Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 82 (1991)

Heft: 1

Artikel: Risikobeurteilung von N-Nitrosoverbindungen und deren Vorläufer in der Nahrung = Risk assessment of N-nitroso compounds and their precursors in foods

Autor: Shephard, Sarah

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-982403

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 10.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **82**, 36–44 (1991)

Sarah E. Shephard, Institut für Toxikologie der ETH und Universität Zürich, Schwerzenbach

Risikobeurteilung von N-Nitrosoverbindungen und deren Vorläufer in der Nahrung

Risk Assessment of N-Nitroso Compounds and their Precursors in Foods

Einleitung

Die Entdeckung des Kanzerogens N-Nitrosodimethylamin (NDMA) in gepökelten Fleischwaren vor ungefähr 30 Jahren hat eine Welle analytischer Arbeiten ausgelöst, die in über 2000 Publikationen belegen, dass flüchtige Nitrosamine, vor allem NDMA, in den verschiedensten Lebensmitteln aller Völker der Welt vorkommen. Weniger klar ist jedoch die Bedeutung dieser Befunde in bezug auf ein mögliches Krebsrisiko beim Menschen, einerseits in absoluten Zahlen und andererseits im Vergleich zu der Belastung durch a) nichtflüchtige N-Nitrosoverbindungen (NV) in der Nahrung und b) eine mögliche endogene NV-Belastung, die durch Nitrosierung im Magen von mit der Nahrung aufgenommenen Amin- und Amid-Vorläufern zustandekommt. Zweck der vorliegenden Arbeit ist es, die verschiedenen Quellen von NV in der Nahrung in bezug auf ihren Beitrag zu einem möglichen Krebsrisiko beim Menschen miteinander zu vergleichen.

Chemische und biologische Eigenschaften der N-Nitrosoverbindungen

«N-Nitrosoverbindung» ist ein Sammelbegriff für eine grosse Familie von Substanzen mit verschiedenen chemischen und biologischen Eigenschaften. Gemeinsam sind die funktionelle Gruppe >N-N=O und – bei den krebserzeugenden Vertretern – der Abbau im Körper zum hochreaktiven Diazonium-Ion. Um den möglichen Beitrag der verschiedenen NV zum Krebsrisiko besser verstehen zu können, seien hier ihre chemischen und biologischen Eigenschaften kurz zusammengefasst.

Die sekundären Nitrosamine, die bekanntesten Vertreter der NV, sind chemisch stabil. Um eine krebserzeugende Wirkung zu entfalten, müssen sie zuerst im Körper enzymatisch aktiviert werden. Die N-Nitrosamide, N-Nitrosoguanidine

und N-Nitrosoharnstoffe sind sowohl in Lebensmitteln als auch im Körper weniger stabil als die sekundären Nitrosamine, was ihre analytische Erfassung erschwert. Ihre Umwandlung zum alkylierenden Diazonium-Ion, die mit einer Hydrolyse beginnt, läuft spontan, also ohne Einwirkung von Enzymen, ab. Der Abbau jeder NV im Körper läuft über ein Zwischenprodukt, das die Struktur einer nitrosierten primären Aminogruppe hat. Diese ist in der Regel instabil und wandelt sich mit meist kurzer Halbwertszeit in das entsprechende Diazonium-Ion um. Primäre Nitrosamine werden daher kaum als solche durch die Nahrung aufgenommen. Werden sie aber direkt im Magen gebildet, könnten primäre Nitrosamine zu einer endogenen Belastung durch NV beitragen.

Die Kanzerogenität der NV basiert auf einer Reaktion des elektrophilen Diazonium-Ions mit nukleophilen Stellen der DNS-Basen. Solche DNS-Addukte können die Bildung der Wasserstoffbrücken, die für den Einbau der korrekten Base bei der DNS-Replikation erforderlich sind, stören und dadurch einen Fehler (eine Mutation) in der DNS-Sequenz verursachen. Passiert dieser Fehler in einem Gen, das für die Wachstumsregulation zuständig ist, kann es die Entartung der Zelle unter Bildung einer Geschwulst auslösen. (Für weitere Informationen zur Chemie und Biologie der NV siehe (1).)

Kanzerogene Potenz der N-Nitrosoverbindungen

Die NV gehören, neben den polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen und heterozyklischen Aminen, zu den Familien der stärksten Umweltkanzerogene. Bei N-Nitrosodiethylamin (NDEA) beispielsweise bewirkt eine lebenslängliche tägliche Dosis von nur 10–100 µg/kg Körpergewicht in der Nahrung oder im Trinkwasser von Labortieren, dass die Hälfte der Tiere an einem Tumor sterben. In Versuchen mit über 25 verschiedenen Tierarten wurde bis jetzt noch keine gefunden, die gegen die kanzerogene Wirkung von NV resistent war. Nimmt man an, dass die Wirkung bei Nagern und Menschen pro Gewichtseinheit ungefähr gleich gross ist, dann kann grob abgeschätzt werden, dass eine tägliche Dosis von 0,7–7 mg NDEA zu einer ungefähr 50% Lebertumorrate beim Menschen führen würde. Kanzerogene Potenzwerte für einzelne NV bei Nagetieren und die daraus abgeleiteten Dosisabschätzungen für den Menschen sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Vorgebildete N-Nitrosoverbindungen in der Nahrung

Flüchtige N-Nitrosoverbindungen

Wie eingangs erwähnt, ist das Vorkommen von flüchtigen, sekundären Alkylnitrosaminen in der Nahrung sehr gut dokumentiert. Die Erfindung des «Thermal

Tabelle 1. Kanzerogenität von N-Nitrosoverbindungen

	Tägliche Dosis, die zu einer 50%-Tumorinzidenz bei Labortieren führt *) (mg/kg Körpergewicht)	Geschätzte tägliche Dosis, die zu einer 50%-Tumorinzidenz bei Menschen führen kann (mg/Mensch)
N-Nitrosodiethylamin	0,01–0,1	1– 7
N-Nitrosodimethylamin	0,1–1	7–70
N-Methyl-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidin	0,1–1	7–70
N-Nitrosodibutylamin	um 1	um 70
N-Nitrosomethylharnstoff	1 –10	70–700
N-Nitrosomethylanilin	10–100	700–7000

*) nach Gold et al., Environ. Health Persp. *58*, 9–319 (1984).

Energy Analyzers», der mit GC gekoppelt einen empfindlichen und spezifischen Nachweis erlaubt, hat hierin eine grosse Rolle gespielt. Von Grundnahrungsmitteln wie Käse, Fleisch und Fisch über alkoholische Getränke zu für Europäer exotisch anmutenden Speisen und Getränken wie «Cantonese-style salted fish» oder nigerianischem Whiskey sind Spuren von NDMA auf allen Speisezetteln anzutreffen. Für Europäer stellen gepökeltes Fleisch (1–10 µg NDMA/kg; 1–20 µg N-Nitrosopyrrolidin/kg), Fisch (≤10 µg NDMA/kg), Bier (≤1 µg NDMA/kg) und Käse (<0,5 µg NDMA/kg) die grössten Quellen flüchtiger Nitrosamine dar. Die tägliche Belastung beträgt gegenwärtig 0,3–1 µg/Person (zusammengefasst in (2)). Grosse technische Anstrengungen seitens der Lebensmittelindustrie (neue Produktionsmethoden bei der Bierherstellung) und neue Konservierungsmethoden (Tiefkühlen statt Pökeln) haben dazu geführt, dass die Belastung im letzten Jahrzehnt erheblich gesenkt werden konnte und in Zukunft wahrscheinlich auch weiter sinken wird.

Nichtflüchtige N-Nitrosoverbindungen

Zu den nichtflüchtigen NV gehören neben den sekundären N-Nitrosaminosäuren (N-Nitrosoprolin, N-Nitrososarcosin, N-Nitrosothioprolin usw.) auch die N-Nitrosamide, N-Nitrosoguanidine und N-Nitrosoharnstoffe. Obwohl möglicherweise ihre Anzahl in der Nahrung viel grösser ist als die der flüchtigen NV, ist wegen der schwierigen analytischen Erfassung der nichtflüchtigen NV leider viel weniger über sie bekannt. Weil die vorhandenen analytischen Methoden leider nicht sehr spezifisch sind, werden die NV eventuell überschätzt; andererseits können sie aber auch unterschätzt werden, weil aufwendige Extraktionsverfahren angewendet werden, bei denen die NV hydrolysieren können. Am besten wurden die sekundären Nitrosaminosäuren erforscht. Sie wurden auch in gepökeltem Fleisch und in Bier nachgewiesen, und zwar in um 1- bis 10mal höheren Konzentrationen als NDMA. Vorstudien aus Japan und Europa lassen vermuten, dass die nichtflüchtigen NV weiter verbreitet und mengenmässig 10- bis 100mal wichtiger sind als NDMA in der Nahrung, d.h. die tägliche Belastung dürfte im Bereich von

10 bis über 100 µg/Person liegen (2, 3). Die Entwicklung zuverlässiger analytischer Methoden ist hier dringend notwendig.

Endogene NV-Belastung durch Aufnahme von Vorläufern aus der Nahrung

Vorkommen von Vorläufern und Nitrit

Vorläufer von NV sind in der Nahrung ubiquitär. Einige, wie Proteine und Aminosäuren, sind sogar lebenswichtige Bestandteile der Nahrung und kommen in dementsprechend grossen Mengen vor. Andere, wie sekundäre Amine und Arylamine, sind nur im Spurenbereich vorhanden. Aus den in der Literatur vorhandenen Angaben zur Konzentration der Vorläufer in verschiedenen Lebensmitteln wurde abgeschätzt, wie gross die täglichen Belastungen bei normalen Essgewohnheiten sind (4). Leider sind Daten über das Vorkommen von Arylaminen äusserst spärlich, so dass die tägliche Aufnahme möglicherweise unterschätzt wurde. Bei den Harnstoffen ist praktisch nichts Quantitatives bekannt, daher wurde provisorisch eine Aufnahme von 1 mg/Tag angenommen. Die freien Indole sind vor allem als Glucobrassicine und deren Abbauprodukte in den verschiedenen Kohlarten anzutreffen. Tryptophanreste, in Protein gebunden, stellen eine weitere, grössere Quelle von Indolen dar. Die durchschnittliche tägliche Aufnahme der verschiedenen Vorläuferklassen umspannt 5 Zehnerpotenzen (in Abb. 1 zusammengefasst).

Das Vorkommen von Nitrit in der Nahrung und im Körper ist eingehend untersucht worden. So ist bekannt, dass Nitrit teils direkt aus der Nahrung aufgenommen, teils von Bakterien in der Mundhöhle aus Nitrat synthetisiert wird. Nitrat seinerseits wird teils mit der Nahrung aufgenommen (vorwiegend im Gemüse), teils im Körper durch Oxidation der Seitenkette von Arginin gebildet. Die tägliche orale Aufnahme von Nitrit liegt bei ungefähr 4 mg (direkt aus der Nahrung) + 6 mg (aus Nitratreduktion) = 10 mg (5). Da Nitrit einerseits durch die Magenwand diffundiert und andererseits in saurem Milieu chemisch instabil ist, liegt die Magenkonzentration von Nitrit nach dem Essen nur bei ca. 10–20 µM.

Nitrosierungsausbeute

Beide Reaktionspartner für die Bildung von NV sind also nach dem Essen im Magen vorhanden. Da ferner die Nitrosierung bevorzugt unter sauren Bedingungen stattfindet, liegt die Vermutung nahe, dass NV endogen im Magen gebildet werden. Der quantitative Beweis ist aber schwieriger zu erbringen. Wie vorher erwähnt, sind die kanzerogenen NV im Körper reaktiv und können nicht gut direkt analytisch erfasst werden. Dies gilt insbesondere für die primären Nitrosamine. Eine Ausnahme zu dieser Regel stellt das nichtkanzerogene N-Nitrosoprolin dar,

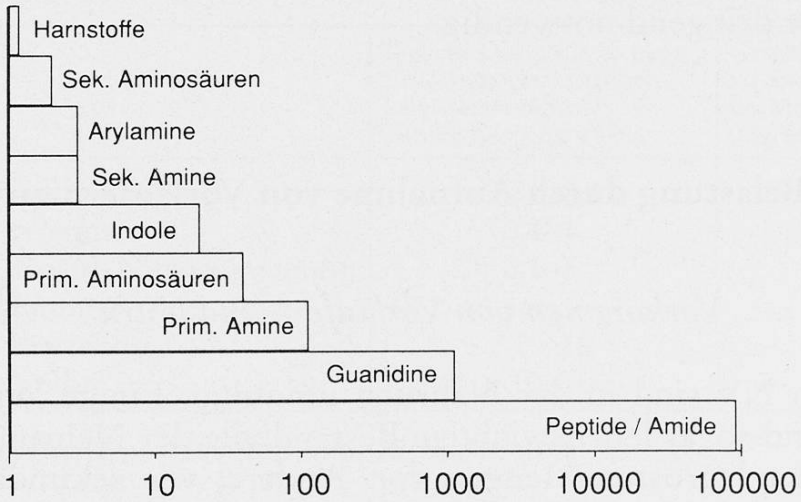

Abb. 1. Durchschnittliche tägliche Aufnahme von Vorläufern von N-Nitrosoverbindungen aus der Nahrung in der Schweiz (in mg, log. Skala)

das zu >99% unverändert im Urin ausgeschieden wird. Anhand von Versuchen mit dessen Vorläufer, Prolin, konnte am Menschen gezeigt werden, dass endogene Nitrosierung tatsächlich stattfindet (6). Weitere Versuche mit Ratten zeigten, dass die Nitrosierungskinetik und -rate in vivo mit derjenigen im Reagenzglas vergleichbar ist (7). Dies bedeutet, dass trotz mangelnder *direkter* Messmöglichkeiten eine grobe Abschätzung der endogenen Nitrosierungsausbeuten anhand von in vitro Daten durchführbar ist. Für diese Art von Abschätzung genügt auch ein vereinfachtes Modell des Magens als 1-l-Gefäss, in dem die Edukte während 1 h reagieren können.

Die errechneten endogenen Nitrosierungsausbeuten bei einer tiefen (2 µM) und einer hohen (70 µM) Nitritkonzentration im Magen sind in Abbildung 2 zusammengefasst. Die Beiträge der einzelnen Vorläuferklassen zur endogenen NV-Belastung umspannen mehr als 7 Zehnerpotenzen. Wichtig ist zu bemerken, dass im Vergleich zur Abbildung 1 (Aufnahme) Rangverschiebungen stattgefunden haben:

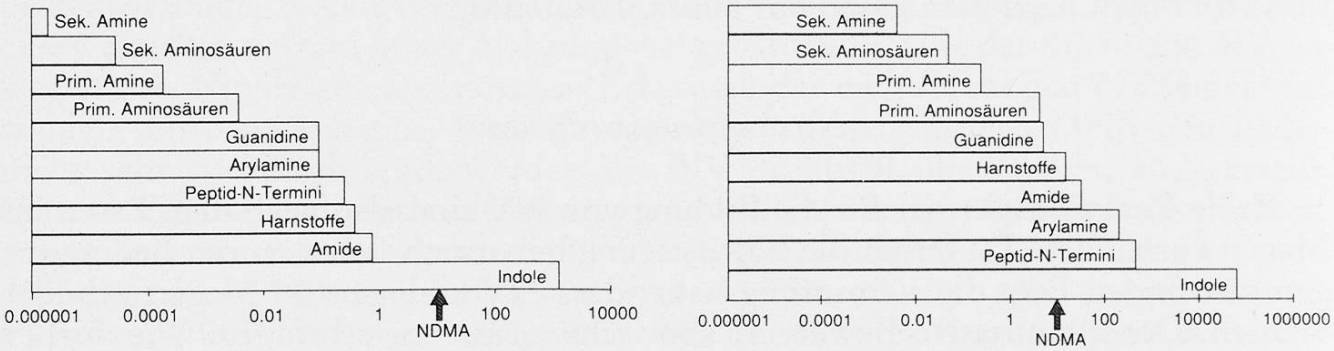

Abb. 2. Berechnete endogene Nitrosierungsausbeuten (in nmol) für die verschiedenen Vorläuferklassen bei (links) tiefer (2 µM) und (rechts) hoher (70 µM) Nitritkonzentration im Magen (log. Skala)

Arylamine z. B., obwohl nur in kleinen Mengen in der Nahrung vorhanden, tragen wegen der schnellen Nitrosierungsrate relativ viel zur endogenen Belastung bei. Bei kleinen Nitritkonzentrationen ist nur die Nitrosierung von Indolen mengenmässig wichtiger als die exogene Zufuhr von NDMA. Die täglichen Nitrosierungsausbeuten von primären und sekundären Aminen und Aminosäuren liegen, auch bei hoher Nitritkonzentration, wahrscheinlich weit unter dem Beitrag von exogenem NDMA. Bei hohen Nitritkonzentrationen könnte die endogene Nitrosierung von verschiedenen Vorläuferklassen (Indole, Peptid-N-Termini, Arylamine, verschiedene Amid-Spezies) eine bedeutende Quelle von NV darstellen. Die Mengen liegen im Bereich der exogenen nichtflüchtigen NV-Belastung.

Risikobeurteilung

Belastung durch exogene N-Nitrosoverbindungen

Nach Ermittlung der Grösse der verschiedenen Expositionsquellen besteht der letzte Schritt der Risikobeurteilung darin abzuschätzen, wieviele zusätzliche Krebsfälle aufgrund dieser Expositionen zu erwarten wären. Unter der heute üblichen Annahme, dass das Krebsrisiko auch bei kleinen Belastungen proportional zur Dosis ist, ergibt sich für exogenes NDMA bei einer lebenslänglichen Aufnahme von durchschnittlich 0,7 µg/Mensch/Tag ein zusätzliches Krebsrisiko von 1 Fall/20 000–200 000 Menschen.

Bei einer Risikobeurteilung der nichtflüchtigen NV wird es bereits schwieriger, weil die einzelnen Verbindungen noch nicht identifiziert worden sind. Kleinmolekulare Vertreter wie N-Nitrosomethylharnstoff (NMU) und N-Methyl-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidin (MNNG) haben ähnliche kanzerogene Potenz wie NDMA, während die grösseren, polareren Verbindungen (wie die N-Nitrosaminosäuren) wesentlich schwächer krebserregend sind. Wenn die ganze tägliche 10–100 µg Belastung von NMU- und MNNG-ähnlichen NV stammen würde, wäre somit das Gesundheitsrisiko um 10- bis 100mal grösser als für NDMA oder bis zu 1 Krebsfall/2000 Menschen. Um die Grösse dieses Risikos besser abschätzen zu können, ist es daher dringend notwendig, analytische Methoden zur Identifizierung und Quantifizierung der nichtflüchtigen NV in der Nahrung zu entwickeln.

Belastung durch endogene N-Nitrosoverbindungen

Die Risikobeurteilung der endogenen NV-Belastung ist zusätzlich dadurch erschwert, dass Kanzerogenitätsdaten bei lange nicht allen Verbindungen vorliegen. Aufgrund von Struktur-Wirkungs-Überlegungen wurde jedoch eine grobe Einstufung in verschiedene Potenzklassen vorgenommen (4). Die Resultate dieser Beurteilung liegen als Vergleich zur Gefährlichkeit von exogenem NDMA in

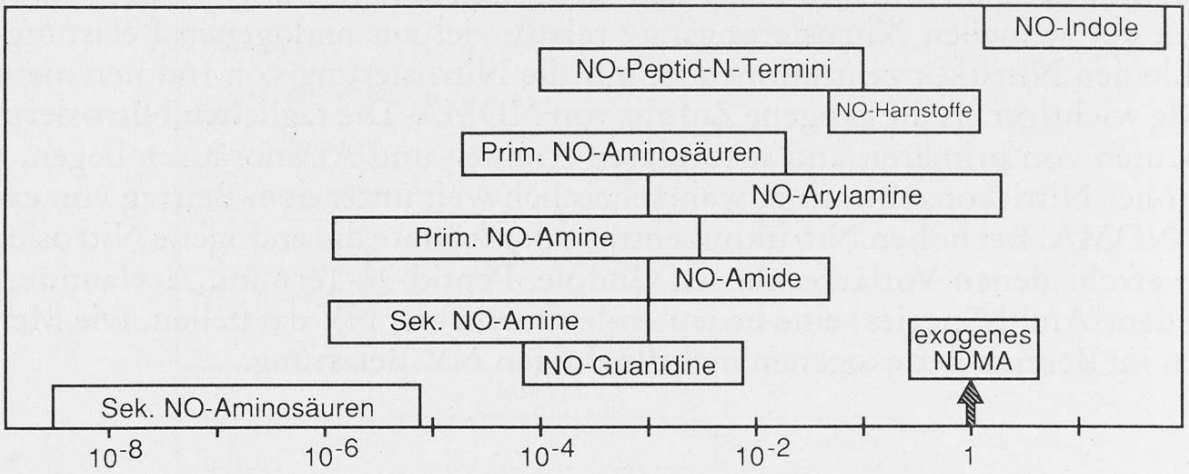

Abb. 3. Abgeschätztes Gefährdungspotential durch endogene Nitrosierung verschiedener Vorläuferklassen im Vergleich mit exogenem NDMA in der Nahrung

Abbildung 3 vor. Auch wenn die Unsicherheiten bei der Ermittlung der täglichen Aufnahme, Nitrosierungsausbeute und Kanzerogenität einen Fehler von Faktor 100 ergäben, kann doch mit Sicherheit geschlossen werden, dass die endogene Nitrosierung von primären und sekundären Alkylaminen sowie sekundären Aminosäuren ein vernachlässigbares Krebsrisiko darstellt. Bei den Amiden, Peptiden, Guanidinen und primären Aminosäuren ist dies wahrscheinlich auch der Fall, obwohl die Sicherheitsmarge weniger gross ist. Bei den Harnstoffen und Arylaminen hingegen könnte die Gesundheitsbelastung im Bereich des exogenen NDMAs liegen, je nachdem, wieviele Vorläufer tatsächlich in der Nahrung vorkommen. Die endogene Nitrosierung von Indolen scheint das grösste Gefährdungspotential darzustellen, und zwar bis zu 100fach über demjenigen von NDMA in der Nahrung.

Ausblick

Um diese mit vielen Annahmen belastete Beurteilung experimentell zu bestätigen oder zu widerlegen, sollten in Zukunft folgende Prioritäten gesetzt werden:

1. Entwicklung analytischer Methoden für nichtflüchtige N-Nitrosoverbindungen in der Nahrung.
2. Entwicklung analytischer Methoden für Arylamine und Harnstoffe in der Nahrung.
3. Kanzerogenitätsstudien mit nitrosierten Indolen.

Dank

Herrn Prof. Dr. *W. K. Lutz* gilt mein bester Dank für seine zahlreichen sprachlichen Verbesserungen des Textes.

Zusammenfassung

Die verschiedenen Arten und Quellen von N-Nitrosoverbindungen (NV) in der Nahrung wurden in bezug auf ihren Beitrag zu einem möglichen Krebsrisiko beim Menschen verglichen. Die tägliche Aufnahme von flüchtigen NV, vor allem von N-Nitrosodimethylamin (NDMA), beträgt 0,3–1 µg/Mensch, was ein zusätzliches Krebsrisiko von ungefähr 1 Fall/20 000–200 000 Menschen darstellen könnte. Die Belastung durch nichtflüchtige NV in der Nahrung scheint bei 10–100 µg/Tag zu liegen. Ein zusätzliches Krebsrisiko von bis zu 1 Fall/2000 Menschen ist nicht ausgeschlossen. Endogene Nitrosierung im Magen von Amino- und Amidoverbindungen aus der Nahrung führt zu einem breiten Spektrum von möglichen NV. Bei hoher Nitritkonzentration (70 µM) dürfte die Menge endogen gebildeter NV im oder über dem Bereich der exogenen nichtflüchtigen NV-Belastung liegen. Die Indole (10–100 x höheres Risiko als exogenes NDMA), gefolgt von den Arylaminen und Harnstoffen (ähnliches Risiko wie NDMA), sind die Vorläufer, die am meisten zum Krebsrisiko beitragen.

Résumé

Les différents types et sources de composés nitroso (NOC) dans les aliments sont comparés par rapport à leur contribution aux risques de cancer de l'homme. L'absorption de NOC volatils, surtout de N-nitrosodiméthylamine (NDMA), par homme et jour, s'élève à 0,3–1 µg. Ceci représente un risque supplémentaire d'environ 1 cas/20 000–200 000 humains. L'apport de NOC non-volatils par les aliments est de 10–100 µg/jour, un risque supplémentaire de 1 cas/2000 humains ne peut être exclu. La nitrosation endogène de composés amino et amido de la nourriture dans l'estomac est une autre source de NOC. Lors d'une concentration élevée de nitrites (70 µM), la quantité des NOC d'origine endogène devrait se situer proche ou en dessus de celle des NOC nonvolatils d'origine exogène. Les indols (risque 10–100 fois plus élevé que du NDMA exogène), suivis des arylamines et l'urée (risque comparable à celui de NDMA) sont les précurseurs qui contribuent le plus au risque de cancer par le NOC endogène.

Summary

The contributions of the various types and sources of N-nitroso compounds (NOC) in foods to a possible cancer risk are compared. About 0.3–1 µg of volatile NOC, mainly N-nitrosodimethylamine (NDMA), are consumed daily, which could result in a cancer risk of approx. 1 case/20 000–200 000 pop. Exposure to nonvolatile NOC appears to lie at about 10–100 µg daily. This could possibly pose an additional cancer risk of up to 1 case/2000 pop. Endogenous nitrosation in the stomach of food components containing an amino or amido-group is a third possible source of NOC exposure. The yields of endogenous nitrosation at high gastric nitrite (70 µM) appear to lie at or above exogenous nonvolatile NOC exposure levels. The indoles (resulting risk possibly 10–100 fold higher than exogenous NDMA), followed by the arylamines and ureas (similar-sized risk as NDMA), are the precursors that contribute the most to an endogenous NOC cancer risk.

Literatur

1. *Preussmann, R.* and *Stewart, B. W.:* N-nitroso carcinogens. In: *Searle, Ch.* (ed.), Chemical carcinogens, 2nd ed., 1984. ACS Monograph 182, p. 643–828. Amer. Chem. Soc., Washington, DC.
2. *Hotchkiss, J.:* Preformed N-nitroso compounds in foods and beverages. Cancer Surveys **8**, 295–322 (1989).
3. *Kawabata, T., Matsui, M., Ishibashi, T.* and *Hamano, M.:* Analysis and occurrence of total N-nitroso compounds in the Japanese diet. In: O'Neill, I. K., von Borstel, R. C., Miller, C. T., Long, I. E. and Bartsch, H. (eds.), N-nitroso-compounds: Occurrence, biological effects and relevance to human cancer. IARC Sci. Publ. **57**, Int. Agency Res. Cancer, Lyon, p. 25–31 (1984).
4. *Shephard, S. E., Schlatter, Ch.* and *Lutz, W. K.:* Assessment of the risk of formation of carcinogenic N-nitroso compounds from dietary precursors in the stomach. Food Chem. Toxic. **25**, 91–108 (1987).
5. *Stephany, R. W.* and *Schuller, P. L.:* Daily dietary intakes of nitrate, nitrite and volatile N-nitrosamines in the Netherlands using the duplicate portion sampling technique. Oncol. **37**, 203–210 (1980).
6. *Ohshima, H.* and *Bartsch, H.:* Quantitative estimation of endogenous nitrosation in humans by monitoring N-nitrosoproline excreted in the urine. Cancer Res. **41**, 3658–3662 (1981).
7. *Ohshima, H., Mahon, GAT., Wahrendorf, J.* and *Bartsch, H.:* Dose-response study of N-nitrosoproline formation in rats and a deduced kinetic model for predicting carcinogenic effects caused by endogenous nitrosation. Cancer Res. **43**, 5072–5076 (1983).

Dr. Sarah Shephard
Institut für Toxikologie der
ETH und Universität Zürich
Schorenstrasse 16
CH-8603 Schwerzenbach