1% FA para favorecer el proceso de ionización y con la ayuda la aplicación de un voltaje de 4 kV, se generó un spray de iones, detectado por MS/MS. Este mismo análisis, se llevó a cabo con papel sin recubrimiento. El límite de detección obtenido con MIP, de 0,0004 µL/L demostró que el empleo de este recubrimiento genera una mayor sensibilidad y selectividad, así como una mejor precisión y exactitud. Además, el tiempo de análisis es menor.

Sin embargo, aún se tienen que realizar estudios para la mejora de este tipo de recubrimiento, así como la elección del solvente, ya que tiene una importante función de eliminar el componente de la matriz, reduciendo la interacción no específica en los sitios de unión, haciendo que el analito se retenga mejor. Esto puede ocasionar mejoras en los LOD, precisión y exactitud (Pereira *et al.*, 2018).

Tabla 4.3. Análisis de compuestos en alimentos mediante sustrato recubierto de membrana de impronta molecular (MIP).

Sustrato de papel	Analito	Matriz	Solvente / Voltaje	Instrumentación	Límite de detección	Referencia
Celulosa recubierto de MIP	Acido 2,4-diclorofenoxiacetico	Manzanas, plátanos y uvas	MeOH (0,1% FA para ionización positiva; 0,1 % de NH ₄ OH para ionización negativa) / 3,5 kV	QOrbitrap-MS/MS	Manzana: 0,60 µl/L Plátano: 0,31 µl/L Uvas: 0,17 µl/L	(Pereira <i>et al.</i> , 2018)
Celulosa recubierto de MIP	Fumosina B1	Maíz	MeOH (0,1 % FA) / 4 kV	MS/MS	0,0004 µl/L	(Ramalho <i>et al.</i> , 2022)
Celulosa recubierto de MIP	Ciprofloxacina	Leche	MeOH (0,1 % FA) / 4,5 kV	HPLC	0,02 µl/L	(Li <i>et al.</i> , 2017)
kV = Kilovoltios MS= Espectrometría de Masas				Q-Orbitrap= Trampa de Orbitales Híbrida Triple Cuádrupolo HPLC= Cromatografía Líquida de Alta Resolución		
FA= Ácido Fórmico MeOH= Metanol				MIP= Impronta Molecular		

4.4 PS con recubrimiento de nanotubos de carbono (CNT).

Por último, con PS recubierto de nanotubos de carbono (CNT) se han descrito de manera efectiva, para la determinación de compuestos en matrices como la naranja (Narayanan *et al.*, 2014), y el té (Zhang *et al.*, 2012).

El nanotubo de carbono son láminas de grafeno enrolladas sobre un mismo eje, formando una estructura cilíndrica. Para la preparación de este sustrato de papel, se dispersa el CNT en un líquido portador (agua) y mediante mezclado mecánico o tratamiento químico, se obtiene una suspensión de él. Con ayuda de una solución de polímeros se facilita la unión de los CNT sobre el papel sumergiéndolo en esta solución. Para su secado, se hace uso de calor o técnicas de secado al vacío (Ma *et al.*, 2022). Una vez obtenido el recubrimiento de CNT, ha sido de gran utilidad para el análisis alimenticio. Algunos ejemplos quedan recogidos en la Tabla 4.4.

El carbofurano se trata de unos de los pesticidas más tóxicos. Se usa para el control de plagas de insectos en diversos cultivos como naranjos, maíz, patatas. Su uso está muy delimitado en los últimos años según establece el Reglamento (UE) 2015/399 de la Comisión (AESAN, 2015). Debido a esto, su análisis es de relevante importancia para asegurar la salud mundial. Con PS se puede detectar este analito en la superficie de la naranja (Narayanan *et al.*, 2014). Para ello, se aplicó sobre la piel de la naranja este pesticida en 50 ppm, para así pasar sobre ella el papel CNT. Se le aplica como solvente una solución de metanol en agua (1:1, v:v). Al aplicarle 3 kV, produjo así un flujo de iones, siendo detectados por el LIT-MS. Con eso se demostró que la cantidad de la muestra en la superficie de la fruta durante el frotamiento puede ser menor que la cantidad aplicada, y por eso, el límite de detección es mucho menor que la concentración de la muestra aplicada.

Algunos de los compuestos alimenticios como el caso de hormonas, vitaminas y ácidos grasos, se encuentran en alimentos, ya que tiene funciones importantes sobre el ser humano. Sin embargo, un exceso de estos, pueden generar algunos problemas como los comentados en el apartado 2.3.4. En otro trabajo, los investigadores analizaron ácido tetradecanoico, octadecilamina y metiltestosterona en el té (Zhang *et al.*, 2012). En este caso se utilizó el grafito del lápiz para recubrir el sustrato de papel. Previo a ello, se hicieron pruebas usando diferentes tipos de lápices y diferentes marcas, obteniéndose resultados similares en ambos casos. El recubrimiento se hizo sobre el

papel de celulosa, en el que con la punta de un lápiz se pintó todo el sustrato hasta dejarlo tintado por completo. Para el análisis, se extrajeron con ayuda de ultrasonidos, hojas de té, con 10 ml de una solución de metanol en agua (1:1, v/v). El extracto se filtró, se concentró y se aplicó sobre el papel. Se agregó como solvente, una dilución de metanol en agua (7:3, v/v), de manera que aplicando un voltaje de -0,5 kV, se generó un spray con los analitos, siendo captado por el LIT- MS. Este análisis se comparó entre Espectrometría de masas de ionización/desorción laser asistida por superficie (SALDI-MS) y MS de análisis directo en tiempo real (DART-MS). Se detectó que en el caso del metiltestosterona, podía ser detectado por SALDI-MS a temperatura ambiental, obteniendo buenos resultados. Sin embargo, con DART-MS no se detectó a temperatura ambiente, si no que requirió de un aumento de la temperatura a 200°C. Con esto se concluyó que con SALDI-MS, se puede detectar iones a temperatura ambiente, evitando así la posibilidad de dañar las muestras con el calor. Además, con el empleo de grafito ambiental, se obtuvo una detección de alta sensibilidad sin ninguna síntesis complicada. Se produjo una mejora de la señal del MS, proporcionando una gran disponibilidad para simplificar el proceso de análisis.

Tabla 4.4. Análisis de compuestos en alimentos mediante sustrato recubierto de nanotubos de carbono (CNT).

Sustrato de papel	Analito	Matriz	Solvente / Voltaje	Instrumentación	Límite de detección	Referencia
Celulosa recubierta de CNT	Carbofurano	Superficie de la naranja	MeOH:H ₂ O (1:1, v:v) / 3 kV	LIT-MS / MS	<<50 µl/L	(Narayan an <i>et al.</i> , 2014)
Celulosa recubierta de CNT (grafito)	Ácido tetradecanoico, octadecilamina y metiltestosterona	Té	MeOH:H ₂ O (7:3, v:v) / -0,5 kV	LIT - MS	-	(Zhang <i>et al.</i> , 2012).
kV = Kilovoltios						
LIT= Trampa de Iones Linear						
MS= Espectrometría de Masas						
MeOH= Metanol						

5. CONCLUSIÓN.

En este Trabajo Fin de Grado se ha realizado una revisión bibliográfica sobre la combinación de la técnica de spray por sustrato de papel (Paper-Spray) con instrumentación de MS para aplicaciones analíticas en alimentos. Es una técnica sencilla que proporciona un rápido control de calidad de los alimentos, así como un buen rendimiento analítico, que tradicionalmente se logra mediante técnicas más complejas, costosas y exigentes, como GC y LC. Además, destaca por su menor tiempo de análisis, debido a que normalmente no se necesita pre-tratamiento de la muestra, así como por su simplicidad y bajo coste, ya que no se requiere del empleo de gran cantidad de disolventes, ocasionando así un menor impacto medioambiental y siendo más sostenible.

Se han descrito diferentes metodologías con y sin recubrimiento del sustrato de papel usado en PS, como MIPs y CNTs, los cuales ofrecen ciertas ventajas para la determinación de diversos analitos en una gran variedad de matrices alimentarias. Mediante el empleo de los distintos recubrimientos, se han obtenido resultados con un alto nivel de sensibilidad y selectividad, así como unos buenos límites de detección. Sin embargo, se ha deducido, que el uso de papel con recubrimiento de MIP reduce de forma drástica los límites de detección y el tiempo de análisis de los analitos en las diferentes matrices alimentarias, en diferencia con el papel sin recubrir. No obstante, con el uso de papel recubierto de CNT se obtuvo una reducción en el voltaje aplicado, así como una mejora en la sensibilidad y en la señal obtenida en MS, haciendo que se trate una mejor opción para el análisis alimentario.

Actualmente, hay investigaciones en donde se ha introducido la automatización de la PS-MS, conllevando a otra reducción del tiempo de análisis. También se están desarrollando dispositivos más pequeños y portátiles que permiten el análisis *in-situ* de las muestras químicas. Además, como tendencia de hoy en día, se ha hecho uso de la PS-MS para el análisis de muestras biológicas y medioambientales las cuales han demostrado unos buenos resultados. Sin embargo, se debe seguir investigando, realizando estudios más profundos sobre ella para la mejora del rendimiento analítico, sensibilidad y precisión.

6. BIBLIOGRAFÍA.

- Abdollahdokht, D., Gao, Y., Faramarz, S., Poustforoosh, A., Abbasi, M., Asadikaram, G., & Nematollahi, M. H. (2022). Conventional agrochemicals towards nano-biopesticides: an overview on recent advances. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/s40538-021-00281-0>
- Adahchour, M.; Wiewel, J.; Verdel, R.; Vreuls, R. J. J.; Brinkman, U. A. T. Improved Determination of Flavour Compounds in Butter by Solid-Phase (Micro)Extraction and Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography. *J. Chromatogr. A* 2005, 1086, 99–106. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.05.094>
- AESAN, (2024). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre la presencia y seguridad de contaminantes en los alimentos. Recuperado de: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/detalle/contaminantes.html (último acceso junio 2024).
- AESAN. (2024). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre aditivos alimenticios. Recuperado de: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/para_el_consumidor/ampliacion/aditivos.html (último acceso junio 2024).
- AESAN. (2024). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre micotoxinas. Recuperado de: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/subdetalle/micotoxinas.html (último acceso junio 2024).
- AESAN. (2024). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre seguridad alimentaria. Recuperado de: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/ampliacion/melamina.html (último acceso junio 2024).
- AESAN. (2024). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre noticias y actualizaciones. Recuperado de: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/noticias_y_actualizaciones/novedades_legislativas/2015/Reglamento_UE_2015_399.html (último acceso junio 2024).

- Aryal, S. (2022). *Mass Spectrometry (MS) principle, working, parts, steps, uses*. Microbe Notes; Sagar Aryal. <https://microbenotes.com/mass-spectrometry-ms-principle-working-instrumentation-steps-applications/>
- Awad, H., Khamis, M. M., & El-Aneed, A. (2015). Mass spectrometry, review of the basics: Ionization. *Applied Spectroscopy. Reviews*, 50(2), 158–175. <https://doi.org/10.1080/05704928.2014.954046>
- Bartella, L., Bouza, M., Rocío-Bautista, P., Di Donna, L., García-Reyes, J. F., & Molina-Díaz, A. (2022). Direct wine profiling by mass spectrometry (MS): A comparison of different ambient MS approaches. *Microchemical Journal, Devoted to the Application of Microtechniques in All Branches of Science*, 179(107479), 107479. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107479>
- Bartella, L., Mazzotti, F., Sindona, G., Napoli, A., & Di Donna, L. (2020). Rapid determination of the free and total hydroxytyrosol and tyrosol content in extra virgin olive oil by stable isotope dilution analysis and paper spray tandem mass spectrometry. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 136(111110), 111110. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.111110>
- Basuri, P., Baidya, A., & Pradeep, T. (2019). Sub-parts-per-trillion level detection of analytes by superhydrophobic preconcentration paper spray ionization mass spectrometry (SHPPSI MS). *Analytical Chemistry*, 91(11), 7118–7124. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b00144>
- Bills, B. J., Kinkade, J., Ren, G., & Manicke, N. E. (2018). The impacts of paper properties on matrix effects during paper spray mass spectrometry analysis of prescription drugs, fentanyl and synthetic cannabinoids. *Forensic Chemistry (Amsterdam, Netherlands)*, 11, 15–22. <https://doi.org/10.1016/j.forc.2018.08.002>
- Blanco-Zubiaguirre, L., Zabaleta, I., Usobiaga, A., Prieto, A., Olivares, M., Zuloaga, O., & Elizalde, M. P. (2020). Target and suspect screening of substances liable to migrate from food contact paper and cardboard materials using liquid chromatography-high resolution tandem mass spectrometry. *Talanta*, 208(120394), 120394. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120394>

- Carrilho, E., Phillips, S. T., Vella, S. J., Martinez, A. W., & Whitesides, G. M. (2009). Paper microzoneplates. *Analytical Chemistry*, 81(15), 5990–5998. <https://doi.org/10.1021/ac900847g>
- Darie-Ion, L., Whitham, D., Jayathirtha, M., Rai, Y., Neagu, A.-N., Darie, C. C., & Petre, B. A. (2022). Applications of MALDI-MS/MS-based proteomics in biomedical research. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(19), 6196. <https://doi.org/10.3390/molecules27196196>
- Di Stefano, V., Avellone, G., Bongiorno, D., Cunsolo, V., Muccilli, V., Sforza, S., Dossena, A., Drahos, L., & Vékey, K. (2012). Applications of liquid chromatography–mass spectrometry for food analysis. *Journal of Chromatography A*, 1259, 74–85. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.04.023>
- Díaz-Liñán, M. C., López-Lorente, A. I., Cárdenas, S., & Lucena, R. (2019). Molecularly imprinted paper-based analytical device obtained by a polymerization-free synthesis. *Sensors and Actuators. B, Chemical*, 287, 138–146. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.02.048>
- EFSA. (2024). Complementos alimenticios. Recuperado de: <https://www.efsa.europa.eu/es/topics/topic/food-supplements> (último acceso, junio 2024).
- EFSA. (2024). Plaguicidas. Recuperado de: <https://www.efsa.europa.eu/es/topics/topic/pesticides> (último acceso junio 2024).
- Evard, H., Kruve, A., Lõhmus, R., & Leito, I. (2015). Paper spray ionization mass spectrometry: Study of a method for fast-screening analysis of pesticides in fruits and vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis: An Official Publication of the United Nations University, International Network of Food Data Systems*, 41, 221–225.
- Fakhlaei, R., Babadi, A. A., Sun, C., Ariffin, N. M., Khatib, A., Selamat, J., & Xiaobo, Z. (2024). Application, challenges and future prospects of recent nondestructive techniques based on the electromagnetic spectrum in food quality and safety. *Food Chemistry*, 441(138402), 138402. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.138402>

- FAO (2024). Organización de las naciones unidas para la alimentación y agricultura. Recuperado de: <https://www.fao.org/home/es> (último acceso junio 2024).
- Gallart-Ayala, H., Núñez, O., & Lucci, P. (2013). Recent advances in LC-MS analysis of food-packaging contaminants. *Trends in Analytical Chemistry: TRAC*, 42, 99–124. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.09.017>
- Gallo, M., & Ferranti, P. (2016). The evolution of analytical chemistry methods in foodomics. *Journal of Chromatography A*, 1428, 3–15. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.09.007>
- Ghosh, C., Shinde, C. P., & Chakraborty, B. S. (2012). Influence of ionization source design on matrix effects during LC–ESI-MS/MS analysis. *Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 893–894, 193–200. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2012.03.012>
- Gogus, F.; Ozel, M. Z.; Lewis, A. C. Analysis of the Volatile Components of Cheddar Cheese by Direct Thermal Desorption-GCx GCTOF/MS. *J. Sep. Sci.* 2006, 29, 1217–1222 <https://doi.org/10.1002/jssc.200500400>.
- Goto-Inoue, N., Sato, T., Morisasa, M., Igarashi, Y., & Mori, T. (2019). Characterization of metabolite compositions in wild and farmed red sea bream (*Pagrus major*) using mass spectrometry imaging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(25), 7197–7203. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b03205>
- Goto-Inoue, N.; Morisasa, M.; Machida, K.; Furuichi, Y.; Fujii, N.L.; Miura, S.; Mori, T. Characterization of myofiber-type-specific molecules using mass spectrometry imaging. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2019, 33, 185–192
- Gourgiotis, A., Manhès, G., Martelat, B., & Isnard, H. (2017). Deconvolution of the isotopic drift in LC-MC-ICPMS coupling: a new tool for studying isotope fractionation induced by sample introduction techniques. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 32(7), 1428–1434. <https://doi.org/10.1039/c6ja00418k>
- Gu, H., Hu, L., Dong, Y., Chen, Q., Wei, Z., Lv, R., & Zhou, Q. (2024). Evolving trends in fluorescence spectroscopy techniques for food quality and safety: A review. *Journal of Food Composition and Analysis: An Official Publication of the United Nations University, International Network of Food Data Systems*, 131(106212), 106212. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2024.106212>

- Guzman de Villoria, R., Hallander, P., Ydrefors, L., Nordin, P., & Wardle, B. L. (2016). In-plane strength enhancement of laminated composites via aligned carbon nanotube interlaminar reinforcement. *Composites Science and Technology*, 133, 33–39. <https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2016.07.006>
- Han, F., Yang, Y., Ouyang, J., & Na, N. (2015). Direct analysis of in-gel proteins by carbon nanotubes-modified paper spray ambient mass spectrometry. *The Analyst*, 140(3), 710–715. <https://doi.org/10.1039/c4an01688b>
- Hassanzadeh, J., Al Lawati, H. A. J., & Al Lawati, I. (2019). Metal–organic framework loaded by rhodamine B as a novel chemiluminescence system for the paper-based analytical devices and its application for total phenolic content determination in food samples. *Analytical Chemistry*, 91(16), 10631–10639. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b01862>
- Holčapek, M., Jirásko, R., & Lísa, M. (2012). Recent developments in liquid chromatography–mass spectrometry and related techniques. *Journal of Chromatography A*, 1259, 3–15. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.08.072>
- Huang, M.-Z., Cheng, S.-C., Cho, Y.-T., & Shiea, J. (2011). Ambient ionization mass spectrometry: A tutorial. *Analytical Chimical Acta*, 702(1), 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.06.017>
- Kyriacou, B.; Moore, K.L.; Paterson, D.; de Jonge, M.D.; Howard, D.L.; Stangoulis, J.; Tester, M.; Lombi, E.; Johnson, A.A.T. Localization of iron in rice grain using synchrotron X-ray fluorescence microscopy and high resolution secondary ion mass spectrometry. *J. Cereal Sci.* 2014, 59, 173–180.
- Li, T., Fan, L., Wang, Y., Huang, X., Xu, J., Lu, J., Zhang, M., & Xu, W. (2017). Molecularly imprinted membrane electrospray ionization for direct sample analyses. *Analytical Chemistry*, 89(3), 1453–1458. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b02571>
- Lin, C.-H., & Liou, Y.-W. (2020). Design and construction of paper-spray ionization/mass spectrometry. In *Ambient Ionization Mass Spectrometry in Life Sciences* (pp. 207–239). Elsevier.
- Liu, J., Wang, H., Manicke, N. E., Lin, J.-M., Cooks, R. G., & Ouyang, Z. (2010). Development, characterization, and application of paper spray ionization. *Analytical Chemistry*, 82(6), 2463–2471. <https://doi.org/10.1021/ac902854g>

- Ma, Y., & He, Q. (2022). Preparation of superhydrophobic conductive CNT/PDMS film on paper by foam spraying method. *Colloids and Surfaces. A, Physicochemical and Engineering Aspects*, 648(129327), 129327. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2022.129327>
- Malaj, N., Ouyang, Z., Sindona, G., & Cooks, R. G. (2012). Analysis of pesticide residues by leaf spray mass spectrometry. *Analytical Methods: Advancing Methods and Applications*, 4(7), 1913. <https://doi.org/10.1039/c2ay25222h>
- Mazzotti, F., Bartella, L., Talarico, I. R., Napoli, A., & Di Donna, L. (2021). High-throughput determination of flavanone-O-glycosides in citrus beverages by paper spray tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 360(130060), 130060. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130060>
- McBride, E. M., Mach, P. M., Dhummakupt, E. S., Dowling, S., Carmany, D. O., Demond, P. S., Rizzo, G., Manicke, N. E., & Glaros, T. (2019). Paper spray ionization: Applications and perspectives. *Trends in Analytical Chemistry: TRAC*, 118, 722–730. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.06.028>
- Moore, K. L., Schröder, M., Lombi, E., Zhao, F.-J., McGrath, S. P., Hawkesford, M. J., Shewry, P. R., & Grovenor, C. R. M. (2010). Nano SIMS analysis of arsenic and selenium in cereal grain. *The New Phytologist*, 185(2), 434–445. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03071.x>
- Morisasa, M., Sato, T., Kimura, K., Mori, T., & Goto-Inoue, N. (2019). Application of matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry imaging for food analysis. *Foods* (Basel, Switzerland), 8(12), 633. <https://doi.org/10.3390/foods8120633>
- Moura, A. C. M., Lago, I. N., Cardoso, C. F., dos Reis Nascimento, A., Pereira, I., & Vaz, B. G. (2020). Rapid monitoring of pesticides in tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) during pre-harvest intervals by paper spray ionization mass spectrometry. *Food Chemistry*, 310(125938), 125938. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125938>
- Narayanan, R., Sarkar, D., Cooks, R. G., & Pradeep, T. (2014). Molecular ionization from carbon nanotube paper. *Angewandte Chemie (International Ed. in English)*, 53(23), 5936–5940. <https://doi.org/10.1002/anie.201311053>

- Nguyen, T. M. H., Song, W.-Y., & Kim, T.-Y. (2022). Characterization of spray modes and factors affecting the ionization efficiency of paper spray ionization. *Frontiers in chemistry*, 10. <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.864184>
- Nielsen, S. (Suzanne), Miguel Ángel Usón Finkenzeller, and Ana Cristina Fernando Navarro. *Análisis de los alimentos*. Zaragoza: Acribia, 2008. Print.
- Pereira, I., Rodrigues, M. F., Chaves, A. R., & Vaz, B. G. (2018). Molecularly imprinted polymer (MIP) membrane assisted direct spray ionization mass spectrometry for agrochemicals screening in foodstuffs. *Talanta*, 178, 507–514. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.09.080>
- Pereira, I., Rodrigues, S. R. M., de Carvalho, T. C., Carvalho, V. V., Lobón, G. S., Bassane, J. F. P., Domingos, E., Romão, W., Augusti, R., & Vaz, B. G. (2016). Rapid screening of agrochemicals by paper spray ionization and leaf spray mass spectrometry: which technique is more appropriate? *Analytical Methods: Advancing Methods and Applications*, 8(31), 6023–6029. <https://doi.org/10.1039/c6ay01154c>
- PubChem. (2024). PubChem. Recuperado de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Putri, S. P., Ikram, M. M. M., Sato, A., Dahlan, H. A., Rahmawati, D., Ohto, Y., & Fukusaki, E. (2022). Application of gas chromatography-mass spectrometry-based metabolomics in food science and technology. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 133(5), 425–435. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2022.01.011>
- Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición hospitalaria: organo oficial de la Sociedad Espanola de Nutrición Parenteral y Enteral*, 27(1), 76–89. http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112012000100009&lng=es&tlng=es.
- Ramalho, R. R. F., Pereira, I., da S. Lima, G., dos Santos, G. F., Maciel, L. I. L., Simas, R. C., & Vaz, B. G. (2022). Fumonisin B1 analysis in maize by molecularly imprinted polymer paper spray ionization mass spectrometry (MIP-PSI-MS). *Journal of Food Composition and Analysis: An Official Publication of the United Nations University, International Network of Food Data Systems*, 107(104362), 104362. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104362>

- Reglamento (CE) 396/2005 del Parlamento Europeo y del Consejo sobre límites máximos de residuos de plaguicidas en alimentos y piensos de origen vegetal y animal. Recuperado de <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=DOUE-L-2005-80504> (último acceso junio 2024).
- Reglamento (CEE) nº 315/93 del Consejo del 8 de febrero de 1993 por el que se establecen procedimientos comunitarios en relación con los contaminantes presentes en los productos alimenticios. Recuperado de: <http://data.europa.eu/eli/reg/1993/315/oj> (último acceso junio 2024).
- Reglamento (UE) 2015/399 de la Comisión del 25 de febrero del 2015 sobre los límites máximos de carbofurano en determinados productos por lo que se modifica los anexos del II, III y V del Reglamento (CE) nº 396/2005 del Parlamento Europeo y del Consejo. Recuperado de: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/noticias_y_actualizaciones/novedades_legislativas/2015/Reglamento_UE_2015_399.html (último acceso junio 2024).
- Reglamento (UE) 2023/915 de la Comisión del 25 de abril del 2023 sobre niveles máximo de determinados contaminantes en los alimentos y por el que se deroga Reglamento (CE) n.º 881/2006. Recuperado de: <http://data.europa.eu/eli/reg/2023/915/2024-04-25> (último acceso junio 2024).
- Reglamento (UE) 37/2010 de la Comisión sobre la sustancias farmacológicamente activas y su clasificación por lo que se refiere a los límites máximos de residuos en productos alimenticios de origen animal. Recuperado de <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=DOUE-L-2010-80044> (último acceso junio 2024).
- Reglamento (UE) N° 37/2010 de la comisión relativo a las sustancias farmacológicamente activas y su clasificación por lo que se refiere a los límites máximos de residuos en los productos alimenticios de origen animal. Recuperado de <https://www.boe.es/doue/2010/015/L00001-00072.pdf> (último acceso junio 2024).
- Ren, Y., Chiang, S., Zhang, W., Wang, X., Lin, Z., & Ouyang, Z. (2016). Paper-capillary spray for direct mass spectrometry analysis of biofluid samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 408(5), 1385–1390. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-9129-9>

- Samah, N. A., Sánchez-Martín, M.-J., Sebastián, R. M., Valiente, M., & López-Mesas, M. (2018). Molecularly imprinted polymer for the removal of diclofenac from water: Synthesis and characterization. *The Science of the Total Environment*, 631–632, 1534–1543.
- Sfoog, A.A.A., Bakar, A.B., Rahim, N.A., Mahamod, W.R.W., Hashim, H., Soh, S.K.C (2022) “Recent Advances and Future Prospects of Molecular Imprinting Polymers as a Recognition Sensing System for Food Analysis: A Review” *Indonesian Journal of Chemistry*, 22:6, pp. 1737-1758.
- Sibirny, V., Demkiv, O., Klepach, H., Honchar, T., & Gonchar, M. (2011). Alcohol oxidase- and formaldehyde dehydrogenase-based enzymatic methods for formaldehyde assay in fish food products. *Food Chemistry*, 127(2), 774–779. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.146>
- Silva, L. C. da, Pereira, I., Carvalho, T. C. de, AllochioFilho, J. F., Romão, W., & Gontijo Vaz, B. (2019). Paper spray ionization and portable mass spectrometers: a review. *Analytical Methods: Advancing Methods and Applications*, 11(8), 999–1013. <https://doi.org/10.1039/c8ay02270d>
- Sznajder-Katarzyńska, K., Surma, M., Wiczowski, W., & Piskula, M. (2020). Determination of perfluoroalkyl substances (PFASs) in fats and oils by QuEChERS/micro-HPLC-MS/MS. *Food Research International*, 137, 109583.
- Taverna, D., Di Donna, L., Bartella, L., Napoli, A., Sindona, G., & Mazzotti, F. (2016). Fast analysis of caffeine in beverages and drugs by paper spray tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 408(14), 3783–3787. <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9468-1>
- Valcarcel, M., & Gómez, A. (2005). Técnicas analíticas de separación (Reverté)
- Vesel, A., Mozetic, M., Hladnik, A., Dolenc, J., Zule, J., Milosevic, S., Krstulovic, N., Klanjšek-Gunde, M., & Hauptmann, N. (2007). Modification of ink-jet paper by oxygen-plasma treatment. *Journal of physics D: Applied physics*, 40(12), 3689–3696. <https://doi.org/10.1088/0022-3727/40/12/022>
- Vilarinho, F., Sendón, R., van derKellen, A., Vaz, M. F., & Silva, A. S. (2019). Bisphenol A in food as a result of its migration from food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, 91, 33–65. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.06.012>

- Wang, D., & Seymour, G. B. (2022). Molecular and biochemical basis of softening in tomato. *Molecular Horticulture*, 2(1). <https://doi.org/10.1186/s43897-022-00026-z>
- Wang, H., Ding, F., Ma, L., & Zhang, Y. (2021). Edible films from chitosan-gelatin: Physical properties and food packaging application. *Food Bioscience*, 40(100871), 100871. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100871>
- Wang, Q., Zheng, Y., Zhang, X., Han, X., Wang, T., & Zhang, Z. (2015). A silica coated paper substrate: development and its application in paper spray mass spectrometry for rapid analysis of pesticides in milk. *The Analyst*, 140(23), 8048–8056. <https://doi.org/10.1039/c5an01823d>
- Wu, S.-J., Wu, Z.-H., Fang, S., Qi, X.-P., Yu, B., & Yang, J.-Y. (2021). A comparison of core–shell Si/C and embedded structure Si/C composites as negative materials for lithium-ion batteries. *Rare Metals*, 40(9), 2440–2446. <https://doi.org/10.1007/s12598-019-01354-8>
- Yang, B.-C., Wang, F., Deng, W., Zou, Y., Liu, F.-Y., Wan, X.-D., Yang, X., Liu, H., & Huang, O.-P. (2015). Wooden-tip electrospray ionization mass spectrometry for trace analysis of toxic and hazardous compounds in food samples. *Analytical Methods: Advancing Methods and Applications*, 7(14), 5886–5890. <https://doi.org/10.1039/c5ay00917k>
- Yang, B.-C., Wang, F., Deng, W., Zou, Y., Liu, F.-Y., Wan, X.-D., Yang, X., Liu, H., & Huang, O.-P. (2015). Wooden-tip electrospray ionization mass spectrometry for trace analysis of toxic and hazardous compounds in food samples. *Analytical Methods: Advancing Methods and Applications*, 7(14), 5886–5890. <https://doi.org/10.1039/c5ay00917k>
- Yang, Q., Wang, H., Maas, J. D., Chappell, W. J., Manicke, N. E., Cooks, R. G., & Ouyang, Z. (2012). Paper spray ionization devices for direct, biomedical analysis using mass spectrometry. *International Journal of Mass Spectrometry*, 312, 201–207. <https://doi.org/10.1016/j.ijms.2011.05.013>
- Yoshimura, Y., & Zaima, N. (2020). Application of mass spectrometry imaging for visualizing food components. *Foods (Basel, Switzerland)*, 9(5), 575. <https://doi.org/10.3390/foods9050575>
- Yu, M., Wen, R., Jiang, L., Huang, S., Fang, Z., Chen, B., & Wang, L. (2018). Rapid analysis of benzoic acid and vitamin C in beverages by paper spray mass

spectrometry. *Food Chemistry*, 268,

411–415.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.103>

- Zeng, G., Liu, Y., Ma, X., & Fan, Y. (2021). Fabrication of magnetic multi-template molecularly imprinted polymer composite for the selective and efficient removal of tetracyclines from water. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 15(5). <https://doi.org/10.1007/s11783-021-1395-5>
- Zhang, J., Li, Z., Zhang, C., Feng, B., Zhou, Z., Bai, Y., & Liu, H. (2012). Graphite-coated paper as substrate for high sensitivity analysis in ambient surface-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 84(7), 3296–3301. <https://doi.org/10.1021/ac300002g>
- Zhang, Z., Cooks, R. G., & Ouyang, Z. (2012). Paper spray: a simple and efficient means of analysis of different contaminants in foodstuffs. *The Analyst*, 137(11), 2556. <https://doi.org/10.1039/c2an35196j>
- Zheng, Y., Zhang, X., Yang, H., Liu, X., Zhang, X., Wang, Q., & Zhang, Z. (2015). Facile preparation of paper substrates coated with different materials and their applications in paper spray mass spectrometry. *Analytical Methods: Advancing Methods and Applications*, 7(13), 5381–5386. <https://doi.org/10.1039/c5ay00874c>
- Zink, S., Moura, F. A., Autreto, P. A. da S., Galvão, D. S., & Mizaikoff, B. (2018). Virtually imprinted polymers (VIPs): understanding molecularly templated materials via molecular dynamics simulations. *Physical Chemistry Chemical Physics: PCCP*, 20(19), 13145–13152. <https://doi.org/10.1039/c7cp08284c>
- Zubarev, R. A., & Makarov, A. (2013). Orbitrap mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 85(11), 5288–5296. <https://doi.org/10.1021/ac4001223>