

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ N-НИТРОЗОАМИНОВ
(N-НИТРОЗОДИМЕТИЛАМИН,
N-НИТРОЗОДИЭТИЛАМИН) В БИОЛОГИЧЕСКИХ
СРЕДАХ (МОЧА) ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМ
МЕТОДОМ АНАЛИЗА РАВНОВЕСНОЙ ПАРОВОЙ ФАЗЫ**

**Химик лаборатории методов газовой
хроматографии Мальцева О.А.**

**Научный руководитель профессор, д. б. н.
Нурисламова Т. В.**

**ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических
технологий управления рисками здоровью населения»**

Актуальность

- **Нитрозосоединения**—органические соединения, содержащие одну или несколько нитрозогрупп $-N=O$, связанных с атомами углерода, азота (N-нитрозосоединения – нитрозамины). N-нитрозосоединения широко применяются в промышленности в качестве компонента ракетного топлива, антиоксидантов, являются промежуточными продуктами синтеза красителей, лекарственных препаратов. Нитрозосоединения входят в состав противокоррозийных препаратов, применяются как пестициды
- N-нитрозамины входят в список приоритетных токсикантов, который утвержден Международной организацией по исследованию рака (IARC) и Агентством по охране окружающей среды (США). Канцерогенный эффект проявляется при действии чрезвычайно низких доз - 0,075 мг/кг массы тела.
- Эти соединения являются высоко токсичными и относятся к 1-му классу опасности

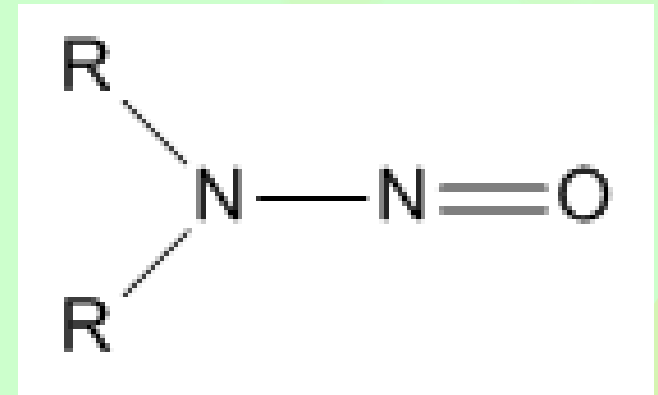
*Источники поступления N-нитрозоаминов в
объекты окружающей среды и организм
человека.*

- Ракетное топливо
- Автомобильные шины
- Табачный дым
- Продукты питания (фрукты, овощи, копченые и консервированные продукты)

Токсикологические свойства

N-нитрозаминов

- Нитрозамины вызывают повреждение эндоплазматического ретикулума клеток, ингибируют синтез белка в печени, что определяет их гепатотоксичность.
- Установлено иммунодепрессивное влияние N-нитрозосоединений на специфические и неспецифические иммунные системы организма.
- Известно, что профессиональный контакт родителей с нитрозоаминами повышает риск развития злокачественных новообразований у детей.
- Доказано, что N-нитрозамины, проникая через плацентарный барьер, учащают развитие опухолей у потомства.
- Действие N-нитрозаминов представляет канцерогенную опасность не только для потомства первого поколения, но и последующих.



Цель работы

Разработка
высокочувствительного и
селективного метода
количественного определения
N-нитрозодиметиламина и
N-нитрозодиэтиламина
в моче.

Разработка метода включала выполнение следующих этапов:

- Установление хроматографического поведения веществ в условиях анализа (Подбор и отработка оптимальных условий газохроматографического анализа (температурный режим, выбор капиллярной колонки, детектора, испарителя, скорость газа- носителя)
- Выбор оптимальных условий пробоподготовки образцов мочи (выбор способа пробоподготовки - экстракция органическим растворителем и метод анализа равновесной паровой фазы, влияние неорганических и органических кислот на полноту извлечения N-нитрозаминов из мочи)
- Изучение полноты извлечения способом «введено-найдено»
- Количественного определения
- Метрологическая аттестация методики

Оптимальные условия газохроматографического

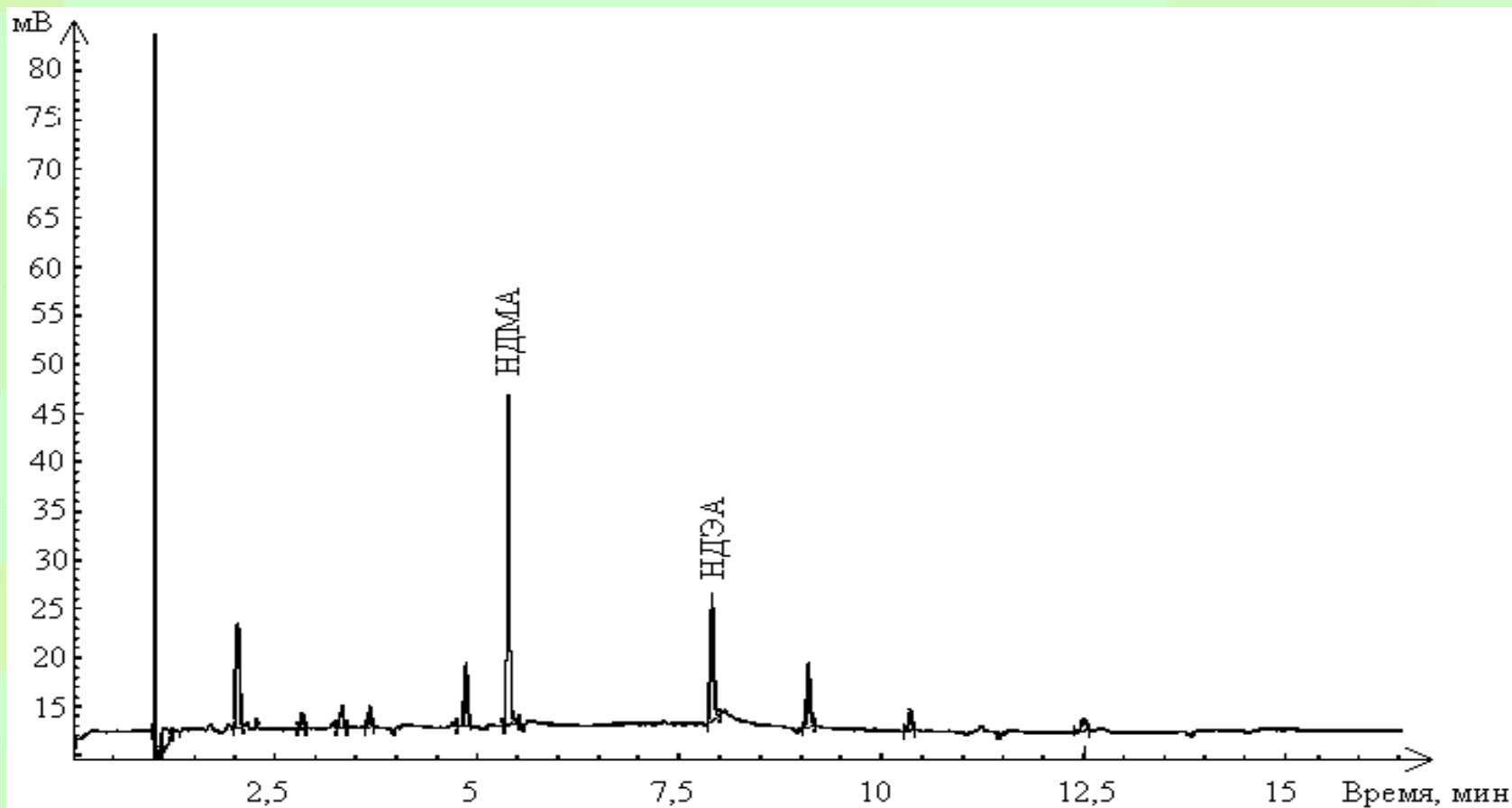


- термоионный детектор (ТИД)
- капиллярная колонка DB-624-30m*0,32mm *0,25 μ m
- температурный режим колонки – от 50°C–200°C
- расход газа-носителя (азот) –20 см³/мин

Оптимальные газохроматографические условия

Режим	Температура, °С		Расход газа-носителя, мл/мин	Деление потока азот:воздух
	Колонка	Скорость нагревания, °С/мин		
1	50–100–200	10	20	1:14
2	70–160–180	15	30	1:20
3	70–160–200	25	30	1:0

Хроматограмма стандартного раствора с содержанием N-нитрозаминов при оптимально подобранных газохроматографических параметрах



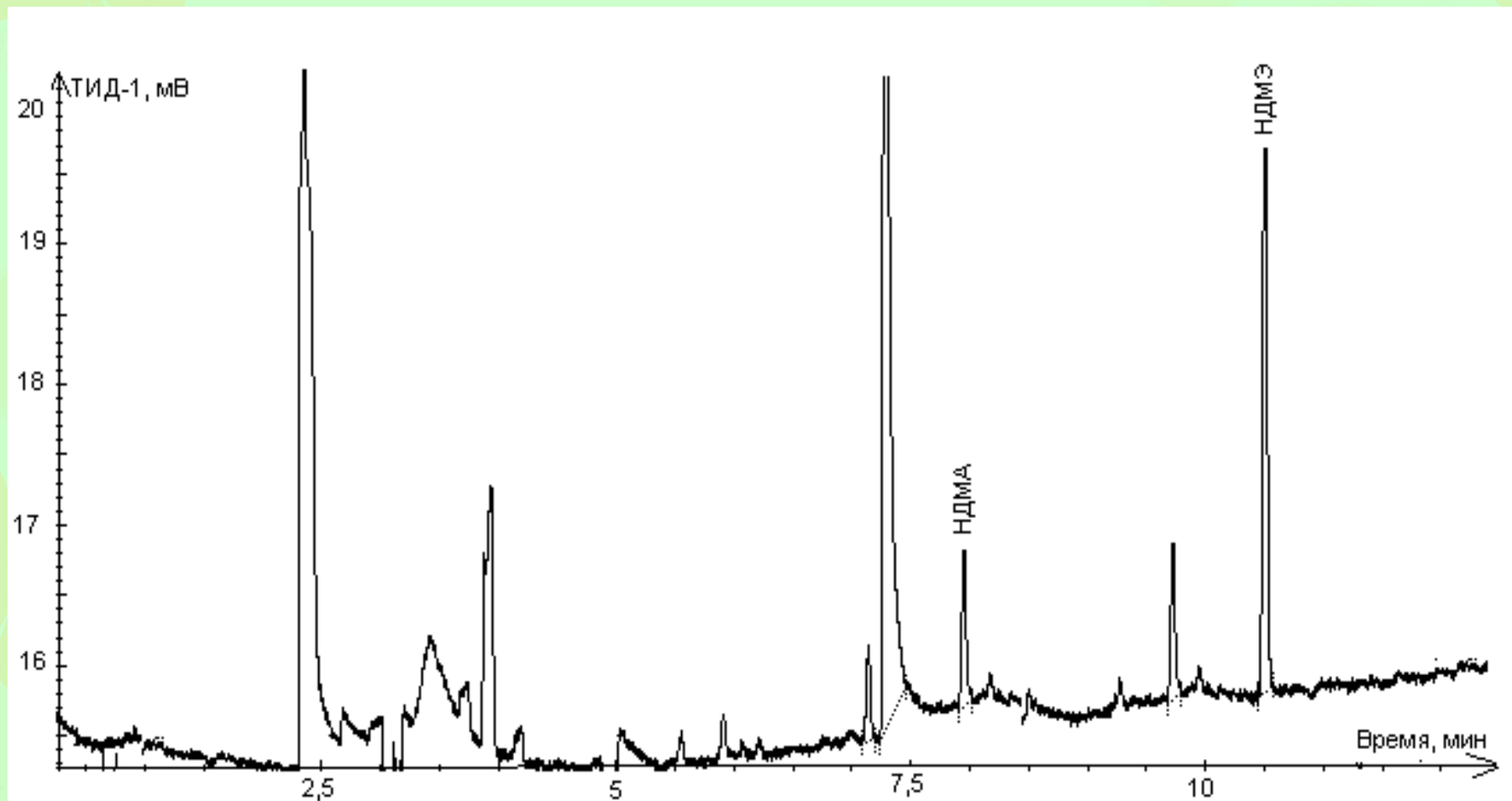
Степень извлечения N-нитрозодиметиламина и N-нитрозодиэтиламина из мочи использовали различные условия подготовки биосреды к анализу

- дистилляция N-нитрозодиметиламина и N-нитрозодиэтиламина из биологической жидкости с водяным паром в щелочной среде и определение газохроматографическим методом анализа равновесной паровой фазы (*полнота извлечения данного способа подготовки биосреды к анализу составило не более 50 %*)
- извлечение N-нитрозодиметиламина и N-нитрозодиэтиламина из биологической жидкости с применением высаливающего реагента и определение газохроматографическим методом анализа равновесной паровой фазы (*полнота извлечения данного способа подготовки биосреды к анализу составило 98%*)

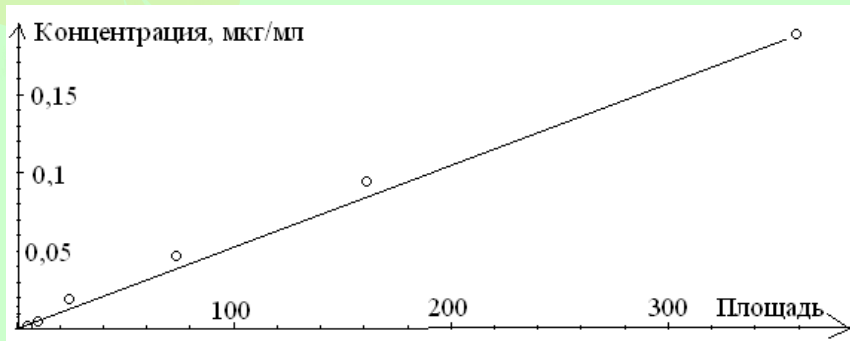
*Степень извлечения N-нитрозодиметиламина и
N-нитрозодиэтиламина из мочи с использованием различных
условий подготовки биосреды к анализу*

Масса высаливающего Реагента (сульфат натрия) , г	Введено	Найдено	Полнота экстракции, %
N-нитрозодиметиламин (концентрация, мкг/мл)			
5	0,2±0,014	0,10±0,009	50±2,12
8	0,2±0,019	0,18±0,075	90±5,45
16	0,2±0,060	0,198±0,075	99±6,92
N-нитрозодиэтиламин (концентрация, мкг/мл)			
5	0,2±0,06	0,140±0,028	70±4,67
8	0,2±0,045	0,198±0,085	99±7,85
16	0,2±0,039	0,196±0,035	98±8,79

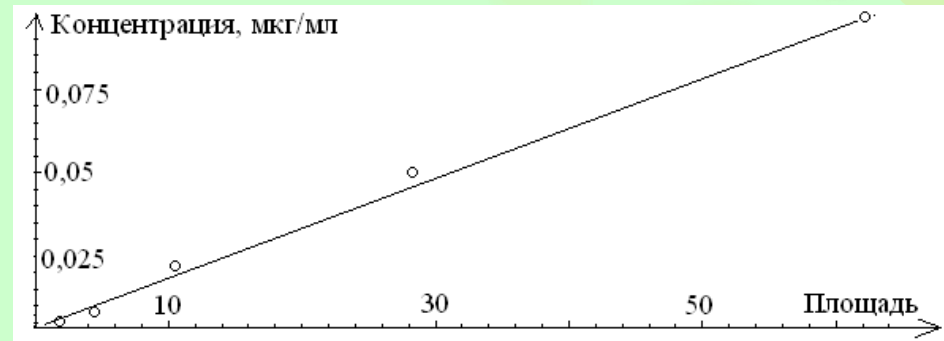
Хроматограмма содержания N-нитрозаминов в моче при оптимально подобранных условиях подготовки биосреды к анализу



Градуировочные графики



N-нитрозодиметиламин



N-нитрозодиэтиламин

Градуировочную характеристику устанавливали на градуировочных растворах методом абсолютной градуировки в диапазоне концентраций 0,0095–0,6 мкг/мл.

Анализ нитрозоаминов в моче осуществляли методом статического равновесия паровой фазы.

Градуировочный график линеен с коэффициентом корреляции 0,95

Метрологическая оценка метода

Наименование Компонента, диапазон измерений, мкг/мл	Показатель Повторяемости σ_r , %	Показатель Воспроизводимости σ_R , %	Показатель точности $\pm\delta$, %
Н-нитрозодиэтиламин, От 0,0095 до 1,0	3,80	10,0	25,0
Н-нитрозодиметиламин от 0,02 до 1,0 вкл	1,70	1,71	23,54

1) МИ 2336-2002 «Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки.»

2) ГОСТ Р ИСО 5725-1÷ГОСТ Р ИСО 5725-5-2002

«Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений»

- *Методика измерений массовой концентрации N-нитрозаминов в моче газохроматографическим методом аттестована в Уральском Отделении Российской Академии Наук (Центр метрологии и сертификации «Сертимет»).*
- *Получено свидетельство о метрологической аттестации № 88-16374-241-01.00076-2012 ОТ 26.11.2013*
- *Методика рассмотрена в комиссии по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Роспотребнадзора (г. Москва).*

Апробация метода

Среднее содержание нитрозаминов в моче детей группы наблюдения (n=25, p<0.003)

<i>Вещество</i>	<i>Нитрозодиметиламин</i>	<i>Нитрозодиэтиламин</i>
<i>Концентрация, мкг/мл</i>		
<i>Среднее</i>	0,00968±0,00577	0,00717±0,00439

*Результаты анализа образцов мочи показали, что у детей, проживающих в зоне экспозиции, количество проб мочи с содержанием **N-нитрозодиметиламина** составило 36% и с содержанием **N-нитрозодиэтиламина** –44% .*

У детей контрольной группы в моче изучаемых соединений не обнаружено.

Выводы

1. Разработан высокочувствительный и селективный метод определения N-нитрозодиметиламина и N-нитрозодиэтиламина в моче с использованием капиллярной газовой хроматографии в сочетании со статическим парофазным анализом. Диапазон концентраций от 0,0095 до 0,6 мкг/мл при погрешности метода не более 25%.
2. Разработанная методика является достоверной, точной, надежной и может быть использована для практического применения научными учреждениями, работающими в области профпатологии и экологии человека, научно-исследовательскими институтами, занимающимися вопросами гигиены окружающей среды.

*СПАСИБО ЗА
ВНИМАНИЕ!!!*