

Procedura badawcza oznaczania tymolu i karwakrolu 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 tymolu wykorzystano technikę wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem fluorescencyjnym HPLC-RF. Opracowana metoda oznaczania tymolu pozwoliła również na oznaczenie karwakrolu – izomeru tymolu - związku chemicznego o identycznych właściwościach farmakologicznych, występujący w preparatach opartych na tymolu, stosowanych do zwalczania *Varroa destructor*. Badania wykonano na zestawie HPLC firmy SHIMADZU wyposażonym w dwie pompy gradientowe, degazer, autosampler, termostat z chłodzeniem i detektor fluorescencyjny RF. Rozdział chromatograficzny przeprowadzono na kolumnie Onyx Monolithic C18 (100 x 4,6 mm) w układzie izokratycznym, przy zastosowaniu jako eluenta układu rozpuszczalników: acetonitryl:woda (40:60), przy przepływie 1 ml/min, w temperaturze 30°C. Czas analizy wynosił 20 min. Detekcji badanych związków dokonano przy długości fali wzbudzenia wynoszącej 274 nm i długości fali emisji – 590 nm. Analizę ilościową badanych związków wykonano metodą standardu zewnętrznego. Wyznaczono także podstawowe parametry walidacyjne metody (Tabela 2). Przygotowanie próbki do badań chromatograficznych polegało na rozpuszczeniu miodu w wodzie dejonizowanej i przefiltrowaniu roztworu przez filtr membranowy PTFE 0,45 µm.

Tabela 2. Podstawowe parametry walidacyjne metody HPLC-RF oznaczania tymolu i karwakrolu w miodzie

Badany związek	Czas retencji (min)	Granica wykrywalności (ng/ml)	Granica oznaczalności (ng/ml)	Zakres roboczy (ng/ml)	Współ. korelacji (%)
Kawrakol	8,074±0,007	1,0	5,0	5 - 100	0,9996
Tymol	8,997±0,008	1,0	5,0	5 - 100	0,9986

Współczynnik zmienności wyznaczony na podstawie serii badań wykonanych w warunkach powtarzalności nie przekroczył 2% dla obu badanych związków. Średni odzysk dla karwakrolu wynosił 90,5±1,07%, dla tymolu 82,8±1,28%.

Procedurę opracowała:

dr hab. Teresa Szczęsna, prof. IO