

CENTRUM VOOR AGROBIOLOGISCH ONDERZOEK

Verslagen
nr. 15, 1977

Verslag van de "Fifth meeting on analysis and formation
of N-nitroso compounds" (Durham, New Hampshire, USA,
22-24 augustus, 1977)

door

dr. L.W. van Broekhoven

11/1295.

<u>Inhoudsopgave</u>	<u>Blz.</u>
Verklaring van gebruikte afkortingen	5
Inleiding	6
Agenda	7
Analyse	12
Chemie en vorming	12
Voorkomen	12
Biologie	13
Veiligheid	14
Discussie	14
Lijst van voordrachten met korte samenvatting	15
Aanbevelingen	27

Verklaring van gebruikte afkortingen

HPLC : hogedrukvlloeistofchromatografie
GC : gaschromatografie
MS : massaspectrometrie
NMR : kernspinresonantie
TEA : thermal energy analyser
TLC : dunne-laag-chromatografie

NA : nitrosaminen
NDMA : dimethylnitrosamine
NDEA : diethylnitrosamine
NMEA : methylethylnitrosamine
NDBA : dibutylnitrosamine
NPIP : nitrosopiperidine
NPYR : nitrosopyrrolidine
NMOR : nitrosomorfoline
NNN : nitrosomonocotine
NDELA : nitrosodiethanolamine

ppm : mg/kg
ppb : µg/kg
ppt : ng/kg

Inleiding

De organisatie van het congres was in handen van het IARC (International Agency for Research on Cancer) te Lyon, een onderdeel van de wereldgezondheidsorganisatie.

Er werden 46 voordrachten gehouden over de analyse, de chemie, de vorming, de aanwezigheid en de biologie van nitrosaminen. Twee aangekondigde lezingen zijn niet doorgegaan. Voor het eerst werd aandacht besteed aan de veiligheid tijdens het werken met nitrosaminen. De verschillende bijdragen waren onderverdeeld in secties, alhoewel een zo scherpe scheiding niet te maken valt.

In dit verslag wordt eerst een korte indruk van de secties gegeven, waarna, alfabetisch volgens de auteurs, de lezingen worden samengevat met nadruk op de landbouwkundig relevante punten.

Na afloop van het congres werden door subcommissies aanbevelingen opgesteld voor verder onderzoek. Zelf nam ik deel aan de subcommissie over het voorkomen van nitrosaminen. De voorlopige verslagen van deze subcommissies zijn aan dit verslag toegevoegd.

Agenda

Analysis

1. FAN, T.Y., HERBST, W., ROSS, R. & FINE, D.H.
Comprehensive analytical procedures for the determination of volatile and nonvolatile, polar and nonpolar *N*-nitroso compounds.
2. BAKER, J.K. & CHENG-YU, M.
Characteristics of the TEA detector in use with HPLC.
3. FIDDLER, W., DOERR, R.C. & PIOTROWSKI, E.G.
Observations on the use of the TEA as a specific detector for nitrosamines.
4. YOUNG, J.C.
Detection and determination of volatile and nonvolatile *N*-nitrosamines by thin-layer chromatography using fluorescamine.
5. SCHOENHARD, G.L., AKSAMIT, W.W., HANSEN, L.C., HRIBAR, J.D., LEVON, E.F., SHUBECK, M.B. & WAGNER, H.
The analysis and source of 1-diphenylmethyl-4-nitrosopiperazine in 1-diphenylmethyl-4-[(6-methyl-2-pyridyl)methyleenamino]piperazine, a case history.
6. GAFFIELD, W. & LUNDIN, R.E.
Determination of nitrosamino alcohols and amines by fluorine-19 nuclear magnetic resonance of hexafluoroacetone derivatives.
7. CASTEGNARO, M. & WALKER, E.A.
New data on collaborative studies on analyses of nitrosamines.
8. OHSHIMA, H. & KAWABATA, T.
Mechanism of the *N*-nitrosodimethylamine formation from trimethylamine and trimethylaminoxide.
9. LOEPPKY, R.N. & CHRISTIANSEN, R.
The fragmentation reaction of β -hydroxynitrosamines: possible environmental and biochemical significance to nitrosamine carcinogenicity.

10. LYLE, R.E., LYLE, Gloria, FRIBUSH, H. & SAAVEDRA, J.
Electronic properties of the nitrosamine function.
11. ANGELES, Rosalie M., KEEFER, L.K., ROLLER, P.P. & UHM, S.J.
Chemical models for possible artefactual nitrosamine formation in environmental analysis.
12. CHALLIS, B.C., EDWARDS, A., HUNMA, R.R., KYRTOPOULOS, S.A. & OUTRAM, J.R.
Rapid formation of *N*-nitrosamines from nitrogen oxides under neutral and alkaline conditions.
13. MIRVISH, S.S., KARLOWSKI, K., SAMS, J. & ARNOLD, S.
Studies on *N*-nitrosation: nitrosation by "nitrous acid" in solvent: water mixtures and in methylene chloride, isolation of methylurea from salted dried fish after nitrosation-denitrosation, and methylnitrosourea determination in the rat stomach after feeding methylurea plus nitrite.
14. TANNENBAUM, S.R., WISHNOK, J.S., HOVIS, J. & BISHOP, W.
N-nitroso compounds from the reaction of primary amines with nitrite.

Safety (Evening session)

15. SANSONE, E.B. & TEWARI, Y.B.
The permeability of laboratory gloves to selected nitrosamines.
16. GOUGH, T.A., WEBB, K.S. & McPHALL, M.F.
Diffusion of nitrosamines through protective gloves.
17. WALKER, E.A., CASTEGNARO, M., GARREN, Liliane & PIGNATELLI, Brigitte
Limitations to the protective effect of rubber gloves for handling nitrosamines.

Chemistry and Formation

18. SINGER, Sandra S., LIJINSKY, W. & SINGER, G.M.
Transnitrosation: an important aspect of the chemistry of aliphatic nitrosamines.

19. DAVIES, R., DENNIS, M.J., MASSEY, R.C. & McWEENY, D.J.
Some effects of phenol- and thiol-nitrosation reactions on *N*-nitrosamine formation.
20. MERGENS, W.J., KAMM, J.J., NEWMARK, H.L., FIDDLER, W. & PENSABENE, J.
Alpha-tocopherol: uses in preventing nitrosamine formation.
21. RAPPE, C. & Zingmark, P.A.
Formation of *N*-nitrosamines in cutting fluids.
22. ROPER, H. & HEYNS, K.
Comparative *in vitro* nitrosation experiments with six different tetracycline antibiotics for a possible NDMA formation.
23. ARCHER, M.C.
Acceleration of nitrosamine formation at pH 3.5 by micro-organisms.
24. BOGOVSKI, P., TAUTS, O. & IUBU, J.
Formation of nitrosodimethylamine by micro-organisms used in the baking industry or isolated from the raw material of bakery products.
25. LAND, P.C., VARGHESE, A.J. & BRUCE, W.R.
Evidence for the production of mutagenic *N*-nitroso compounds in the human body (geen kopie).

Occurrence

26. WALTERS, C.L., HILL, M.J. & RUDELL, W.S.J.
Gastric juice nitrite, its source and relationship to hydrogen ion concentration.
27. HAUSER, E. & HEIZ, H.J.
Study of a possible breakdown of volatile *N*-nitrosamines by enzymatic and/or microbiological agents in Swiss raw sausage.
28. GOUGH, T.A.
An examination of some foodstuff for trace amounts of volatile nitrosamines using the TEA.

29. HAVERY, D., FAZIO, T. & HOWARD, J.W.
Survey of cured meat products for volatile *N*-nitrosamines: comparison of two analytical methods.
30. EISENBRAND, G., JANZOWSKI, C., KANN, J., SPIEGELHALDER, B. & PREUSSMANN, R.
Volatile and nonvolatile *N*-nitroso compounds in food and other environmental media.
31. LEE, J.S., LIBBEY, L.M., BARBOUR, J. & SCANLAN, R.A.
3-Hydroxy-*N*-nitrosopyrrolidine in fried bacon and fried-out fat.
32. COHEN, S., ZWEIG, G. & BONTOYAN, W.
Analytical determination of nitrosamines in pesticides by US EPA.
33. BRUNNEMANN, K.D. & HOFFMANN, D.
Chemical studies on tobacco smoke LIX - analysis of volatile nitrosamines in tobacco smoke and polluted indoor environments.

Occurrence and Precursors

34. FINE, D.H.
An assessment of human exposure to *N*-nitroso compounds.
35. COHEN, J. & BACHMAN, J.D.
Measurement of environmental nitrosamines.
36. SEN, N.P., DONALDSON, B., SEAMAN, S. & MILES, W.F.
Recent studies in Canada on the analysis and occurrence of volatile and nonvolatile *N*-nitroso compounds in foods.
37. HECHT, S.S., CHEN, C.B., HOFFMANN, D. & TSO, T.C.
Chemical studies on tobacco smoke LVI - tobacco specific nitrosamines: origins, carcinogenicity and metabolism.
38. KAWABATA, T., OHSHIMA, H. & INO, M.
Occurrence of methylguanidine and agmatine in foods.
39. LAKRITZ, L., WASSERMAN, A.E., GATES, R. & SPINELLI, A.M.
Preliminary observations on amines and nitrosamines in non-normal human gastric contents.

40. JUSZKIEWICZ, T. & KOWALSKI, B.

Absorption, tissue deposition and passage into eggs of *N*-nitrosodimethylamine in hens.

Biology

41. STEPHANY, R.W. & SCHULLER, P.L.

Some new data on the intake of nitrate and nitrite and the occurrence of volatile *N*-nitrosamines in men and veal calves.

42. HICKS, R. Marian, GOUGH, T.A. & WALTERS, C.L.

Demonstration of the presence of nitrosamines in human urine - preliminary observations on a possible aetiology for bladder cancer in association with chronic urinary tract infections.

43. BORZSONYI, M.

Formation and biological effect of *N*-nitroso compound from piperazine pesticide triforine.

44. KLEIN, D.

Possibility of nitrosation during human digestion.

1. evaluation of precursors and affecting factors *in vivo*
2. effect of meal on the reaction.

45. LIJINSKY, W. & SCHMAHL, D.

Carcinogenesis by nitroso derivatives of *N*-methyl-carbamate insecticides and other nitrosamides in rats and mice.

46. FONG, Louise & NEWBERNE, P.M.

Methylbenzyl nitrosamine, zinc deficiency and esophageal cancer.

Analyse

Sinds het laatste congres in Tallin (Rusland, 1975) worden de nitrosaminen steeds meer geanalyseerd met behulp van de TEA-detector (gekoppeld met GC en/of HPLC). Vrijwel alle belangrijke werkgroepen hebben thans de beschikking daarover, waardoor zij kunnen analyseren op submicrogram-niveau.

Met een aan een HPLC gekoppelde TEA wordt ook de analyse van de niet-vluchtige nitrosaminen mogelijk. De groep van Fine kwam met een alle nitrosaminen (dus zowel de vluchtige als de niet-vluchtige) omvattend analyse-schema.

Er waren enige berichten over moeilijkheden met de TEA. Fiddler stelde voor om via een eenvoudige weg de niet-NA-responsies te onderscheiden van de echte NA-pieken. Een voor screening zeer bruikbaar dunne-laag-chromatografisch systeem voor de detectie van vluchtige en niet-vluchtige NA werd gepresenteerd door Young.

De resultaten van een ringonderzoek naar vluchtige NA in een vleesprodukt door verschillende laboratoria stemden goed overeen.

Chemie en Vorming

Veel aandacht kreeg de vorming van nitrosaminen onder ongebruikelijke omstandigheden. Die vorming kan onder veel meer condities optreden dan werd aangenomen. Dit heeft ook consequenties voor de isolatie van nitrosaminen. Als voorzichtig beschouwde toepassingen van basische media en organische oplosmiddelen zijn nu als oorzaken van nitrosamine-vorming onderkend. Een van de grootste problemen in het ppb-gebied is dan ook de vorming tijdens de isolatie.

De aandacht werd ook gevestigd op nitrosamine-vorming door micro-organismen.

De katalytische of remmende werking van sommige stoffen bij nitrosamine-vorming kwam eveneens ter sprake.

Voorkomen

De aanwezigheid van nitrosaminen in voedsel was onderwerp van vele onderzoeken. Zeer vele voedingsmiddelen werden onderzocht op vluchtige nitrosaminen, die algemeen in ppb of geringere hoeveelheden gevonden werden.

Ook andere produkten krijgen steeds meer de aandacht. Er werd bericht over nitrosaminen in veevoeder en in aminopyrine. Na een verontrustend bericht uit Canada over grote hoeveelheden nitrosaminen in Deense en Hollandse kaas, zijn door verschillende instituten kaasmonsters gemeten. De goed overeenkomende resultaten betroffen gehalten, die veel lager waren dan de eerste berichten deden vermoeden, ofschoon er ppb-hoeveelheden werden gevonden.

Bij de fabricage of opslag van pesticiden kunnen nitrosaminen gevormd worden. Zeer veel pesticiden werden op het voorkomen ervan onderzocht en naar aanleiding daarvan werden voor een paar produkten het fabricageproces en de verpakking gewijzigd, zodat het nitrosaminegehalte verlaagd werd. Toch blijven de gebruikers van dit materiaal aan relatief grote hoeveelheden blootgesteld. Erger nog is het met de snijvloeistoffen, waarin enorme hoeveelheden diethanolnitrosamine werden gevonden. Ook cosmetische produkten bleken dit nitrosamine te bevatten. Een emulgator (triethanolamine) is hiervoor verantwoordelijk.

Uit metingen in ruimten, waarin gerookt wordt blijkt, dat ook de niet-rokers hoeveelheden nitrosaminen inademen equivalent met het roken van 0,5 - 30 sigaretten.

Voorts werden er resultaten bekend gemaakt over de oorzaken van het voorkomen van nitrosaminen in de maag.

Proeven met kippen tonen aan, dat de aan het voedsel toegevoegde nitrosaminen zich in alle organen en zelfs in de eieren verspreiden.

Biologie

De sectie bracht nieuwe gegevens over vluchtige nitrosaminen in o.a. 100 totaaldiëten, in verschillende kaasmonsters en in verschillende organen van kalveren gevoed met kaliumnitraat. Verder werden urinemonsters onderzocht van patiënten, die ammoniumnitraat kregen toegediend. Ook werd gekeken naar nitraat en nitriet in voedsel en het effect ervan op de nitrietconcentratie in speeksel.

Hiernaast werd er onderzoek gedaan naar verbanden tussen bepaalde afwijkingen in het lichaam en het voorkomen van kanker. Verschillende stoffen werden ook onderzocht op hun kankerwekkende eigenschappen.

Veiligheid

Twee zaken kregen voornamelijk de aandacht:

1. De slechts gedeeltelijke bescherming door laboratorium-hand-schoenen;
2. De aanwezigheid van nitrosaminen in gedemineraliseerd water.

Voor aanbevelingen t.b.v. het hanteren van nitrosaminen in het laboratorium zij verwezen naar de aanbevelingen aan het eind van dit verslag.

Discussie

Over het algemeen zijn de analysemogelijkheden niet veel uitgebreider dan het geval was tijdens het laatste congres in Tallin. Nog steeds wordt er meer aandacht besteed aan de analyse van de vluchtige nitrosaminen dan aan die van de niet-vluchtige, niet zozeer omdat de eerste belangrijker zouden zijn dan wel, omdat ze analytisch toegankelijker zijn.

Men kan verwachten, dat de niet-vluchtige nitrosaminen minstens evenzo belangrijk zijn. Door de ontwikkeling van de HPLC/TEA combinatie wordt het nu mogelijk ook deze laatste groep te analyseren. In de komende jaren zal vooral het onderzoek van niet-vluchtige nitrosaminen de meeste aandacht vragen. Voor vers plantemateriaal zijn er tot nu toe nagenoeg geen aanwijzingen voor het voorkomen van vluchtige of van niet-vluchtige secundaire aminen. Indien deze laatsten zouden voorkomen, dan zou dat een gericht onderzoek naar de overeenkomstige nitrosaminen rechtvaardigen.

De omstandigheden waaronder nitrosaminen voorkomen, zijn thans beter bekend, ze zijn algemener dan tot nu toe werd aangenomen en kunnen optreden tijdens gebruikelijke methoden voor extractie en isolatie. Door het steeds gevoeliger worden van de analysetechnieken worden in steeds meer gevallen kleine hoeveelheden nitrosaminen gevonden.

Een toxicologisch of epidemiologisch onderzoek is daarom noodzakelijk om te kunnen komen tot een tolerantiegrens voor nitrosaminen in ons milieu. Men zou hierbij soortgelijke maatstaven kunnen hanteren als thans gelden voor radioactieve straling, nadat een natuurlijk basisniveau is vastgesteld.

Voor de landbouw van belang zijnde onderwerpen van nitrosamine-onderzoek zijn:

- onderzoek naar de in vivo-vorming van nitrosaminen in mens en dier na consumptie van nitraatrijk voedsel;
- onderzoek naar de vorming van nitrosaminen in planten geteeld bij hoge stikstofgiften;
- analyse van nitrosaminen en precursors in veevoer en de overgang daarvan in vlees, melk, kaas en eieren;
- onderzoek naar het ontstaan van nitrosaminen uit pesticiden of andere secundaire aminen in de grond;
- analyse op de aanwezigheid van nitrosaminen in pesticiden.

Er zijn in de huidige CABO-projecten aanknopingspunten voor dergelijk onderzoek, die tevens zullen kunnen leiden tot een meer algemeen inzicht in de betekenis van het nitrosamine-probleem voor de landbouw.

Lijst van voordrachten met een korte samenvatting (eerste auteur + volgnummer in agenda). De volledige rapporten zijn bij de auteur aanwezig.

1. Angeles, R.M. (11)

Voorlopige resultaten tonen aan, dat anorganisch nitriet ook als vaste stof kan dienen als een effectief nitroseringsagens voor aminen opgelost in bepaalde niet-waterige media. Dit kan bij de opwerkingsprocedure aanleiding geven tot artefactvorming.

Tevens wordt gewaarschuwd tegen het aanwezig zijn van nitrosaminen in gedeïoniseerd water.

2. Archer, M.C. (23)

Een 12-49-voudige versnelling van de nitrosering van dihexylamine werd geconstateerd bij pH = 3,5 door toevoegen van 12 mg/ml bacteriën en gistcellen.

Daar zowel verhitte als onverhitte cellen hetzelfde resultaat gaven, wordt het effect verklaard door een hydrofobe interactie van het amine met cellulaire bestanddelen.

3. Baker, J.K. (2)

De geconstateerde eigenaardigheden in de response van de combinatie HPLC/TEA zijn waarschijnlijk te wijten aan de oneffectieve koude val (comm. D. Fine).

4. Bogovski, P. (24)

Hoge stikstofbemestingen verhogen het nitraatgehalte in tarwe en bloem. De opname door de mens werd berekend op 0,5 mg nitriet en 0,7 mg nitraat per dag door consumptie van graanprodukten.

Bovendien bevat tarwebrood verschillende alifatische en heterocyclische secundaire aminen.

Onderzocht werd of de micro-organismen in het deeg in staat zijn nitrosaminen te vormen. Verschillende bleken daartoe in staat. Hoewel de proefomstandigheden niet goed overeenkomen met die van een bakkerij is er aanleiding genoeg om de aanwezigheid van nitrosaminen in bakkerijprodukten na te gaan.

5. Börzsönyi, M. (43)

De in vivo-vorming van dinitrosopiperazine (DNP) uit het fungicide triforine en het effect of tumorvorming na toevoegen van DNP en nitriet werden experimenteel onderzocht.

6. Brunnemann, K.D. (33)

Tabaksrook bevat kleine hoeveelheden vluchtige nitrosaminen in de hoofdstroom en in de zijstroom van sigaretten en sigaren zit zelfs tienmaal zoveel als in de hoofdstroom. Metingen in lokalen en ruimten toonden aan, dat men vluchtige NA inademt in hoeveelheden equivalent met de hoofdstroom van 0,5-30 sigaretten.

Opgemerkt werd, dat nog een epidemiologische aanwijzingen beschikbaar zijn omtrent een samenhang tussen kanker bij mensen en vluchtige nitrosaminen.

7. Castegnaro, M. (7)

Aan een sterk gekruid vleeswarenprodukt werden bekende hoeveelheden NDMA, NDEA, NDBA en NPYR toegevoegd. Analyse-

uitkomsten met verschillende methoden (MS, GC, TEA) en door verschillende laboratoria gaven onderling goed overeenkomende resultaten.

8. Challis, B.C. (12)

In neutrale en basische waterige oplossingen kunnen zeer snel nitrosaminen gevormd worden d.m.v. N_2O_3 en N_2O_4 . Ook wordt de reactie van amine met NO bij $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ in ethanol vermeld, die gekatalyseerd wordt door zuurstof, jodium en metaalzouten.

9. Cohen, J. (35)

In monsters genomen in de buurt van fabrieken, die aminen uitstootten werd weinig nitrosamine-vorming geconstateerd. In het afvalwater werden echter verscheidene nitrosaminen aangetroffen. Het betrof effluenten van chemicaliën, pesticiden en cokes producerende fabrieken.

Langs autobanen kon geen nitrosamine-vorming worden aangetoond.

Wel werden ook door deze onderzoekers NA in gedeïoniseerd water aangetroffen.

10. Cohen, S. (32)

Ongeveer 70 pesticiden werden onderzocht op contaminatie met nitrosaminen veroorzaakt door:

1. De wijze van fabricage;
2. (In situ) nitrosering (in containers);
3. Gebruik met nitrosaminen gecontamineerde aminen tijdens fabricage.

De vorming, na toepassing op het land, werd niet onderzocht. De toxicologische betekenis van de gevonden gehalten is niet bekend, maar wel werd er bij de fabrikanten op aangedrongen om de nitrosaminen in gehalte te verlagen of te elimineren.

11. Davies, R. (19)

De aanwezigheid van fenolen en thiolen kan leiden tot een vergrote N-nitrosering of tot een nitrosamine-vorming

onder condities, waarbij dit normaliter niet zou plaatsvinden (b.v. bij een hoge pH).

12. Eisenbrand, G. (30)

Al of niet gebraden vleesmonsters bevatten NA-gehalten in het lage ppb-gebied. Van een groot aantal soorten kaas bleek 45 % nitrosaminen te bevatten, maar slechts 12 % bevatte meer dan 1 ppb (d.w.z. 1-6 ppb).

Dichloormethaan en chloroform bleken aanzienlijke hoeveelheden NMOR te bevatten. De bron is onbekend.

Veel krachtvoermonsters (80 %) bevatten meer dan 1 ppb aan NDMA (tot 79 ppb) en aan NPYR (tot 26 ppb). Vismeeel was de voornaamste bron. Geneesmiddelen, die aminopyrine bevatten waren alle verontreinigd met NDMA (10-371 ppb!).

13. Fan, T.Y. (1)

Tot voor kort werd er bijna alleen aandacht besteed aan de analyse van de vluchtige nitrosaminen, omdat de analytische technieken voor niet-vluchtige nitrosaminen zo goed als ontbraken.

Een schema werd gepresenteerd, waarbij de NA in vier klassen kunnen worden gescheiden:

1. vluchtige NA,
2. a-polaire, niet-vluchtige NA,
3. polaire, niet-ionogene NA,
4. polaire, ionogene NA.

Klasse 1 wordt bepaald met GC-TEA. Klasse 2, 3 en 4 met HPLC-TEA.

14. Fiddler, W. (3)

Hoewel de TEA een zeer specifieke NA-detector is, is gebleken, dat ook vele andere stoffen een TEA-response geven.

Een fotolytische procedure werd ontwikkeld, die het mogelijk maakt de nitrosaminen te onderscheiden van andere stoffen doordat NA zeer gevoelig zijn voor UV licht.

15. Fine, D. (34)

Van de wijze waarop mensen worden blootgesteld aan nitrosaminen worden vier typen besproken: consumptie, inademing, door de huid en door vorming in vivo uit precursors. Het relatieve belang van verschillende N-nitroseringsmechanismen wordt besproken.

Typical human exposure to N-nitroso compounds

Exposure	NDMA and NDEA µg	NPYRR µg	NNN µg	NDELA µg
Ingestion, nitrite preserved foods	1	5		
Inhalation, cutting fluids, 0.5 to 5 ml concentrate				2,500-25,000
Aqueous herbicide sprays	100			
UDMH Factory, Baltimore	40			
Adjacent to UDMH Factory, Baltimore	14			
Tobacco smoke, 20 cigarettes	2		3	
Downtown Baltimore	0.3			
Kitchen, from bacon frying	0.1			
Dermal, cutting fluids, 5 ml concentrate				25,000
Pesticide spill, 1 ml	500			
Facial Cosmetics				50
Hair Shampoos				3
Hand Lotions				2
In vivo	>7			

16. Fong, L. (46)

Een laag zinkgehalte in bloed, traan en slokdarmmateriaal treedt op bij patiënten met slokdarmkanker.

Ratten op een zink deficient dieet hadden een grotere frequentie en kortere incubatietijd bij slokdarmtumor induc-tie door methylbenzylnitrosamine, dan dieren met voldoende zink in het dieet.

17. Gaffield, W. (6)

Met ^{19}F -NMR werd een detectiemethode ontwikkeld voor nitrosamine-alcoholen en aminen. Gebruikmakend van Fourier transform ^{19}F -NMR kan 1 ppm nog bepaald worden. De methode lijkt voorlopig van weinig praktisch belang.

18. Golovnya, R. (-)

De aangekondigde lezing werd niet gehouden.

19. Gough, T.A. (28)

In voedingsprodukten van de Britse markt werd in 62 van de 200 monsters NDMA (tot 0,2 ppb) gevonden, in vlees- produkten daarnaast ook vaak NPIP en in voedingsmiddelen, die paddestoelen bevatten NMEA.

Na stoomdestillatie en extractie werden de monsters ge- analyseerd met GC-TEA en met GCMS.

20. Gough, T.A. (16)

Rubber en PVC handschoenen werden onderzocht op permea- biliteit voor vluchtige nitrosaminen in hexaan met aan de buitenkant water en het NA-gehalte van het water werd onder- zocht.

Conclusie: handschoenen bieden alleen gedurende korte tijd bescherming.

21. Hauser, E. (27)

Onderzocht werd of nitrosaminen ontleden in een Zwit- serse worstsoort. De resultaten zijn onzeker, mede door de onnauwkeurigheid van de bepaling.

22. Havery, D. (29)

Honderdzes monsters vleeswaren werden onderzocht op de veertien vluchtige NA. NPYR werd in gebakken bacon gevonden (5-75 ppb). In verschillende monsters werd NDMA gevonden. Uitkomsten van de multidetectie GC-MS-methode en de GC-TEA kwamen goed overeen.

23. Hecht, S.S. (37)

In gefermenteerde tabak zitten specifieke carcinogene nitrosaminen afgeleid van nicotine. De voornaamste is N-nitrosonornicotine (NNN) (0,3-100 ppm).

Daarnaast werden er nu twee andere nitrosaminen gevonden: 4-(N-methyl-N-nitrosamino)-4-(3-pepidyl)-1-butanol (NNA) en 4-(N-methyl-N-nitrosamino)-1-(3-pepidyl)-1-butanon (NNK). NNA bleek inactief, maar NNK was meer tumorverwekkend dan NNN.

Verder werd het metabolisme van cyclische NA-onderzoek. Metabolische α -hydroxylering van NPYR werd aangetoond.

24. Hicks, R. (42)

Een Engelse en Egyptische groep patiënten met infectie aan de urinewegen werden onderzocht op nitrosaminen in de urine. In sommige gevallen kon NDMA worden aangetoond met aanwijzingen voor enige ongeïdentificeerde nitrosaminen. Dit wijst op een relatie tussen chronische infectie van urinewegen en het ontstaan van kankerverwekkende NA in de blaas.

25. Juszkiewicz, T. (40)

NDMA werd aan kippevoer toegevoegd, en het bloed, de spieren, de lever, de hersenen en de eieren onderzocht op NDMA. De hoogste concentratie trad steeds ca. 24-36 uur na dosering op. Ook bij de laagste dosis (0,1 mg per kg bw) worden in de organen niveaus van 0,06 ppm gevonden en bevatten de eieren nog na zes dagen detecteerbare hoeveelheden NDMA.

26. Kawabata, T. (38)

Methylguanidine een precursor van methylnitrosocyanamide en methylnitrosurea komt in tegenstelling tot eerdere publicatie slechts in sporen voor in vers runder-, varkens- en kippevlees en in vissen en schelpdieren. Hogere concentraties werden gevonden in gerookte vis.

Agmatine wordt makkelijk genitroseerd tot een mutageen. Hoge concentraties van agmatine werden o.a. gevonden in gedroogde pijlinktvis (650 ppm).

27. Kazantis, G. (-)

De aangekondigde lezing is niet doorgegaan.

28. Klein, D. (44)

De invloed van toegediend nitraat op de nitriet- en nitraatconcentratie in de maaginhoud werd onderzocht. De nitraatconcentratie nam minder snel af dan verwacht werd. De nitrietconcentratie was afhankelijk van de bijdrage uit het slijmvlies en is gerelateerd aan de nitraatconcentratie in de voedselprop.

Medicijnen die bestaan uit nitroseerbare aminen (of hun metaboliëten) kunnen uitgescheiden worden in het speeksel en in de slokdarm met nitriet reageren.

29. Lakritz, L. (39)

Verschillende vluchtige en niet-vluchtige aminen werden gevonden in de menselijke maag.

In sommige gevallen werd NDEA, NDMA en NPYR gevonden. Er was geen correlatie met de medische diagnose en het voorkomen van nitrosaminen in de maag.

30. Land, P.C. (25)

De faeces van proefpersonen werden getest op mutagene activiteit. Na isolatie van de mutagene factor werd de samenstelling ervan onderzocht. Er werden verschillende aanwijzingen verkregen (o.a. HPLC-TEA) van de aanwezigheid van nitrosoaminen.

31. Lee, J.S. (31)

3-Hydroxy-N-nitrosopyrrolidine werd geïsoleerd uit gebakken bacon en uitgebakken vet door extractie met methanol/water. Het achtergebleven nitriet werd geëlimineerd met ammoniumsulfamaat. Na extractie met dichloormethaan werd het produkt geanalyseerd met GCMS.

32. Lijinsky, W. (45)

De N-nitroso derivaten van 7 N-methylcarbamaat esters (waaronder zes insecticiden) werden carcinogenen bevonden. Toegepast op de huid van muizen waren de meeste stoffen inactief.

33. Loepky, R.N. (9)

β -geoxideerde nitrosaminen blijken in veel studies belangrijke carcinogene metaboliëten te zijn van een aantal nitrosaminen.

Vandaar dat de chemische en biochemische eigenschappen van β -hydroxynitrosaminen van belang zijn.

Onderzocht werd de afbraak in basisch milieu. Het blijkt dat het produkt uiteenvalt in een keton en een nitrosamine.

34. Lyle, R.E. (10)

Door toevoëging van een chiraal alcohol bij een niet-chiraal nitrosamine wordt chiraliteit bij het nitrosamine geïnduceerd en dit geeft aanleiding tot een anomale circulair dichroïsme curve.

35. Mergens, W.J. (20)

Net als vitamine C is het vetoplosbare vitamine α -tocopherol een remmer van de nitrosamine-vorming.

De blokkerende werking werd aangetoond in waterig en lipofiel milieu. De combinatie met natrium ascorbaat was werkzamer dan Na-ascorbaat alleen.

36. Mirvish, S.S. (13)

Slecht in water oplosbare produkten zoals carbaryl nitrosieren sneller in dichloormethaan/water mengsels. Ook kunnen allerlei nitrosamiden gevormd worden in dichloormethaan waarin salpeterig zuur is opgelost.

Nitrosomethylureum werd in een rattemaag gevormd na toedienen van methylureum en NaNO_2 .

37. Ohshima, H. (8)

Trimethylamine en trimethylaminoxide (aanwezig in zeevis en schaaldieren) kunnen onder verschillende omstandigheden met nitriet reageren tot N-nitrosodimethylamine.

38. Rappe, C. (21)

In vloeistoffen, die triethanolamine, nitriet en water bevatten, blijkt dat zelfs bij pH 10-11 N-nitrosodiethanolamine gevormd wordt in hoeveelheden tussen 400-800 ppm.

Het N-nitrosodiethanolamine blijkt bij tamelijk hoge doses kanker te indiceren bij ratten.

39. Röper, H. (22)

Verschillende tetracycline antibiotica liet men reageren met NaNO_2 bij 37 °C onder gesimuleerde maagomstandigheden (pH = 2-4).

NDMA-vorming werd ontdekt uit minocycline, doxycycline, oxytetracycline en anhydrochlorotetracycline.

Verschillende reactie-omstandigheden werden onderzocht.

40. Sansone, E.B. (15)

Monsters van laboratoriumhandschoenen van verschillende samenstelling en dikte werden gebruikt als grensvlak tussen 0,136 M opl. van NA en water. De concentratie van het doorgelaten nitrosamine werd voortdurend gemeten. Alle handschoenen bleken NA door te laten en moeten dus niet als veilig worden beschouwd, ze moeten na een duidelijke contaminatie niet meer gebruikt worden.

41. Schoenhard, G.L. (5)

Het 1-diphenylmethyl-4-[(6-methyl-2-piperidyl)methyleen-amino]piperazine bezit uitstekende eigenschappen als anti-convulsant. Echter, bij de synthese is 1-diphenylmethyl-4-nitrosopiperazine een tussenprodukt, dat ook uit het anti-convulsant ontstaat, onder invloed van ozon.

42. Sen, N.P.

In veel kaasmonsters, waaronder Hollandse, vond men een indicatie voor aanwezigheid van kleine hoeveelheden nitrosaminen (< 20 ppb) (hoofdzakelijk NDMA en NDEA). Daarnaast werden methoden uiteengezet voor de analyse van verschillende niet-vluchtige nitrosaminen (nitrosohydroxypyrrolidine, nitrosodiethanolamine, nitrosoproline, nitrosohydroxypoline en nitrosoglyphosaat).

Sporen van nitrosohydroxypyrrolidine werden ontdekt in gekookte ham.

43. Singer, S.S. (18)

Mononitrosopiperazine bleek via een disproportioneeringsreactie over te kunnen gaan in dinitrosopiperazine.

4-methyl-1-nitrosopiperazine bleek in staat te zijn een nitrosogroep over te dragen aan piperazine, proline en morfoline.

Ook werden nog andere nitrosotransfer agentia gevonden.

44. Stephany, R.W. (41)

Honderd totale diëten (d.i. het gehomogeniseerde dagelijkse voedselpakket van een proefpersoon), negentien kaasmonsters en spier, vet, lever, nier, bloed en gebraden vlees van kalveren gevoed met 0,6 of 300 mg KNO_3 per kg lg en veertien urinemonsters van patiënten behandeld met grote hoeveelheden ammoniumnitraat (overeenkomend met 180 mg KNO_3 per kg lg) werden geanalyseerd met GC-TEA. NDMA werd vaak in submicrogram-hoeveelheden gevonden (< 1 ppb). Er was geen correlatie tussen nitraatopname en NDMA concentratie. Berekend werd dat dagelijks ca. 0,5 μg NDMA wordt geconsu-

meer door de mens. Daarnaast werd nitraat en nitriet bepaald in zeer veel voedselmonsters. Soms werden hoge nitraatconcentraties gevonden. Nitriet werd alleen in sporen gevonden. De concentratie van nitriet in speeksel was zeer afhankelijk van de dagelijkse opname van nitraat.

45. Tammenbaum, S.R. (14)

De reactie van primaire aminen met nitriet verloopt via het diazonium ion en levert ten slotte een alkeen, een primair en een secundair alcohol.

Veel bijproducten gaven een positieve TEA-respons en zijn dus potentieel N-nitroso producten. De vorming van deze producten wordt bevordert door de aanwezigheid van thiocynaat.

46. Walter, E.A. (17)

Experimenten met handschoenen werden uitgevoerd naar de permeabiliteit t.o.v. NA. Als oplosmiddel werd methyleenchloride gebruikt. Weer bleek, dat handschoenen geen voldoende bescherming gaven. De permeatie van NA werd aanmerkelijk vertraagd door dubbele operatiehandschoenen te dragen.

47. Walter, C.L. (26)

Aangetoond werd, dat het in de maag aanwezige nitriet niet alleen afkomstig is uit het speeksel. Speekselthiocynaat vergroot de mogelijkheid tot nitrosaminevorming in de maag.

Er werden relaties gevonden tussen nitriet, pH in de maaginhoud en de conditie van de maag.

48. Young, J.C. (4)

Een gevoelige TLC-methode werd gepresenteerd om zowel vluchtige als niet-vluchtige nitrosaminen te detecteren die uitermate geschikt lijkt voor het screenen van monsters.

Na fotolyse van de nitrosaminen worden de ontstane aminen aangetoond met fluorescamine. Met deze methode kan ook gemakkelijk glyphosaat bepaald worden (detectiegrens 5 ng).

Aanbevelingen

Analysis

The data generated from the use of TEA are presented in several papers. It was observed that the TEA would respond with varying sensitivity to compounds other than N-nitroso compounds. They include organic nitrates and nitrites, some C-nitroso compounds unsaturated hydrocarbons and aromatic compounds containing more than one nitro group. Some of these interferences can be eliminated by various trapping procedures, but the problem has not yet been completely resolved.

Despite the selectivity of the detector, adequate clean-up is essential to minimize artefactual responses.

Despite the above-mentioned limitations, the results of the recent IARC collaborative studies on cured meats showed that for this commodity at least, the TEA and other chemiluminescent detectors gave reliable results.

A comprehensive analytical procedure using TEA was presented but has not been applied to the analysis of foods. This type of approach should be extended.

Limited experience with HPLC-TEA combination has demonstrated limitations regarding reproducible response resulting from the combination of furnace temperature and solvent effects. This problem may have been overcome by the addition of a second trap.

Comparison of mineral oil distillation technique with the alkaline digestion method showed that in most cases the results are comparable, but in some cases the former gave higher results. Several different extraction and clean-up procedures were used in the collaborative studies involving the TEA technique, but there was no indication of any significant difference between the results. Two laboratories found no significant differences in the levels of nitrosamines in the same extracts analysed both by TEA and MS. Appropriate precautionary measures must be taken to minimize the formation of nitrosamines during work-up of the sample. The validity of the measures taken has to be verified. For example, the removal of residual nitrite or nitrosatable amines is essential. Any results reported which are below the MS confirmation limit must be reported as apparent nitrosamine levels. However, additional evidence such as parallel GC and HPLC with the TEA or photolytic

destruction of nitrosamines is valuable supportive evidence. Even in simple samples artefact response of the TEA was reported.

We recommend that, whenever possible, the evidence should be supplemented by alternative techniques based on different principles.

Following the recommendations of the preceding meetings, more laboratories have been using the GC-MS technique for confirmation. Of all the methods available GC-MS is the most satisfactory. It is suggested that the method of MS confirmation be specified in all publications.

Several papers presented data using conventional GC detectors. In view of the fact that these studies involved relatively simple systems, where the identity of the nitrosamine was known, and the levels of nitrosamines were relatively high, the use of such detectors is satisfactory. Such detectors are also valuable for screening at low levels prior to confirmation by MS.

TLC still has a role in nitrosamine analysis as an exploratory technique for screening and isolation of nonvolatile N-nitroso compounds.

The results of the collaborative studies show that several reliable methods for the determination of volatile nitrosamines in meat are available. It is recommended that a study be initiated to compare the results obtained by a single analytical procedure. The objective is to develop a referee method.

We recognize that considerable progress has been made in the area of nonvolatile nitrosamines such N-nitrosamino acids, N-nitrosodiethanolamine and N-nitrosohydroxypyrrolidine. We recommend that further work in this area should be continued and expanded to include more labile compounds especially nitrosamides. First results obtained in the IARC collaborative studies of N-nitrosamino acids, gave encouraging results. The study should be extended to the analysis of these compounds in a food matrix.

Using the IUPAC nomenclature system for nitrosamines the following abbreviations are given as examples:

N-nitrosodimethylamine	= NDMA
N-nitrosodi-n-butylamine	= NDBA
N-nitrosodi-isobutylamine	= NDi-BA
N-nitrosoethylmethylamine	= NEMA
N-nitrosopyrrolidine	= NPYR

N-nitrosopiperidine	= NPIP
N-nitrosomorpholine	= NMOR
Mononitrosopiperazine	= M-NPZ
Dinitrosopiperazine	= D-NPZ
N-nitrosoproline	= NPRO
N-nitrososarcosine	= NSAR
N-nitrosohydroxyproline	= NHPRO
N-nitrosopipecolic acid	= NPIC
N-nitrosohydroxypyrrolidine	= NHPYR
N-nitrosornicotine	= NNNN
N-nitrosodiethanolamine	= NDELA

When abbreviating nitrosureas, use -NU and for nitrosourethanes, use -NUT.

N-nitroso compounds NA.

There is a distinct possibility that nitrosamines can be formed during storage or the sample can be contaminated from its surroundings e.g. in a refrigerator where nitrosamines have been previously stored. It is strongly recommended that no sample, particularly those of biological origin, be stored for longer than is absolutely necessary.

Following a request from IUPAC it was proposed that the first collaborative study should be carried out with a commercial formulation of 2,4-D amine salt containing no nitrite and an added nitrosamine not normally present.

Formation

A. Formation of N-Nitroso (NNO) compounds in vivo

1. Improved analytical methods how available should be applied to the question of in vivo formation of NNO compounds in humans, in order to establish whether this is a real human hazard.
2. The stomach should not be considered as the only possible site of NNO compound formation. In addition to more work on the stomach, further studies should be done on other possible nitrosation sites, e.g. other parts of the gastrointestinal tract, lung (from nitrogen oxides), and urogenital tract. These studies should be done in humans (where possible) and experimental animals.

3. We should identify enhancing and inhibitory factors in different in vivo situations, e.g. thiocyanate, chloride, phenols, thiols, ascorbate and bacteria.
4. More definitive work is needed on the possibility of nitrosation catalyzed by bacteria. This is relevant to nitrosation in various in vivo sites (e.g. foods where bacterial action occurs, such as the large intestine and infected urogenital tract and various other environmental situations).
5. We should study in vivo transformations of NNO compounds to other NNO compounds, by enzymic or non-enzymic processes, e.g. transnitrosation, oxidation and retro-aldol cleavage.

B. Formation of NNO Compounds in the Environment

1. Further work is needed to understand, predict, and control the environmental formation of NNO compounds. It is important to understand the mechanism of NNO compound formation under each specific condition (e.g. in industrial processes), since this information would be helpful in related situations.
2. More work should be done on the occurrence in the environment, especially in foodstuffs, of nitrosatable compounds, e.g. secondary and tertiary amines, ureas, and guanidines; and potential or actual nitrosating agents, e.g. nitrite, nitrate, and the nitrogen oxides.
3. In epidemiological studies, there should be special emphasis on "chemical epidemiology", i.e., correlations should be examined between an increased incidence of specific cancers and environmental conditions which may promote NNO compound formation, e.g. high nitrate in the drinking water or high levels of nitrosatable compounds in the foodstuffs. These studies can be done in two ways:
 - a. By examining the environments for the presence of N-nitroso compounds where specific cancers show an increased incidence, and
 - b. By examining the incidence of cancer under situations where populations are, or may be, exposed to high levels of NNO compounds (e.g. in industries where cutting oils are used, and people who have used aminopyrine).

Note should be taken of environmental modifying factors which would affect both the formation of NNO compounds and the susceptibility of man to NNO compounds, e.g. trace metal (such as zinc) and other nutritional deficiencies.

4. Substances to which the public may be exposed should be evaluated for the presence of NNO compounds as impurities, and for potential nitrosatability under relevant conditions.
5. In order to predict likely sources of NNO compound formation in the real human environment, a mechanism should be found for a thorough and timely evaluation of commercial commodities for their potential for NNO compound formation, either in the commodity itself or by interactions with other commodities containing the appropriate precursors.

Chemistry

I. Formation of Nitrosamines

Several heretofore unrecognized ways for forming N-nitrosamines in the environment or in vivo were reported. Among these were the following new reactions: singlet oxygen conversion of drugs containing the hydrazone functionality to nitrosamines, the formation of N-nitroso compounds from primary amines, the formation of nitrosamines from the uncatalyzed reaction of nitrite with secondary amines in halogenated solvents and the rapid nitrosation of amines by N_2O_3 and N_2O_4 in neutral and in basic media in addition to nitrosation of amines by NO in the presence of oxidizing agents and by a methylene chloride extract of nitrous acid.

Many of these reactions could occur during the workup of a sample for nitrosamine analysis and should be noted by analytical chemists.

II. Catalysis and Inhibition of Nitrosamine Formation

The catalytic activity of strong nucleophilic anions, thiols and aromatic nitroso compounds such as nitrosophenols and the inhibitory activity of α -tocopherol on nitrosamine formation were demonstrated. The microbiological catalysis of nitrosamine formation under certain conditions was proposed to proceed by hydrophobic interactions and the possible role of phase transfer catalysis in nitrosation was presented.

III. Chemistry of the Metabolic Activation of Nitrosamines and Related Processes

The α -hydroxylation pathway for the activation of nitrosamines has been experimental confirmed for a cyclic nitrosamine. The interconversion of nitrosamines was reported to occur both by retroaldol like fragmentation of β -hydroxynitrosamines and by transnitrosation.

IV. Structural and Stereochemical Effects Upon Nitrosamine Reactions

The presence and stereochemistry of an adjacent functional group has been shown to greatly influence both the extend of nitrosation of a tertiary amino function and the ability of the nitrosamino function to undergo hydrogen bonding, the latter effect being measured by induced circular dichroism. In general, multifunctional nitrosamines undergo reactions which are quite different from those normally observed.

Recommendations of the Chemistry Section

1. The formation of nitrosamines from non-obvious precursors, such as the singlet-oxygen reaction of hydrazones, should be explored.
2. A greater understanding of the relationship of structure to reactivity of multifunctional nitrosamines is needed. The biological properties of nitrosamides and nitramines should be studied further.
3. Chemical model studies are required which would provide information concerning probable nitrosamine metabolites.
4. A search should be conducted for additional, more effective nitrosation inhibitors, particularly those that may inhibit in vivo nitrosation.
5. A nitrosamine reference sample collection including tobacco carcinogens should be established which is generally available to the international scientific community.
6. It is recommended that the IUPAC nomenclature on nitrosamines should be used by all research scientists with abbreviations being explained either in the text or in a separate footnote. In addition the IARC should establish an accepted list of abbreviations for use in oral presentations.

Occurrence

A. Food and Feed

Numerous studies throughout the world have shown that a number of food commodities especially certain processed meat products (e.g., bacon and a variety of sausages) contain volatile nitrosamines. Encouraging data have been presented, which demonstrate a decline in the concentrations of N-nitrosopyrrolidine in fried bacon. This appears to be a result of changes in the manufacturing processes such as the reduction of nitrite concentration, elimination of the addition of nitrate and the addition of nitrosation inhibitors. It is recommended that regulatory agencies monitor those products in which nitrosamines have been consistently detected.

Investigations have shown sporadic occurrence of volatile nitrosamines in certain food products such as fish and cheese. It is hoped that increased research efforts will develop data on N-nitroso compounds in salted, smoked and fermented fish and fish products as well as in other food products.

N-nitroso-3-hydroxypyrrolidine has been detected in fried bacon and other fried cured meat products. More in-depth studies are needed on the occurrence and carcinogenicity of this compound and other non-volatile nitrosamines.

Several reports were given on the presence of trace amounts of N-nitroso-dimethylamine in deionized water. Since deionized water may be used in food processing and drug manufacturing, investigations are needed to establish the extent of this potential hazard and procedures for its eliminations.

It has been shown that animal feed contains nitrosamines. The passage of the nitrosamines into the food destined for human consumption should be considered. Research institutes should be aware that laboratory animal feed may contain nitrosamines.

B. Respiratory environment

Tobacco smoke contains volatile and tobacco-specific non-volatile nitrosamines. These compounds may contribute to the carcinogenic effect of tobacco smoke.

It has been reported that enclosed environments polluted primarily with tobacco smoke can contain measurable amounts of volatile nitrosamines. Research has shown that these volatile nitrosamines can be selectively reduced in tobacco aerosols. In-

vestigations on the reduction of nitrosamines in enclosed environments are encouraged and refined epidemiological investigations are recommended for special settings and for people constantly exposed to enclosed environments polluted with nitrosamines. The available evidence suggests that the occurrence of volatile nitrosamines, especially dimethylnitrosamine, is probably not a general air pollution problem, but rather a localized problem associated with particular segments of certain industries.

C. Drugs, Cosmetics and other Exposures

All aminopyrine-containing drug samples analysed in one study were contaminated with small amounts of dimethylnitrosamine. In the Federal Republic of Germany it has been recommended that aminopyrine-containing drugs be removed from the market.

A potential may exist for formation of nitrosamines during synthesis and storage of nitrogen-containing drugs. A screening procedure for the detection of nitrosamines in drug preparations should be developed.

N-Nitrosodiethanolamine has been found in certain cosmetics. There is a need for more on the extent of occurrence of nitroso compounds in this class of products. The sources of the precursors and the conditions for formation should be identified and appropriate steps should be taken to eliminate the nitrosamines.

It has been shown that processed tobacco, especially chewing tobacco and snuff, contain nitrosamines which derive from tobacco alkaloids.

D. Occupational Exposure

N-Nitrosodiethanolamine has been found in concentrations of up to 3 % in undiluted, synthetic and semisynthetic cutting fluid. The same nitrosamine has also been found in some cosmetics. In the air and waste water of certain hydrazine and amine producing plants nitrosamines have been found. Furthermore some pesticides were reported to contain nitrosamines. In addition, specific nitrosamines are used in the rubber industry.

At present we are lacking human data which show a correlation between high cancer incidence rates and exposure to N-nitrosamines. Workers employed in these occupational settings where there is a human exposure to nitroso compounds should be the subject of epidemiological studies.

N-Nitrosamines may occur in some other industries. It is recommended that chemical analytical studies be initiated in those industrial plants which use or produce as a waste products potential precursors for nitrosamines.

E. In vivo Exposure

A possible indicator for human exposure to N-nitroso compounds, their precursors and metabolites is their determination in human secretions, excretions and body fluids. Preliminary data on this subject were presented. Further research in this field is needed for epidemiological studies and is strongly encouraged.

In summary, the meeting has shown an exposure of man to environmental nitrosamines. At present the biological relevance of these findings is not understood with respect to carcinogenesis in man. Further research should concentrate on these aspects. Nitrosamines should also be evaluated as part of the human exposure to all environmental carcinogens and modifying factors.

Safety

The subcommittee noted that this was the first meeting to offer a separate session on safety. Three papers were presented, which described the inadequacy of available laboratory gloves and raised questions about other common protective devices and procedures. A number of areas of concern were discussed during the safety session and in other sessions which emphasized the need for preparation and review of a safety protocol prior to initiation of studies in which potent carcinogens are used or produced. This protocol should describe the measures to be used for containment, personnel protection, monitoring, emergency procedures, decontamination and disposal. In most cases, the information on which these procedures can be based is already available.

Better methods and media are required to exchange safety information between laboratories. It is essential that safety information be disseminated to laboratories which prepare and use N-nitroso compounds but may not be aware of the potential hazard.

Personal protective clothing should not be considered to be the primary protective barrier. All protective clothing should be removed immediately after an overt exposure. Use of ineffective protective equipment and clothing may actually increase the hazard to personnel. Common equipment, such as glove boxes and fume hoods, should be tested and monitored under the conditions of use. The volatility of many N-nitroso compounds increases the hazard of working with those compounds and magnifies the containment problem.

Methods for sampling surfaces and laboratory air are available. In most cases, the analytical methods used for examination of research samples can be modified for monitoring purposes.

Each laboratory should develop procedures for institutional protection and transfer of information on possible risk. All personnel, including cleaning and maintenance personnel, should be provided with this information. Potentially hazardous activities should be confined to designated areas and a uniform international system for designation of these areas should be provided.

Laboratory effluents should receive special attention to ensure that no general environmental hazards result from research activities. Effective procedures should be developed and monitored for this purpose.

Procedures for decontamination of personnel, laboratory surfaces, and equipment should be planned before accidental spills occur. These procedures should be included in the safety protocol. There is an urgent need for information on dermal absorption of N-nitroso compounds for use in developing these procedures. Decontamination methods must be based upon the specific physical and chemical properties of the material spilled. This information is usually available to the investigator.

Although available degradation methods appear to be adequate for all classes of N-nitroso compounds, completeness of degradation to innocuous products must be established and monitored. Precursors of N-nitroso compounds should be disposed of in a manner which minimizes the potential for development of additional hazards.

Controlled incineration of solid and liquid laboratory wastes and animal carcasses is the only acceptable ultimate disposal method for carcinogenic wastes. The equipment and mode of

operation must be adequate for this purpose. Burial is not an appropriate method for disposal of carcinogenic waste.

Recommendations for Research

1. Further studies to develop adequate protective clothing and devices are required.
2. The feasibility of using easily detectable markers to monitor containment of routine laboratory operations should be studied.
3. There is an urgent need for studies of dermal absorption of nitrosamines.
4. Degradation methods should be studied further to ensure that they are effective and produce only innocuous products.
5. It is recommended that the IARC initiated an international effort to develop a code of safe-practice for chemical carcinogens.