

## STUDIUL PROCESELOR DE TRANSFORMARE A N-NITROZAMINELOR ÎN MEDIUL AMBIANT ȘI PRODUSELE ALIMENTARE

**Iurie SUBOTIN**

*Universitatea Tehnică a Moldovei*

### *Date despre autor*



**Iurie SUBOTIN**, doctor în științe chimice, conferențiar universitar, decanul facultății Tehnologia Alimentelor, Universitatea Tehnică a Moldovei. Domenii de interese științifice: protecția mediului, chimia alimentară, securitatea alimentară. Numărul de publicații științifico-metodice – peste 80.

*e-mail:* [iurie.subotin@ftmia.utm.md](mailto:iurie.subotin@ftmia.utm.md)

**ORCID: 0000-0002-5570-4713**

### *Introducere*

Problema poluării mediului înconjurător în rezultatul activității tehnogene a omului a fost o problemă în secolul trecut și își păstrează actualitatea și în prezent. În rezultatul activității antropogene se depistează creșterea conținutului compușilor azotului în biosferă în rezultatul consumului combustibilului, producției industriale, expulzării în atmosferă a oxizilor azotului, amoniacului etc. În special este periculoasă contaminarea cu compuși cu proprietăți toxice, cancerigene și mutagene. Între compuși de acest tip se evidențiază N-nitrozaminele (NA) cu proprietăți cancerigene evidențiate. În anii 50 ai sec. XX s-a stabilit că N-nitrozodimetilamina cauzează apariția tumorilor la animale. Ulterior s-a stabilit că aproape 200 de nitrozocompuși se caracterizează printr-o acțiune cancerigenă [1-3].

N-Nitrozaminele sunt destul de stabile și capabile să polueze diferite obiecte ale mediului. S-a depistat prezența NA în apă, aer, sol, produse industriale și alimentare, pesticide, medicamente etc., cel mai frecvent depistându-se N-nitrozodimetilamina (NDMA), N-nitrozodietilamina (NDEA), N-nitrozopirolidina (NPir), N-nitrozopiperidina (NPip), mai rar – N-nitrozodipropilamina (NDPA), N-nitrozodibutilamina (NDBA), N-nitrozometiletilamina (NMEA), N-nitrozomorfolina (NMor) etc. [3-6].

O particularitate importantă a NA în comparație cu alte clase de compuși cancerigeni constă în posibilitatea sintezei lor relativ simple în diferite medii în rezultatul reacției de nitrozare.

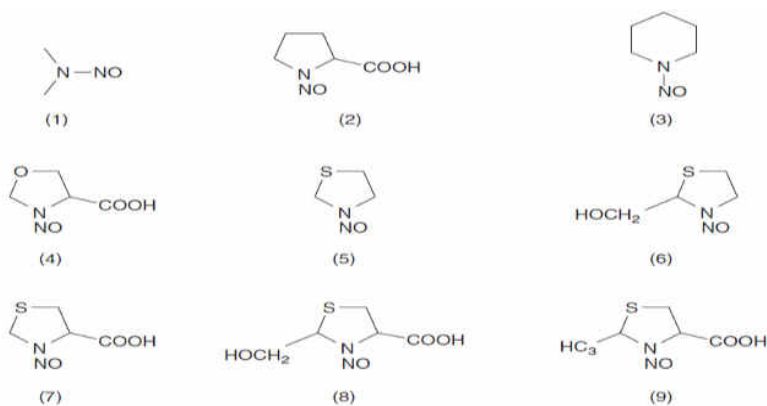


Fig. 1. Structura unor nitrozamine volatile (1–3) și nevolatile (4–9): (1) *N*-nitrozodimetilamina, (2) *N*-nitrozoprolina, (3) *N*-nitrosopiperidine, (4) *N*-nitrosooxazolidine-4-carboxylic acid, (5) *N*-nitrosothiazolidine, (6) *N*-nitroso-2-(hydroxymethyl)thiazolidine, (7) *N*-nitrosothiazolidine-4-carboxylic acid, (8) *N*-nitroso-2-(hydroxymethyl)thiazolidine-4-carboxylic acid, (9) *N*-nitrosothiazolidine-4-carboxylic acid.

### Căile de formare *N*-nitrozaminelor

Procesul de bază ce duce la formarea NA este nitrozarea diverselor substanțe. În calitate de compuși nitrozați pot fi mono-, di- și poliaminele, alți compuși azotați. Cel mai ușor decurge nitrozarea aminelor secundare, terțiare și a compușilor care conțin grupe  $(\text{CH}_3)_2\text{N}$ - și  $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{N}$ -. Funcția agenților de nitrozare îndeplinesc derivații acidului azotos  $\text{XNO}$  ( $\text{X}$  – halogen,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{OH}_2^+$ ,  $\text{OR}$ ),  $\text{NO}^+$  etc. Ionul de nitrit în mediul acid se transformă în agenți de nitrozare [7, 8]:



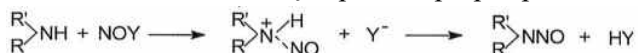
La valorile joase ale pH-ului  $\text{HNO}_2$  și  $\text{N}_2\text{O}_3$  sunt nestabile și în soluția de 70-80% de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  se transformă în sare de nitrozoniu  $\text{NO}^+\text{SO}_4^-$ , care ulterior ușor disociază cu formarea cationului de nitrozoniu [9]:



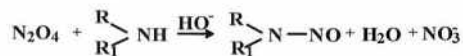
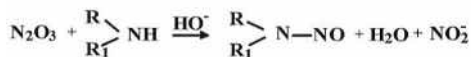
În prezența acizilor halogenați,  $\text{HNO}_2$  se transformă în nitrozil-halogenuri:



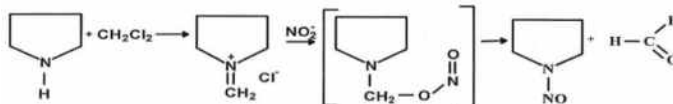
Nitrozarea aminelor duce la formarea NA și reprezintă factorul principal de apariție a lor în diferite obiecte ale mediului. Nitrozarea cu diverși agenți decurge în apă, amestecuri apă-solvenți organici, solvenți organici, fază gazoasă și nemijlocit în diferite obiecte într-un interval larg de temperaturi [10, 11]. De regulă, nitrozarea aminelor reprezintă „atacul” electrofil al agentului de nitrozare pentru electronii atomului de azot și denitrozarea ulterioară a cationului de nitrozalchilamoniu. Pentru dialchilamine secundare mecanismul reacției poate fi propus prin schema:



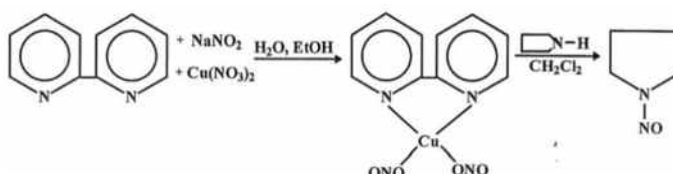
În anumite condiții aminele secundare sunt capabile să se transforme în NA ca rezultat al acțiunii nitritului de sodiu. Astfel, în soluțiile apoase ale  $\text{NaNO}_2$  și aminei secundare în prezența luminii solare, radiației UV sau  $\gamma$  pot decurge reacțiile [12, 13]:



Nitrozarea poate decurge și în solvenți organici. Astfel, Angeles și Keefer au cercetat nitrozarea pirolidinei cu nitrit de sodiu în clorura de metilen [14]:

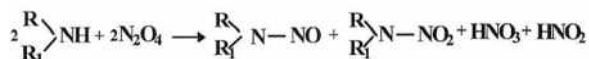


Un șir de săruri în mediu neutru și bazic accelerează interacțiunea aminelor secundare cu nitriții [15]. Astfel, ușor decurge interacțiunea pirolidinei cu nitritul de sodiu, 2,2'-dipiridilului și azotatului de cupru (II):

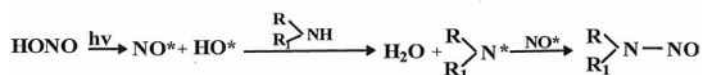


S-a stabilit posibilitatea nitrozării aminelor secundare în mediu bazic în prezența unor aldehide, de exemplu formaldehidei [16].

Interes practic prezintă nitrozarea aminelor secundare în diferite medii cu acizii azotului. În aer sunt prezenți  $\text{N}_2\text{O}_3$  și  $\text{N}_2\text{O}_4$  capabili de a interacționa cu aminele secundare dizolvate în apă sau solvenți organici [10, 17]:

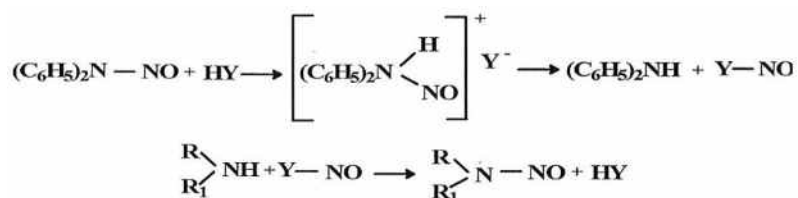


Reacția de nitrozare a aminelor în atmosferă este inițiată de fotodisociere și decurge după un mecanism radicalic:

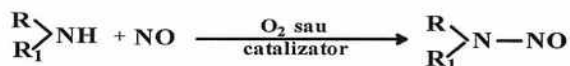


În calitate de agenți de nitrozare pot fi și unii compuși organici ce conțin grupa  $\text{NO}_2$  sau  $\text{ONO}$ . Astfel, tetranitrometanul, 2,2-dinitropropanolul și 2-brom-2-nitropropan-1,3-diolul la încălzire cu morfolina duc la formarea NMor [18].

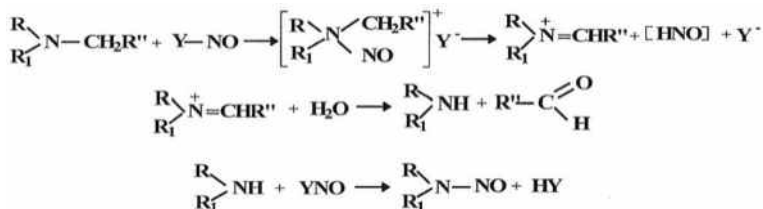
Un interes esențial prezintă reacția de renitrozare, care poate decurge în diferite obiecte ale mediului și în organism. Astfel Challis și Barnet au cercetat renitrozarea HDFA necancerigene, utilizate în industria cauciucului. Au fost elucidate condițiile decurgerii reacției în diferite soluții, în organism și propus mecanismul procesului [18, 19]:



La încălzirea soluției NDFA decurg reacțiile:

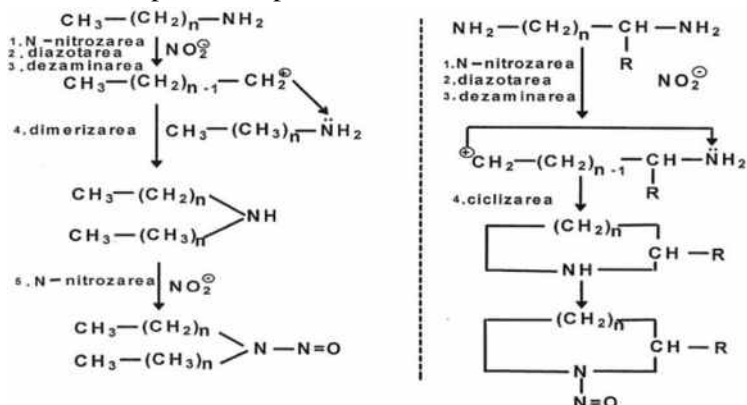


Nitrozarea aminelor terțiare decurge pe o cale mai complexă. Un șir de cercetători consideră că nitrozarea este precedată de etapa scindării [20-22]:

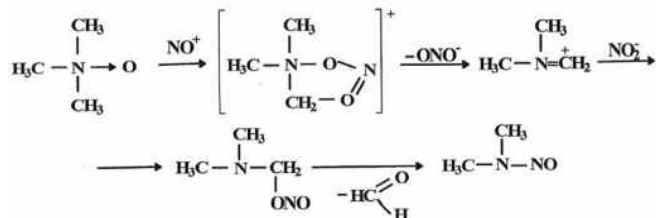


Mecanismul reacției a fost demonstrat ca rezultat a eliminării și identificării din mediul reactant a NA, aldehidei corespunzătoare și produsul transformării [HNO]-N<sub>2</sub>O.

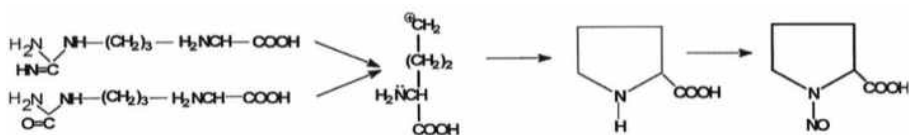
Scanlan și Warthess [23] au propus mecanismul formării dialchilnitrozaminelor și NA ciclice din monoamine și diamine primare, astfel ca putrescina, cadaverina, spermina, spermidina:



Nitrozarea compușilor cuaternari de amoniu decurge la temperatură înaltă și concentrații mari ale substanțelor reactante [24]:

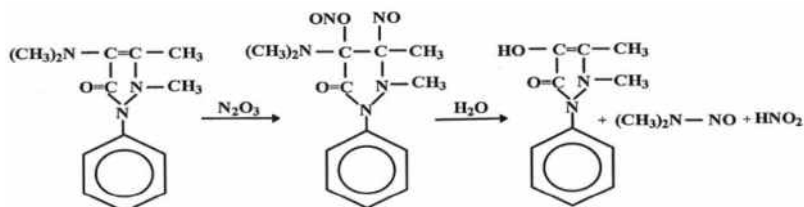


Zonhru a stabilit posibilitatea formării NA și în particular a N-nitrozprolinei din aminoacizi și nitrit de sodiu [22]:



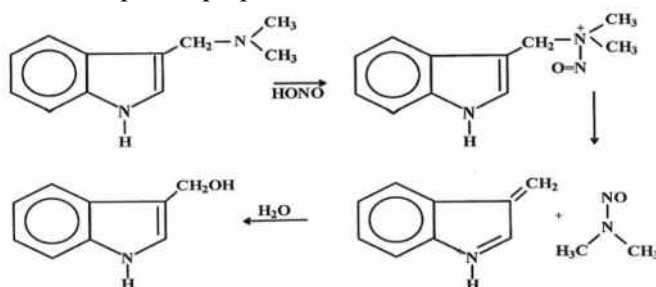
Nitrozarea unui șir de compuși azotați cu formarea NA poate decurge în două direcții: incorporarea grupei NO în moleculă [25] sau scindarea legăturilor azot-carbon și interacțiunea aminogrupelor cu agenții de nitrozare [26].

Astfel, rapid decurge nitrozarea amidopirinei (4-dimetilamino-2,3-dimetil-1-fenil-3-pirazolină-5-on) în procesul producerii, depozitării și în organismul uman [27]:

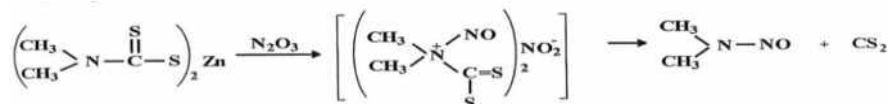


Repartizarea NDMA în amidopirină este neomogenă – cantitatea maximală se conține la suprafață, ce se explică prin acțiunea oxizilor de azot prezenți în aerul încăperilor de producere și depozitare. Activ interacționează cu agenții de nitrozare și tetraciclina, penicilina, fenacetina, imizina, aminazina, clorpromazina [28].

Un izvor de NA pot servi alcaloizii care conțin grupa *dimetilamino*. Astfel, minuțios acest proces a fost cercetat pe exemplul graminei și gordeninei care se conține în malțul de ovăș, utilizat pentru prepararea berii [25, 29]:



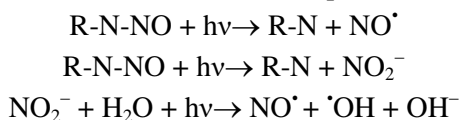
NA se formează și în procesul depozitării unor pesticide [30-32]:

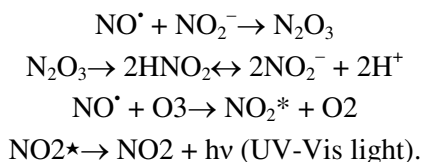


### Metode de determinare a conținutului de N-nitrozamine

Începând cu anii 1970 a fost publicată o gamă largă de metode de determinare a acestor compuși în diferite matrice, inclusiv și alimentare.

*Chemiluminescența.* Metoda de bază de determinare a conținutului total de NA este detectarea chemiluminescentă. Extractul este injectat direct într-un analizor de energie termică (Thermal Energy Analyser, TEA). În detector, radicalii  $\text{N}_x\text{O}_y$  sunt scindați de la nitrozocompus în rezultatul tratării cu bromură de hidrogen în acid acetic glacial, gazul rezultat este apoi oxidat cu ozon în dioxid de azot activ, care emite lumină în regiunea infraroșie apropiată pe măsură descompunerii. Radiația emanată este detectată și transformată într-o valoare numerică respectivă:





Lumina emisă este detectată și cuantificată [33]. În fond TEA este aplicat drept detector specific la determinarea NNA în combinație cu diferite tipuri de cromatografe. Acest detector se caracterizează prin niște parametri analitici însemnați – limita de detecție este mai mică de 1 ng.

*Polarografia.* Nitrozogrupa se reduce pe electrodul picurător de mercur, concentrația NA în extractele obținute fiind estimată de aproximativ 0,05 μg/mL [34, 35]. Semiundele polarografice bine evidențiate dispar la pH > 2, iar potențialele de descărcare au fost identificate la 0,3 V, la care se reduce un număr mare de compuși, fapt care nu permite identificarea NNA individuale în amestec [36].

*Metoda spectroscopică.* Spectrele ultraviolete ale nitrozaminelor se caracterizează de banda de absorbție de intensitate redusă la aproximativ 340 nm și intensitatea ridicată a benzii la aproximativ 230 nm. Un șir de cercetători au utilizat măsurarea intensității absorbției UV ca mijloc de estimare cantitativă. În calitate de solvent a fost utilizată apa, pentanul, hexanul, soluția apoasă de 50% de metanol, diclormetan, amestec diclormetan-hexan [37, 38]. Aplicarea acestei metode este limitată de absorbția materialelor co-extrase în regiunea UV a spectrului.

*Metoda colorimetrică.* Metoda constă în formarea derivaților colorați ca mijloc de cuantificare a nitrozaminelor din extractele obținute. Neurath și colab. au descris o metodă în care nitrozaminele au fost reduse cu LiAlH<sub>4</sub> [39]. Ulterior hidrazina obținută a fost condensată cu 5-nitro-2-hidroxibenaldehidă cu formarea benzilhidrazinei. Ender și Ceh ca agent reducător au utilizat zinc și acid clorhidric și produsul a fost condensat cu p-dimetilaminobenzaldehidă [40, 41]. Absorbția produsului obținut a fost măsurată la 458 nm.

Preussmann a descris o metodă bazată pe tratarea probei cu bromură de hidrogen în acid acetic glacial [42]. În rezultatul reacției s-a format amina și bromura de nitrosil. Bromura de nitrosil a fost tratată cu acid sulfanilic; ionul diazo s-a cuplat cu N-(1-naftil)etilendiamina și absorbanta produsului a fost măsurată la 550 nm. Sensibilitatea reacției pentru un șir de NNA este de aproximativ 1 μg/mL, însă prezența apei în solventul care conține nitrozamina afectează procesul de identificare.

*Cromatografia în strat subțire.* Preussmann și colab. primul a raportat o metodă de detectare a nitrozaminelor în cantități de μg. În metoda dată a folosit un spray dedifenilamină, la iluminarea cu radiație UV și formarea unui complex colorat cu clorură de paladiu [43]. Preussmann de asemenea a descris o altă tehnică în care nitrozaminele sunt detectate prin pulverizare cu reactiv Griess urmat de expunere la UV. În unele metode, nitrozaminele sunt cromatografiate după derivatizare. Derivații includ nitramine, obținute prin oxidarea nitrozaminelor.

*Cromatografia gazoasă (CG).* Nitrozocompuși au fost separate cu succes pe coloane cromatografice și în literatura de specialitate au fost descriși parametri de

separare, fazele mobile și staționare. Analiza nitrozaminelor volatile s-a realizat prin separarea compușilor analizați prin cromatografia cu gaze cu detectarea ulterioară cu detector energiei termice TEA [44, 45]. Ulterior pentru analiza nitrozaminelor volatile a fost utilizată CG cuplată cu mass-spectrometru, totodată s-a depistat că detectorul TEA oferea o sensibilitate mai înaltă [46].

*HPLC*. Tot mai populare sunt metodele de determinare a NNA cu aplicare cromatografiei lichide de înaltă performanță cu detectoare fluorimetrice [47, 48] și UV [49]. Detectoarele menționate se caracterizează printr-o sensibilitate ridicată a rezduurilor de NNA, limita de detecare poate atinge valori de 8-75 pg și 0,01-0,07 ng/g.

Detectarea NNA volatile prezintă cerințe suplimentare la puritatea reactivilor utilizați și gradul de concentrare a probei. În prezent, pentru a extrage a NNA din probe de diferite origine se utilizează metode de distilare cu vapori de apă [50, 51], ultrasunet [52] și extracția lichidă [47] cu purificarea ulterioară a extractelor prin extracție în fază solidă.

Este posibilă determinarea nitrozaminelor prin HPLC cu detectare fluorimetrică. NA nu conțin grupe funcționale capabile la fluorescență. Însă după reacția de denitrozare a NNA cu obținerea aminelor corespunzătoare și derivatizarea lor ulterioară considerabil mărește sensibilitatea și selectivitatea compușilor analizați. Pentru derivatizare poate fi folosit 9-fluorenil-metoxicarbonilclorură.

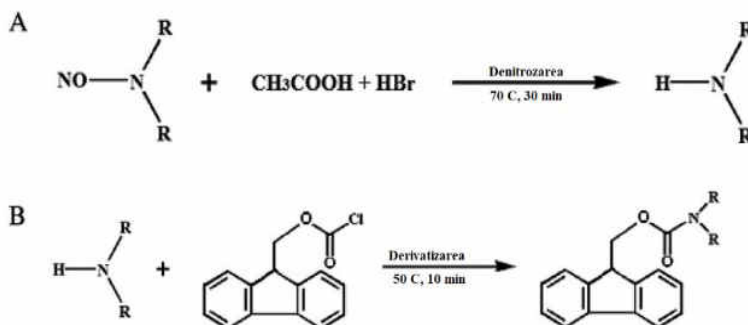


Fig. 2. Schema de obținere a derivaților N-nitrozaminelor: denitrozarea (A), derivatizarea (B)

### Conținutul NA în unele produse alimentare

Pentru determinarea calității produselor alimentare a fost analizat conținutul unor NA (NDMA, NDEA, NMor, NPy) în produsele din carne și pește comercializate pe teritoriul Republicii Moldova. Au fost analizate 72 probe care aparțineau la 12 tipuri de produse alimentare. Analizele efectuate au precizat că valoarea conținutului de NA cercetate în diferite produse variază considerabil în funcție de natura produsului și modul prelucrării tehnologice. În special, incidența depistării NA este ridicată în produsele afumate. De exemplu, în probele de pește afumat (8 probe) a fost depistată NDMA (7probe), NDEA (5 probe), NPir (3 probe), NMor (1 probă). Conținutul NDMA nu a depășit conținutul de 38,4 μg/kg, NDEA – 24,3 μg/kg, NPy – 9,5 μg/kg. În salamul de casă (8 probe) NDMA a fost depistată în 4 probe, NDEA – în 5 probe, NPir

– în 3 probe, NMor (1 probă). Conținutul NA în produsul analizat a variat de la 38,5 până la 5,1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . În probele analizate de salată de dovlecei, slănină sărată NA nu au fost depistate.

Cu scopul micșorării conținutului de NA în alimente a fost cercetată acțiunea acidului ascorbic, dihidroxifumaratului de sodiu asupra conținutului de nitrit și NA în salamul «Chișinevscaia». S-a stabilit că introducerea diferitor concentrații de acid ascorbic (AAs) în masa omogenă pregătită pentru prepararea salamului duce la micșorarea conținutului de  $\text{NO}_2^-$ . S-a stabilit, că concentrațiile mici de acid ascorbic (0,05 g/kg) puțin influențează asupra conținutului de NA în salam. Mărirea concentrației AAs până la 0,6-1,2 g/kg duce la micșorarea concentrației de nitrit și NA în produsul finit (35-57% în funcție de concentrația AAs introdus). S-a depistat și acțiunea inhibitoare a dihidroxifumaratului de sodiu (DHFNa) asupra procesului de nitrozare. Concentrația NA depistate în proba martor și probele analizate cu DHFNa s-a micșorat cu 18-52%.

### *Acțiunea NA asupra creșterii și dezvoltării in vitro*

Pentru estimarea hazardului NA este necesar de luat în considerație nu numai toxicitatea lor pentru organismul uman, dar și posibilitatea acțiunii negative asupra altor elemente ale mediului. Din acest aspect poluarea producției vegetale prezintă o consecință esențială a utilizării fertilizanților cu azot în agricultură. Creșterea celulelor și țesuturilor plantelor *in vitro* reprezintă o metodă importantă de cercetare a activității vitale a diferitor țesuturi vegetale și permite modelarea în condiții de laborator a proceselor din natură. Organul vegetal (sau celula) cultivate în condiții de laborator pe mediu nutritiv cu o anumită compoziție reprezintă un model biologic important ce permite cercetarea particularităților creșterii și dezvoltării țesuturilor în prezența substanțelor toxice, de ex. NA, și oferă posibilitatea de a elucidă mecanismele adaptării plantelor la acțiunea factorilor stresanți.

În contextul celor menționate au fost cercetate particularitățile morfologice de creștere și dezvoltarea plantelor *in vitro* sub acțiunea NDEA, conținutul NDEA în plante, cercetarea unor aspecte de metabolism în condiții de stres. În calitate de specie vegetală a fost analizată floarea-soarelui (*Helianthus annuus L.*) linia NB-514 fertilă. Semințele au fost cultivate pe mediul nutritiv Butenco [53], care conținea macro- și microsăruri. Interacțiunea în sistemul „NDEA - plantă” a fost analizată pe 5 probe ale mediului nutritiv, ce se deosebeau prin concentrațiile NDEA introduse (10-170  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ).

A fost analizată modificarea concentrației NDEA în mediul nutritiv după sterilizarea mediului și peste 24 zile după germinarea semințelor. S-a stabilit că pierderile NDEA după autoclavare și extracție constituie 21%; conținutul NDEA în probele de mediu nutritiv fără plante peste 24 zile a suferit modificări neesențiale; conținutul NDEA în mediul nutritiv peste 24 zile după germinarea semințelor s-a micșorat în rezultatul absorbției; conținutul NDEA în plante depinde de concentrația NDEA în mediul nutritiv.



Tabelul 1

Conținutul NDEA în mediul nutritiv și plante

Nr probei	1	2	3	4	5	6
C <sub>NDEA</sub> , μg/g	0	10,8	28,5	56,4	109	171,3
C <sub>NDEA</sub> depistată în mediu, μg/g	0	8,2	20,1	44,6	91	136,2
C <sub>NDEA</sub> depistată în plantă, μg/g	0	0	9,4	12,2	24,3	39,4

După expirarea 24 zile a fost studiată dependența între dezvoltarea plantelor și conținutul NDEA în probă. Faptul că conținutul NDEA în plante crește odată cu creșterea concentrației NDEA din mediul nutritiv corelează cu rezultatele obținute de Kearney [54] și Михайленко В. М. [55].

În probele analizate au fost determinați și unii parametri morfofiziologici, astfel ca activitatea enzimelor (catalaza și peroxidaza), acțiunea NDEA asupra calusogenezei, conținutul total de azot și fosfor.

Tabelul 2

Studiul biochimic asupra unor parametri fiziologici la *Heliantuhus annuus L.*

C <sub>NDEA</sub> , μg/g	Masa plantei g	P, %	N, %	Activ. catalazei, ml O <sub>2</sub> /g		Activ. peroxidazei, ml O <sub>2</sub> /g		[ADN], mg/g	[ARN] mg/g
				1 min	3 min	1 min	3 min		
0	13,3	0,00296	0,89	4	6,1	4,6	8,3	4,2	11,1
10,8	8,7	0,0033	0,69	7,7	9,4	-	-	-	-
28,5	11,0	0,00299	0,70	5,7	7,3	5,1	9,1	3,3	8,8
56,4	15,2	0,0049	0,87	4,2	6,1	5,4	9,1	2,3	10,3
109	12,7	0,0036	0,71	3	4,8	5,3	9,2	3,0	18,6
171,3	10,6	0,0026	0,51	3,9	5,7	5,2	6,3	5,1	10,7

Este necesar de menționat că o dependență bine evidențiată dintre cantitatea de NDEA introdusă și conținutul total de azot, fosfor, activitatea fermenților, conținutul acizilor nucleici nu a fost depistată.

**Concluzii**

Deși numărul cercetărilor consacrate problemei cineticii nitrozării, influenței diferitor factori asupra procesului de formare a NA în organism și produsele alimentare, utilizarea inhibitorilor nitrozării este destul de mare, unele aspecte ale acestei probleme continuă a fi actuale și necesită a fi studiate. Astfel, formarea NA în alimente este o problemă majoră determinată atât de utilizarea surselor alimentare noi, cât și aplicarea unor noi procese tehnologice. Din acest motiv analiza continuă a conținutului NA în produse și în special cele alimentare posedă o importanță și actualitate constantă.

*Bibliografie*

1. DRUCKREY, H., PREUSSMANN, R., IVANCOVICI, S. Z. *Krebsforschung*. 1967. V. 69. s. 103.
2. Успехи в изучении рака. Т. 10. Москва. Изд-во Иностран. лит. 1971. с. 242.
3. MAGEE, P., MONTESANO, R., PREUSSMANN, R. *Chemical Carcinogens*. ACS Monographs. Washington: Amer. Chem. Soc. 1976. p. 492.
4. РУБЕНЧИК, Б., КОСТЮКОВСКИЙ, Я., МЕЛАМЕД, Д. *Экология и рак*. Киев: Наук. думка. 1985. 145 с.
5. Some N-Nitroso Compounds. IARC Monographs 17. Lyon: IARC Publ. 1978. 365 p.
6. FAZIO, T. *Journal Assoc. Offic. Analyt. Chem.* 1986. V. 69. 255 p.s
7. MINH-THO, N., HEGARTHY, A. *Protanation of nitrous acid formation of the nitrosation agent NO<sup>+</sup>: an Ab into stady*. J. Chem. Soc. Perkin Trans. II. 1984. N12. P. 0237-2041.
8. MIRVISH, S. *Formation of N-nitroso compound: chemistry kinetics and in vivo occurrence*. Toxicol. and Appl. Pharmacol. 1975. V.31. p. 325-351.
9. ФРИДМАН, А., МУХАМЕТШИН, Ф., НОВИКОВ, С. *Успехи химии N-нитрозаминов алифатического ряда*. Успехи химии. 1971. Т.40. N1. с. 81.
10. ЯМШАНОВ, В. *Влияние некоторых физико-химических факторов свободнорадикальной природы на образование нитрозаминов*. Канцерогенные N-нитрозосоединения и их предшественники – образование и определение в окружающей среде. Тез. 6 Всес. симпоз. Таллин. 1987. С. 19-21.
11. CHALLIS, B. *Safety evaluation of nitrosatable drugs and chemicals*. Ed. L.Taylor. 1981. P. 179.
12. МАЛЕНЧЕНКО, А., ЖИГУНОВА, Л. *Кинетика образования нитрозаминов под действием малых доз ионизирующего излучения*. Канцерогенные N-нитрозосоединения и их предшественники – образование и определение в окружающей среде. Тез. докл. 4 Всес. симпоз. Таллин. 1987. С. 24-25.
13. CHALLIS, B., LI, B. *Formation of N-nitrosamines and N-nitramines by photolysis*. Ibid. 1986. V. 46. N17. P. 31-40.
14. ANGELES, R., KEEFER, L., ROLLER, P., UHM., S. *Environmental aspects of N-nitroso compounds*. IARC Sci. Publ. 1978. N19. P. 109.
15. CHALLIS, B., EDWARDS, A. HUMMA, R. *Environmental aspects of N-nitroso compounds*. IARC Sci. Publ. 1978. N19. P. 127.
16. KEEFER, L., ROLLER, P. *N-nitrosation by nitrite in neutral and basic medium*. Science. 1973. V. 181. P. 1245-1247.
17. CHALLIS, B., SHUKER, D., FINE, D. *Amine nitration and nitrosation by gaseous nitrogen dioxide*. IARC Sci. Publ. Nr.14. P. 11-29.
18. КОСТЮКОВСКИЙ, Я. *Канцерогенные N-нитроамины: образование, свойства, анализ*. Успехи химии. 1988. Т. 57. N.4. С. 625-655.

19. BARNETT, D., JONATHAN, D. *Transnitrosation between nitrosothiols and thiols*. J. Chem. Soc. Perkin Trans. II 1994. N6. P. 1131-1133.
20. SINGER, G. *The mechanism of nitrosation of tertiary amines*. IARC Sci. publ. 1980. N31. P. 139-151.
21. SPIEGELHALDER, B., PREUSSMAN, R. IARC Sci Publ. 1982. N41. P. 231-243.
22. WOLF, D., BLOMEN, H., SCHUTZ, A. *Problem der messung beurteilung agent*. J. Chem. Soc. Perkin Trans. II. 1977. P. 128-132.
23. WARTHESEN, J., SCANLAN, R. BILLS, D., LIBBEY, L. *Formation of heterocyclic N-nitrosamines from the reaction of nitrite and selected primary diamines and amino acids*. IARC Sci. Publ. 1980. N26. P. 247.
24. ISHIBASHI, T., KAWABATA, T., MATSUI, M. *Nitrosation of some asymmetrical tertiary amines and quaternary ammonium compounds with nitrite or nitrogen dioxide gas*. Bull. Jap. Soc. Fish. 1984. V50. N8. P. 1425-1429.
25. MANGINO, M., SCANLAN, R. *Nitrosation of the alkaloids hordenine and gramine potential precursors of N-nitrosodimethylamine in barley malt*. J. Agr. Food Chem. 1985. V.33. N4. P. 699-705.
26. GARCIA, J., GONZALEZ, J., SEGURA, R. *Nitrosation of peptide bonds. Cleavage of nitrosated peptides by pyrrolidine and  $\alpha$ -amino esters*. Tetrahedron. 1984. V.40. N16. P. 3121-3127.
27. GILLAT, P., PALMER, R., SMITH, P. *Susceptibility of drugs to nitrosation under simulated gastric condition*. Food and Cosmet. Toxicol. 1985. V23. N9. P. 849-855.
28. Coordinating committee for technical assessment of environmental pollutants. Nat. Acad. Sci. Washington (D.C.). 1978. 65 p.
29. MANGINO, M., SCANLAN. *Nitrosamines in beer*. N-nitroso compounds. Washington (D.C.). Amer. Chem. Soc. 1981. P. 229-245.
30. BONTOYAN, W., LAW, M. *Nitrosamines in agricultural and home-use pesticides*. J. Agr. Food Chem. 1978. V27. N3. P. 631-635.
31. KEEFER, L. *Possible mechanism of nitrosamine formation of pesticides*. IARC Sci. Publ. 1981. N174. P.138-148.
32. KHAN, S. *N-nitrosamine formation in soil from the herbicide glyphosate*. IARC Sci. Publ. 1981. N174. P. 138-148.
33. BREIDER, F., GUNTEN, U. *Quantification of total N-nitrosamine concentrations in aqueous samples via UV-photolysis and chemiluminescence detection of nitric oxide*. Breider, F., & von Gunten, U. 2017. Analytical Chemistry, 89(3), 1574-1582.
34. HEATH, D. F., Jarvis, J. A. E. *The polarographic determination of dimethylnitrosamine in animal tissue*. 1955. Analyst 80, 613.
35. WALTERS, C. L. *The detection and estimation of trace amounts of N-nitrosamines in a food matrix*. 1971. Lab. Pract. 20, 574.
36. WALTERS, C. L., JOHNSON, E. M., RAY, N. *Separation and detection of volatile and non-volatile N-nitrosamines*. 1970. Analyst 95, 485.
37. MOHLER, K., MAYRHOFER, O. L. *Unable to detect diethylnitrosamine in flour*. 1968. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 135, 313.

38. EISENBRAND, G., PREUSSMANN, R. *Eine neue Methode zur Kolorimetrischen Bestimmung von Nitrosaminen nach Spaltung der N-nitroso gruppe mit Bromwasser in Eisessig*. 1970. Anheim. Forsch. 20, 1513.
39. NEURATH, G., PIRMANN, B., DUNGER, M. *Identifizierung von N-Nitrosoverbindungen und asymmetrischen Hydrazinen als 5-Nitro-2-hydroxybenzalderivatuen Anwendung in Mikromassstab*. 1964. Chem. Ber. 97, 1631.
40. ENDER, F., CEH, L. *Occurrence and determination of nitrosamines in foodstuffs for human and animal nutrition*. 1967. Proc. 2nd Con. Tobacco Res., Freiburg, 1967.
41. ENDER, F., CEH, L. *Occurrence of nitrosamines in foodstuffs for human and animal consumption*. 1968. Food Cosmet. Toxicol. 6, 569.
42. PREUSSMANN, R. In “*N-Nitroso Compounds Analysis and Formation*” (P. Bogovski, R. Preussmann, and E. A. Walker, eds.). 1971. I.A.R.C., Lyon.
43. PREUSSMANN, R., DAIBER, D., HENGY, H. *A sensitive colour reaction for nitrosamines on thin-layer chromatograms*. Nature. London. 1964. 201, 502-503
44. TRICKER, A. R., Pfundstein, B., Theobald, E., Preussmann, R., & Spiegelhalder, B. (1991). Mean daily intake of volatile N-nitrosamines from foods and beverages in West Germany in 1989–1990. Food and Chemical Toxicology, 29(11).
45. DRABIK-MARKIEWICZ, G., MAAGDENBERG, K., DE MEY, E., DEPREZ, S., KOWALSKA, T., PAELINCK, H. *Role of proline and hydroxyproline in N-nitrosamine formation during heating in cured meat*. 2009. Meat Science, 81(3), 479-486.
46. CREWS, C. (2010). The determination of N-nitrosamines in food. Quality Assurance and Safety of Crops & Foods, 2(1), 2–12. doi:10.1111/j.1757-837x.2010.00049.
47. LU, S., WU, D., LI, G. *Facile and sensitive determination of N-nitrosamines in food samples by high-performance liquid chromatography via combining fluorescent labeling with dispersive liquid-liquid microextraction*. Food Chem. 2017. 234: 408-415; doi: 10.1016/j.foodchem. 2017.05.032.
48. CARDENES, L., AYALA, J. H., GONZALEZ, V., AFONSO, A. J. *Chromatogr. A. Fast microwave-assisted dansylation of N-nitrosamines. Analysis by highperformance liquid chromatography with fluorescence detection*. 2002. 946 (1-2): 133-140; doi: 10.1016/S0021-9673(01)01547-3.
49. LI, W., CHEN, N., ZHAO, Y. *Online coupling of tandem liquid-phase extraction with HPLC-UV for the determination of trace N-nitrosamines in food products*. Anal. Methods. 2018. 10 (15). P. 1733-1739. doi: 10.1039/C8AY00014J.
50. *Определение летучих N-нитрозаминов в продовольственном сырье и пищевых продуктах. Методические указания по методам контроля: МУК 4.4.1.011-93. Москва. Информ.-изд. центр Госкомсанэпиднадзора России, 1993. 16 с.*
51. CREWS, C. *The determination of N-nitrosamines in food*. Qual. Assur. Saf. Crop. 2010. 2 (1). p. 2-12. doi: 10.1111/j.1757-837X.2010.00049.x.

52. YUAN, Y., MENG, W., YUTIAN, M. *Determination of eight volatile nitrosamines in meat products by ultrasonic solvent extraction and gas chromatography-mass spectrometry method*. Int. J. Food Prop. 2015. 18 (6). p. 1181-1190. doi: 10.1080/10942912.2014.898652.
53. БУТЕНКО, Р. Экспериментальный морфогенез и дифференциация в культуре клеток растений. Москва. «Наука». 1981. С. 34.
54. KEARNEY, PH. C., OLIVER, J.E., HELLING, CH. S. Distribution, movement, persistence and metabolism of N-nitrosatrazine in soils and model aquatic ecosystem. J. Agr. Food. Chem. 1977. V25. N5. P. 1177-1188.
55. МИХАЙЛОВСКИЙ, Н. Я., КОРОЛЕВ, А. А., ИЛЬНИЦКИЙ, А. П. Исследование возможности аккумуляции канцерогенных N-нитрозосоединений сельскохозяйственными растениями. Матер. I Всес. конф. «Чужеродные вещества в пищевых продуктах». Алма-Ата. 1979. С. 86-87.