

Научная сессия БГМУ 2023

Секция «МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ № 3»



**Республиканское унитарное предприятие
«Научно-практический центр гигиены»**

**РАЗРАБОТКА ЭКСПРЕСС-МЕТОДА
ОПРЕДЕЛЕНИЯ N-НИТРОЗАМИНОВ В ПИВЕ
МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ С
ТАНДЕМНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЕЙ**

Разработчики:

Снапкова И.М., лаборант

Капелько И.М., химик

Тимошенко К.В., вед.химик

Крымская Т.П., зав. лаб. хроматографических исследований



Нитрозамины – высокотоксичные азотсодержащие органические соединения:

- Гепатотоксичность;
- Канцерогенность;
- Иммунодепрессивное действие;
- Экземы и дерматиты.

Образуются в пиве на стадии обработки солода в результате воздействия окислов азота.

Амины
(R)₂NH



NO_3^- ; NO_2^-

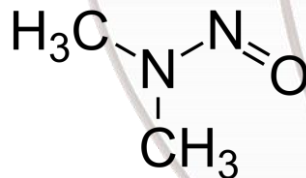
Нитрозирование

N-нитрозамины
(R)₂N-N=O



Физико-химические свойства

Диметилнитрозамин (ДМНА)



Mr 74,08;

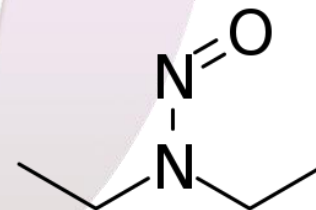
Маслянистая жидкость;

Плотность 1,01 г/см³;

T_{кип} = 152°C;

Растворимость: хорошо растворим в воде, спиртах, эфире, дихлорметане, других органических растворителях, жирах.

Диэтилнитрозамин (ДЭНА)



Mr 102,13;

Маслянистая жидкость;

Плотность 0,95 г/см³;

T_{кип} = 177°C;

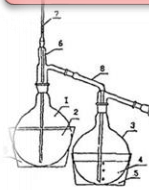
Растворимость: хорошо растворим в воде, спиртах, эфире, дихлорметане, других органических растворителях, жирах.



МВИ МН.3543-2010

«Методика определения нитрозаминов в пищевых продуктах и продовольственном сырье методом высокоэффективной жидкостной хроматографии».

Перегонка с
водяным паром



Экстракция из водного дистиллята хлористым
метиленом



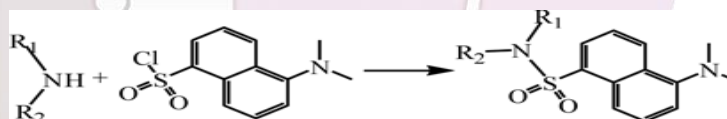
Получение аминов по реакции
денитрозирования с бромистоводородной
кислотой

В темное место на
24 часа

Упаривание экстракта



Получение дансилпроизводных
(2 часа в темном месте)



Переэкстракция в бензол.

Выпаривание растворителя в токе
воздуха.

Растворение образца в подвижной
фазе.

ВЭЖХ с FLD



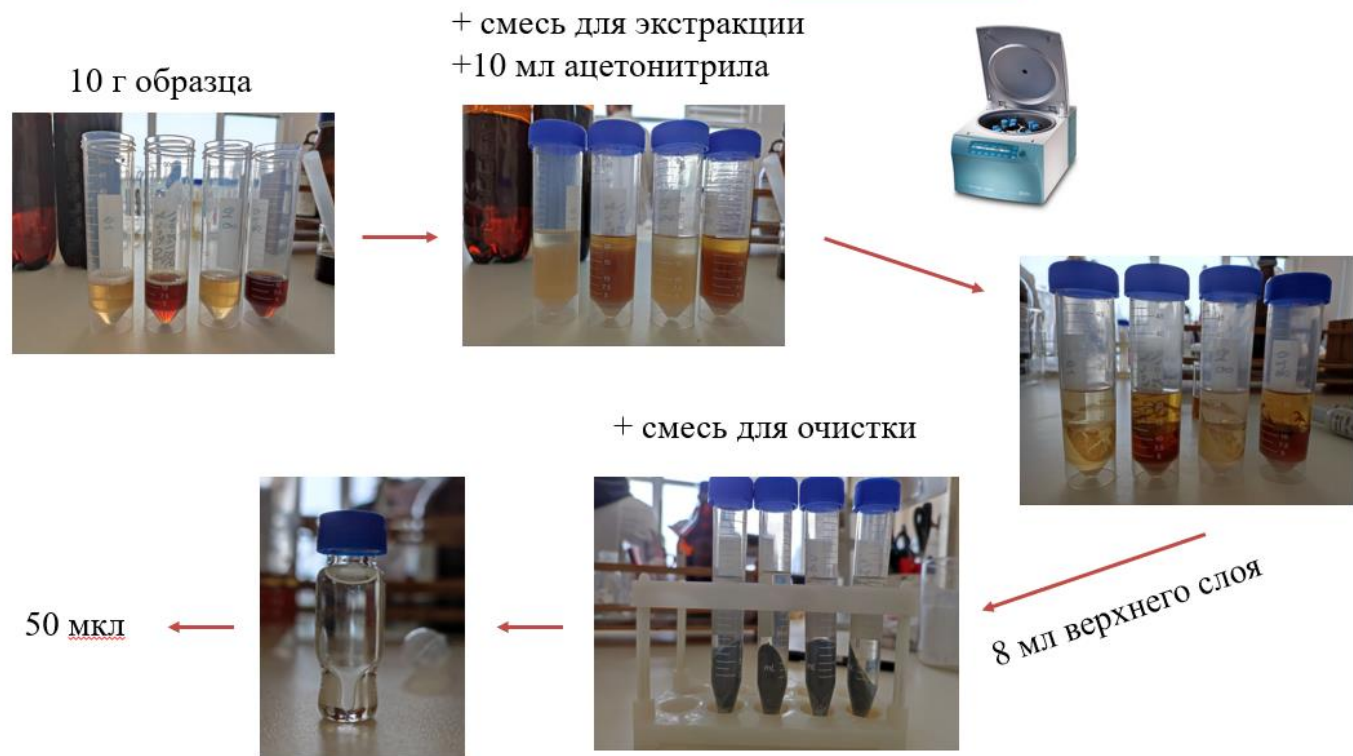


Цель работы

Создать быстрый и эффективный метод анализа нитрозаминов в пиве.

Задачи	Решение
Выбрать метод детектирования не требующий дериватизации	Использование масс-спектрометрического детектора
Сократить время пробоподготовки	Использование смесей для экстракции QuEChERS

Пробоподготовка по методу QuEChERS





Условия хроматографирования

Условия эксперимента для GC-MS/MS TRACE 1310 GC

Injector Temperature	250 °C
Analytical Column	TG-WAX MS, 60m×0.25mm×0.5µm
Carrier gas	He
Flow rate	1.0 mL/min, constant flow
Oven Program	25 °C/min to 130 °C, 45 °C for 3 min, 12 °C/min to 230°C, 1min hold
Transfer line Temperature	250°C
Total analysis time	14.7 min
Total cycle time	18.4 min
Injection Volume	1 µL

TSQ 8000 Triple Quadrupole GC-MS/MS

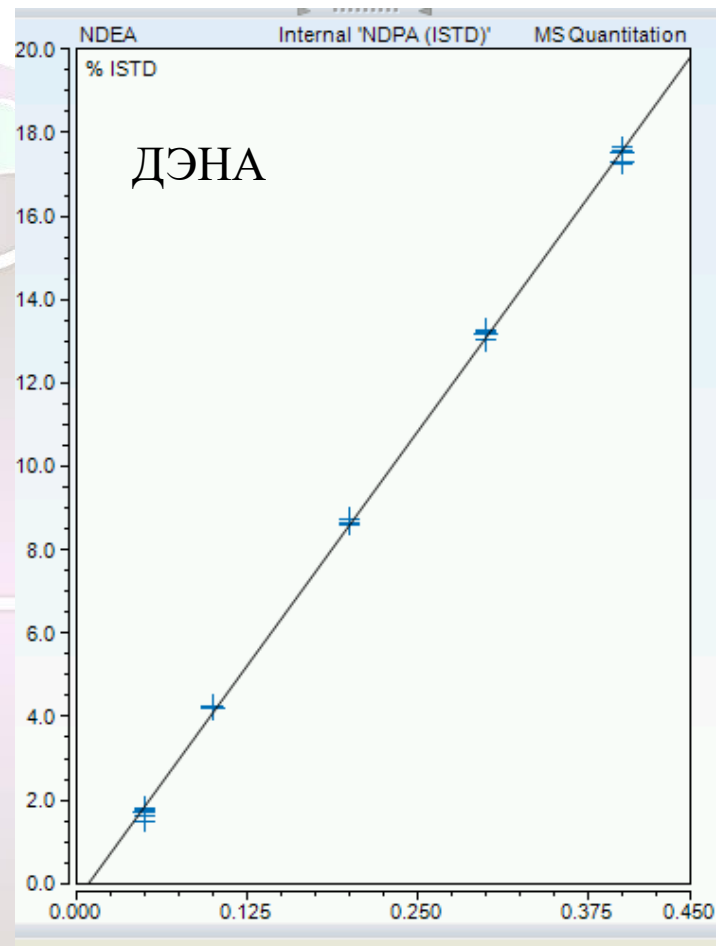
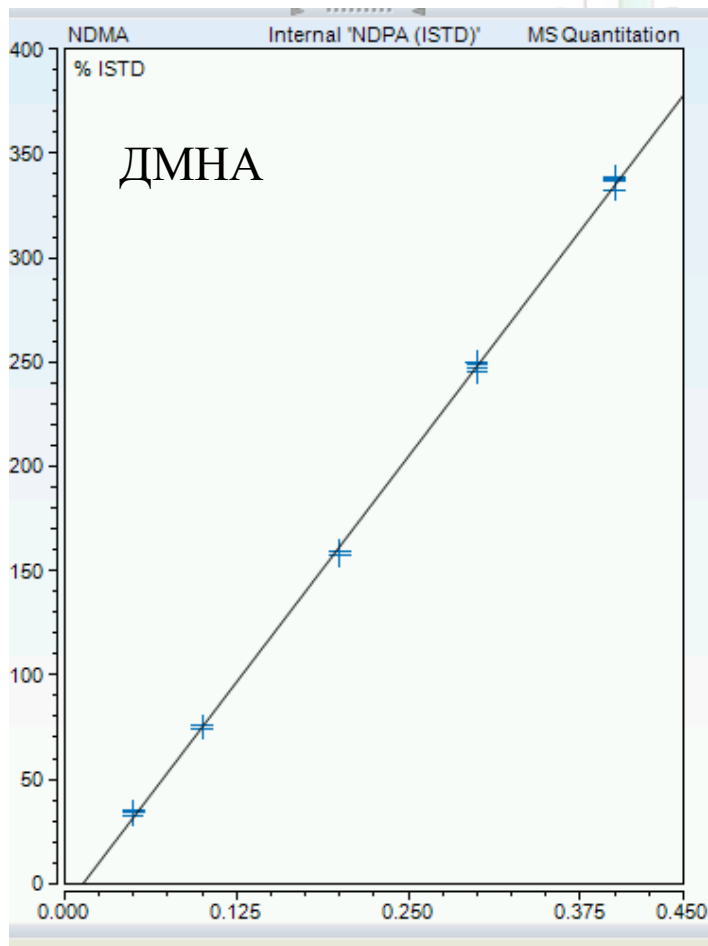
Ionization mode	EI
Scan mode	MRM, retention time-based SRM mode



	Прекурсор	Продукт	Энергия коллизионной ячейки (эВ)	Время удерживания (мин)	Временной промежуток (мин)
ДМНА	74	42,1	15	9,52	1
	74	43,1	5	9,52	1
ДЭНА	102	42,1	10	10,10	1
	102	56,1	5	10,10	1
ДПНА (ISTD)	130	43,1	10	11,12	1
	130	70,1	5	11,12	1



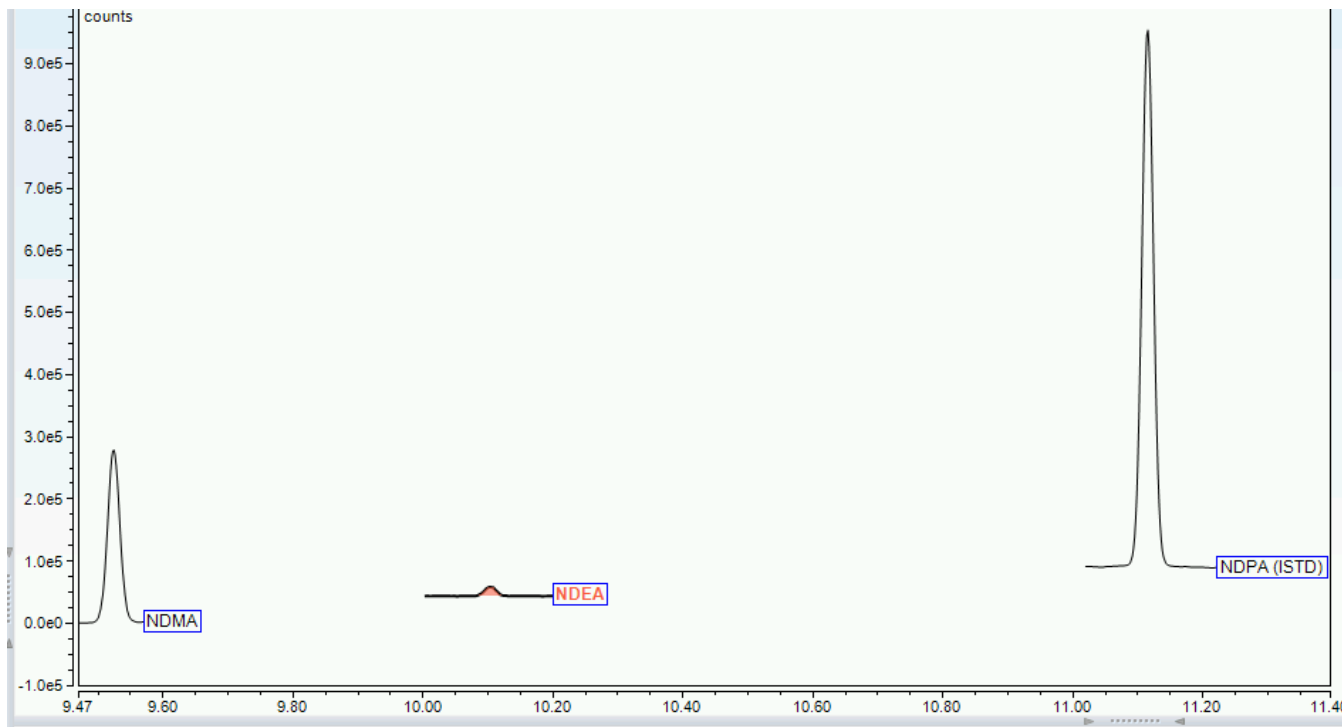
Градуировочный график



#	Name	Ret.Time	Level "1"	Level "2"	Level "3"	Level "4"	Level "5"
1	NDMA	9.520	0.050000	0.100000	0.200000	0.300000	0.400000
2	NDEA	10.100	0.050000	0.100000	0.200000	0.300000	0.400000
3	NDPA (ISTD)	11.120	0.200000	0.200000	0.200000	0.200000	0.200000
*							



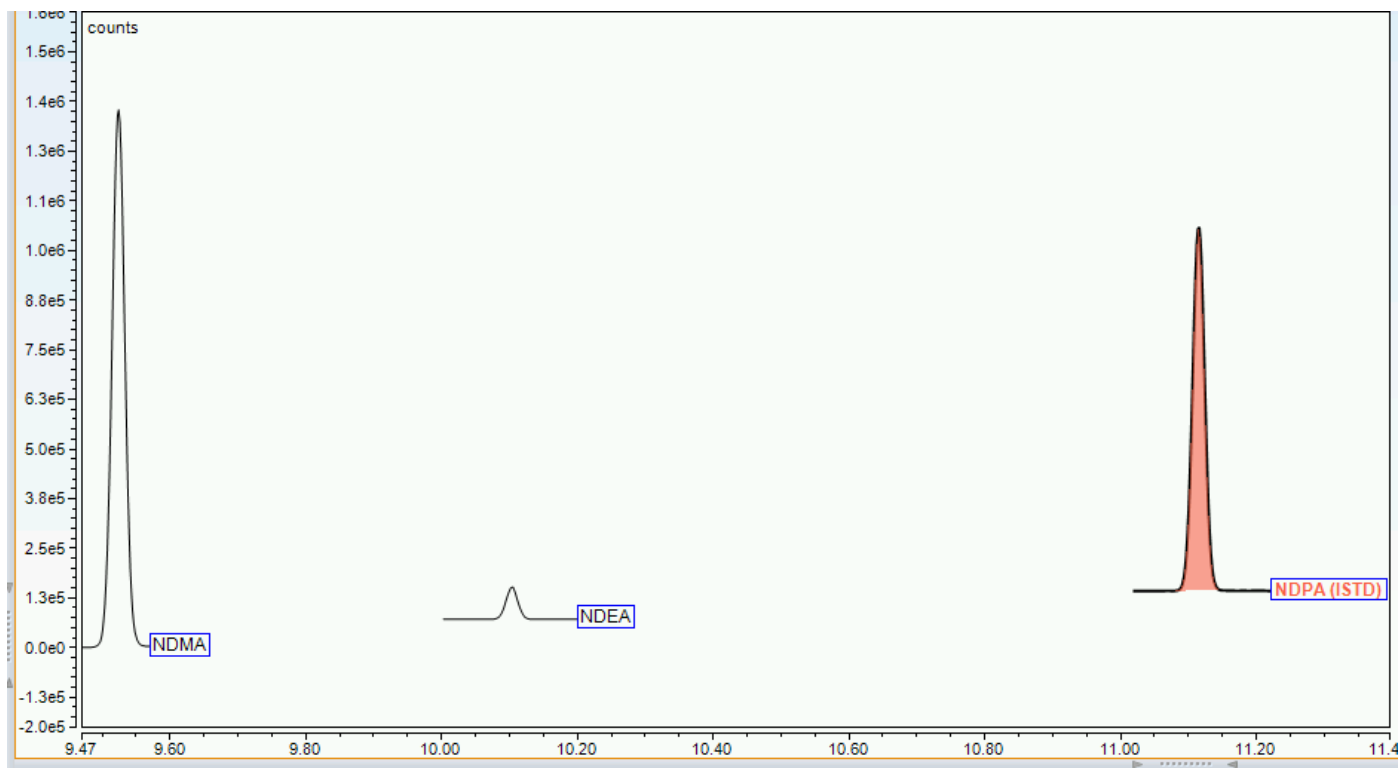
Хроматограмма образца пива с добавкой ISTD 0,2 мкг/мл



	A	B	C	D	E	F	G	H
1	Peak Name	Ret. Time	Area	Rel Area	Amount	Overall Ion Ratio	Quant. Ion	Conf. Ion #1
2		min	counts*min	%		Confirmation	m/z	m/z
4	NDMA	9.52	6245	23.37	0.053	Confirmed	42.100	43.100
5	NDEA	10.11	319	1.19	0.047	Confirmed	56.100	42.100
6	NDPA (ISTD)	11.12	18344	68.64	0.200	Confirmed	43.100	70.100



Хроматограмма образца пива с добавкой ISTD 0,2 мкг/мл, ДМНА и ДЭНА 0,15 мкг/мл



	A	B	C	D	E	F	G	H	
1	Peak Name	Ret. Time	Area	Rel Area	Amount	Overall Ion Ratio	Quant. Ion	Conf. Ion #1	Ion #2
2		min	counts*min	%		Confirmation	m/z	m/z	(Exp)
4	NDMA	9.52	30328	57.42	0.195	Confirmed	42.100	43.100	5
5	NDEA	10.10	1661	3.14	0.200	Confirmed	56.100	42.100	5
6	NDPA (ISTD)	11.12	19287	36.52	0.200	Confirmed	43.100	70.100	5



ВЫВОДЫ:

- ❖ Полученный метод соответствует поставленным целям.
- ❖ Необходим сбор статистических данных для установления метрологических характеристик.