

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
НАУЧНЫЙ ЦЕНТР МЕДИКО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ
УПРАВЛЕНИЯ РИСКОВ ЗДОРОВЬЯ НАСЕЛЕНИЯ»**

***Идентификация химического состава
пищевых продуктов для оценки
химической безопасности на
примере контаминации
N-нитрозоаминами***

**Заместитель заведующего отделом химико-аналитических
методов исследования, доктор биологических наук
Нурисламова Татьяна Валентиновна**

Одним из приоритетных направлений деятельности Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Роспотребнадзора является

участие в мероприятиях направленных на реализацию *Доктрины продовольственной безопасности Российской Федерации*, утвержденной Указом Президента Российской Федерации от 30.01.2010 № 120

По данным Государственной Думы на российском рынке около 74 % товаров народного потребления фальсифицировано.

В целях контроля и предупреждения фальсификации пищевых продуктов приняты Федеральные законы:

- *«О защите прав потребителей»,*
- *«О стандартизации»,*
- *«О сертификации продукции и услуг»,*
- *«Об обеспечении единства измерений»,*
- *«О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения»,*
- *«О качестве и безопасности пищевых продуктов»*

Основным методическим принципом установления фальсификации является идентификация химического состава пищевых продуктов.

Экспертиза пищевых продуктов с подозрением на их фальсификацию требует использования не только специальных физико-химических и химических методов анализа, которые отличаются высокой степенью достоверности и объективности, но и новых эффективных способов определения фальсификации и идентификации с использованием современного аналитического оборудования (газовая и жидкостная хромато-масс-спектрометрия ГХ/МС, ВЭЖХ/МС).

Новое направление исследований Центра

Идентификация химического состава пищевой продукции для оценки химической безопасности

- Санитарно-эпидемиологическими правилами и нормативами СанПиН 2.3.2.1078-01 «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов»;
- Техническим регламентом ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции»
- В документах:
 - Всемирной торговой организации (ВТО),
 - Европейского Союза (ЕС).

Установленные нормативы в РФ и международных документах

Наименование продукции	Наименование показателя	ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции»	Единые санитарные требования	Норматив в санитарных правилах СанПиН 2.3.2.1078-01	Установленные нормативы в международных документах	
					ВТО	ЕС
1. Консервы из мяса, мясорастительные консервы	Нитрозамины Сумма НДМА и НДЭА	<u>Не допускается</u> $\leq 0,001$ мг/кг	<u>Не допускается</u> $\leq 0,001$ мг/кг	<u>0,002</u> мг/кг (для консервов с добавлением нитрита натрия)	Не нормируется (Codex Stan 193-995)	Не нормируется (регламент ЕС 1881/2006)
2. Копченые мясные, мясосодержащие и птичьи продукты	Нитрозамины Сумма НДМА и НДЭА	<u>0,004</u> мг/кг (для копченых продуктов)	<u>0,004</u> мг/кг (для копченых продуктов)	<u>0,004</u> мг/кг (для копченых продуктов)	Не нормируются, (Codex Stan 193-1995)	Не нормируется (регламент ЕС 1881/2006)

Актуальность исследований по идентификации химического состава и количественного определения N-нитрозоаминов в пищевой продукции

N-нитрозоамины (NAS) (N-нитрозометилэтиламин, N-нитрозопирролидин, N-нитрозоди-н-пропиламин, N-нитрозопиперидин, N-нитрозоди-н-бутиламин, N-нитрозодифениламин) 1-ый класс опасности, канцерогены.

○ В любых мясопереработанных продуктах присутствуют нитриты.

○ Изготовленные без применения нитритов мясопереработанные продукты опасны из-за возможности развития в них возбудителя ботулизма.

○ Попадая в пищеварительный тракт человека в результате эндогенного синтеза нитриты могут превращаться в канцерогенные N-нитрозоамины!

Актуальность исследований идентификации химического состава пищевой продукции

СХЕМА ИССЛЕДОВАНИЙ

Идентификация химических соединений в образцах пищевой продукции в режиме SCAN



Выделение приоритетных соединений по коэффициенту совпадения с библиотечными масс-спектрами 50-100%



Количественное определение приоритетных химических соединений в режиме селективного ионного мониторинга (SIM)



Разработка методических документов по разделу 4.1. Химические факторы



Внедрение методики в практику системы Роспотребнадзора

Исследования по идентификации химического состава пищевых продуктов включают

Обнаружение органических соединений различных классов, в том числе N-нитрозоаминов в режиме SCAN

Подтверждение их структуры по библиотечным масс-спектрам

Возможность использования этих соединений в качестве **критериев идентификации**, которые могут свидетельствовать о загрязнении пищевых продуктов органическими соединениями, незаявленных производителем

Для оценки химической безопасности пищевой продукции в химико-аналитическом отделе Центра разрабатываются современные высокочувствительные и селективные методики

1. **МУК 4.1. 3478 – 17** «Измерение массовых концентраций летучих N-нитрозоаминов (N-нитрозодиметиламин, N-нитрозодиэтиламин) в молочной продукции хромато-масс-спектрометрическим методом»
2. **СТО М 24-2016** Измерение содержания N-нитрозоаминов (N-диметилнитрозоамин, N-метилэтилнитрозоамин, N-диэтилнитрозоамин, N-дипропилнитрозоамин, N-дибутилнитрозоамин, N-пиперидиннитрозоамин) в пищевой продукции (консервы из мяса, мясорастительные) методом хромато-масс-спектрометрии (*получено **свидетельство об аттестации методики измерения «88-16207-083-РА.RU.310657-2016»***).
3. **СТО М-29-2017** «Методика измерений содержания N-нитрозоаминов (N-диметилнитрозоамин, N-метилэтилнитрозоамин, N-диэтилнитрозоамин, N-дибутилнитрозоамин, N-дипропилнитрозоамин, N-пиперидиннитрозоамин, N-пирролидиннитрозоамин, N-морфолиннитрозоамин, N-дифенилнитрозоамин) в пробах пищевой продукции (копченые мясные, мясо- и птице- продукты) методом хромато-масс-спектрометрии».

Диапазон определяемых концентраций: 0,0002-0,0016 мг/кг при погрешности методик не более 19%.

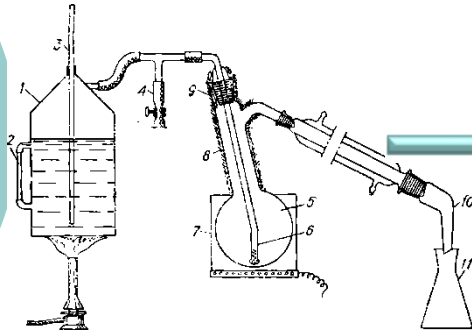
Идентификация химических соединений, обнаруженных в образцах пищевых продуктов

- **Гибридный метод** - газовая хроматография и масс-спектрометрия (ГХ/МС) газовый хроматограф Agilent 7890A (USA) с квадрупольным масс-селективным детектором 5975С.
- На этапе пробоподготовки пищевой продукции применяли автоматическую систему твердофазной экстракции ТФЭ (**Sepaths**)



Идентификация химических соединений, обнаруженных в образцах пищевых продуктов

1



Дистилляция

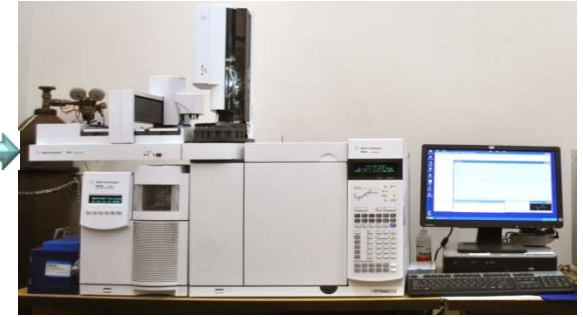
N-нитрозоаминов из образца перегретым водяным паром

2



Концентрирование N-нитрозоаминов дистиллята на картридже, автоматической системы ТФЭ

3



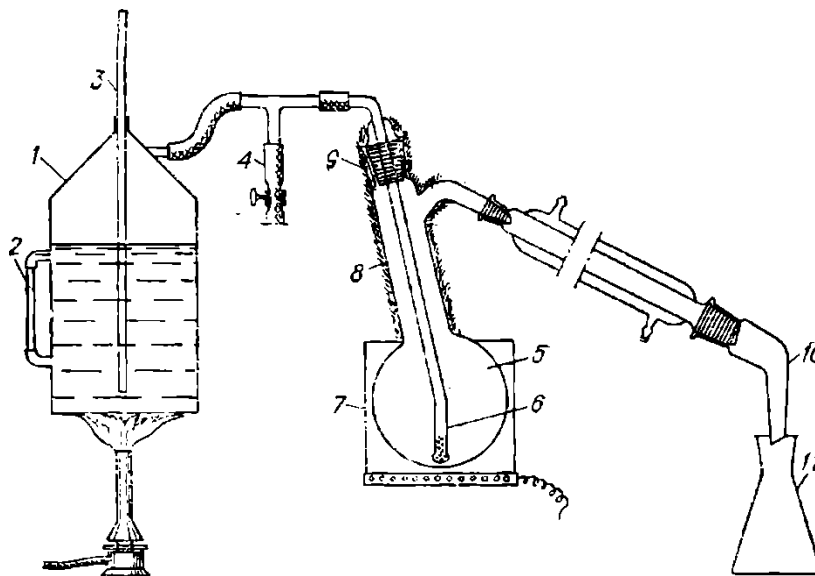
Хромато-масс-спектрометрический анализ N-нитрозоаминов, содержащихся в элюате

Экспериментальная схема способа подготовки образцов пищевой продукции для химического анализа и идентификации N-нитрозоаминов

Алгоритм проведения аналитического исследования пробоподготовки образцов пищевой продукции к идентификации и химическому анализу N-нитрозаминов



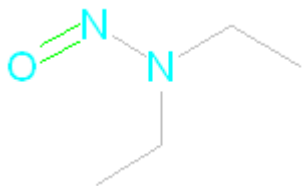
Для устранения матричных эффектов выполняли очистку образцов пищевой продукции от мешающих компонентов и жира методом дистилляции с перегретым водяным паром и добавлением калия гидроксида массой 1,5 г, что обеспечивало увеличение полноты и селективности экстракционного извлечения аналитов из образца.



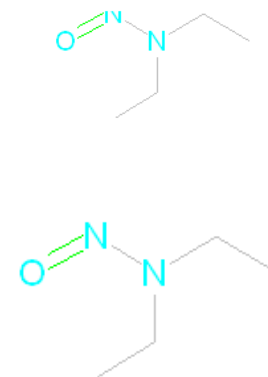
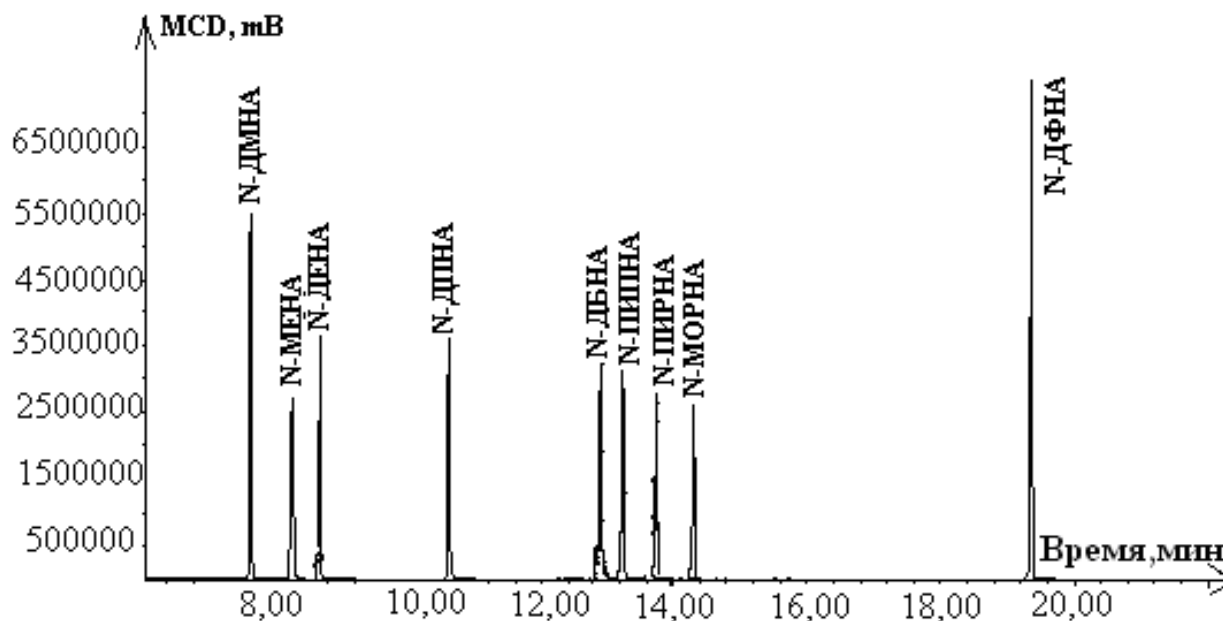
Установка для дистилляции N-нитрозоаминов из образца пищевой продукции

- **Стадия кондиционирования** - активация картриджа:
 - промывка хлористым метиленом объемом 2 мл,
 - этилацетатом объемом 2,5 мл с задержкой растворителя в течение 30 сек.
 - для удаления остаточных количеств растворителей картридж промывали водой объемом 2 мл;
- **Стадия адсорбции** - концентрирование целевых аналитов на картридже. Загрузка пробы стандартного образца объемом 70 мл;
- **Сушка картриджа** в течение 20 минут для последующей подачи хлористого метилена;
- **Элюирование целевых аналитов** с картриджа хлористым метиленом объемом 4 мл.



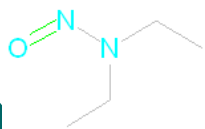


Хроматограмма стандартного раствора 9 N-нитрозоаминов

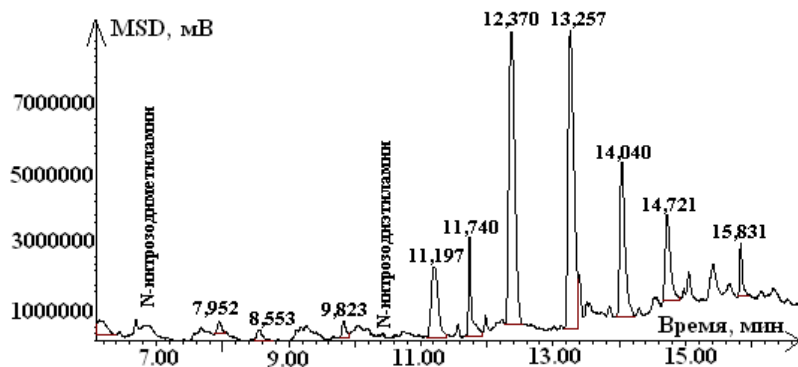
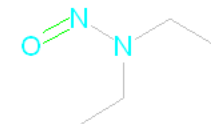


При оптимально отработанных условиях подготовки пищевых проб к химическому анализу (дистилляция и ТФЭ) и хромато-масс-спектрометрического определения достигнута высокая эффективность разделения 9 N-нитрозоаминов стандартного образца. **Полнота извлечения составила 100%.**

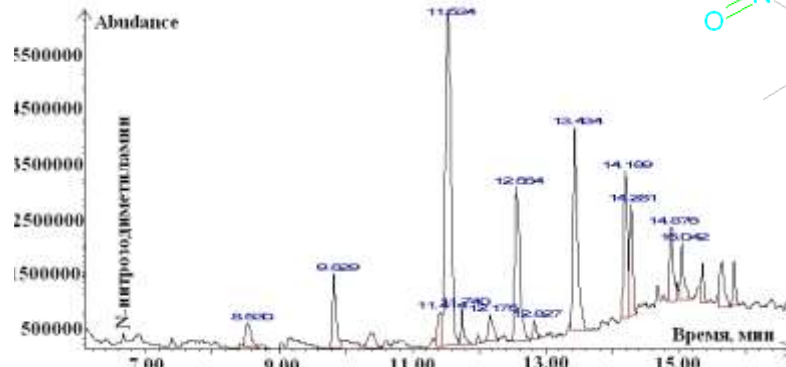
*Результаты
идентификации
N-нитрозоаминов,
обнаруженных
в образцах пищевой
продукции
(детские мясные
консервы)*



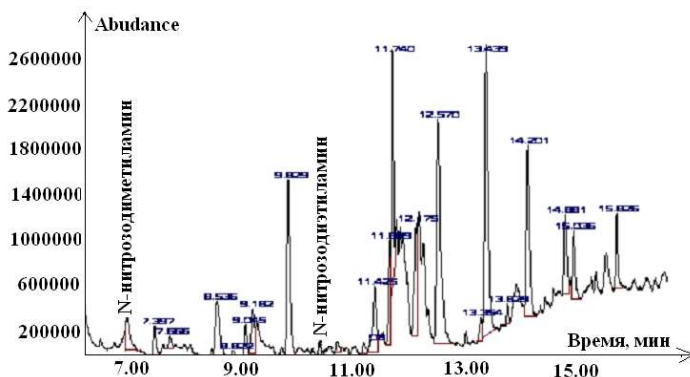
Хроматограммы N-нитрозаминов, обнаруженных в образцах детских мясных консервов



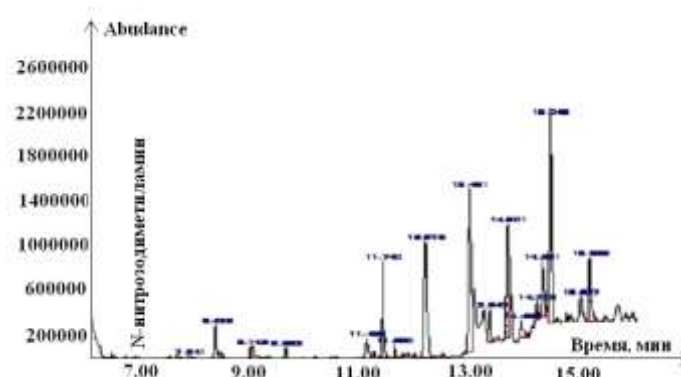
Мясные консервы №1



Мясные консервы №2

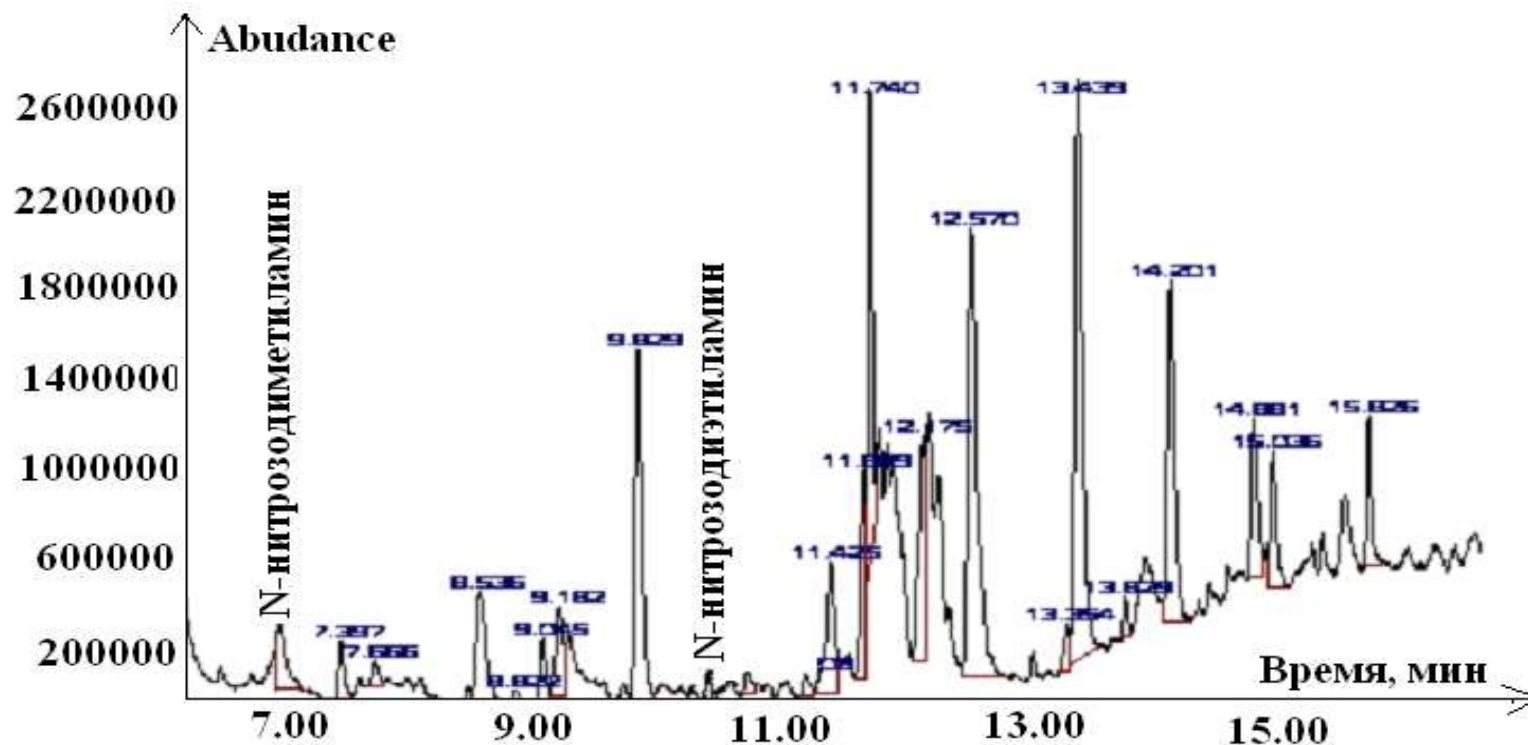


Мясные консервы №3



Мясные консервы №4

Идентификация химического состава образцов детских мясных консервов



Хроматограмма химических соединений, обнаруженных в **образце №3** мясных консервов (время регистрации от 5 до 20 мин).

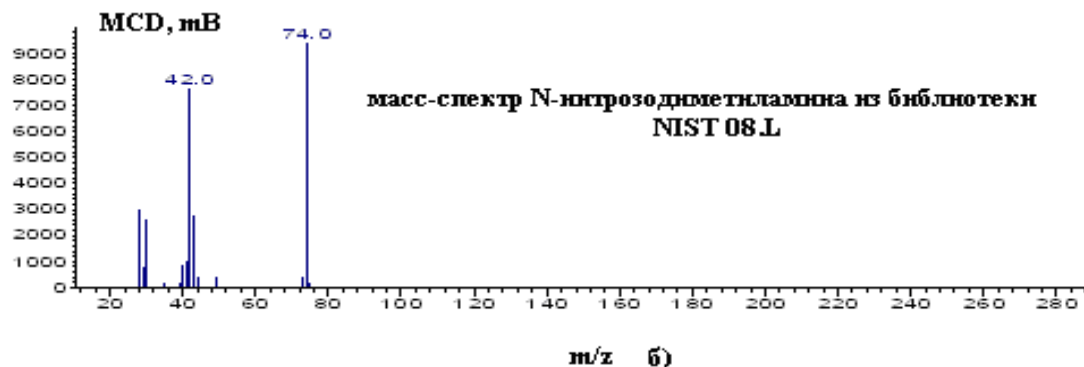
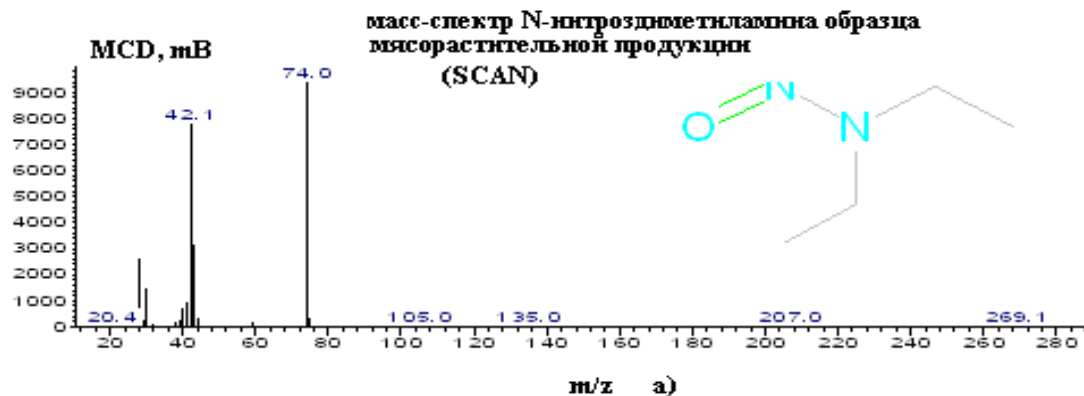
Результаты хромато-масс-спектрометрических исследований (ГХ/МС) образцов детских мясных консервов

Химический состав образца мясных консервов №3

Ингредиент	Вероятность совпадения с библиотечными масс-спектрами, %
1. N-нитрозодиэтиламин	77
2. N-нитрозодиметиламин	70
3. Фурфурол	50
4. Фенолметокси	72
5. 2-этилгексанол	78
3. 2-фуранметанол	91
4. Нафталин	72
5. Ацетаминофенол	52

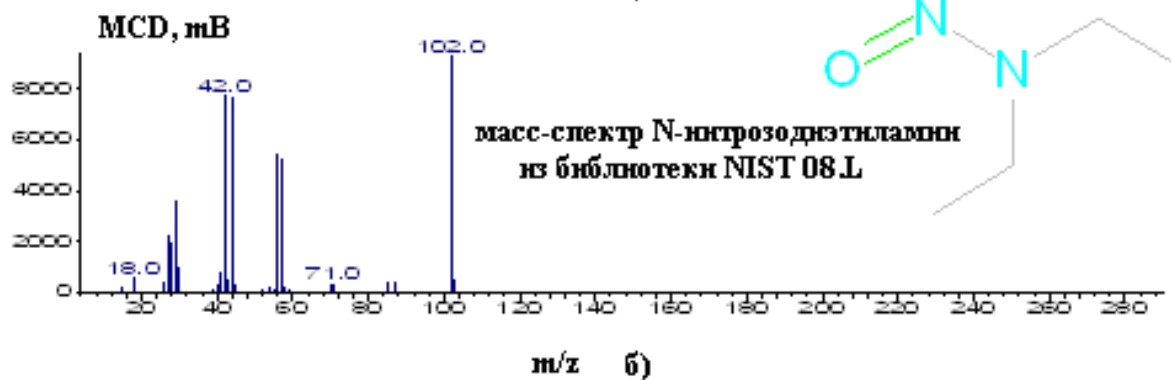
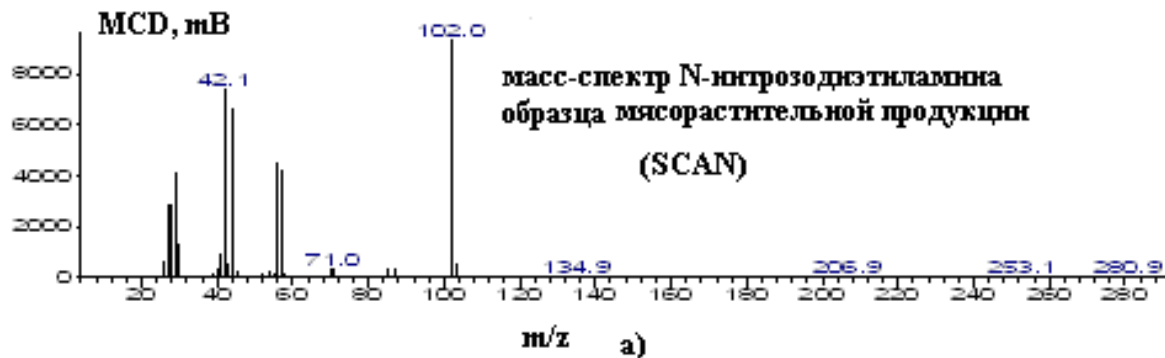
Для расшифровки результатов масс-спектрометрического анализа использованы библиотеки масс-спектральных данных NIST 08.L (около 300 000 масс-спектров), WILEY275.L (около 450 000 масс-спектров) и PMW TOX2.L и идентификационной базы загрязнителей природной среды Американского агентства защиты окружающей среды (около 300 000 масс-спектров)

Результаты идентификации N-нитрозодиметиламина, обнаруженного в образце детских мясных консервов



Сравнение масс-спектра N-нитрозодиметиламина образца мясных консервов (а) с библиотечным спектром по характеристическим ионам (m/z 74, 42) (б) (по **относительной интенсивности ионов как функции от m/z**)

Результаты идентификации N-нитрозодиэтиламина, обнаруженного в образце детских мясных консервов



Сравнение масс-спектра N-нитрозодиэтиламина образца мясных консервов (а) с библиотечным спектром по характеристическим ионам (m/z 102, 42) (б) (по **относительной интенсивности ионов как функции от m/z**)

СТО М 24-2016 Измерение содержания
N-нитрозоаминов в пищевой продукции (консервы из
мяса, мясорастительные)

***Результаты количественного
определения N-нитрозоаминов
в образцах пищевой продукции
(детские мясные консервы)***

○ Исследовано 8 образцов детских мясных консервов

○ Оценка содержания суммы N-нитрозодиметиламина и N-нитрозодиэтиламина, обнаруженных в образцах выполнена на соответствие :

➤ ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции». Приложение 3. Гигиенические требования безопасности к пищевой продукции

➤ СанПиН 2.3.2.1078-01 «Гигиенические требования безопасности и ценности пищевой ценности продуктов детского питания».

Результаты количественного определения N-нитрозоаминов в образцах детской мясной продукции различных производителей

Ингредиент	№1	№2	№3	№4	№5	№6	№7	№8
	Концентрация, мг/кг							
1. N-диметилнитрозоамин	0,0097	0,0015	0,00086	0,00042	0,00167	0,0036	0,0007	0,0014
2. N-метилэтилнитрозоамин	0,0025	0,0023	0,001	0,0010	0,0012	0,0005	0,001	0,00067
3. N-диэтилнитрозоамин	0,00004	0,00014	0,0001	0,000014	0,00003	0,000042	0,00005	Не обнаружено
4. N-дипропилнитрозоамин	0,00024	0,00045	0,00043	Не обнаружено	0,00398	0,0017	0,00038	0,00048
5. N-дибутилнитрозоамин	0,0005	0,00935	0,0059	0,002	0,0019	0,00007	Не обнаружено	0,00055
6. N-пиперидиннитрозоамин	0,0001	0,00024	0,00003	0,000043	0,000042	0,000026	0,00022	0,00004
7. N-пирролидиннитрозоамин	0,0031	0,00255	0,00057	0,00053	0,00253	0,00059	0,00038	0,00056
8. N-морфолиннитрозоамин	Не обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено
9. N-дифенилнитрозоамин	Не обнаружено	0,000395	0,000097	0,000018	0,0014	Не обнаружено	0,00013	Не обнаружено

В образцах детских мясных консервов определены концентрации N-нитрозоаминов;

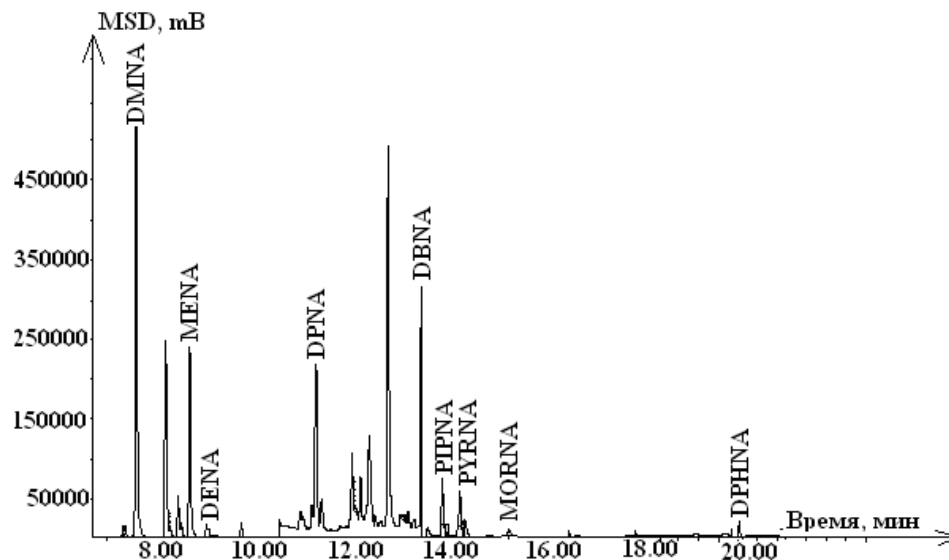
N-диметилнитрозоамин, N-метилэтилнитрозоамин, N-диэтилнитрозоамин, N-дипропилнитрозоамин, N-дибутилнитрозоамин, N-пиперидиннитрозоамин, N-пирролидиннитрозоамин, N-дифенилнитрозоамин.

СТО М-29-2017. «Методика измерений содержания
9 N-нитрозоаминов в пробах пищевой продукции
(копченые мясные, мясо- и птице- продукты)»

***Результаты количественного
определения N-нитрозоаминов в
образцах пищевой продукции
(мясокопченые продукты)***

Мясокомбинат №1

Ингредиент	Образец №1	Образец №2	Образец №3	Образец №4	Образец №5
ПДК Σ N-нитрозоаминов, 0,004 мг/кг					
Концентрация, мг/кг					
Σ N-нитрозоаминов	0,0165	0,0901	0,3509	0,0437	0,0361
	Образец №6	Образец №7	Образец №8	Образец №9	
Σ N-нитрозоаминов	0,00031	0,01656	0,07526	0,09194	



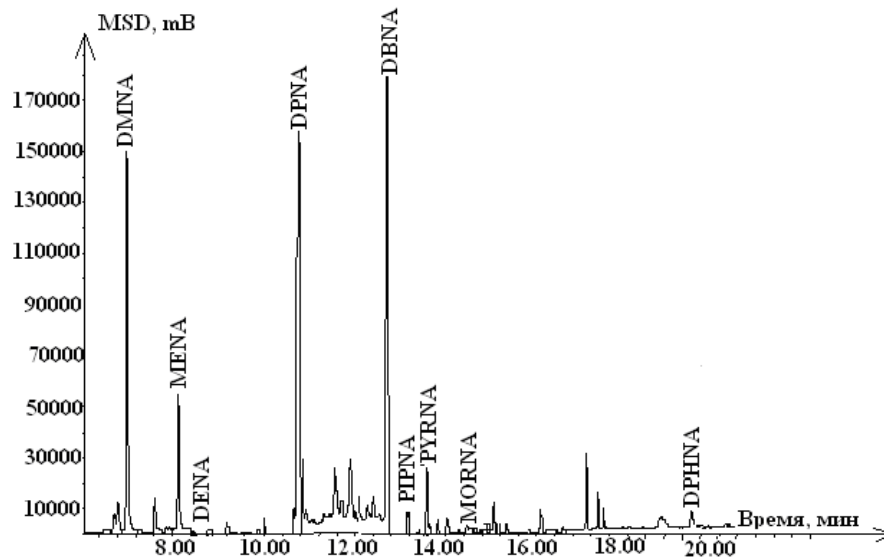
Хроматограмма N-нитрозоаминов, обнаруженных в образце мясокомбината №1:

CN-DMNA=0,189 мг/кг,
 CN-MENA=0,043 мг/кг,
 CN-DENA=0,0003 мг/кг,
 CN-DPNA=0,0196 мг/кг,
 CN-DBNA=0,247 мг/кг,
 CN-PIPNA=0,0012 мг/кг,
 CN-PYRNA=0,0278 мг/кг,
 CN-MORNA=0,083 мг/кг,
 CN-DPHNA=0,033 мг/кг.

Обнаружено превышение гигиенического норматива до 2 раз

Мясокомбинат №2

Ингредиент	Образец №1	Образец №2	Образец №3
ПДК Σ N-нитрозоаминов, 0,004 мг/кг			
Концентрация, мг/кг			
Σ N-нитрозоаминов	0,1893	0,00078	0,00067
	Образец №4	Образец №5	Образец №6
Σ N-нитрозоаминов	0,000357	0,00101	0,07322



Хроматограмма N-нитрозоаминов, обнаруженных в образце мясокомбината №2:

CN-DMNA=0,0916 мг/кг,

CN-MENA=0,022 мг/кг,

CN-DENA=0,00034 мг/кг,

CN-DPNA=0,044 мг/кг,

CN-DBNA=0,0037 мг/кг,

CN-PIPNA=0,0007 мг/кг,

CN-PYRNA=0,0044 мг/кг,

CN-MORNA=0,056 мг/кг,

CN-DPHNA=0,0069 мг/кг.

Обнаружено превышение гигиенического норматива до 3 раз

Вывод

Разработка новых критериев и создание высокочувствительных методик анализа позволяют с высокой степенью вероятности и достоверности выполнять идентификацию химического состава и определять ингредиентный состав химически сложных смесей, не заявленных производителем, в пищевых продуктах

Рекомендации

Для оценки химической безопасности допустимого уровня содержания токсичных химических соединений в пищевой продукции необходима разработка гигиенических нормативов



БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ