**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

**БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**

**Институт физиологии НАН Беларуси**

**Лаборатория физиологии питания и спорта**

ВАГИН

Сергей Владимирович

**Оптимизация и установление метрологических характеристик способа количественного определения генистеина в сухих молочных смесях методом ВЭЖХ-МС**

Дипломная работа

Научный руководитель:

кандидат биологических наук,

 старший научный сотрудник

Рудниченко Ю.А.

Допущен к защите

«\_\_\_\_»\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_2019 года

Зав. кафедрой биохимии

кандидат биологических наук, доцент

Семак И.В. \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Минск, 2019

**Реферат**

Дипломная работа, 67 страниц, 9 рисунков, 17 таблиц, 93 источника.

ГЕНИСТЕИН, ФИТОЭСТРОГЕНЫ, СУХИЕ МОЛОЧНЫЕ СМЕСИ, ЭКСТРАКЦИЯ, ВЭЖХ-МС.

**Цель работы:**Оптимизироватьметод экстракции фитоэстрогенов из продуктов детского питания для количественного определения с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии.

**Методы исследования:** спектрофотометрические, статистические, хроматографические.

В результате проведенных исследований установленно, что экстракция фитоэстрогенов смесью, состоящей из 80% ацетонитрила и 20% 0,1 М соляной кислоты, которую подвергали сонификации на ультразвуковой бане в течение 30 мин при 50оС и инкубации на тремошейкере 30 мин при 37оС (700 об/мин) дает их максимальный выход в экстрактивную фазу (при 250-270 нм).

Было установлено, что при единовременном внесении сухой молочной смеси и растворителя, образуется нерастворимый сгусток, снижающий степень выхода фитоэстрогенов в раствор.

При предварительном растворении сухой молочной смеси в воде экстракция генистеина прошла в 6,5 раз лучше, чем в образцах без предварительного растворения в воде.

Установлены методические параметры для разделения и количественного определения генистеина методом хроматомасс-спектроскопии.

С использованием стандартных растворов генистеина проведен масс-спектральный анализ основных и подтверждающих ионов. Выбраны оптимальные условия ионизации определяемого вещества.

Определены градуировочные зависимости концентраций генистеина от относительного сигнала детектора в диапазоне концентраций от 40 до 700 нг/мл.

Установлены значения показателя промежуточной прецизионности = 5,08% и предела промежуточной прецизионности = 14.22% с изменяющимися факторами «время + оператор».

Разработан простой и воспроизводимый метод экстракции генистеина из сухих молочных смесей.

**Область применения результатов исследования:** биохимия, биохимия питания.

**Рэферат**

Дыпломная работа, 67 старонак, 9 малюнкаў, 17 табліц, 93 крыніцы.

ГЕНІСТЭІН,ФІТАЭСТРАГЕНЫ, СУХІЯ МАЛОЧНЫЯ СУМЕСІ, ЭКСТРАКЦЫЯ, ВЭВХ-МС.

**Мэта работы:**Аптымізаваць метад экстракцыі фітаэстрагенаў з прадуктаў дзіцячага харчавання для колькаснага вызначэння з дапамогай высокаэфектыўнай вадкаснай храматаграфіі.

**Метады даследавання:** спектрафотаметрычныя, статыстычныя, храматаграфічныя.

У выніку праведзеных даследаванняў устаноўленых, што экстракцыя фітаэстрагенаў сумессю, якая складаецца з 80% ацэтанітрылу і 20% 0,1 М салянай кіслаты, якую падвяргалі саніфікацыі на ультрагукавой лазні на працягу 30 мін пры 50 оС і інкубацыі на тремошейкеру30 мін пры 37 ° С (700 аб / мін) дае іх максимальны ўзровень экстракцыі (пры 250-270 нм).

Было ўстаноўлена, што пры адначасовым унясенні сухой малочнай сумесі і растваральніка, утворыцца нерастваральны згустак, які зніжае ступень экстракцыі фітоэстрогенаў у раствор.

Пры папярэднім растварэнні сухой малочнай сумесі ў вадзе экстракцыя геністэіну прайшла ў 6,5 разоў лепш, чым у ўзорах без папярэдняга растварэння ў вадзе.

Устаноўлены метадычныя параметры для падзелу і колькаснага вызначэння геністэіну метадам храматамас-спектраскапіі.

З выкарыстаннем стандартных раствораў геністэіну праведзены мас-спектральны аналіз асноўных і паццвярджаючых іёнаў. Выбраны аптымальныя ўмовы іянізацыі вызначанага рэчыва.

Вызначаны градуіровачныязалежнасці канцэнтрацый геністэіну ад адноснага сігналу дэтэктара ў дыяпазоне канцэнтрацый ад 40 да 700 нг / мл.

Ўстаноўлены значэння паказчыка прамежкавай прэцызійных = 5,08% і мяжы прамежкавай прэцызійных = 14.22% з зменлівымі фактарамі «час + аператар».

Распрацаваны просты і ўзнаўляльны метад экстракцыі геністэіну з сухіх малочных сумесяў.

**Вобласть выкарыстання выникаў даследавання:** біяхімія, біяхімія харчавання.

**Abstract**

Graduate work, 67 pages, 9 figures, 17 tables, 93 sources.

GENISTINE, PHYTOESTROGENS, DRY MILKING MIXTURES, EXTRACTION, HPLC-MS.

**Objective:**Optimize the method for extracting phytoestrogens from baby food products for quantitative determination using high performance liquid chromatography.

**Research methods:** spectrophotometric, statistical, chromatographic.

As a result of the conducted research, it was established that extraction of phytoestrogens with a mixture consisting of 80% acetonitrile and 20% 0.1 M hydrochloric acid, which was subjected to sonification in an ultrasonic bath for 30 minutes at 50 ° C and incubated on a tremoshaker for 30 minutes at 37 ° C (700 rpm ) gives their maximum level of extraction (at 250-270 nm).

It was found that when a dry milk mixture and solvent are applied at one time, an insoluble clot is formed, which reduces the degree of extraction of phytoestrogens into the solution.

When pre-dissolving the dry milk mixture in water, extraction of genistein was 6.5 times better than in samples without first dissolving in water.

Methodical parameters for the separation and quantitative determination of genistein by gas-mass spectroscopy were established.

Using standard solutions of genistein, a mass spectral analysis of the main and underlying ions was carried out. The optimal conditions for the ionization of the analyte are selected.

Calibration dependences of genistein concentrations on the relative detector signal in the concentration range from 40 to 700 ng / ml were determined.

The values of the intermediate precision index = 5.08% and the intermediate precision limit= 14.22% with changing time + operator factors are established.

A simple and reproducible method for the extraction of genistein from dry milk mixtures has been developed.

**Scope survey results:** biochemistry, nutrition biochemistry.