

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ABC
Trabalho de Conclusão de Curso | Bacharelado em Química

Caroline Marques de Melo

Métodos de Extração e Análise de Nitrosaminas em Diferentes Amostras

Santo André
Agosto – 2022

Caroline Marques de Melo

Métodos de Extração e Análise de Nitrosaminas em Diferentes Amostras

Monografia de Trabalho de
Conclusão de Curso,
apresentada ao
Bacharelado em Química
da UFABC para obtenção
do título de Bacharel em
Química

Orientador: Prof. Dr. Diogo
Librandi da Rocha

Resumo

As nitrosaminas são uma classe de compostos que têm sido associados com o desenvolvimento de câncer em animais e humanos. Esses compostos estão presentes em meios com os quais a população entra em contato com frequência, como água, alimentos e medicamentos. Por esse motivo, é importante que sejam propostos métodos confiáveis, acessíveis e eficientes para identificar e quantificar essas substâncias em diferentes tipos de amostra. Neste trabalho, foram reunidas e discutidas algumas propostas relacionadas ao desenvolvimento e validação de métodos para análises de nitrosaminas publicadas a partir de 2011. Essa revisão demonstrou o amplo uso da espectrometria de massas como técnica de detecção, e de uma variedade de métodos de extração. Há espaço para o desenvolvimento de metodologias que foquem principalmente na extração e análise de diferentes nitrosaminas, tendo em vista a variedade de compostos dessa classe presentes no cotidiano da população e de suas características físico-químicas.

Palavras-chave: Nitrosaminas, determinação, metodologia analítica, métodos de extração.

Abstract

Nitrosamines are a class of compounds which have been associated to cancer development in animals and humans. These compounds are present in products that people come into frequent contact with, such as water, food and pharmaceuticals. For this reason, it is important to develop reliable, accessible and efficient methods for identification and quantification of these in different types of samples. In this work, proposed strategies were gathered and discussed in relation to the development and validation of methods for nitrosamines analysis published since 2011. This review has showed the broad use of mass spectrometry as a detection technique, and a variety of extraction methods. There is need for the development of methodologies that focus mainly in the extraction and analysis of different nitrosamines, considering the variety of compounds from this class present at daily products and their different physicochemical properties.

Key-words: Nitrosamines, determination, analytical methodology, extraction methods.

Siglas e Abreviações

| | |
|----------|---|
| ANVISA | Agência Nacional de Vigilância Sanitária |
| CFS | Cromatografia com fluido supercrítico |
| CG | Cromatografia a gás |
| CL | Cromatografia a líquido |
| CLAE | Cromatografia a líquido de alta eficiência |
| ELL | Extração líquido-líquido |
| EM | Espectrometria de massas |
| EMA | Agência Europeia de Medicamentos (<i>European Medicines Agency</i>) |
| ESL | Extração sólido-líquido |
| FDA | Administração de alimentos e medicamentos (<i>Food and Drugs Administration</i>) |
| FSIS | Serviço de inspeção e segurança de alimentos dos Estados Unidos da América |
| ICECLES | Concentração por congelamento ligada a um agitador extrator (<i>Ice Concentration Linked with Extractive Stirrer</i>) |
| MEFS | Microextração em fase sólida |
| MELLD | Microextração líquido-líquido dispersiva |
| NAB | N0-nitrosoanabasina |
| NAET | Nitrosaminas específicas de tabaco |
| NANV | Não voláteis |
| NAT | N0-nitrosoanatabina |
| NAV | Nitrosaminas voláteis |
| NDBA | N-nitrosodibutilamina |
| NDEA | N-nitrosodietilamina |
| NDELA | N-nitrosoetanolamina |
| NDIPA | N-nitrosodiisopropilamina |
| NDMA | N-nitrosodimetilamina |
| NDPA | N-nitrosodipropilamina |
| NDPhA | N-Nitrosodifenilamina |
| NHPRO | N-nitrosohidroxiprolina |
| NMEA | N-nitrosometiletilamina |
| NMOR | N-nitrosomorfolina |
| NNK | 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanona |
| NNN | N0-nitrosornicotina |
| NPIP | N-nitrosopiperidina |
| NPYR | N-nitrosopirrolidina |
| NSAR | N-nitrososarcosina |
| PDMS | Polidimetilsiloxano |
| PIM | Polímeros de Impressão Molecular |
| QL | Quimiluminescência |
| QuEChERS | Rápido, Fácil Barato, Efetivo, Robusto e Seguro (<i>Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, And Safe</i>) |
| SE | Sem extração |

| | |
|------|---|
| SS | Sem separação |
| SSLE | Extração Líquido-Líquido sobre um suporte sólido (<i>Solid Support Liquid Extraction</i>) |
| UV | Ultravioleta |

Sumário

| | | |
|-----|--|----|
| 1 | Introdução | 4 |
| 1.1 | Importância e origem das nitrosaminas | 4 |
| 2 | Origem das nitrosaminas nos principais tipos de amostra | 6 |
| 2.1 | Tabaco | 6 |
| 2.2 | Alimentos | 6 |
| 2.3 | Amostras ambientais | 7 |
| 2.4 | Fármacos | 9 |
| 2.5 | Produtos de Látex | 10 |
| 3. | Dados sobre a análise de nitrosaminas | 11 |
| 4 | Procedimentos analíticos para a determinação de nitrosaminas | 15 |
| 4.1 | Estratégias para a determinação de nitrosaminas | 15 |
| 5 | Preparo de amostras para extração de nitrosaminas..... | 17 |
| 6. | Conclusões e tendências | 23 |
| 7. | Referências | 24 |

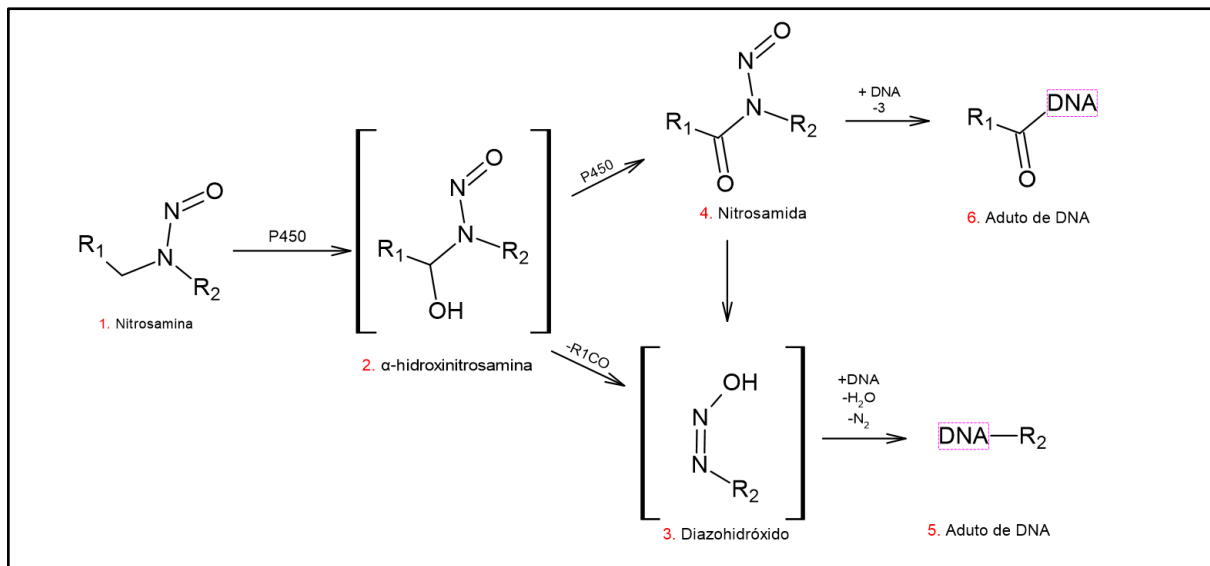
1 Introdução

1.1 Importância e origem das nitrosaminas

As N-nitrosaminas são um grupo de compostos que possuem um grupo nitroso ligado a um grupo amina. Esses compostos podem ser encontrados em diversos meios como águas, alimentos, materiais poliméricos (embalagens, brinquedos etc.) e tabaco. Esse grupo tem sido relacionado ao desenvolvimento de câncer desde a década de 50, sendo que mais de 90% dos compostos avaliados apresentaram ação carcinogênica em modelos animais [1]. Como exemplo, a N-nitrosoetanolamina (NDELA) possui ação carcinogênica em ratos e em hamsters, a N-nitrosomorfolina (NMOR) em camundongos, hamsters e diversas espécies de peixe, e a N-nitrosodietilamina (NDEA) e a N-nitrosodimetilamina (NDMA) mostraram-se carcinogênicas em diversos animais, como ratos, coelhos, macacos, peixes, sapos, cães e aves. As duas últimas estão entre as mais potencialmente carcinogênicas para humanos [1-4].

A carcinogenicidade é decorrente da ativação destes compostos no organismo pelo citocromo P450, que as oxida em α -hidroxi nitrosaminas, que são moléculas de alta reatividade e que são decompostas em alquildiazohidróxidos após um curto tempo de meia vida, equivalente a aproximadamente 5 s. Estes, por fim, provocam a alquilação do DNA, formando adutos que podem gerar mutações capazes de provocar o surgimento de câncer se relacionados às oncogenes ou genes supressores de tumores [1-3]. A Figura 1 mostra esquematicamente, de forma genérica, a sequência de reações que culminam na alquilação do DNA em organismos vivos.

Figura 1. Mecanismo de ação das nitrosaminas mutagênicas no organismo.



FONTE: Adaptada de [1].

As nitrosaminas são produzidas por meio da reação de nitrosação, que envolve compostos N-nitrosos formados por um nitrogênio secundário, podendo ser uma amina, amida, peptídeo ou alquil-ureia, e um agente nitrosante, principalmente anidrido nitroso, tetróxido de dinitrogênio ou óxido nítrico. A reação é favorecida em meio ácido, idealmente entre pH 2 e 4, o que possibilita que ocorra também no estômago humano. Esses compostos podem ser categorizados como voláteis e não voláteis, sendo que apenas o primeiro grupo pode ser extraído por destilação a vapor e analisado por cromatografia a gás, visto que as temperaturas de ebulição em geral variam entre 100 e 300 °C [5]. Métodos como destilação, extração com solvente, extração em fase sólida e QuEChERS (*quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe*), que se traduz como rápido, fácil, barato, efetivo, robusto e seguro, muitos dos quais exigem grande quantidade de solventes, já foram aplicados na extração desses compostos [3,4].

2 Origem das nitrosaminas nos principais tipos de amostra

2.1 Tabaco

O tabaco é uma mistura que contém mais de 2000 substâncias diferentes, incluindo nitrosaminas voláteis (NAV) e não voláteis (NANV) [32]. As nitrosaminas específicas de tabaco (NAET) estão presentes em quantidades que podem variar da ordem de mg g^{-1} a ng g^{-1} em produtos derivados do tabaco, como cigarros e líquidos de cigarro eletrônico. Algumas das NAETs mais comuns são a N0-nitrosoornicotina (NNN), N0-nitrosoanatabina (NAT), N0-nitrosoanabasina (NAB) e 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanona (NNK), que são formadas a partir de reações entre alcalóides e nitritos/nitratos. A NNN, a NAT e a NAB são formadas nas etapas de secagem e processamento do tabaco, a partir de suas aminas secundárias. Por outro lado, a NNK é formada ao longo dos processos de cura e fermentação do tabaco [6, 7].

As NAET são altamente hidrofóbicas, portanto, a fim de reduzir as emissões desses poluentes em corpos aquáticos, os extratos de tabaco são tratados previamente ao descarte. Normalmente, as NAET são adsorvidas em materiais porosos hidrofóbicos, aproveitando-se da partição dessa espécie entre as fases [7].

2.2 Alimentos

Os principais alimentos fontes de nitrosaminas são as carnes processadas. Sais de nitrito e nitrato são comumente adicionados às carnes no processo de cura, pois inibem o crescimento de micro-organismos, como o *Clostridium botulinum*, que é o causador do botulismo. Além disso, esses compostos atribuem cor e aromas de interesse para a comercialização desses produtos. Esses compostos, no entanto, podem reagir com aminas formadas a partir da quebra de proteínas que ocorre

durante o preparo para formar N-nitrosaminas, principalmente NDMA, NDEA, N-nitrosodibutilamina (NDBA), N-nitrosopiperidina (NPIP), e N-nitrosopirrolidina (NPYR). A quantidade de nitrosaminas formadas pode variar desde a ordem de ng kg^{-1} até g kg^{-1} , dependendo do tipo de carne, das condições de armazenamento, do pré-processamento e da concentração de sais de nitrito e nitrato [4,8].

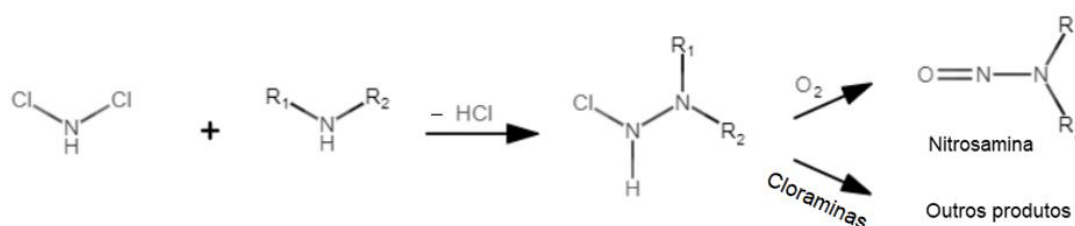
Na década de 1970, a fim de reduzir a formação dessas substâncias, passou-se a adicionar antioxidantes a esses produtos, tais como o tocoferol e o ácido ascórbico. Na década seguinte, devido aos altos teores encontrados de nitrosaminas em alimentos, o serviço de inspeção e segurança de alimentos dos Estados Unidos da América (FSIS) passou a monitorar a presença desses compostos [4]. Geralmente, as determinações de nitrosaminas em alimentos apresentam efeitos de matriz e, frequentemente, são encontrados baixos teores desses compostos, o que gera a necessidade de incorporação de processos de separação e extração nos métodos analíticos visando ao aumento de seletividade e sensibilidade [9].

2.3 Amostras ambientais

No meio ambiente, as nitrosaminas podem ser majoritariamente formadas no meio aquático. Compostos sanitizantes, como Cl_2 , O_3 , ClO_2 e cloraminas, usados em processos de tratamento de água, podem reagir com a matéria orgânica ou com os contaminantes presentes no meio provenientes de despejos industriais e agrícolas, formando nitrosaminas [10], como N-nitrosometiletilamina (NMEA), NDMA, NDEA, NPYR, NDPA, NPIP, NDBA e NMOR. Esses compostos podem ser formados por cloraminação, ozonização e cloração da matéria orgânica, sendo algumas reações catalisadas por carvão ativado e incidência de radiação.

A cloraminação é o mecanismo de maior importância para a formação de nitrosaminas em águas tratadas. Nele, conforme demonstrado na Figura 2, a dicloramina sofre um ataque nucleofílico por amina desprotonada, que podem ser secundárias, terciárias, ou quaternárias, formando um intermediário alquilhidrazina clorada assimétrica, que é oxidado em seguida pelo oxigênio dissolvido no meio, para formar a nitrosamina correspondente. A formação desses compostos é influenciada pelo pH do meio, proporção entre cloro e amônia e temperatura [10-12].

Figura 2. Mecanismo de formação de nitrosaminas na água a partir de cloraminas.



FONTE: Elaborado pelo autor.

A concentração de nitrosaminas em águas para consumo apresenta limites estabelecidos por agências reguladoras devido à sua ação carcinogênica. A organização mundial da saúde, através do guia para a qualidade de água potável publicado em 2017 e o Ministério da Saúde do Brasil, por meio da portaria GM/MS N^o 888, de 4 de maio de 2021, determinam um limite de 0,1 µg L⁻¹ de NDMA em águas [12,13-15]. Visto que é encontrada em concentrações na faixa de µg L⁻¹ a ng L⁻¹, a análise para quantificação de nitrosaminas em água exige estratégias com alta sensibilidade. Como a maioria dessas substâncias são polares, o preparo de amostras pode se tornar um desafio porque isso dificulta a extração com solventes orgânicos e com sólidos com características apolares normalmente empregados para a extração de compostos orgânicos. Por esse motivo, os procedimentos utilizados para essas análises por vezes demandam grandes quantidades de amostra, consomem muito tempo, e apresentam alto custo [10,11].

A formação de nitrosaminas também ocorre em soluções de aminas usadas na indústria para a absorção de CO₂ em gases após combustão. Essas soluções são capazes de absorver mais de 90% do CO₂ emitido em processos industriais, porém, após vários ciclos de regeneração nos sistemas de captura de carbono, são degradadas de forma irreversível, o que pode ocorrer por via oxidativa ou térmica. Os óxidos de nitrogênio contidos nos gases também são absorvidos e geram nitrito no meio. Devido à alta temperatura da solução absorvedora, a nitrosação das aminas pode ocorrer, produzindo N-nitrosaminas carcinogênicas que poderão contaminar a instalação de tratamento de gases e as águas onde for realizado o despejo [16].

2.4 Fármacos

A presença de N-nitrosaminas em preparações farmacêuticas têm causado preocupação desde 2018, quando foram detectadas nitrosaminas, como N-nitrosodimetilamina (NDMA), N-nitrosodietilamina (NDEA), N-nitrosodibutilamina (NDBA), e N-nitrosodiisopropilamina (NDIPA), acima dos níveis permitidos em produtos que atuam no controle da pressão arterial. No ano seguinte, foi também detectada a presença desses compostos em preparações contendo nizatidina, ranitidina, e metformina [2]. Com isso, ocorreram diversas ações ao redor do mundo como o recolhimento de mercado de produtos de ranitidina pelo FDA, suspensão desses medicamentos na Europa pela EMA e, especificamente no Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) ordenou a suspensão da importação de cloridrato de ranitidina de determinados fabricantes, além de terem ocorrido interdições e recolhimentos voluntários de lotes de medicamentos [17-19]. A formação dessas substâncias em medicamentos é atribuída aos solventes utilizados durante a síntese do fármaco em condições de pH e temperatura que favorecem as reações de

nitrosação. Além disso, a nitrocelulose presente em materiais usados para a embalagem pode formar nitrosaminas. No caso da ranitidina, a formação ocorreu devido à degradação durante o armazenamento, processo que foi acelerado em temperaturas inadequadas para o armazenamento desse fármaco [2].

Em produtos biológicos, aqueles produzidos a partir de células vivas como anticorpos monoclonais, insulina humana, fator anti-hemofílico, heparinas, trombolíticos e citocinas, o risco de formação de nitrosaminas é baixo, no entanto não é possível descartar ainda a possibilidade de sua presença [20]. As chances de existência desses compostos aumentam em produtos que possuem fragmentos sintetizados quimicamente e excipientes compostos por agentes nitrosantes como nitritos e nitratos, e que utilizam embalagens primárias contendo nitrocelulose [20]. Por esse motivo, a ANVISA recomenda que todos os fabricantes, distribuidores e fracionadores de ingredientes farmacêuticos ativos, assim como fabricantes e importadores de medicamentos, analisem o risco da presença de nitrosaminas em todos os seus produtos, e tomem medidas preventivas para evitar expor os consumidores às quantidades acima do aceitável destes contaminantes [2].

2.5 Produtos de Látex

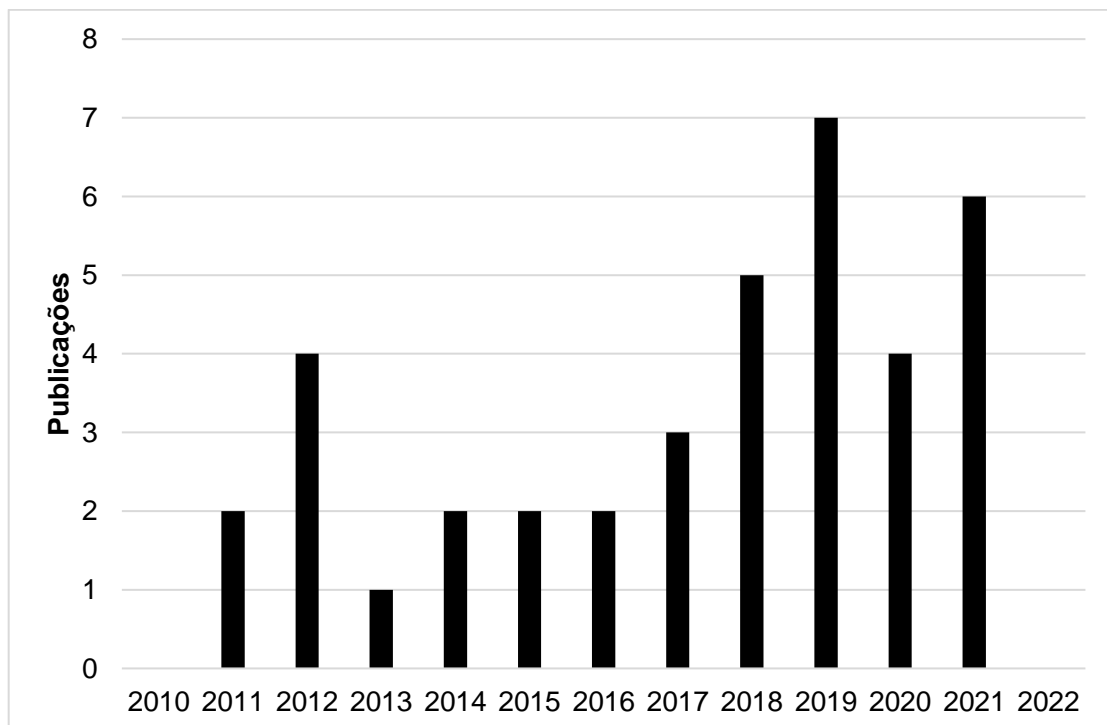
As nitrosaminas podem estar presentes em produtos de látex tais como chupetas, bicos de mamadeira, mordedores infantis, bexigas, brinquedos e preservativos. Nesses produtos, os processos de vulcanização provocam a nitrosação de aminas secundárias, presentes como aceleradores da vulcanização, através de óxidos de nitrogênio oriundos da atmosfera [21,22]. Tais produtos são muito utilizados na rotina das pessoas, e frequentemente entram em contato com fluidos corporais, pele e outros tecidos. Além disso, com o armazenamento e uso, as

nitrosaminas migram para a superfície desses produtos, aumentando o risco de exposição. Por esses motivos, os níveis desses contaminantes são regulados nesses produtos, o que gera a necessidade de métodos eficientes de extração e análise de migração de nitrosaminas em materiais de látex [21, 22].

3. Dados sobre a análise de nitrosaminas

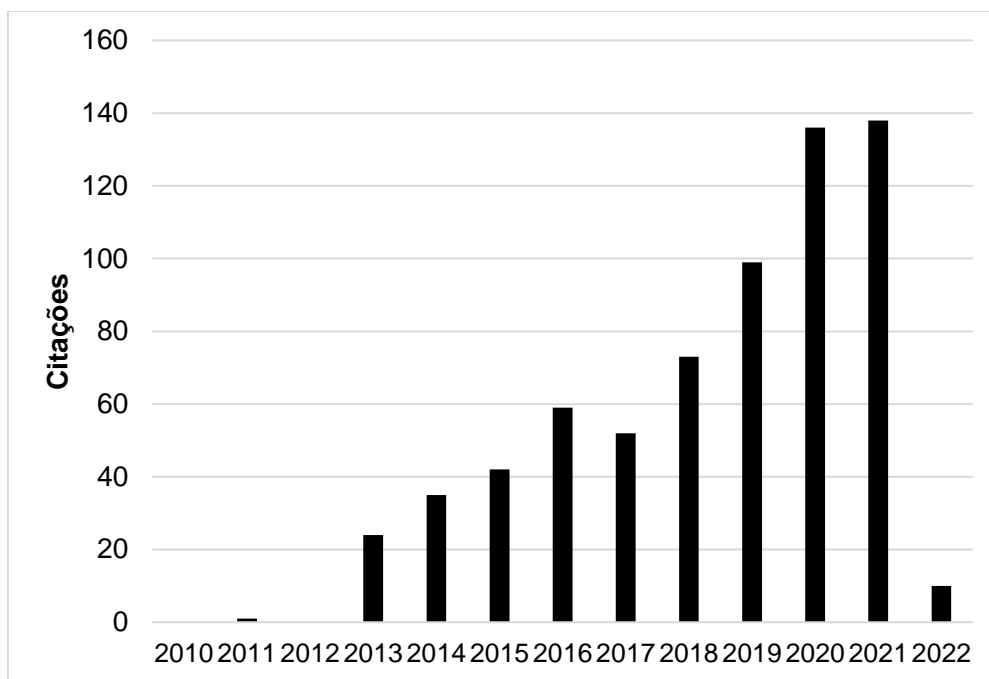
Através de busca nas bases de dados *Scopus* e *Web of Science*, foram encontrados 38 artigos (a partir de 2011) acerca do desenvolvimento ou validação de métodos de determinação de nitrosaminas em diferentes tipos de amostras. As Figuras 3 e 4 resumem esses dados, mostrando que as publicações tiveram um pico em 2012, uma queda por 4 anos e voltaram a crescer desde 2017, enquanto as citações apresentaram considerável crescimento nos últimos 10 anos.

Figura 3. Número de publicações visando à análise de nitrosaminas, que foram encontradas utilizando as principais palavras-chave: *nitrosamines*, *analysis*, *detection* e *determination*.



FONTE: Elaborado a partir de dados das bases Scopus e Web of Science.

Figura 4. Número de citações de trabalhos visando à análise de nitrosaminas.



FONTE: Elaborado a partir de dados das bases Scopus e Web of Science.

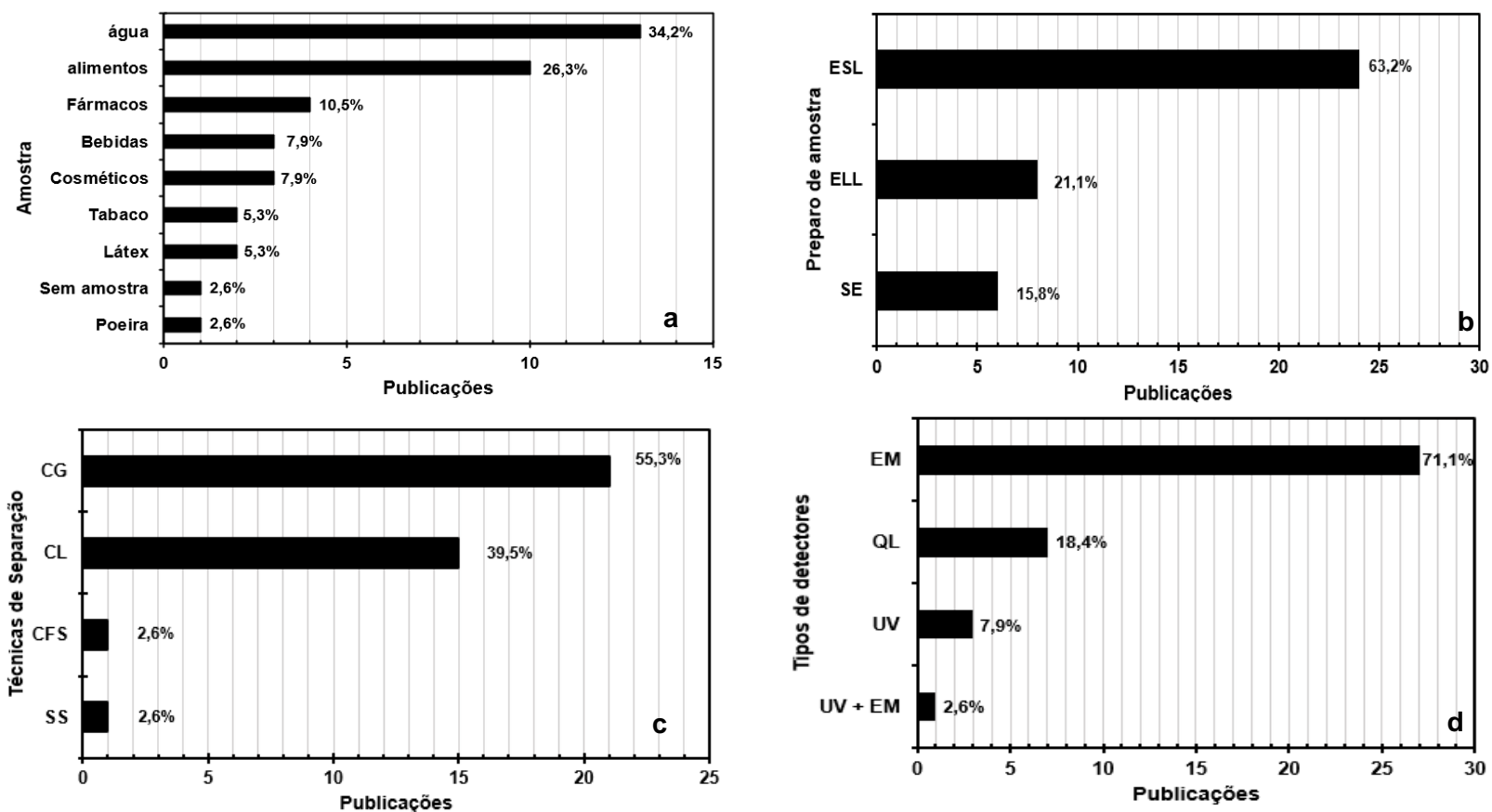
A Figura 5 mostra como as aplicações foram baseadas nas diferentes amostras (Fig. 5a), no preparo de amostras (Fig. 5b), nas técnicas de separação (Fig. 5c) e nas estratégias para detecção, geralmente após a separação cromatográfica (Fig. 5d). Houve aplicações em uma grande diversidade de amostras, porém a maioria dos estudos foram realizados com amostras de água (34 %), alimentos (26 %) e fármacos (10 %), devido à relevância dessas amostras no cotidiano das pessoas e à susceptibilidade à formação de nitrosaminas.

Considerando a necessidade do preparo de amostras para pré-concentração e minimização de interferências para a determinação de nitrosaminas, diversos tipos de extração líquido-líquido (ELL) têm sido aplicados para amostras farmacêuticas, alimentícias e ambientais. Dos trabalhos considerados, 21 % utilizaram esse tipo de

extração, representando parte expressiva das produções científicas relacionadas ao tema. Entretanto, a extração em fase sólida tem sido a estratégia mais explorada na última década para as análises de nitrosaminas em diferentes tipos de amostras, tendo sido utilizada em 63 % dos artigos selecionados, possivelmente devido à maior gama de materiais que apresentam altas eficiências de extração de nitrosaminas polares.

A maioria dos procedimentos analíticos utilizaram técnicas de separação para a determinação de nitrosaminas. Dos trabalhos considerados, apenas um deles [23] não explorou separações analíticas para a determinação de nitrosaminas. Em especial, prevaleceram os trabalhos que utilizaram a cromatografia a gás (55 %) devido à volatilidade de diversas nitrosaminas. Quanto à detecção, constatou-se a predominância da espectrometria de massas (71 %) em relação à espectroscopia (7,9 %). Apesar de trazer informações de muita relevância, os espectrômetros de massas apresentam altos custos de manutenção e aquisição em relação aos espectrofotômetros, por exemplo. Isso pode desincentivar o seu uso em laboratórios de controle de qualidade. Alguns procedimentos para determinação de nitrosaminas bem como o preparo de amostras serão discutidos mais detalhadamente em seções posteriores.

Figura 5. Publicações visando à determinação de nitrosaminas classificadas de acordo com (a) o tipo de amostra, (b) estratégias de preparo de amostra, (c) técnicas de separação e (d) tipos de detectores utilizados após a separação. Abreviações: CG: cromatografia a gás, CL: cromatografia a líquido, CFS: cromatografia com fluido supercrítico, ELL: extração líquido-líquido, EM: espectrometria de massas, ESL: extração sólido-líquido, QL: quimiluminescência, SE: sem extração, SS: sem separação, UV: ultravioleta



FONTE: Elaborado a partir de dados das bases Scopus e Web of Science.

4 Procedimentos analíticos para a determinação de nitrosaminas

4.1 Estratégias para a determinação de nitrosaminas

A distribuição das publicações com relação às técnicas analíticas utilizadas para determinação das nitrosaminas, bem como as estratégias para detecção, estão apresentadas nas Figuras 5c e 5d. Os detectores quimiluminescentes geralmente proporcionam maior sensibilidade para as determinações de compostos orgânicos (limites da ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$) [24]. No caso da CG, um detector quimiluminescente para compostos nitrogenados permitiu a detecção de baixas concentrações após as separações cromatográficas. Normalmente, o mecanismo envolve a quimiluminescência produzida pela liberação de energia por grupos NO_2 após serem excitados. A operação do detector a altas temperaturas (geralmente entre $350\text{ }^\circ\text{C}$ e 500°C) permite seu uso após separações por CG das nitrosaminas. Nesses trabalhos, foram obtidas recuperações bastante adequadas dos analitos, o que indicou mínimos efeitos de matriz, e baixos limites de detecção e quantificação, na faixa de 1,54 a 6,04 pg para NDMA, NDEA, NDPA, NPYR, NPIP e NDBA. Adicionalmente, o coeficiente de variação foi $<10\%$ ($n=3$) [25]. Outro estudo utilizou a mesma estratégia para a determinação de nitrosaminas obtendo, da mesma forma, alta sensibilidade para a determinação de 14 tipos de nitrosaminas em poeira residencial, incluindo os seis analitos citados acima. Nesse caso, limites de detecção entre 2,5 e 14,2 pg kg^{-1} e coeficiente de variação $< 8\%$ ($n=5$) foram observados [26].

Apesar das vantagens, os detectores por quimiluminescência pós-coluna são pouco versáteis, visto que em um laboratório de controle de qualidade é desejável que um equipamento atenda às determinações de diversos analitos. Por esse motivo, os espectrômetros de massa têm sido mais amplamente explorados [22] tendo em

vista a maior versatilidade da instrumentação. Diversos trabalhos buscaram aprimorar métodos de análise de nitrosaminas por espectrometria de massas após separações cromatográficas. Em alguns casos, através do uso da ionização por impacto de elétrons (IE) foram obtidas bandas cromatográficas com baixa resolução [27,28], tornando difícil a separação analítica, além de sensibilidade inadequada. Por esse motivo, outras estratégias de ionização foram exploradas [27,28]. Os artigos publicados na última década apresentaram limites de detecção principalmente na faixa de $\mu\text{g kg}^{-1}$, com alguns métodos fornecendo limites de quantificação na ordem de ng kg^{-1} . Foi proposto um procedimento que utiliza a ionização por impacto de elétrons otimizada para aumentar a sensibilidade de cromatografia a gás acoplada a um espectrômetro de massas triplo quadrupolo na determinação de oito diferentes nitrosaminas em água de torneira. Nesse trabalho, foram estimados limites de detecção entre 0,4 e 4,0 ng L^{-1} , com coeficiente de variação de até 19% para água de torneira e de até 10% para amostras de efluente tratado. Através desse procedimento, foi possível identificar e quantificar as nitrosaminas com alta frequência analítica, com um tempo de 14 minutos para realização de uma determinação, e mínima interferência, sendo os picos cromatográficos facilmente identificados [28].

Além dos trabalhos que utilizaram separações baseadas em cromatografia a gás, 40 % utilizou cromatografia a líquido para as separações, sendo a maioria pela cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE). No caso da CG, as amostras analisadas foram geralmente preparações farmacêuticas [29,30], cosméticos [31], águas [10,28,32-35], bebidas [34], carnes [4,25,27,36,37], peixes [38,39], vegetais [25] e derivados do látex [21,22]. Por outro lado, a CLAE foi majoritariamente utilizada nas análises de águas [35,40-44], sendo uma pequena fração dedicada à análise de alimentos [9], e líquido de cigarro eletrônico [6] e a CL em fármacos [45], cosméticos

[46,47], água [16] e alimentos [8,48]. A escolha da técnica de separação não foi baseada na natureza dos analitos, visto que aqueles analisados por CLAE também apresentam pontos de ebulição suficientemente baixos para o uso de CG.

Um dos trabalhos publicados propôs uma alternativa para a determinação de nitrosaminas sem separações cromatográficas [23]. A determinação de nitrosotióis e nitrosaminas pouco voláteis foi realizada em produtos cárneos após a desproteínização das amostras e extração dos analitos em meio alcalino. Os extratos foram submetidos à irradiação UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$) para promover a quebra das ligações N-NO e S-NO das nitrosaminas e nitrosotióis, respectivamente, gerando íons nitrito e nitrato. Esses ânions foram quantificados utilizando derivatização química com o reagente de Griess (composto por sulfanilamida e cloridrato de N-(1-naftil)etilenodiamina) seguida da medida espectrofotométrica. Nesse trabalho, a fração inorgânica de nitrito e nitrato também foi quantificada para evitar interferência nas análises das nitrosaminas. Além disso, a determinação seletiva de nitrosotióis foi proposta com base na reação com HgCl_2 , que causa a quebra das ligações S-NO. Dessa forma, esse grupo de compostos foi diferenciado dos demais através da subtração entre os teores de compostos nitrosos totais e nitrosotióis. Isso forneceu informações mais detalhadas sobre a composição da amostra.

5 Preparo de amostras para extração de nitrosaminas

Geralmente, as nitrosaminas encontram-se em baixas concentrações nas amostras. Além disso, a complexidade das matrizes faz com que sejam necessárias etapas de limpeza para minimizar interferências nas determinações. Sendo assim, é comum que sejam aplicadas estratégias de preparo de amostras baseadas em

interações sólido-líquido e líquido-líquido previamente à determinação de nitrosaminas.

O preparo de amostra de alguns procedimentos foi mais simples, utilizando, por exemplo, a extração dos analitos de um sólido para um solvente, como metanol, através da agitação vigorosa da mistura por vórtex seguida da centrifugação ou filtração, como para amostras de preparações farmacêuticas e de alguns alimentos. [23,30,45,49]. Em alguns casos, como na determinação de nitrosaminas em tabaco [6], a extração assistida por ultrassons garantiu maior eficiência de extração, evidenciada pelas recuperações > 87 %. Por outro lado, amostras mais complexas exigem preparo de amostra com mais etapas explorando, por exemplo, extrações líquido-líquido e em fase sólida.

No âmbito das extrações líquido-líquido, um estudo bastante aprofundado avaliou vários aspectos relacionados ao preparo de amostras para a determinação de nitrosaminas em produtos cárneos [8]. Inicialmente, foi proposto o uso da acetonitrila para extração das nitrosaminas e precipitação das proteínas. Entretanto, os analitos mais polares apresentaram baixa recuperação (mesmo aplicando uma segunda extração com acetonitrila). A eficiência de extração aumentou com a adição de ácido fórmico, principalmente de N-nitrosoaminoácidos. Isso ocorreu devido à protonação dos analitos na presença do ácido fórmico (que alterou a acidez do meio), o que diminuiu a fração de nitrosaminas ligadas aos grupos amino desprotonados na matriz [8]. A seguir, o extrato foi congelado para a remoção de lipídeos que poderiam interferir nas análises, uma vez que lavagens com heptano foram avaliadas e consideradas ineficientes para esse fim. A acetonitrila foi removida sob fluxo de N₂ e os extratos finais foram dissolvidos em mistura água:acetonitrila para melhorar a resolução dos picos cromatográficos de nitrosaminas polares, como NHPRO e NSAR.

Essas etapas demonstraram a complexidade do preparo de amostras para a determinação de nitrosaminas, o que exige a busca por alternativas mais simples para a quantificação. Das 16 nitrosaminas avaliadas, o procedimento permitiu a quantificação de 13 delas, com limites de detecção estimados entre 0,2 e 18 $\mu\text{g kg}^{-1}$, recuperações entre 50% e 130% e coeficientes de variação < 23% [8].

Uma alternativa moderna para o preparo de amostras é a extração líquido-líquido sobre um suporte sólido (SSLE, do inglês, *solid support liquid extraction*), que se baseia no uso de um material sólido inerte que adsorve a amostra líquida e seus componentes. Isso cria uma camada fina de amostra que, a seguir, entre em contato com o solvente extrator para a remoção do analito [50]. As potencialidades dessa estratégia foram exploradas no preparo de amostras para a determinação de N-nitrosopiperazina em águas residuais. Nesse trabalho, foram observadas recuperações de até 50%, o que pode ser considerada razoável visto que foi feita a determinação em níveis traço de nitrosaminas nas amostras. Para o preparo, foi utilizado um cartucho de terra de diatomácea, que é obtido a partir de algas fossilizadas revestidas em sílica. Diclorometano foi empregado como solvente de extração. A determinação foi realizada por cromatografia a líquido com interação hidrofílica e detecção por espectrometria de massas. Esse procedimento permitiu atingir um limite de detecção de 0,10 $\mu\text{g L}^{-1}$ com coeficientes de variação < 5,0% [16].

A microextração líquido-líquido dispersiva (MELLD) também foi explorada para a determinação de nitrosaminas [29]. Essa estratégia é baseada no uso de um solvente dispersor solúvel nas fases aquosa e orgânica, provocando a formação de microgotas do extrator, favorecendo a sua dispersão e aumentando a superfície de contato para a extração. A mistura contendo os solventes dispersor e extrator é injetada na amostra e o equilíbrio é atingido rapidamente, permitindo uma extração

rápida, eficiente e com baixo consumo de solventes orgânicos [51]. A determinação de N-nitrosaminas em medicamentos para o tratamento de úlceras foi realizada por CG-MS após a extração por MELLD [29]. Foram obtidos limites de quantificação entre 0,21 a 21 ng g⁻¹ a depender da N-nitrosamina e coeficientes de variação < 12% (n=27). O preparo de amostra envolveu o uso de apenas 500 µL de metanol e 150 µL de clorofórmio, que foram misturados com um extrato dos analitos obtidos com água.

Para permitir a extração de compostos mais apolares e evitar o uso de solventes orgânicos, procedimentos da literatura propuseram a extração de nitrosaminas com água pressurizada à quente [9,26]. As altas pressões e temperaturas permitiram a remoção de nitrosaminas de polaridade intermediária e hidrofóbicas de amostras sólidas de alimentos [9] e de poeira doméstica [26]. De qualquer forma, no primeiro caso, o extrato foi submetido a uma etapa de MELLD para pré-concentrar os analitos e minimizar interferências, como uma alternativa rápida e de baixo custo. A seguir, esse extrato foi misturado com acetonitrila e o solvente extrator n-octanol foi adicionado ao meio para realizar a pré-concentração dos analitos. A quantidade recomendada de solvente foi de 1 parte para 14 partes de amostra. Por exemplo, se for utilizado 5,0 mL de amostra, recomenda-se utilizar aproximadamente 360 µL de solvente extrator. Após o preparo de amostras, as nitrosaminas foram determinadas por CLAE utilizando detecção na região UV, sendo estimados limites de detecção entre 80 e 550 ng g⁻¹ e coeficientes de variação < 13% (n=5) [9].

Os extratos de poeira doméstica foram analisados por CG através da transferência dos analitos para acetato de etila e utilizando detector de quimiluminescência para compostos nitrogenados, sendo estimados limites de detecção e coeficiente de variação em 16 ng g⁻¹ e < 8% (n=5), respectivamente.

Mínimos efeitos de matriz foram observados, uma vez que as recuperações foram de aproximadamente 80%.

Procedimentos visando à determinação de nitrosaminas polares foram propostos. Nesse caso, a extração com acetonitrila e sais inorgânicos, como Na_2SO_4 , foram eficientes para o preparo de amostras de peixes [39] e cosméticos [31]. As recuperações durante a extração foram estimadas entre 77 e 113%, o que pode ser considerado excelente visto os baixos teores de nitrosaminas nas amostras de peixes [39]. A técnica também foi utilizada com sucesso para o preparo de amostras de cosméticos, com o uso de uma etapa de dispersão da amostra em água previamente à extração com acetonitrila. Isso permitiu remover impurezas que causavam sobreposição de bandas cromatográficas, sendo observadas recuperações entre 96% e 117% para treze nitrosaminas [31].

No caso das extrações em fase sólida, materiais sólidos carbonáceos, como o carvão, foram empregados para a extração das nitrosaminas [28, 32]. Entretanto, esse tipo de suporte propicia baixa eficiência para a extração de moléculas de baixo peso molecular como NDMA, NMEA e NPYR por apresentarem baixo índice octanol-água, o que indica a sua alta solubilidade em água [28]. Além disso, nitrosaminas menos polares, como NDEA, NPIP, NDPA, NDBA e NDPhA apresentaram dificuldades durante a eluição devido à forte interação com a fase sólida [32].

A microextração em fase sólida (MEFS) foi utilizada para o preparo de amostras visando à determinação de nitrosaminas [21,32,34] empregando materiais à base de carbono. O carvão mesoporoso ordenado CMK-3 é um material composto de carvão com superfície modificada por oxidação, o que gera grupos hidroxila e carbonílicos que permitem a interação com algumas espécies químicas de forma diferenciada. Esse material demonstrou boa eficiência para a retenção de

nitrosaminas de baixa massa molecular e com diferentes polaridades, possibilitando a sua aplicação a amostras de águas [29]. Alternativamente, o recobrimento de polidimetilsiloxano (PDMS) com carboxeno também foi explorado e apresentou resultados promissores para o preparo de amostras de produtos de látex e bebidas por MEFS [21,34].

Alternativamente aos materiais baseados em carvão, o desenvolvimento de polímeros de impressão molecular (PIM) permitiu obter altos valores de recuperação (entre 93 % e 107 %) após a extração de nitrosaminas de baixa polaridade presentes em águas e bebidas para posterior quantificação por CLAE-EM/EM [28,40]. Essa estratégia pode ser classificada como uma MEFS, que tem se mostrado uma alternativa simples, rápida e com consumo mínimo de solventes orgânicos para o preparo de amostras com o desenvolvimento de novos materiais, o que a torna uma ferramenta poderosa para a extração de nitrosaminas. As extrações em fase sólida baseada em procedimentos QuEChERS são tradicionalmente utilizadas nas análises de pesticidas em alimentos, porém também foram aplicadas para a determinação de nitrosaminas, demonstrando boas recuperações (> 80%) em amostras de alimentos e limites de detecção na ordem de ng g^{-1} [4,38].

Uma aplicação para a determinação de nitrosaminas interessante foi baseada na técnica denominada ICECLES (do inglês, *Ice Concentration Linked with Extractive Stirrer*) para determinação de nitrosodipropilamina (NDPA) em águas [10]. Nesse preparo, foi utilizada uma combinação de pré-concentração por congelamento e extração por barra de agitação sortiva. A amostra foi progressivamente resfriada ao mesmo tempo em que ocorreu a agitação da amostra e absorção do analito sobre uma barra magnética revestida com PDMS. A técnica revelou-se vantajosa especialmente na extração de analitos voláteis e polares, uma vez que o resfriamento

impediu a volatilização dos analitos e a barra apresentou afinidade por essas espécies devido ao revestimento com PDMS. Nesse trabalho, bons valores de recuperação foram obtidos e foi possível a quantificação de NDPA em água potável na ordem de 2.0 ng L^{-1} com um limite de detecção de $0,2 \text{ ng L}^{-1}$.

Em alguns casos, a remoção de espécies iônicas foi necessária para a determinação de nitrosaminas. Um procedimento explorou a separação das nitrosaminas por CLAE com derivatização pós-coluna dos analitos, que passaram por um fotorreator para gerar peroxinitritos. Esses compostos foram responsáveis pela oxidação do luminol (adicionado pós-coluna) para se obter uma resposta por quimiluminescência [44]. Nesse caso, uma coluna de troca iônica foi necessária para a remoção de espécies interferentes na reação que poderiam ser co-eluídas. Nesse sistema, quatro nitrosaminas hidrofílicas foram determinadas sem a necessidade de pré-concentração, apresentando boas recuperações (86 a 121%), e limites de detecção entre $0,09 \text{ ng L}^{-1}$ e $0,47 \text{ ng L}^{-1}$ em águas naturais.

6. Conclusões e tendências

A presença de nitrosaminas em produtos com os quais as pessoas entram em contato cotidianamente é um assunto que tem ganhado relevância dado o potencial cancerígeno de tais compostos. Por esse motivo, diversas alternativas têm sido propostas para a quantificação desses compostos. Essa tarefa pode ser desafiadora, pois as nitrosaminas são uma classe de substâncias com variadas polaridades, volatilidade e peso molecular, fatores que devem ser levados em consideração na escolha ou desenvolvimento de um método para análise. Além disso, deve ser levada em consideração a matriz de amostra, que pode ser complexa como nas análises de alimentos e água.

Dessa forma, a espectrometria de massas tem sido o método de detecção mais utilizado devido à sua versatilidade, apesar da menor sensibilidade para estes compostos quando comparada à quimiluminescência. Porém, considerando o custo da técnica, o desenvolvimento de métodos que permitam bons resultados através de outras técnicas analíticas seria de grande vantagem para a indústria. Também tem sido explorados diferentes métodos de extração, etapa importante devido à baixa concentração que essas substâncias geralmente apresentam nas amostras, tornando necessária, em muitos casos, uma etapa de pré-concentração. Outro desafio dá-se quando o objetivo é realizar a determinação simultânea de múltiplos compostos, envolvendo nitrosaminas de diferentes polaridades e pesos moleculares. Há, assim, espaço para a exploração de metodologias de extração, bem como diferentes materiais para extração em fase sólida, que possam permitir ampla aplicação nessas análises, considerando também fatores como a acessibilidade em relação a custos e a geração de resíduos dos procedimentos, buscando a diminuição do uso de solventes orgânicos.

7. Referências

[1] CARLSON, E.; UPADHYAYA, P.; HECHT, S. A General Method for Detecting Nitrosamide Formation in the In Vitro Metabolism of Nitrosamines by Cytochrome P450s. **Journal Of Visualized Experiments**, v. 127, p. 1-6, 2017. MyJove Corporation.

[2] AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **GUIA Nº 50/2021**: Guia sobre o Controle de Nitrosaminas em Insumos Farmacêuticos Ativos e Medicamentos. 1 ed. Brasília, 2021. 28 p. 2021.

[3] FRATUCCI, A.; SILVA, L.; GUEDES, M. NITRATOS, NITRITOS E N-NITROSAMINAS: efeitos no organismo. **Revista Eletrônica Facp**, Paulínia, v. 12, p. 40-55, 2017.

[4] LEHOTAY, S.; SAPOZHNIKOVA, Y.; HAN, L.; JOHNSTON, J. Analysis of Nitrosamines in Cooked Bacon by QuEChERS Sample Preparation and Gas Chromatography–Tandem Mass Spectrometry with Backflushing. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, v. 63, p. 10341-10351, 2015.

[5] NASCIMENTO, H. **DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE NITROSAMINAS EM ÁGUAS DE INTERESSE À SAÚDE PÚBLICA**. 2003. 122 f. Tese (Doutorado) - Curso de Doutorado em Química, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

[6] KUBICA, P. Ultrasound-Assisted Solvent Extraction of a Porous Membrane Packed Sample for the Determination of Tobacco-Specific Nitrosamines in the Replacement Liquids for E-Cigarettes. **Molecules**, v. 24, p. 1-10, 2019.

[7] LI, S.; LIN, W.; HUANG, B.; WANG, L.; GU, W.; WANG, W.; YANG, Z.; WANG, Y.; ZHU, J. Capturing nitrosamines in aqueous solution by composited super-hydrophobic silicic xerogel. **Microporous And Mesoporous Materials**, v. 227, p. 161-168, 2016.

[8] HERRMANN, S.; DUEDAHL-OLESEN, L.; GRANBY, K. Simultaneous determination of volatile and non-volatile nitrosamines in processed meat products by liquid chromatography tandem mass spectrometry using atmospheric pressure chemical ionisation and electrospray ionisation. **Journal Of Chromatography A**, v. 1330, p. 20-29, 2014.

- [9] LI, W.; CHEN, N.; ZHAO, Y.; GUO, W.; MUHAMMD, N.; ZHU, Y.; HUANG, Z. Online coupling of tandem liquid-phase extraction with HPLC-UV for the determination of trace N-nitrosamines in food products. **Analytical Methods**, v. 10, , p. 1733-1739, 2018.
- [10] DZISAM, J.; LOGUE, B. Ultratrace analysis of nitrosodipropylamine in drinking water by Ice Concentration Linked with Extractive Stirrer gas-chromatography electron-ionization mass-spectrometry. **Journal Of Chromatography A**. v. 1604, p. 460468, 2019.
- [11] YAHAYA, A. Method development for the identification and quantitative analysis of seven nitrosamines using gas chromatography mass spectrometry. **Chemical Data Collections**, v. 21, p. 100231, 2019.
- [12] KRASNER, S.; MITCH, W.; MCCURRY, D.; HANIGAN, D.; WESTERHOFF, P. Formation, precursors, control, and occurrence of nitrosamines in drinking water: a review. **Water Research**, v. 47, p. 4433-4450, 2013.
- [13] WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Guidelines for drinking water quality: fourth edition incorporating the first addendum. Geneva; 542p. 2017. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549950>. Acesso em: 01 fev 2022.
- [14] WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). N-Nitrosodimethylamine in drinking-water. Background document for preparation of WHO Guidelines for drinking-water quality. Geneva; 29 p. 2008. Disponível em: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/wash-documents/wash-chemicals/ndma-2add-feb2008.pdf?sfvrsn=122aa3d3_4. Acesso em: 01 fev 2022.

<https://www.ema.europa.eu/en/news/suspension-ranitidine-medicines-eu>. Acesso em: 01 fev 2022.

[20] European Medicines Agency (EMA). Procedure under Article 5(3) of Regulation EC (No) 726/2004 Nitrosamine impurities in human medicinal products. Procedure number: EMEA/H/A-5(3)/1490. Amsterdam; 90p. 2020. Disponível em: https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/nitrosamines-emea-h-a53-1490-assessment-report_en.pdf Acesso em: 01 fev 2022.

[21] FENG, D.; LIU, L.; ZHAO, L.; ZHOU, Q.; TAN, T. Determination of Volatile Nitrosamines in Latex Products by HS-SPME–GC–MS. **Chromatographia**. v. 74, p. 817-825, 2011.

[22] LI, R.; LIU, Y.; WANG, Z.; ZHANG, Q.; BAI, H.; LV, Q. High resolution GC–Orbitrap MS for nitrosamines analysis: method performance, exploration of solid phase extraction regularity, and screening of children’s products. **Microchemical Journal**. v. 162, p. 105878, 2021.

[23] BONIFACIE, A.; AUBRY, L.; GATELLIER, P.; SANTÉ-LHOUTELLIER, V.; THÉRON, L. Determination of nitroso-compounds in food products. **Methods X**, v. 8, p. 101289, 2021.

[24] HOLLER, F.J.; SKOOG, D.A.; CROUCH, S.R. Princípios de Análise Instrumental, 5 Ed.; Porto Alegre: Bookman, 2002.

[25] KOCAK, D.; OZEL, M.Z.; GOGUS, F.; HAMILTON, J.F.; LEWIS, A.C.. Determination of volatile nitrosamines in grilled lamb and vegetables using comprehensive gas chromatography – Nitrogen chemiluminescence detection. **Food Chemistry**, v. 135, p. 2215-2220, 2012.

[26] RAMÍREZ, N.; ÖZEL, M.; LEWIS, A.; MARCÉ, R.; BORRULL, F.; HAMILTON, J. Determination of nicotine and N-nitrosamines in house dust by pressurized liquid extraction and comprehensive gas chromatography—Nitrogen chemiluminescence detection. **Journal Of Chromatography A**, v. 1219, p. 180-187, 2012.

[27] SANNINO, A.; BOLZONI, L. GC/CI-MS/MS method for the identification and quantification of volatile N-nitrosamines in meat products. **Food Chemistry**, v. 141, p. 3925-3930, 2013.

[28] MCDONALD, J.; HARDEN, N.; NGHIEM, L.; KHAN, S. Analysis of N-nitrosamines in water by isotope dilution gas chromatography–electron ionisation tandem mass spectrometry. **Talanta**, v. 99, p. 146-154, 2012.

[29] GIMÉNEZ-CAMPILLO, C.; PASTOR-BELDA, M.; CAMPILLO, N.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M.; VIÑAS, P. Development of a new methodology for the determination of N-nitrosamines impurities in ranitidine pharmaceuticals using microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. **Talanta**, v. 223, p. 121659, 2021.

[30] LIU, J.; XIE, B.; MAI, B.; CAI, Q.; HE, R.; GUO, D.; ZHANG, Z.; FAN, Jun; ZHANG, W. Development of a sensitive and stable GC-MS/MS method for simultaneous determination of four N-nitrosamine genotoxic impurities in sartan substances. **Journal Of Analytical Science And Technology**, v. 12, p. 1-8, 2021.

[31] DONG, H.; GUO, X.; XIAN, Y.; LUO, H.; WANG, B.; WU, Y. A salting out-acetonitrile homogeneous extraction coupled with gas chromatography–mass spectrometry method for the simultaneous determination of thirteen N-nitrosamines in skin care cosmetics. **Journal Of Chromatography A**, v. 1422, p. 82-88, 2015.

- [32] LASHGARI, M.; YAMINI, Y.; BASHEER, C.; LEE, H. Ordered mesoporous carbon as sorbent for the extraction of N-nitrosamines in wastewater and swimming pool water. **Journal Of Chromatography A**, v. 1513, p. 35-41, 2017.
- [33] REYES-CONTRERAS, C.; DOMÍNGUEZ, C.; BAYONA, J. Determination of nitrosamines and caffeine metabolites in wastewaters using gas chromatography mass spectrometry and ionic liquid stationary phases. **Journal Of Chromatography A**, v. 1261, p. 164-170, 2012.
- [34] FAN, C.; LIN, T. N-nitrosamines in drinking water and beer: detection and risk assessment. **Chemosphere**. v. 200, p. 48-56, 2018.
- [35] ROBACK, S.; KODAMATANI, H.; FUJIOKA, T.; PLUMLEE, M. Validation of a novel direct-injection chemiluminescence-based method for N-nitrosamine analysis in advanced-treated recycled water, drinking water, and wastewater. **Environmental Science: Water Research & Technology**, v. 6, p. 1106-1115, 2020.
- [36] CHIENHAVORN, O.; RAMNUT, N.; SUBPRASERT, P.; SASOOK, A.; INSUAN, W. Effective and Reusable Monolith Capillary Trap of Nitrosamine Extraction by Superheated Water from Frankfurter Sausage. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, v. 62, p. 1240-1246, 2014.
- [37] SUN, C.; WANG, R.; WANG, T.; LI, Q. Primary evaluation of nine volatile N-nitrosamines in raw red meat from Tianjin, China, by HS-SPME-GC-MS. **Food Chemistry**, v. 310, p. 125945, 2020.
- [38] QIU, Y.; CHEN, J.; YU, W.; WANG, P.; RONG, M.; DENG, H. Contamination of Chinese salted fish with volatile N-nitrosamines as determined by QuEChERS and

gas chromatography–tandem mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 232, p. 763-769, 2017.

[39] DONG, H.; LI, H.; LIANG, M.; LUO, D.; LIU, G.; ZENG, X.; BAI, W.; YANG, J.; XIAN, Y. Rapid determination of nine N-nitrosamines in dry-cured mackerel (*Scomberomorus niphonius*) using salting out homogeneous phase extraction with acetonitrile followed by GC-MS/MS. **Lwt**, v. 130, p. 109716, 2020.

[40] LI, Z.; WANG, J.; CHEN, X.; HU, S.; GONG, T.; XIAN, Q. A novel molecularly imprinted polymer-solid phase extraction method coupled with high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry for the determination of nitrosamines in water and beverage samples. **Food Chemistry**, v. 292, p. 267-274, 2019.

[41] FUJIOKA, T.; TANISUE, T.; ROBACK, S.; PLUMLEE, M.; ISHIDA, K.; KODAMATANI, H. Near real-time N-nitrosodimethylamine monitoring in potable water reuse via online high-performance liquid chromatography-photochemical reaction-chemiluminescence. **Environmental Science: Water Research & Technology**. v. 3, p. 1032-1036, 2017.

[42] CHONG, M.; SANAGI, M.; ENDUD, S.; IBRAHIM, W.; LAU, S.; ALHARBI, O.; ALI, I. Determination of N -nitrosamines in water by nano iron-porphyrinated poly(amidoamine) dendrimer MCM-41 generation-3 through solid phase membrane tip extraction and HPLC. **Environmental Technology & Innovation**, v. 10, p. 102-110, 2018.

[43] KODAMATANI, H.; YAMASAKI, H.; SAKAGUCHI, T.; ITOH, S.; IWAYA, Y.; SAGA, M.; SAITO, K.; KANZAKI, R.; TOMIYASU, T.. Rapid method for monitoring N-nitrosodimethylamine in drinking water at the ng/L level without pre-concentration

using high-performance liquid chromatography-chemiluminescence detection. **Journal Of Chromatography A**, v. 1460, p. 202-206, 2016.

[44] KODAMATANI, H.; ROBACK, S.; PLUMLEE, M.; ISHIDA, K.; MASUNAGA, H.; MARUYAMA, N.; FUJIOKA, T. An inline ion-exchange system in a chemiluminescence-based analyzer for direct analysis of N-nitrosamines in treated wastewater. **Journal Of Chromatography A**, v. 1553, p. 51-56, 2018.

[45] WOHLFART, J.; SCHERF-CLAVEL, O.; KINZIG, M.; SÖRGEL, F.; HOLZGRABE, U. The nitrosamine contamination of drugs, part 3: quantification of 4-methyl-1-nitrosopiperazine in rifampicin capsules by lc-ms/hrms. **Journal Of Pharmaceutical And Biomedical Analysis**, v. 203, p. 114205, 2021.

[46] TADA, A.; RODRIGUES-SILVA, C.; RATH, S. On-line solid phase extraction-ultra-high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry for the determination of N-nitrosodiethanolamine in baby shampoo. **Journal Of Pharmaceutical And Biomedical Analysis**, v. 202, p. 114132, 2021.

[47] MIRALLES, P.; VAN GEMERT, I.; CHISVERT, A.; SALVADOR, A. Stir bar sorptive-dispersive microextraction mediated by magnetic nanoparticles-metal organic framework composite: determination of n-nitrosamines in cosmetic products. **Journal Of Chromatography A**, v. 1604, p. 460465, 2019.

[48] KÜHNE, F.; KAPPENSTEIN, O.; STRABGÜTL, S.; WEESE, F.; WEYER, J.; PFAFF, K.; LUCH, A. N-nitrosamines migrating from food contact materials into food simulants: analysis and quantification by means of hplc-apci-ms/ms. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 35, p. 793-806, 2018. Informa UK Limited.

- [49] SCHMIDTSDORFF, S.; SCHMIDT, A. Simultaneous detection of nitrosamines and other sartan-related impurities in active pharmaceutical ingredients by supercritical fluid chromatography. **Journal Of Pharmaceutical And Biomedical Analysis**, v. 174, p. 151-160, 2019.
- [50] SILVESTRO, L.; SAVU, S. An update on solid phase-supported liquid extraction. **Bioanalysis**, v. 7, p. 2177-2186, 2015.
- [51] MARTINS, M.; PRIMEL, E.; CALDAS, S.; PRESTES, O.; ADAIME, M. Bohrer; ZANELLA, Renato. Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME): fundamentos e aplicações. **Scientia Chromatographica**, v. 4, p. 29-45, 2012.
- [52] VRZAL, T.; OLŁOVSKÁ, J. Pyrolytic profiling nitrosamine specific chemiluminescence detection combined with multivariate chemometric discrimination for non-targeted detection and classification of nitroso compounds in complex samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 1059, p. 136-145, 2019.
- [53] WANG, X.; GAO, Y.; XU, X.; ZHAO, J.; SONG, G.; HU, Y. Derivatization Method for Determination of Nitrosamines by GC–MS. **Chromatographia**, v. 73, p. 321-327, 2011.