



## TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE MIEL Y POLEN POR CROMATOGRAFÍA: UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA

Belkys Dariana Ortega Arguello<sup>1,4</sup>, Elsy Nohemí Álvarez Carmona<sup>1,5</sup> y José Gregorio Rosario Quintero<sup>2,3,6</sup> <sup>1</sup> Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales Ezequiel Zamora, UNELLEZ, <sup>2</sup> Universidad de Los Andes Trujillo <sup>3</sup> Estación de Investigación Andina de Fundación La Salle  
<sup>4</sup>(ortegabelkys@unellez.edu.ve), (<http://orcid.org/0009-0008-6836-3146>)  
<sup>5</sup>(elsynohemi13@gmail.com) (<http://orcid.org/0009-0009-7612-9429>).  
<sup>6</sup>(nrosario23@gmail.com), (<http://orcid.org/0009-0006-3379-4590>)

### Resumen

La miel y el polen son productos apícolas complejos y de gran valor por sus propiedades nutricionales y terapéuticas. Sin embargo, su composición puede variar según su zona geográfica, composición floral, entre otros. De igual forma, pueden estar sujetos a adulteración o contaminación por pesticidas y antibióticos, lo que hace fundamental el desarrollo y aplicación de métodos analíticos rigurosos para garantizar su calidad, autenticidad y seguridad. Debido a esto, la cromatografía acoplada a la espectrometría de masas (MS), se ha consolidado como una herramienta analítica indispensable para la determinación y caracterización de diversos compuestos. En esta revisión sistemática se comparan las principales técnicas cromatográficas empleadas en el análisis de miel y polen. Por otro lado, se aborda la preparación de muestras, extracción y purificación, así como también las técnicas de separación como la cromatografía de gases (GC), cromatografía líquida (LC), incluyendo variantes como cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), cromatografía líquida de ultra alta resolución (UHPLC), cromatografía nanolíquida nanoLC y las técnicas de detección espectrometría de masas MS, espectrometría de masa en tándem (MS/MS), espectrometría de masa de alta resolución (HRMS), Detector de ionización de llama (FID), Ultravioleta (UV), entre otros. Por consiguiente, se destaca su aplicación en polifenoles, pesticidas, antibióticos, carbohidratos, compuestos volátiles, proteínas, alérgenos, péptidos y ácidos orgánicos. Para concluir, se discuten desafíos inherentes a la complejidad de la matriz, y la necesidad de una preparación de la muestra optimizada y métodos adecuados de calibración, como la calibración de matriz coincidente, adición de estándar, (ID-MS), en este sentido, aplicando estas técnicas y herramientas se obtiene un análisis completo y confiable de miel y polen.

### Palabras clave

Espectrometría de masas, extracción, purificación, cromatografía líquida, cromatografía de gases.

Recibido: 2025-08-14 /Revisado: 2025-10-22/ Aceptado: 2025-11-11/  
Publicado: 2025-12-28 / Páginas 610-626



## CHROMATOGRAPHIC ANALYSIS TECHNIQUES FOR HONEY AND POLLEN: A SYSTEMATIC REVIEW

Belkys Dariana Ortega Arguello<sup>1,4</sup>, Elsy Nohemí Álvarez Carmona<sup>1,5</sup> y José Gregorio Rosario Quintero<sup>2,3,6</sup> <sup>1</sup> Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales Ezequiel Zamora, UNELLEZ, <sup>2</sup> Universidad de Los Andes Trujillo <sup>3</sup> Estación de Investigación Andina de Fundación La Salle

<sup>4</sup>(ortegabelkys@unellez.edu.ve), (<http://orcid.org/0009-0008-6836-3146>)

<sup>5</sup>(elsynohemi13@gmail.com) (<http://orcid.org/0009-0009-7612-9429>).

<sup>6</sup>(nrosario23@gmail.com), (<http://orcid.org/0009-0006-3379-4590>)

### ABSTRACT

Honey and pollen are complex bee products of great value due to their nutritional and therapeutic properties. However, their composition can vary depending on the geographic location and floral composition, among other factors. Similarly, they can be subject to adulteration or contamination by pesticides and antibiotics, making the development and application of rigorous analytical methods essential to guarantee their quality, authenticity, and safety. Because of this, chromatography coupled with mass spectrometry (MS) has established itself as an indispensable analytical tool for the determination and characterization of various compounds. This systematic review compares the main chromatographic techniques used in the analysis of honey and pollen. Furthermore, the paper addresses sample preparation, extraction, and purification, as well as separation techniques such as gas chromatography (GC), liquid chromatography (LC), including variants such as high-performance liquid chromatography (HPLC), ultra-high-performance liquid chromatography (UHPLC), nanoliquid chromatography (nanoLC), and detection techniques such as mass spectrometry (MS), tandem mass spectrometry (MS/MS), high-resolution mass spectrometry (HRMS), flame ionization detector (FID), ultraviolet (UV), among others. Therefore, its application in polyphenols, pesticides, antibiotics, carbohydrates, volatile compounds, proteins, allergens, peptides, and organic acids is highlighted. Finally, the challenges inherent to matrix complexity and the need for optimized sample preparation and appropriate calibration methods, such as matrix-matched calibration, standard addition, and (ID-MS), are discussed. In this regard, applying these techniques and tools allows for a complete and reliable analysis of honey and pollen.

### Keywords

Mass spectrometry, extraction, purification, liquid chromatography, gas chromatography.

Received: 2025-08-14 / Revised: 2025-10-22/ Accepted: 2025-11-11/  
Published: 2025-12-28 / Page 610-626



## Introducción

Actualmente existen diversas técnicas analíticas para conocer la composición de muestras complejas de miel y polen de abeja, de igual manera estas matrices biológicas difieren en su composición según su origen botánico y geográfico (Matuszewska *et al* 2022). Ahora bien, estas técnicas de análisis se centran en la cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), que a menudo esta acoplada a la espectrometría de masas (MS), así pues, se incluyen variaciones como la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masa, con espectrometría de masa en tandem (LC-MS/MS) (basada en la fragmentación de iones) y la cromatografía nanolíquida (nanoLC-HRMS), con el fin de identificar y cuantificar compuestos de interés que abarcan fitoquímicos naturales, polifenoles y compuestos orgánicos volátiles, así como también residuos de antibióticos y pesticidas.

En este sentido, es importante destacar la preparación de muestras para estos análisis, incluyendo métodos de extracción en fase sólida (SPE), e incluso la evaluación de las propiedades bioactivas de péptidos en polen hidrolizado. Por consiguiente, la miel y el polen contienen una amplia gama de compuestos, desde azúcares en mayor cantidad, hasta proteínas y ácidos orgánicos, así como también polifenoles, compuestos volátiles y potenciales pesticidas. Debido a esto, la necesidad de separar y cuantificar estos componentes presentes a menudo en niveles traza, hace que las técnicas cromatográficas sean indispensables en la química de los productos naturales (Damayanti *et al*, 2019).

La miel es producida por la abeja, de la familia *apis*, está compuesta por fitoquímicos que pueden caracterizarse mediante diversos métodos analíticos. La miel se usa desde la antigüedad para múltiples propósitos, entre la nobleza árabe, egipcia e india. Por otra parte, su uso no se limita a la alimentación, sino que también se daba como obsequio o se preparaban bebidas reales, como conservante, endulzante o tratamiento en



enfermedades cutáneas, erupciones, tos o dolor de garganta (Jibril *et al*, 2019). La miel contiene sustancias fitoquímicas provenientes de las flores o las secreciones de las plantas, como por ejemplo las resinas, estas se encuentran en frutos inmaduros y capullos florales (Arroyo-Manzanares *et al*, 2017).

El polen, conocido desde la antigüedad como el súper alimento, es un producto apícola con alto valor nutricional y propiedades medicinales, así como también actividad microbiana y antioxidante. Su composición incluye carbohidratos, proteínas, lípidos, minerales, entre otros (Baldi Coronel *et al* 2004). De igual forma podemos decir que el polen de miel es un indicador de origen botánico. Las abejas transportan sustancias fotoquímicas naturales que se mezclan con el fluido corporal de la abeja, por lo cual se producen compuestos bioactivos que presentan diferentes componentes estructurales (Ortega-Arguello *et al*, 2024).

No obstante, dada la complejidad de estos productos apícolas, es esencial garantizar la calidad y seguridad de la miel y el polen, puesto que esto implica la detección de posibles contaminantes como pesticidas y antibióticos, así como también la autenticidad y origen botánico. Es importante destacar que se usan a menudo en apicultura productos acaricidas para tratar enfermedades, así como también los pesticidas que pueden encontrarse en el entorno (Baldi Coronel *et al*, 2004).

En líneas generales para abordar estos desafíos analíticos, se requieren métodos sensibles, selectivos y confiables; siendo las técnicas cromatografías, a menudo acopladas a espectrometría de masa MS, las herramientas analíticas fundamentales, debido a su capacidad para separar e identificar simultáneamente una amplia gama de compuestos. El presente estudio tiene como objetivo disertar en torno a una revisión sistemática para sintetizar y comparar las diversas técnicas cromatográficas utilizadas en análisis de miel y polen, destacando sus características, aplicaciones y desafíos de estas matrices complejas.



## **Materiales y métodos**

Esta revisión sistemática consiste en el análisis detallado de documentos bibliográficos para identificar la aplicación de técnicas cromatográficas en el análisis de miel y polen. A tal efecto, se recopilaron datos sobre los tipos de cromatografía: Cromatografía de gases (GC), cromatografía líquida (LC), cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), cromatografía líquida de ultra alta resolución (UHPLC), (HPAEC), cromatografía nanolíquida (nanoLC), así como también detectores asociados: (MS),MS/MS, HRMS, FID, UV), incluso procesamiento de muestras y cuantificación de analitos presentes como pesticidas, polifenoles, carbohidratos, compuestos volátiles, proteínas, péptidos, alérgenos, ácidos grasos y parámetros de validación como sensibilidad, selectividad, efecto matriz y recuperación.

## **Presentación de resultados y discusión**

La miel y el polen son matrices o muestras biológicas complejas de diversas composiciones, que varían según el origen botánico y el área geográfica, así como también las condiciones ambientales y de procesamiento (Arroyo-Manzanares *et al*, 2017). Por consiguiente, contiene una amplia gama de compuestos, desde azúcares como glucosa y sacarosa, incluso contiene proteínas y ácidos orgánicos hasta fitonutrientes como polifenoles, compuestos volátiles y algunos contaminantes como acaricidas y pesticidas (Corta *et al*, 2022). En este sentido, las técnicas cromatográficas se hacen indispensables para separar y cuantificar diversos compuestos presentes en niveles traza de miel y polen apícola (Tedesco *et al*, 2020).

## **Principios y tipos de cromatografía para el análisis de miel y polen**

La cromatografía permite la separación de mezclas complejas en sus componentes individuales, basándose en las diferencias en su interacción,

con una fase estacionaria y una fase móvil. En este sentido, estas técnicas analíticas permiten la separación de componentes complejos antes de su detección y cuantificación. Por consiguiente, la elección de la técnica cromatográfica depende de las propiedades del analito y particularmente por su volatilidad. Para el análisis de miel y polen, las técnicas cromatográficas más frecuentes encontradas por los autores: Jibril *et al*, 2019; Arroyo-Manzanares *et al*, 2017; Almeida *et al*, 2020, entre otros, incluyen:

Cromatografía de líquidos (LC): utilizada para compuestos no volátiles o térmicamente lábiles y además puede ser acoplada por diversos detectores. (Almeida *et al*, 2020).

Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC): el método ideal para separar diversos componentes como los polifenoles, carbohidratos y pesticidas. (Jibril *et al*, 2019).

Cromatografía líquida de ultra alta resolución (UHPLC): este método ofrece mayor velocidad y eficiencia de separación, en contra posición a la (HPLC) tradicional.

Cromatografía de intercambio iónico (IC)/(HPAEC) cromatografía de intercambio aniónico de alto rendimiento: especial para la separación de carbohidratos y ácidos orgánicos en matrices complejas como la miel, permitiendo separar especies aniónicas en condiciones alcalinas.

Cromatografía en fase reversa (RP-HPLC): una modalidad común de cromatografía líquida empleada en polifenoles y péptidos, siendo reportado por Atefe Maqsoudloua *et al*, en 2018, así como también en el análisis de antibióticos para mejorar la retención.

Cromatografía nanolíquida (nanoLC): esta técnica ofrece una sensibilidad excepcionalmente alta, acoplada con la espectrometría de masas, lo cual permite una detección de analitos en concentraciones muy bajas, así como también en la aplicación de factores de dilución elevados para minimizar los efectos de la matriz.



Cromatografía de gases (GC): Ideal para análisis de compuestos volátiles y semivolátiles, así como también para compuestos que pueden volatilizarse por derivatización (Tölgyesi *et al*, 2018)

Espectrometría de masas (MS): Si bien, la espectrometría de masas no es una técnica cromatográfica, su acoplamiento con cromatografía de gases (GC) y con cromatografía líquida (LC) es esencial para la identificación y cuantificación de analitos en miel y polen debido a su sensibilidad y gran selectividad.

La cromatografía líquida acoplada MS (LC-MS) y la cromatografía de gases acoplada a MS (GC-MS): Estas técnicas permiten la detección basada en la relación masa-carga ( $m/z$ ). Por consiguiente la LC-MS es adecuada para flavonoides y la mayoría de compuestos no volátiles, mientras que la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) es de gran utilidad para compuestos volátiles y ácidos fenólicos (Tölgyesi *et al*, 2018; Huaixiang *et al*, 2018).

Cromatografía líquida con espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) y Cromatografía de gases con Espectrometría de masas en tándem (GC-MS/MS): Esta técnica ofrece aún mayor selectividad y sensibilidad al realizar transiciones de iones precursores a iones producto, por lo cual se basa en la fragmentación de iones. En este sentido, esta técnica es crucial para analizar trazas de diversos compuestos, así como también, la identidad en muestras o matrices complejas como la miel y el polen apícola. Investigadores como Almeida *et al*, en el 2020, reportaron que el 93,9% de muestras de miel, producidas en apiarios de 6 estados brasileños, se detectaron niveles residuales de pesticidas, por lo tanto, esta técnica analítica fue capaz de mostrar hasta 15 analitos por muestra, como el caso del tiabendazol, que es un compuesto fungicida y antihelmíntico, capaz de causar daños hepáticos, así como también alterar el sistema endocrino.

Espectrometría de masas de alta resolución (HRMS): este método analítico proporciona mediciones de masa precisas, lo que mejora la



especificidad, lo cual permite un análisis dirigido y no dirigido, no obstante ayuda a la identificación de compuestos.

Espectrometría de movilidad iónica (IMS): Puede acoplarse a la cromatografía de gases (GC). (HS-GC-IMS), esta técnica es una herramienta ideal para caracterizar compuestos volátiles y detectar adulteraciones o determinar el origen botánico, con lo cual ofrece perfiles de huella dactilar a un menor costo en menor tiempo de análisis (Tedesco *et al*, 2020).

Un aspecto importante de resaltar en análisis de muestras complejas de miel y polen se refiere a la preparación de las muestras. La complejidad de algunas muestras requiere que la preparación en la extracción y limpieza sea un paso crucial antes del análisis cromatográfico, esto con el fin de eliminar interferencias y reducir el efecto de la matriz. Por lo tanto, se han empleado diversas técnicas de extracción, incluyendo la extracción con solventes, la extracción en fase sólida (SPE), la extracción líquido-líquido (LLE), la microextracción en fase sólida (SPME) (Zhang *et al*, 2018).

Con respecto a la selección del solvente de extracción es importante resaltar, en líneas generales que los investigadores Zhang *et al* 2018, Lasheras *et al* 2021, entre otros, utilizaron acetonitrilo, acetato de etilo, metanol, éter de petróleo, diclorometano o una mezcla de estos. Con respecto al análisis de pesticidas y antibióticos, a menudo se utilizan solventes orgánicos, así como también la adición de sales como sulfato de sodio anhidro o mezclas de sales Quechers, lo cual ayuda a la partición y limpieza (Lasheras *et al*, 2021).

Por otra parte, para ciertos analitos unidos a la matriz, como sulfonamidas o nitrofuranos enmascarados, se requiere una etapa de hidrólisis ácida antes de la extracción para liberar el analito. Es decir, esta hidrólisis es fundamental para obtener resultados cuantitativos precisos de estos compuestos unidos. De manera similar, esto ocurre en el análisis de proteínas o péptidos, en el cual pueden emplearse hidrólisis enzimáticas para generar péptidos bioactivos.



Por otro lado, la técnica de Quechers es valorada por ser rápida, sencilla, económica, eficaz, robusta y segura, la cual puede modificarse para diferentes matrices y analitos (Fuente-Ballesteros *et al*, 2023). En este sentido, la extracción en fase sólida (SPE), ofrece flexibilidad en la selección del adsorbente, para optimizar la retención y la eliminación de posibles interferencias polares y no polares.

Ahora bien, uno de los desafíos más significativos en los análisis de miel y polen, en particular con la detección por espectrometría de masas (MS), es el efecto de la matriz, es decir, los componentes de la matriz como azúcares, ácidos orgánicos, pigmentos, entre otros, pueden suprimir o mejorar la señal del analito durante la ionización, afectando la precisión cuantitativa, en particular, el efecto de la matriz parece ser más significativo en el polen que en la miel para algunos pesticidas.

En líneas generales, para mitigar el efecto matriz, se recomienda por diversos autores como Momoka *et al*, 2020; Fuentes-Ballesteros *et al*, 2023; donde se plantean estrategias como calibraciones con matrices coincidentes, el método de adición estándar o la espectrometría de masas por dilución isotópica (ID-MS), considerada esta última por ser altamente precisa, ya que corrige completamente el efecto de la matriz, sin embargo, requiere el uso de estándares internos marcados isotópicamente, que no siempre están disponibles para todos los analitos. En consecuencia, la calibración con matriz coincidente implica preparar estándares en una matriz en blanco similar a la muestra, mientras que la adición estándar implica agregar cantidades conocidas del analito a la propia muestra.

Actualmente la demanda de los productos naturales está creciendo exponencialmente, esto debido a sus propiedades nutricionales y terapéuticas. Dentro de estos productos naturales podemos incluir los productos apícolas como la miel, propoleo, cera de abejas, jalea real y polen de abejas, donde se destaca la miel de abeja para tratar enfermedades infecciosas, el propoleo como agente antibacteriano, antifúngico y antiviral, por otra parte, el polen apícola es una fuente de

proteínas, aminoácidos esenciales, carbohidratos, lípidos, bioelementos y vitaminas, por esta razón es de vital importancia la caracterización mediante técnicas analíticas de precisión.

En la tabla 1 se puede observar una base de datos de diferentes técnicas cromatográficas para identificar analitos presentes en muestras de miel y polen, destacándose la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas para compuestos orgánicos volátiles en muestras de miel, cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS) para polifenoles en miel, así como también la cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-MS) para determinar acaricidas en polen.

**Tabla 1.**

Base de datos relacionados a estudios cromatográficos

N°	País	Año	Técnicas analíticas	Muestra	Referencia	Analitos
1	España	2017	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de movilidad iónica con espacio de cabeza (HS-GC-IMS)	Miel	Arroyo-Manzanares Natalia <i>et al.</i>	Compuestos volátiles
2	España	2018	cromatografía líquida de nanoflujo y espectrometría de masas en tándem Orbitrap (nanoLC-MS/MS)	Polen	Moreno-González <i>et al.</i>	Insecticidas neonicotinoides y otros pesticidas
3	República Popular China	2018	Cromatografía líquida y espectrometría de masas en tándem (LC/MS/MS)	Miel	Zhang, Yan <i>et al.</i>	Residuos de antibióticos
4	República Popular China	2018	Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-MS)	Miel	Huaxiang <i>et al.</i>	Compuestos Orgánicos Volátiles
5	Corea	2018	Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-SM)	Miel	Tölgyesi <i>et al.</i>	Compuestos Orgánicos Volátiles
6	Francia	2018	Cromatografía líquida de par iónico en fase reversa y espectrometría de masas en tándem	Miel	Tölgyesi <i>et al.</i>	Residuos antimicrobianos



7	España	2018	Cromatografía nanolíquida y espectrometría de masas en tándem (nLC-MS/MS)	Polen	Atefe <i>et al.</i>	Péptidos
8	Malasia	2019	Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS)	Miel	Jibril <i>et al.</i>	Polifenoles
9	Indonesia	2019	cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC,MS GC-MS),	Miel	Damayanti <i>et al.</i>	Compuestos Orgánicos Volátiles
10	Italia	2019	cromatografía líquida de alta resolución acoplada a detección por espectrometría de masas en tándem con ionización por electrospray (RP-HPLC con detección ESI-MS/MS)	Miel y polen	Brighenti <i>et al.</i>	Cannabinoides
11	Brasil	2020	Cromatografía de Gases acoplado a espectrometría de masas tandem (GC-MS/MS) y Cromatografía líquida acoplado a espectrometría de masas tandem ( LC-MS/MS)	Miel	Almeida <i>et al.</i>	Pesticidas
12	República Popular de China	2020	Cromatografía líquida acoplado a espectrometría de masas tandem (LC-MS/MS)	Miel	Momoka <i>et al.</i>	Ácidos orgánicos
13	Alemania	2020	Cromatografía iónica-espectrometría de masas (HPAEC-MS)	Miel	Tedesco <i>et al.</i>	Carbohidratos
14	Polonia	2022	Cromatografía nanolíquida con espectrometría de masas, (matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (nanoLC-MALDI-TOF/TOF MS)	Polen	Matuszewska <i>et al.</i>	Identificación de proteínas bioactivas



15	España	2023	cromatografía de gases-espectrometría de masas(CG-MS)	Polen	Fuente-Ballesteros <i>et al.</i>	Acaricida
16	España	2023	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas con espacio de cabeza (HS-GC-MS)	Miel	Castell <i>et al.</i>	Compuestos Orgánicos Volátiles

### Técnicas de separación y detección por analitos presentes en las muestras de polen y miel.

**Polifenoles:** Estos fitonutrientes, principalmente flavonoides y ácidos fenólicos, se separan y caracterizan comúnmente mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) o cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS). Por otro lado, autores como Tölgyesi *et al*, 2018, reportan la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) para determinar compuestos volátiles como aldehídos y cetonas para diversos tipos de mieles.

**Pesticidas:** Los análisis de residuos de pesticidas es fundamental para la seguridad agroalimentaria, en este sentido Almeida *et al* en el 2020, reportan como las técnicas más empleadas la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas tándem (GC-MS/MS) y la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS), esto debido a su fiabilidad, eficiencia, precisión y velocidad. De manera que (LC-MS/MS) y (UHPLC-MS) son más usadas para la detección de flavonoides, mientras que la (GC-MS) es empleada para ácidos fenólicos y compuestos orgánicos (Díaz *et al* 2023). Por otra parte, la nanoLC-HRMS, ofrece una sensibilidad excepcionalmente alta y útil para detectar niveles bajos, así pues, se logra reducir el efecto de la matriz mediante la dilución y nano-spray (Moreno González *et al*, 2018)

**Antibióticos:** La cromatografía líquida por espectrometría de tándem (LC/MS/MS), es la técnica de elección para determinar residuos de antibióticos, según lo reportado por Tölgyesi *et al*, 2018, se lograron



detectar sulfonamida, trimetoprima, tetraciclina y aminoglicosido mediante cromatografía líquida de par iónico en fase reversa y espectrometría de masas en tándem, esto debido a que la mayoría de los antibióticos no son volátiles. En este sentido el uso de ionización por electrospray (ESI), es usada por autores como Brighentia, V. *et al* 2019, los cuales desarrollaron por primera vez un método analítico basado en cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa (RP-HPLC), con detección por espectrometría de masas en tándem con ionización de electrospray (ESI-MS/MS), con el fin de determinar cannabinoides presentes en muestras de miel.

**Carbohidratos:** Para determinar la composición de azúcares, se han empleado diversas técnicas, incluyendo cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con el uso de diferentes detectores. Por otro lado, la cromatografía de gases (GC), a menudo necesita derivatización. En este sentido, la cromatografía de intercambio aniónico de alta resolución acoplada a espectrometría de masas (HPAEC-MS), es una técnica valiosa para la separación de azúcares, especialmente oligosacáridos, ofreciendo alta sensibilidad y selectividad, permitiendo una preparación de muestra más simple, como una dilución.

**Compuestos orgánicos volátiles (COV):** Obtener el perfil de compuestos orgánicos volátiles, es de gran utilidad para conocer el origen botánico y geográfico de miel, así como también detectar posibles adulteraciones. Por otro lado, la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), la espectrometría de movilidad iónica (IMS) acoplada a espectrometría de gases (GC), (GC-IMS), se proponen como las mejores técnicas analíticas para la autenticación de miel.

**Cannabinoides:** Se ha desarrollado un método basado en cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa (RP-HPLC) con detección ESI-MS/MS analizador de masas de cuadrupolo con trampa de iones lineal (QTRAP), para la determinación de cannabinoides en miel y



polen, mediante el procedimiento Quechers modificado para la extracción (Brighenti *et al* 2019).

Proteínas, alérgenos y péptidos: la espectrometría de masas es clave para el análisis proteómico. De igual forma, técnicas como MALDI-TOF nanoLC-MS/MS (Q-TOF), son utilizadas para identificar proteínas y péptidos en muestras de polen, incluyendo alérgenos potenciales y péptidos bioactivos (Atefe *et al*, 2018). Es decir, el polen apícola, contiene proteínas de plantas y abejas, no obstante, la hidrólisis enzimática puede generar péptidos bioactivos.

Ácidos orgánicos: la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas y espectrometría masas tándem (LC-MS/MS) se ha utilizado para determinar ácidos orgánicos como el glucónico, tartárico, málico, cítrico y succínico en miel, ofreciendo mayor sensibilidad y selectividad con respecto a la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detectores convencionales. (Momoka *et al* 2020).

### **Conclusión**

Los resultados obtenidos de esta revisión sistemática para análisis de miel y polen, evidencian que la cromatografía es una técnica analítica ideal, especialmente acopladas a la espectrometría de masas como lo son: (GC-MS), (LC-MS), (GC-MS/MS), (LC-MS/MS), (UHPLC-MS), (nanoLC-HRMS), (HPAEC-MS), destacándose como herramientas esenciales y versátiles para el análisis de muestras de miel y polen. En líneas generales, estas técnicas permiten la identificación y cuantificación de una amplia gama de compuestos, incluyendo pesticidas y antibióticos, así como también, compuestos naturales como polifenoles, carbohidratos, compuestos orgánicos volátiles, ácidos orgánicos, proteínas y péptidos. Con respecto a la elección de la técnica cromatográfica en particular, será evidenciada por la naturaleza de los analitos, haciendo referencia la cromatografía de gases CG para compuestos volátiles y la cromatografía líquida para compuestos no volátiles. Así mismo, la



espectrometría de masas (MS), en sus diversas configuraciones como simple, tándem o alta resolución, proporcionan la especificidad y sensibilidad necesaria para trabajar con matrices complejas y niveles traza. Por otra parte, la preparación de la muestra es un paso crítico para mitigar los efectos de la matriz y eliminar interferencias, empleándose métodos Quechers, hidrólisis, entre otros, según sea el analito y la matriz. Así pues, el efecto matriz es un desafío persistente que requiere estrategias de calibración rigurosa, como la matriz coincidente, la adición estándar o la (ID-MS). De manera que, la cromatografía acoplada a espectrometría de masas, constituye una piedra angular en el análisis moderno de miel y polen, siendo estas técnicas indispensables para garantizar la calidad, autenticidad y seguridad agroalimentaria de estos productos apícolas.

### Referencias

- Almeida, M.; Oloris, S., Faria, V., Ribeiro, M. ; Cantini, D. Soto-Blanco, B. (2020). Optimization of Method for Pesticide Detection in Honey by Using Liquid and Gas Chromatography Coupled with Mass Spectrometric Detection. *Foods*, 9(10), 1368; <https://doi.org/10.3390/foods9101368>
- Arroyo-Manzanares, N.; García-Nicolás, M.; Castell, A.; Campillo, N.; Viñas, P.; López-García, I.; Hernández-Córdoba, J. (2017). Untargeted headspace gas chromatography – ion mobility spectrometry analysis for detection of adulterated honey. Department of Analytical Chemistry, Faculty of Chemistry, Regional Campus of International Excellence “Campus Mare Nostrum”, University of Murcia, E-30100 Murcia, Spain.
- Atefe, M.; Alireza Sadeghi, M.; Leticia, M.; Hossein M.; Fidel, T.; Mohamad, G. (2018). Peptide identification in alcalase hydrolysed pollen and comparison of its bioactivity with royal jelly. *Food Research International*, 116, 905-915. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.09.027>
- Baldi Coronel, B.; Grasso, D.; Chaves Pereira, S.; Fernández, G. (2004). Caracterización bromatológica del polen apícola argentino. *Ciencia, Docencia y Tecnología*, XV, 29, 145-181.

- Brighenti, V.; Licata, M. ; Pedrazzi, T.; Davide, M.; Davide, B.; Pellatía, F.; Benvenuti, S. (2019). Development of a new method for the analysis of cannabinoids in honey by means of high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionisation-tandem mass spectrometry detection. *J Chromatogr A*, 19:1597:179-186. doi: 10.1016/j.chroma.2019.03.034.
- Castell, A.; Arroyo-Manzanares, N.; Guerrero-Núñez, Y., Campillo, N. y Viñas, P. (2023). Headspace with Gas Chromatography-Mass Spectrometry for the Use of Volatile Organic Compound Profile in Botanical Origin Authentication of Honey. *Molecules*, 28, 4297. <https://doi.org/10.3390/molecules28114297>
- Corta, E.; Bakkali, A.; Berrueta, L.A.; Gallo, B.; Vicente, F. (2022). Estudio de un procedimiento de extracción acelerada por solventes para la determinación de residuos de acaricidas en miel mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución–Detector de Arreglo de Diodos. *Journal of Food Protection* 65(1):161-6.
- Damayanti, N. Sahlan, M. ; Lischer, K. ; Hermansyah, H. ; Kusumoputro, B. ; Pratami; D. (2019). Comparison of original honey (*Apis sp* and *Tetragonula sp*) and fake honey compounds in Indonesia using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *AIP Conf. Proc.*, 2193, 030018, <https://doi.org/10.1063/1.5139355>
- Díaz, M.; O'Connell, D.; Jordan, S.; O'Connor, C.; Martin, P.; Jones, J. and Garvey, J. (2023). Analysis of Pesticide Levels in Honey and Pollen from Irish Honey Bee Colonies Using a Modified Dutch Mini-Luke Method with Gas and Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Detection. *Journal J. Agric. Food Chem*, 71, 12657–12667. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c02250>
- Fuente-Ballesteros, A.; Augé, C.; Bernal, J.; Ares, A.M. (2023). Development and Validation of a Gas Chromatography-Mass Spectrometry Method for Determining Acaricides in Bee Pollen. *Molecules*, 28, 2497. <https://doi.org/10.3390/28062497>
- Huaixiang, T.; Yongbo, S.; Haiyan, Y.; Chen, C. (2018). Aroma features of honey measured by sensory evaluation, gas chromatography-mass spectrometry, and electronic nose. *International journal of food properties*, 21, (1), 1755–1768 <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1213744>
- Jibril, F.I.; Hilmi, A.B.M.; Manivannan, L. (2019). Isolation and characterization of polyphenols in natural honey for the treatment of human diseases. *Bulletin of the National Research Centre*. 43 (4), 1-9 <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0044-7>.

- Lasheras, R. ; Lázaro, R.; Burillo, J.; Bayarri, S. . (2021). Occurrence of Pesticide Residues in Spanish Honey Measured by Quechers Method Followed by Liquid and Gas Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *Foods*, 10, 2262. <https://doi.org/10.3390/foods10102262>.
- Matuszewska, E; Plewa, S; Pietkiewicz, D; Kossakowski, K; Matysiak, J.; Rosinski, G; Matysiak, J. (2022). Mass Spectrometry-Based Identification of Bioactive Bee Pollen Proteins: Evaluation of Allergy Risk after Bee Pollen Supplementation. *Molecules*, 27, 7733. <https://doi.org/10.3390/molecules27227733>
- Momoka S.; Hiroto K.; Yasunori, N. (2020). Determination of Organic Acids in Honey by Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry. *Food Analytical Methods*, 13(12), DOI:10.1007/s12161-020-01845.
- Moreno-González, D.; Alcántara-Duran, J.; Gilbert-López, B. y Beneito-Cambra, M. (2018). Sensitive Detection of Neonicotinoid Insecticides and Other Selected Pesticides in Pollen and Nectar Using Nanoflow Liquid Chromatography Orbitrap Tandem Mass Spectrometry. *Journal of AOAC International*, 101 (2), 367-373.
- Ortega-Arguello, B.; Cárdenas de Morón, I.; Espinoza J.; Rodríguez, J.; Antonucci F.; Arias de C. Y. (2024). Composición química del polen apícola del piedemonte andino, academia de ciencias agrícolas de Venezuela ACAV, Barinas. *Revista Politécnica y Territorial*, 10, 2, 821-832.
- Tedesco, R.; Barbaro, E.; Zangrando, R.; Rizzoli, A.; Malagnini, V.; Gambaro A.; Fontana, P.; Capodaglio, G. (2020). Carbohydrate determination in honey samples by ion chromatography–mass spectrometry (HPAEC-MS). *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 412, 5217–5227. <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02732-3>.
- Tölgyesi, A.; Barta, E.; Sohn, M.; y Sharma, V. (2018). Determination of Antimicrobial Residues in Honey by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *Food Analytical Methods*, 11, 2043-2055 <https://doi.org/10.1007/s12161-018-1166-5>
- Zhang, Y.; Qin Li, X. ; Mei Li, H. ;He Zhang, Q; Gao, Y; Jiang Li, X. (2018). Antibiotic residues in honey: A review on analytical methods by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 110, 344-356.