

УДК 577.113.4

## ВЛИЯНИЕ МИКРОБНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ И СОДЕРЖАНИЯ НИТРОЗАМИНОВ НА ИЗМЕНЕНИЕ АЗОТИСТОГО ОБМЕНА В ТКАНЯХ ЧЕРНОМОРСКИХ РЫБ

*Омельченко С. О.<sup>1</sup>, Залевская И. Н.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>*ГБОУ ДПО РК «Крымский республиканский институт постдипломного педагогического образования» Симферополь, Россия*

<sup>2</sup>*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия*  
*E-mail: omesol@ukr.net*

В статье приводятся данные исследований по содержанию микробиологических показателей, нитрозаминов и показателей азотистого обмена (свободного аминного азота, нуклеотидов и нуклеозидов) в тканях 5 видов черноморских рыб, относящихся к разным экологическим группам. Результаты исследований позволили установить взаимосвязь динамики нитрозаминов в тканях черноморских рыб с микробной зараженностью рыб. Выявлены тканеспецифические и видовые особенности содержания нуклеотидов и нуклеозидов у исследуемых рыб. Установлена зависимость между уровнем накопления нитрозаминов в тканях рыб и ответными реакциями показателей азотистого обмена исследуемых видов, относящихся к разным экологическим и таксономическим группам.

**Ключевые слова:** МАФАМ, сальмонелла, стафилококк, БГКП, листерия, нитроамины, свободный аминный азот, нуклеотиды и нуклеозиды, черноморские рыбы, Черное море.

### ВВЕДЕНИЕ

Значительный антропогенный прессинг на морскую экосистему оказывают бытовые сточные воды промышленных предприятий, стоки с сельскохозяйственных угодий и ферм, которые вносят в морскую среду нехарактерные для нее микроорганизмы.

В настоящее время одной из острейших экологических проблем обозначено биологическое загрязнение морей и океанов, источником которого являются коммунальные и сельскохозяйственные сточные воды [1].

Болезнетворные бактерии, содержащиеся в стоках, представляют существенную опасность не только для морских обитателей, но и для людей, употребляющих в пищу зараженные морепродукты, а также и купающихся в инфицированной воде. Морепродукты являются причиной эпидемий (10–25 %), из них 25 % – при употреблении моллюсков, 86 % – при употреблении рыбы, содержащей биотоксины [2, 3].

Бактерии играют неоднозначную роль в жизни рыб, выступая как компоненты нормальной микробиоты, принимающие активное участие в пищеварительных процессах, и как возбудители болезней. Продуцируемые патогенными

микроорганизмами бактериальные эндотоксины образуются в живых организмах, вызывая токсикоинфекции. В частности, к возбудителям токсикоинфекций относятся многие бактерии рода *Salmonella*, бактерии группы кишечной палочки стафилококки, отдельные разновидности протей (*P. mirabilis*, *P. vulgaris*), энтерококков, спороносных аэробов (*Bac. cereus*), анаэробов (*C. perfringens*) и др. [2, 3].

Ситуация усугубляется развитием эвтрофикации прибрежных акваторий, что также способствует накоплению патогенных, опасных для здоровья человека и морских обитателей, микроорганизмов.

При разложении биомассы микроводорослей происходит обогащение воды аммиаком, служащим предшественником для синтеза нитрозаминов, которые синтезируются в результате реакций перехода одной формы азота в другую. В этих процессах принимают активное участие микроорганизмы, использующие минеральные соединения азота как источник кислорода и образующие при этом в числе промежуточных продуктов окислы азота, являющиеся предшественниками нитрозаминов. Эти канцерогены способны оказывать губительное воздействие на организм гидробионтов, модифицировать состояние репродуктивной системы, тем самым косвенно влияя на динамику численности популяций [4, 5].

Нитрозамины, воздействуя на живые организмы, поражают различные органы, ткани, эндоплазматический ретикулум печени. Нитроамины угнетают белковый синтез на уровне трансляции. Эти токсиканты способны вызывать мутагенез, канцерогенез, что в конечном итоге вызывает гибель организма [6, 7].

Накопление нитрозаминов в печени рыб может привести к функциональной недостаточности органа и к нарушению азотистого обмена. В связи с этим изучение параметров азотистого обмена рыб представляет несомненный интерес для оценки влияния и последствий взаимодействия факторов среды и процессов метаболизма гидробионтов. Токсиканты способны нарушать структуру и функции биомолекул, приводить к патологическим проявлениям и снижению резистентности гидробионтов к изменяющимся условиям среды [6–8].

Целью настоящей работы явилось изучение взаимосвязи микробной зараженности рыб с динамикой содержания нитрозаминов в тканях некоторых видов черноморских рыб, относящихся к разным экологическим группам, также изучение влияния уровня нитрозаминов на показатели азотистого обмена.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили 4 вида костистых рыб, относящиеся к разным экологическим группам: бычок-мартовик (*Mesogobius batrachocephalus* Pallas), принадлежащий к донной группе; смарида (*Spicara flexuosa* Rafinesque) и темный горбыль (*Sciaena umbra* L), являющиеся придонно-пелагическими формами; ставрида средиземноморская (*Trachurus mediterraneus* Staindachner) – типичный пелагический вид. Кроме того, был исследован один вид донных хрящевых рыб – морской кот (*Raja clavata* L.). Рыб отлавливали в прибрежной части Черного моря в районе г. Севастополя в весенне-летний период.

Материалом исследования служила мышечная ткань, жабры, печень и сыворотка крови исследуемых видов рыб. Сыворотку получали путем отстаивания

крови в холодильнике при температуре +4 °С, ткани извлекали, хранили при -20 °С, после чего проводили экстракцию и определение нитрозаминов (НА) методом тонкослойной хроматографии [9]. В тканях осуществляли анализ содержания нуклеотидов и нуклеозидов спектрофотометрическим методом [10]. Содержание свободного аминного азота определяли в сыворотке крови рыб колориметрическим методом [11]. Микробиологические исследования проводили классическими методами согласно «Инструкции по санитарно-микробиологическому контролю производства пищевой продукции из рыбы и морских беспозвоночных» № 5319-91 [12]. Листерию определяли по ГОСТ Р 51921-2002 [13].

Сравнительный анализ данных осуществляли с использованием t-критерия Стьюдента [14]. Результаты считали достоверными в случае, если  $p \leq 0,05$  [12]. С целью выявления зависимости между исследуемыми параметрами рассчитывали коэффициент корреляции для каждой пары значений с помощью стандартной программы «Excel». При этом считали, что при коэффициентах корреляций  $0 < r < 0,3$  соответствует слабая связь,  $0,3 < r < 0,5$  – умеренная,  $0,5 < r < 0,7$  – значительная,  $0,7 < r < 0,9$  – сильная.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований показывают, что патогенные микроорганизмы, в том числе сальмонелла, листерия и стафилококк, не были выявлены в тканях и органах рыб (табл. 1).

Таблица 1

#### Содержание патогенных микроорганизмов в мышечных тканях черноморских рыб

Объект исследований	МАФАМ	БГКП в 0,001 г	Патогенные микроорганизмы, в т.ч бактерии рода <i>Salmonella</i> в 25 г	<i>Staphylococcus aureus</i> , в 0,01 г	<i>Listeria monocitogenes</i> в 25 г
Морской кот	$9 \times 10^5$	не выявлено	не выявлено	не выявлено	не выявлено
Бычок-мартовик	$5,4 \times 10^3$	не выявлено	не выявлено	не выявлено	не выявлено
Смарида	$5,6 \times 10^4$	выявлено, летом	не выявлено	не выявлено	не выявлено
Темный горбыль	$7,1 \times 10^2$	не выявлено	не выявлено	не выявлено	не выявлено
Ставрида	$4,2 \times 10^3$	не выявлено	не выявлено	не выявлено	не выявлено
ПДК	$5 \times 10^4$	не допускается	не допускается	не допускается	не допускается

Примечание: БГКП – бактерии группы кишечной палочки, МАФАМ – мезофильные аэробные и факультативные анаэробные микроорганизмы.

Результаты исследования позволили установить определенные особенности содержания нитрозаминов в мышечной ткани исследуемых видов рыб. Уровень

этих канцерогенов варьирует в широких пределах, но не превышает ПДК. Максимальное количество НА обнаружено в мышечной ткани морского кота (1,9 нг/кг). В тканях костистых рыб значения этих показателей снижены (рис. 1).

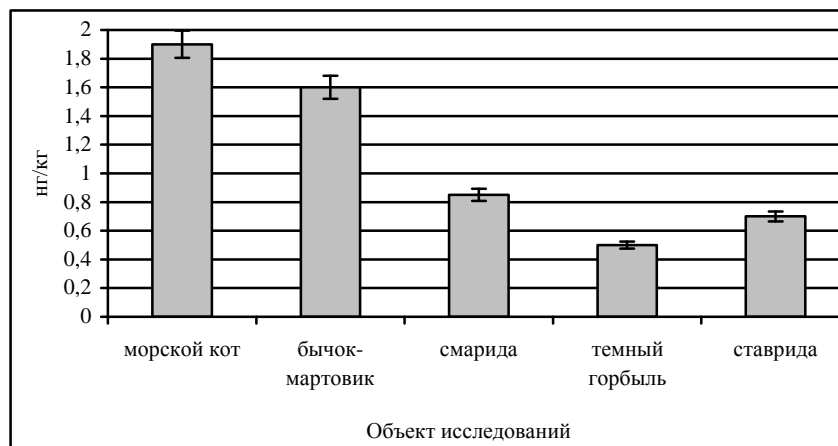


Рис. 1. Содержание нитрозаминов в мышечной ткани черноморских рыб.

Известно, что хрящевые рыбы имеют специфичный азотистый обмен, конечным продуктом которого является мочеви́на, концентрация которой в тканях нередко превышает 2 % и служит для осморегуляционных целей [8, 15, 16]. Помимо этого, для поддержания осмотического баланса у скатов присутствуют и другие азотсодержащие компоненты с низкой молекулярной массой – триметиламиноксид и бетаин [8, 15, 16]. Таким образом, насыщение тканей хрящевых рыб азотсодержащими компонентами может способствовать вовлечению их в реакции образования нитрозаминов по специфическим метаболическим путям, присущим элазмобранхиям.

Среди костистых рыб наибольшее содержание НА отмечено в мышцах бычка-мартовика, тогда как у остальных видов концентрация этих компонентов значительно ниже ( $p < 0.01$ ), что может быть обусловлено более интенсивным метаболизмом, свойственным активному образу жизни. Помимо этого, пелагические и придонно-пелагические виды способны мигрировать из эвтрофированных сильно загрязненных районов, что также снижает вероятность образования нитрозаминов.

Данные наших исследований показывают, что микробное заражение смариды значительно возрастает в летний период по сравнению с низким содержанием нитрозаминов в мышечных тканях данного вида. Быстрый распад нитрозаминов в летнее время года можно объяснить действием УФ-части спектра, причем на фотохимическое разложение оказывают влияние содержание кислорода, pH воды, температура, солевой состав, присутствие микроорганизмов (биоразложение).

У донных морского кота и бычка-мартовика при более низком уровне МАФAM концентрация нитрозаминов в тканях исследуемых рыб повышается.

Повышенное содержание НА в тканях бентосных форм может быть обусловлено условиями обитания в более загрязненных придонных слоях воды, непосредственно соприкасающихся с грунтами, где аккумулируются загрязнители и токсиканты. Кроме того, оба вида питаются донными беспозвоночными, и накопление НА в их тканях может происходить за счет эффекта концентрирования, что отмечено и другими авторами [8, 17].

Результаты исследований позволили установить тканеспецифические и видовые особенности содержания нуклеотидов и нуклеозидов у исследуемых рыб. Максимальная концентрация этих компонентов обнаружена в печени рыб, в противоположность этому в жабрах и мышцах этот показатель существенно ниже (рис. 2).

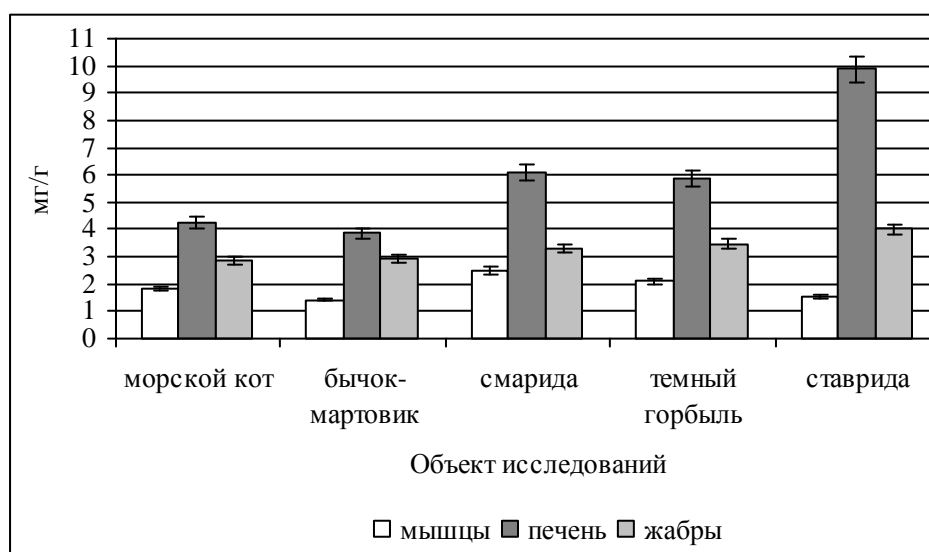


Рис. 2. Содержание нуклеотидов и нуклеозидов в тканях и органах черноморских рыб.

Самое высокое содержание нуклеотидов и нуклеозидов отмечено в печени ставриды, у донных видов оно существенно ниже, у придонно-пелагических форм имеет средние значения. В мышцах и жабрах исследуемых видов этот показатель варьирует в меньшей степени.

Наиболее высокое содержание нуклеотидов и нуклеозидов установлено в мышцах темного горбыля и смаиды (2,11 и 2,49 мг/г соответственно), у других видов этот показатель существенно ниже. В жабрах ставриды отмечена максимальная концентрация данных компонентов (4,01 мг/г), у остальных видов она ниже, минимальные значения выявлены в жабрах морского кота (2,84 мг/г) и в мышцах бычка-мартовика (1,43 мг/г).

Печень – важнейший метаболический орган, где протекают процессы синтеза многих веществ, происходящих под контролем нуклеиновых кислот, чем и объясняется повышенный уровень их основных компонентов в этом органе. В то же

время обращает на себя внимание увеличенный более чем в 2 раза уровень содержания нуклеотидов и нуклеозидов в печени ставриды по сравнению с другими исследуемыми видами. Являясь исходным материалом для построения молекул нуклеиновых кислот, эти компоненты также входят в состав различных коферментов, регулирующих обменные процессы в клетке [7, 18]. Очевидно, этим объясняется высокий уровень нуклеотидов и нуклеозидов в печени пелагических рыб, в организме которых осуществляется интенсивный обмен веществ с большим расходом энергии на плавательную активность. При этом показатели придонно-пелагических рыб имеют промежуточные значения, а у самых малоактивных донных видов морского кота и бычка-мартовика отмечены самые низкие концентрации этих компонентов в печени и в жабрах.

Наряду с мочевиной основным конечным продуктом азотистого обмена костистых рыб является аммиак, который диффундирует в водную среду через жабры и не задерживается в организме [7, 18].

Согласно приведенным данным (рис. 3) в сыворотке крови костистых рыб максимальная концентрация свободного аминного азота отмечена у смарида и темного горбыля (4,18 и 4,19 мг %), минимальная – у ставриды (3,19 мг %). Содержание свободного аминного азота в сыворотке крови хрящевое морского кота также снижено (3,38 мг %), содержание аминного азота в сыворотке крови донных рыб бычка-мартовика, морского кота и пелагической ставриды имеет сходные значения, которые существенно ниже ( $p < 0.05$ ) соответствующих показателей у придонно-пелагических форм смарида и темного горбыля.

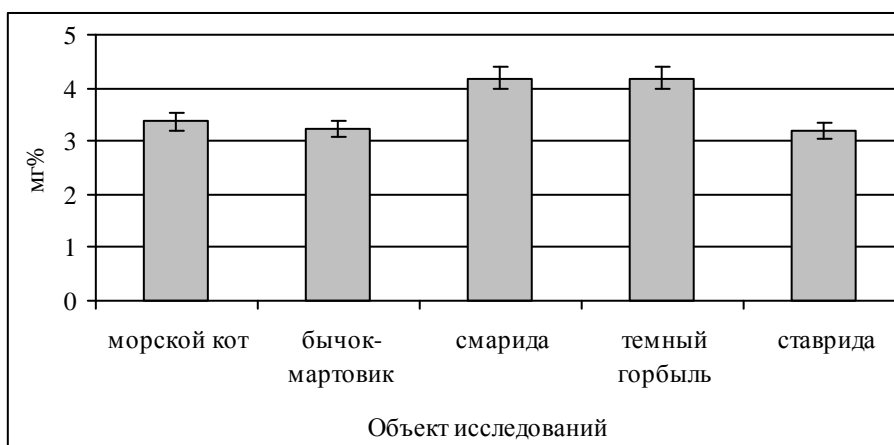


Рис. 3. Содержание свободного аминного азота в сыворотке крови черноморских рыб.

Можно предположить, что низкое содержание аммиака в сыворотке крови донных видов обусловлено их малоподвижным образом жизни и, следовательно, менее интенсивным обменом веществ. У пелагической активной ставриды также установлены низкие концентрации аминного азота в сыворотке крови, что может быть связано с интенсивной вентиляцией жабр и выведением аммиака из организма.

Были обнаружены высокие корреляции между содержанием показателей азотистого обмена в печени и концентрацией нитрозаминов в мышцах большинства исследованных видов рыб ( $r=0,67 - 0,70$ ), что может быть связано с модификацией азотистого обмена и изменением соотношения нуклеотидов и нуклеозидов в результате биотрансформации нитрозаминов в организме рыб (табл. 2).

**Таблица 2**

**Коэффициент корреляции (r) между содержанием аминного азота, нуклеотидов и нуклеозидов в тканях и органах черноморских рыб и нитрозаминов в мышцах рыб**

Объект исследований	Нуклеотиды и нуклеозиды			Аминный азот
	мышцы	печень	жабры	сыворотка крови
Бычок-мартовик	0,38	-0,42	0,40	-0,52
Смарида	0,22	0,20	0,09	0,12
Ставрида	0,12	0,67	0,18	-0,52
Темный горбыль	0,53	0,70	0,70	0,73
Морской кот	0,36	0,69	0,81	0,18

Более низкая корреляция между содержанием нуклеотидов, нуклеозидов в жабрах и мышцах и нитрозаминов в мышцах рыб. При этом высокий коэффициент корреляции установлен у хрящевого морского кота, а среди костистых рыб – у темного горбыля.

Особенности содержания НА в мышцах могут быть обусловлены спецификой трансформации этих соединений в печени, клетки которой очень чувствительны к нитрозамину, даже если их содержание минимально [4, 19]. Именно в печени осуществляются такие жизненно важные процессы, как биосинтез белков и нуклеиновых кислот, в которых принимают активное участие нуклеотиды и нуклеозиды.

Результаты корреляционного анализа между содержанием аминного азота в сыворотке крови и нитрозаминов в мышечных тканях черноморских рыб показывают высокую положительную связь у придонно-пелагического темного горбыля ( $r=0,73$ ). У придонного бычка-мартовика и пелагической ставриды эта связь слабеет ( $r=-0,52$ ). Слабая корреляция установлена между содержанием нитрозаминов в мышцах и аминным азотом в сыворотке крови морского кота и смариды.

Таким образом, результаты исследований показали четкую зависимость между уровнем накопления нитрозаминов в тканях рыб и ответными реакциями показателей азотистого обмена исследуемых видов, относящихся к разным экологическим и таксономическим группам. Уровень нитрозаминов достигает высоких значений у придонных видов костистых и хрящевых рыб, ведущих малоподвижный образ жизни, тогда как параметры азотистого обмена имеют более низкие значения у этих видов по сравнению с другими рыбами. Нитрозамины могут оказывать модифицирующее действие на азотистый обмен рыб, что также зависит от видовых особенностей и принадлежности к разным экологическим видам.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Обнаружена взаимосвязь динамики нитрозаминов в тканях черноморских рыб с микробной зараженностью рыб.
2. Уровень нитрозаминов достигает высоких значений у придонных видов костистых и хрящевых рыб по сравнению с рыбами, ведущими активный образ жизни.
3. Выявлены тканеспецифические и видовые особенности содержания нуклеотидов и нуклеозидов у исследуемых рыб.
4. Между показателями азотистого обмена и уровнем нитрозаминов в тканях большинства исследованных видов установлена тесная связь ( $r=0,40-0,81$ ).

## Список литературы

1. Rothbart M. K. Temperament, development, and personality / M. K. Rothbart // *Curr. Dir. Psychol. Sci.* – 2007. – Vol. 16. – P. 207–212.
2. Биомониторинг прибрежных вод Черного моря / И. И. Руднева [и др.] // *Водные ресурсы.* – 2005. – Вып. 32, № 2. – С. 238–246.
3. Симчук Г. В. Оценка микробного загрязнения морской воды и массовых видов рыб прибрежной части Черного и Азовского морей / Г. В. Симчук, В. Л. Зубаченко, С. О. Омельченко [и др.] // *Вісник Одеського національного університету. Серія: Біологія.* – 2005. – Т. 10, Вып. 7. – С. 201–207.
4. Руднева И. И. Сезонная динамика уровня микробного загрязнения прибрежных видов черноморских рыб / И. И. Руднева, И. Н. Залевская, С. О. Омельченко // *Ветеринарна медицина.* – 2008. – № 90. – С. 357–363.
5. Рубенчик Б. Л. Образование канцерогенов из соединений азота / Б. Л. Рубенчик. – К.: Наукова думка, 1990. – 220 с.
6. Содержание N-нитрозаминов в водных объектах в связи с антропогенным эвтрофированием / В. В. Станкевич [и др.] // *Гигиена населённых мест.* – 1988. – С. 26–31.
7. Виленчик М. М. Закономерности молекулярно-генетического действия химических канцерогенов / М. М. Виленчик. – М.: Наука, 1977. – 249 с.
8. Хочачка П. Биохимическая адаптация / П. Хочачка, Дж. Сомеро. – М.: Мир, 1988. – 568 с.
9. Кулинский В. И. Обезвреживание ксенобиотиков / В. И. Кулинский // *Успехи современной биологии.* – 1999. – С. 35–42.
10. Методические рекомендации по обнаружению, идентификации и количественному определению N-нитрозаминов в пищевых продуктах: № 1959-59. [Действующий от 1979-11-01]. М.: Ин-т пит. РАМН, 1979. – 13 с.
11. Спириин А. С. Спектрофотометрическое определение суммарного количества нуклеиновых кислот / А. С. Спириин // *Биохимия.* – 1958. – Т. 23, Вып. 5. – С. 656–662.
12. Пустовалова Л. М. Практикум по биохимии / Л. М. Пустовалова. – Ростов- н/Д. : Феникс, 1990. – С. 23–224.
13. Инструкция по санитарно-микробиологическому контролю производства пищевой продукции из рыбы и морских беспозвоночных, утвержденная Министерством здравоохранения СССР 22.02.91 N 5319-91 и Министерством рыбного хозяйства СССР 18.11.90.
14. ГОСТ Р 51921-2002 Продукты пищевые. Методы выявления и определения бактерий *Listeria monocytogenes*.
15. Лакин Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
16. Rudneva I. I. Environmental and security challenges in the Black Sea region / I. I. Rudneva, E. Petzold-Bradley // *In Environmental conflicts: Implications for Theory and Practice.* Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2001. – P. 189–202.
17. Тутельян В. А. О механизме острого токсичного действия N-нитрозодиметиламина / В. А. Тутельян, Н. В. Лашнева // *Фармакология и токсикология.* – 1983. – С. 111–114.
18. Zou X. N. Volatile N-nitrosamines and their precursors in Chinese salted fish - a possible etiological factor for NPC in China / X. N. Zou, S. H. Lu, B. Liu // *Int. J. Cancer.* – 1994. – Vol. 59, No 2. – P. 155–158.



19. Немова Н. Н. Биохимическая индикация состояния рыб / Н. Н. Немова, Р. У. Высоцкая. – М.: Наука, 2004. – 215 с.
20. Xenobiotic metabolism markers in marine fish with different trophic strategies and their relationship to ecological variables / M. Sole [et al.] // *Comparative Biochemistry and Physiology*. – 2009. – Vol. 149. – P. 83–89.

## MICROBIAL CONTAMINATION AND NITROSAMINES INFLUENCE ON CHANGE OF NITROGEN METABOLISM IN TISSUES OF BLACK SEA FISH

*Omelchenko S. O.<sup>1</sup>, Zalevskaya I. N.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>*The Crimean Regional in-service Teacher Training Institute*

<sup>2</sup>*V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russian Federation*

*E-mail: omesol@ukr.net*

Currently, one of the most pressing environmental problems is the biological pollution of the seas and oceans, the source of which are municipal and agricultural wastewater.

The situation is exacerbated by the development of eutrophication of coastal waters, which also contributes to the accumulation of pathogens that are dangerous to human health and marine life organisms.

The decomposition of the biomass of microalgae is enriched with ammonia water, serving a precursor for the synthesis of nitrosamines. Nitrosamines, acting on living organisms affect various organs and tissues, the endoplasmic reticulum of the liver.

The aim of this work is to study the relationship of microbial contamination of fish with the dynamics of nitrosamines in the tissues of some species of the Black Sea fish belonging to various ecological groups, and how the level of nitrosamines influences on nitrogen metabolism.

The objects of study is four species of bony fish belonging to different ecological groups and one species of bottom cartilaginous fish – common stingray. The material of the study is muscle, gills, liver and blood serum of investigated species.

Microbiological studies were carried out by classical methods, the determination of nitrosamines – by thin layer chromatography analysis, the content of nucleotides and nucleosides – by spectrophotometric method, the content of free amino nitrogen was determined in the blood serum of fish by colorimetric method.

The results of studies have established the relationship dynamics of nitrosamines in the tissues of the Black Sea fish with microbial contamination of fish. Tissue-specific and specific features of the content of nucleotides and nucleosides are revealed in the studied fish. We have established the dependence between the level of accumulation of nitrosamines in the tissues of fish and response parameters of nitrogen metabolism of the studied species belonging to different ecological and taxonomic groups.

**Keywords:** MAFAM, Salmonella, *Staphylococcus aureus*, coliform bacteria, Listeria, nitrosamines, free amino nitrogen, nucleotides and nucleosides, Black Sea fish, the Black Sea.

### References

1. Rudneva I. I., Biomonitoring pribrezhnyh vod Chernogo moray, *Vodnye resursy*, **32** (2), 238 (2005).
2. Simchuk G. V., Zubachenko V. L., Omelchenko S. O., Ocenka mikrobnogo zagryazneniya morskoy vody i massovyh vidov ryb pribrezhnoy chasti Chernogo i Azovskogo morey, *Vestnik Odesskogo nacionalnogo universiteta. Seriya: Biologiya*, **10** (7), 201 (2005).
3. Rudneva I. I., Zalevskaya I. N., Omelchenko S. O., Sezonnaya dinamika urovnya mikrobnogo zagryazneniya pribrezhnyh vidov chernomorskih ryb, *Veterinarna medicina*, **90**, 357. (2008).
4. Stankevich V. V., Soderzhanie N-nitrozaminov v vodnyh obektah v svyazi s antropogennym evtrofirovaniem, *Gigiena naselyonnyh mest*, 26, (1988).
5. Rubenchik B. L. *Obrazovanie kancerogenov iz soedineniy azota*, 220 p. (K.: Naukova dumka, 1990).
6. Vilenchik M. M., *Zakonomernosti molekulyarno-geneticheskogo deystviya himicheskikh kancerogenov*, 249 p. (M.: Nauka, 1977).
7. Hochachka P. Somero Dzh., *Biohimicheskaya adaptaciya*, 568 (M.: Mir, 1988).
8. Kulinskiy V. I., Obezvrezhivanie ksenobiotikov, *Uspehi sovremennoy biologii*, 35–42 (1999).
9. Metodicheskie rekomendacii po obnaruzheniyu, identifikacii i kolichestvennomu opredeleniyu N-nitrozaminov v pischevyh produktah: № 1959-59 (M.: In-t pit. RAMN, 1979).
10. Spirin A. S. Spektrofotometricheskoe opredelenie summarnogo kolichestva nukleinykh kislot, *Biohimiya*, **23**, 5, 656 (1985).
11. Pustovalova L. M., *Praktikum po biohimii*, 23 (Rostov- n/D. : Feniks, 1990).
12. Instrukciya po sanitarno-mikrobiologicheskomu kontrolyu proizvodstva pischevoy produkcii iz ryby i morskikh bespozvonochnyh, utverzhennaya Ministerstvom zdravoohraneniya SSSR 22.02.91 N 5319-91 i Ministerstvom rybnogo hozyaystva SSSR 18.11.90.
13. GOST R 51921-2002. Produkty pischevye. Metody vyyavleniya i opredeleniya bakteriy *Listeria monocytogenes* (M.: Standartinform, 2010).
14. Lakin G. F. *Biometriya* (M.: Vyssh. Shk., 1990).
15. Rudneva I. I., Petzold-Bradley E., Environmental and security challenges in the Black Sea region, *In Environmental conflicts: Implications for Theory and Practice. Netherlands: Kluwer Academic Publishers*, 189 (2001).
16. Tutelyan V. A., Lashneva N. V., O mehanizme ostrogo toksichnogo deystviya N-nitrozodimetilamina, *Farmakologiya i toksikologiya*, 111–114 (1983).
17. Zou X. N., Lu S. H., Liu B., Volatile N-nitrosamines and their precursors in Chinese salted fish - a possible etiological factor for NPC in China, *Int. J. Cancer*, **59**, 2, 155 (1994).
18. Nemova N. N., Vysockaya R. U., *Biohimicheskaya indikaciya sostoyaniya ryb*, 215 p. (M.: Nauka, 2004).
19. Sole M. Xenobiotic metabolism markers in marine fish with different trophic strategies and their relationship to ecological variables, *Comparative Biochemistry and Physiology*, **149**, 83 (2009).