

**Procedura badawcza oznaczania kwasu szczawiowego i mrówkowego
w miodzie**



Badania wykonane w ramach:

Zadania 4.3 PW

„Doskonalenie technologii pasiecznych w kontekście występowania i eliminacji niekorzystnych czynników, uwarunkowań ekonomicznych i jakości produktów pszczelich”

Obszar tematyczny 4

„Działania na rzecz rozwoju pszczelarstwa w warunkach zmieniającego się środowiska naturalnego”

Program Wieloletni 2015-2020

„Działania na rzecz poprawy konkurencyjności i innowacyjności sektora ogrodniczego z uwzględnieniem jakości i bezpieczeństwa żywności oraz ochrony środowiska naturalnego”

Puławy 2016

Do oznaczeń pozostałości kwasów organicznych (kwasu szczawiowego i kwasu mrówkowego) zastosowano technikę wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem z matrycą fotodiodową HPLC-DAD. Badania wykonano na zestawie HPLC firmy SHIMADZU wyposażonym w dwie pompy gradientowe, mieszalnik do formowania gradientu po stronie wysokiego ciśnienia, degazer trójkanałowy, automatyczny podajnik próbek (tzw. autosampler), termostat z chłodzeniem, kontroler systemu i detektor DAD. Do sterowania zestawem HPLC-DAD z jednoczesnym zbieraniem danych oraz obróbką wyników wykorzystano oprogramowanie komputerowe Labsolution. Rozdział badanych kwasów przeprowadzono na kolumnie chromatograficznej Synergi Hydro-RP 80Å (250 x 4,6 mm, 4 µm), po zastosowaniu elucji izokratycznej, z użyciem 20 mM roztworu diwodorofosforanu (V) potasu (KH₂PO₄) o pH 2,9 jako fazy ruchomej. Przepływ fazy ruchomej ustalono na 0,7 ml/min, a temperaturę kolumny 25°C. Na etapie opracowywania metody widma poszczególnych kwasów zarejestrowano przy długości fali w zakresie od 190 do 400 nm. Do dalszych badań wybrano długość fali, dla której zarejestrowano maksimum absorpcji dla obu badanych kwasów - 220 nm. Czas retencji wynosił średnio 1,891±0,004 min dla kwasu szczawiowego i 2,492±0,011 min dla kwasu mrówkowego. Analizę ilościową badanych kwasów wykonano metodą standardu zewnętrznego. Wyznaczono także podstawowe parametry walidacyjne metody. Granica wykrywalności została ustalona na 1 mg/l dla kwasu szczawiowego i 10 mg/l dla kwasu mrówkowego, a zakres roboczy metody, odpowiednio od 1 do 100 mg/l i od 10 do 1000 mg/l. Współczynnik zmienności wyznaczony na podstawie serii badań wykonanych w warunkach powtarzalności, przy długości fali 220 nm, dla obu badanych kwasów nie przekroczył 2%.

Procedurę opracowała:

dr hab. Teresa Szczęsna, prof. IO