МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

бЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСтВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

биологический факультет

**Кафедра биохимии**

КИШИНЕЦ

Виталий Александрович

Оптимизация и установление метрологических характеристик способа количественного определения дайдзеина в сухих молочных смесях методом вэжх-мс

Дипломная работа

Научный руководитель:

кандидат биологических наук

Т.А.Хрусталёва

Допущена к защите

«\_\_\_»\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2019 г.

Зав. кафедрой биохимии

Кандидат биологических наук,доцент

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

Минск, 2019

Реферат

Дипломная работа, 69 страниц, 13 рисунков, 19 таблиц, 81 источников.

дайдзеин, фитоэстрогены, сухая молочная смесь, Экстракция,вэжх-мс, метрологические характеристики.

**Цель работы:**разработать простой и надежный метод количественного определения содержания дайдзеина в сухих молочных смесях, предназначенных для детского питания, с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией.

Методы исследования:биохимические,спектрофотометрические, хроматографические, статистические.

На основании проведённого скрининга различных способов и условий экстракции выделен наиболее эффективный, заключающийся в использовании в качестве экстрактивной фазы 80% ацетонитрила в 0,1М соляной кислоте с последующей сонификацией образцов на ультразвуковой бане в течение 30 мин при температуре 50˚С и инкубации на термошейкере 30 мин при 50˚С (интенсивность встряхивания 700 об/мин). Предварительное растворение сухой молочной смеси в воде дастоверно повышает степень экстракции дайдзеина в 9,1 раза.

Определены оптимальные условия разделения и ионизации дайдзеина и внутреннего стандарта 7-гидрокси-4-хромона с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрическим детектированием.

Установлен линейный диапазон для градуировочной зависимости концентрации дайдзеина от отклика детектора в пределах от 40 до 700 нг/мл. Рассчитанные значения повторяемости и промежуточной прецизионности разработанного метода указывают на возможность использования его в практике для контроля содержания дайдзеина в сухих молочных смесях, предназначенных для детского питания.

**Область применения результатов исследования:** биохимия,контроль качества продуктов для детского питания.

**РЭФЕРАТ**

Дыпломная праца, 69 старонак, 13 малюнкаў, 19 табліц, 81 крыніц.

ДАЙДЗЕіН, фітаэстрагены, Сухая малочную сумесь, экстракцыі, ВЭЖХ-МС, метралагічныя характарыстыкі.

**Мэта работы:** распрацаваць просты і надзейны метад колькаснага вызначэння ўтрымання дайдзеіна ў сухіх малочных сумесях, прызначаных для дзіцячага харчавання, з выкарыстаннем высокаэфектыўнай вадкаснай храматаграфіі з мас-спектраметрыі.

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

На падставе праведзенага скрынінга розных спосабаў і ўмоў экстракцыі вылучаны найбольш эфектыўны, які складаецца ў выкарыстанні ў якасці экстрактыўных фазы 80% ацэтанітрылу ў 0,1М салянай кіслаце з наступнай соніфикаціей узораў на ультрагукавой лазні на працягу 30 мін пры тэмпературы 50˚С і інкубацыі на термошейкере 30 мін пры 50˚С (інтэнсіўнасць ўстрэсвання 700 аб / мін). Папярэдняе растварэнне сухой малочнай сумесі ў вадзе дастоверно павышае ступень экстракцыі дайдзеіна ў 9,1 разы.

Вызначаны аптымальныя ўмовы падзелу і іянізацыі дайдзеіна і ўнутранага стандарту 7-гідраксілу-4-хромона з выкарыстаннем высокаэфектыўнай вадкаснай храматаграфіі і мас-спектраметрычнага дэтэктавання.

Усталяваны лінейны дыяпазон для градіровачнай залежнасці канцэнтрацыі дайдзеіна ад водгуку дэтэктара ў межах ад 40 да 700 нг / мл. Разлічаныя значэння паўтаранасці і прамежкавай прэцызійных распрацаванага метаду паказваюць на магчымасць выкарыстання яго ў практыцы для кантролю ўтрымання дайдзеіна ў сухіх малочных сумесях, прызначаных для дзіцячага харчавання.

**Вобласць прымянення вынікаў даследавання:** біяхімія, кантроль якасці прадуктаў для дзіцячага харчавання.

**Abstract**

Thesis, 69 pages, 13 figures, 19 tables, 81 sources.

DAIDZEIN, PHYTOESTROGENES, DRY MILK MIXTURE, EXTRACTION, HPLC-MS, METROLOGICAL CHARACTERISTICS.

**Objective:** to develop a simple and reliable method for the quantitative determination of daidzein content in dry milk mixtures intended for baby food using high performance liquid chromatography with mass spectrometry.

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

Based on the screening of various methods and conditions of extraction, the most effective was selected, consisting of using 80% acetonitrile in 0.1 M hydrochloric acid as the extractive phase, followed by sonification of the samples in an ultrasonic bath for 30 minutes at a temperature of 50 ° C and incubation on a thermoshaker 30 min at 50 ° C (shaking intensity 700 rpm). Pre-dissolving the dry milk mixture in water significantly increases the degree of extraction of daidzein by 9.1 times.

The optimal conditions for the separation and ionization of daidzein and the internal standard of 7-hydroxy-4-chromone were determined using high-performance liquid chromatography and mass spectrometric detection.

A linear range was established for the calibration dependence of the daidzein concentration on the detector response in the range from 40 to 700 ng / ml. The calculated values of repeatability and intermediate precision of the developed method indicate the possibility of using it in practice to control the content of daidzein in dry milk mixtures intended for baby food.

**The scope of the research results:** biochemistry, quality control of products for baby food.