

<b>Zeitschrift:</b>	Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
<b>Herausgeber:</b>	Bundesamt für Gesundheit
<b>Band:</b>	84 (1993)
<b>Heft:</b>	2
<b>Artikel:</b>	Contribution à l'analyse des nitrosamines volatiles et spécifiques dans la fumée de tabac et dosage des teneurs dans quelques cigarettes vendues en Suisse = Analysis of volatile and tobacco-specific nitrosamines in the smokes of some cigarette brands so...
<b>Autor:</b>	Huynh, C.K. / Vu-Duc, T. / Guillemin, M.
<b>DOI:</b>	<a href="https://doi.org/10.5169/seals-982136">https://doi.org/10.5169/seals-982136</a>

#### **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:** 25.01.2026

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

## Contribution à l'analyse des nitrosamines volatiles et spécifiques dans la fumée de tabac et dosage des teneurs dans quelques cigarettes vendues en Suisse\*

Analysis of Volatile and Tobacco-Specific Nitrosamines in the Smokes of Some Cigarette Brands Sold in the Swiss Market

C.K. Huynh, T. Vu-Duc et M. Guillemin

Institut universitaire de médecine et d'hygiène du travail, Lausanne

### Introduction

Le tabagisme est associé caulement à l'incidence des cancers du poumon chez les fumeurs et la fumée de cigarettes contient de nombreuses catégories de substances chimiques possédant des propriétés biologiques. L'expérimentation sur animaux de laboratoire a montré que les nitrosamines volatiles (VNA) (1) et celles qui sont spécifiques au tabac (TSNA) induisent une forte activité cancérogène (2). Il est intéressant au titre de la recherche scientifique et sur le plan de la prévention de connaître les teneurs en nitrosamines dans la fumée de tabac. Par ailleurs, en rapport avec le fumage passif, la fumée de tabac ambiante représente une source de pollution importante dans l'air intérieur des locaux et la question de l'usage des TSNA comme indicateurs de l'exposition de non-fumeurs a été supputée bien que l'on ne dispose pas de données suffisantes pour trancher le problème. A notre connaissance, il n'existe pas de données publiées sur les teneurs en nitrosamines dans les types de cigarettes vendues en Suisse. Au préalable, la détermination des VNA et TSNA dans la fumée de tabac exige une méthode de prélèvement et d'analyse appropriée. Souvent les VNA et TSNA sont analysés dans des fractions distinctes avec en plus une difficulté de séparation chromatographique pour la paire NAB/NAT.

L'objectif de cette communication est de présenter les tests effectués et les résultats obtenus dans le cadre du développement de la technique analytique. Les points marquants sont l'usage d'un échantillonneur solide pour le prélèvement de la fumée et la procédure de purification par chromatographie liquide haute performance associée aux voies analytiques déjà décrites. La méthode a été appliquée au

\* Communication présentée sous forme de poster lors de la 104<sup>e</sup> Assemblée annuelle de la Société suisse de chimie alimentaire et environnementale, les Diablerets, 11 septembre 1992.

dosage par GC capillaire et détection TEA (Thermal Energy Analyzer) des VNA et TSNA dans les fumées de plusieurs marques de cigarettes du commerce en Suisse.

## Matériel et méthodes

*Abbréviations:* TSNA: N-nitrosamines spécifiques au tabac; NNN: N-nitroso-nornicotine; NAT: N-nitrosoanatabine; NAB: N-nitrosoanabasine; NNK: 4-(N-nitrosométhylamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone; VNA: N-nitrosamines volatiles; NDMA: N-nitrosodiméthylamine; NEMA: N-nitrosoéthylméthylamine; NPYR: N-nitrosopyrrolidine; NPIP: N-nitrosopipéridine; NMOR: N-nitrosomorpholine.

### *Etalons et réactifs*

Les nitrosamines spécifiques NNN, NAT, NAB et NNK proviennent de Chem-syn Science Laboratories Lenexa, KS, USA. Leur pureté déterminée par chromatographie sur couche mince et en phase gazeuse est égale ou supérieure à 98%. Les nitrosamines volatiles NDMA, NEMA, NDEA sont achetées chez Fluka Chemie AG. La N-nitrosobutyl-n-benzylamine utilisée comme étalon interne est synthétisée par réaction de la butylamine avec le chlorure de benzyle d'après *Nair* et al. (3). La plupart des nitrosamines sont des cancérogènes puissants et leurs manipulations doivent être effectuées avec les précautions d'usage (4, 5). Les solvants/éluants de qualité Chromasolv (Riedel-deHaën) sont redistillés.

L'alumine basique (Merck #1076) et l'alumine neutre (Merck #1077) sont activées de la manière suivante: l'activité II est obtenue en séchant pendant 3 heures 100 g d'alumine basique dans un ballon à l'étuve à 240 °C (ou 5 heures à 150 °C). On laisse refroidir une nuit en présence d'un tube dessiccant que l'on enlève au moment d'ajouter 3 grammes d'eau. Le ballon est refermé et agité par lente rotation durant 3 heures. On laisse reposer au moins une nuit avant l'utilisation. On procède de la même manière avec l'alumine neutre à laquelle il faut ajouter 6 grammes d'eau pour obtenir l'activité III.

La cartouche ThermoSorb/N (Thermedics Inc., Waltham, MA, USA), constituée d'un adsorbant associé à un inhibiteur de nitrosation pour éviter la formation d'artefact (6), est utilisée sans autre traitement comme échantillonneur solide pour piéger les nitrosamines dans l'aérosol de fumée.

### *Fumage des cigarettes et prélèvement de la fumée*

Une gamme de cigarettes provenant de quelque 9 marques différentes achetées en Suisse sont choisies en fonction de leurs teneurs annoncées en nicotine et en goudron. Avant le fumage, les cigarettes sont conditionnées dans une enceinte étanche maintenue à  $55 \pm 2\%$  d'humidité relative et  $20 \pm 2$  °C pendant 48 heures au

moyen d'une solution saturée de nitrate de calcium (la constante d'hydratation du sel n'est dépendante que de la température).

Une machine à fumer construite dans notre laboratoire reproduit les conditions standardisées de fumage selon la norme Coresta (7). Pour la fumée principale, cela correspond à 1 bouffée d'une durée de 2 secondes toutes les minutes; volume de la bouffée: 35 ml; longueur totale du tabac fumé: 50 mm sur une longueur des cigarettes comprises entre 80 et 85 mm. La fumée principale provenant de la somme des 15 ou 20 cigarettes fumées suivant le protocole décrit ci-dessus est captée sur la cartouche ThermoSorb/N.

### *Traitemenent de l'échantillon et fractionnement par HPLC*

Après le fumage, les cartouches ThermoSorb/N sont fixées dans le sens inverse de celui de l'arrivée des fumées. Les nitrosamines dans la fumée sont désorbées selon la procédure préconisée et testée par le fabricant à la différence près qu'on effectue une élution par 20 ml du mélange méthanol/dichlorométhane (25:75 v/v) au lieu de 2 ml pour récupérer la totalité des TSNA. 40  $\mu$ l d'une solution d'étalon interne à 0,37  $\mu$ g/ $\mu$ l sont préalablement dopés sur la cartouche. L'extrait est ensuite prépurifié sur une colonne d'alumine à deux lits (230 x 10 mm) préparée au laboratoire (contenant de haut en bas 1 g de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  pour enlever l'humidité, 3 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  d'activité III et 1 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  d'activité II) (8). L'éluat est d'abord concentré jusqu'à un volume de 2 à 4 ml grâce à un système semblable au Turbovap (250 ml/min à 40 °C) puis lentement sous flux d'azote jusqu'à un volume final de 500  $\mu$ l avant le passage sur colonne  $\text{SiO}_2$ /HPLC. Les conditions du fractionnement par HPLC sont indiquées dans la figure 2.

### *Analyse par GC-TEA*

L'appareil utilisé est un chromatographe en phase gazeuse (Varian 3400) muni d'une colonne capillaire (J & W) reliée directement à la chambre de pyrolyse du détecteur TEA (Thermal Energy Analyzer, modèle 610, Thermedics Inc.). Les conditions suivantes ont été adoptées:

Colonne: DB-5 (5% phényl / 95% méthylpolysiloxane), 30 m x 0,53 mm d.i. et 1,5  $\mu$ m épaisseur de film

Précolonne: 10 m de colonne capillaire non imprégnée, déactivée pour servir de «retention gap»

Température de l'injecteur: 270 °C

Température du four: programmée de 40 °C (4 min) puis 3 °C/min jusqu'à 70 °C, puis 7 °C/min jusqu'à 300 °C (10 min)

Gaz porteur: Hélium 45

Pression en tête de colonne: 10 psi

Injection en mode diviseur de débit (split): 1/10 mesuré à la température de 40 °C.

Volume injecté: 1 à 5  $\mu$ l

Le détecteur TEA est réglé comme suit:

Température du pyrolyseur: 500 °C pour opérer en mode nitroso

Température de l'interface: 275 °C

La cartouche CTR Gas Stream Filter est utilisée à la place du piège refroidi à l'azote liquide. Selon le fabricant (Thermedics Inc.), elle capte les molécules interférentes et laisse passer sélectivement le radical nitrosyle dans la chambre de réaction.

Pression de l'ozone (débit de gaz): 0,9 mm Hg

Le détecteur TEA étant peu répandu, le schéma du principe de fonctionnement est représenté sur la figure 1. En mode nitroso, les effluents chromatographiques sont introduits dans un four à pyrolyse sous vide dans lequel les composés subissent un clivage des liaisons -NO ou -NO<sub>2</sub> avec formation de radicaux nitrosyles à la température de 350–500 °C. La cartouche CTR retient les autres produits de la pyrolyse, mais laisse passer les radicaux nitrosyles qui réagissent avec l'ozone (généré par le TEA lui-même, par réaction de l'air sous haute tension) pour former le NO<sub>2</sub><sup>\*</sup> à l'état excité. Le retour de NO<sub>2</sub><sup>\*</sup> à l'état fondamental émet une lumière dans l'infra-rouge. Le rendement de NO est une mesure directe de la présence des composés nitroso.

Un système d'acquisition et de traitement des données par ordinateur personnel est relié au TEA. Un logiciel permet l'intégration et le retraitement des chromatogrammes (model 970, PC integrator software, Nelson Analytical, CA, USA). Par mesure de sécurité, les effluents gazeux rejetés par le système d'injection en mode diviseur de débit du GC sont captés d'abord dans un tube charbon actif puis passent dans un tuyau en plastique aboutissant à une hotte de ventilation.

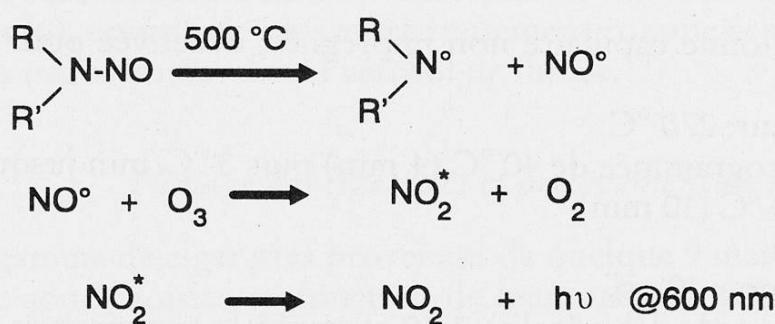
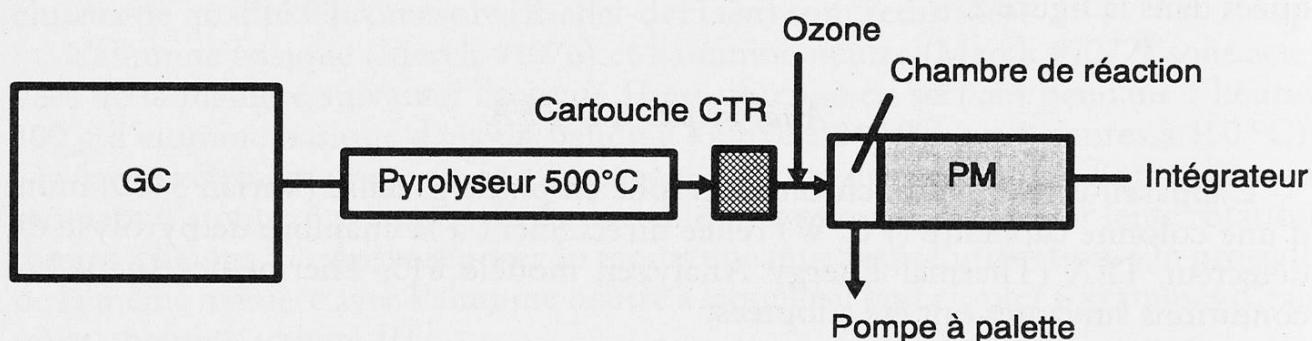


Fig. 1. Principe de détection des nitrosamines par le détecteur spécifique TEA

## Résultats et discussion

Les performances de la cartouche ThermoSorb/N sont étudiées dans le contexte du fumage passif. En effet, les concentrations plus faibles de fumée dans l'air imposent des temps de prélèvement beaucoup plus longs et le recours aux barboteurs décrits usuellement se révèle inopérant. La cartouche ThermoSorb/N a été

Figure 2A: Extrait de fumée de cigarettes

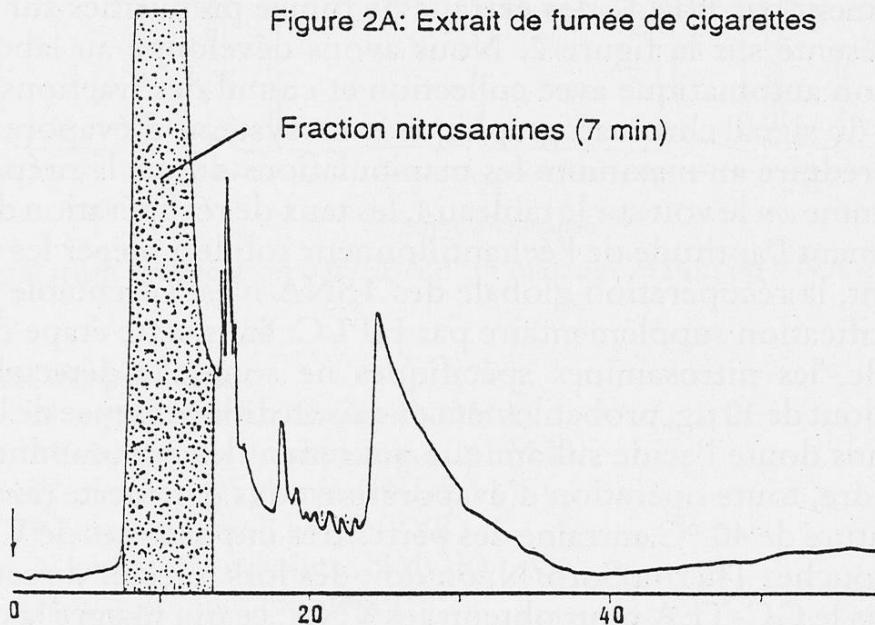


Figure 2B: Mélange de standards nitrosamines VNA et TSNA

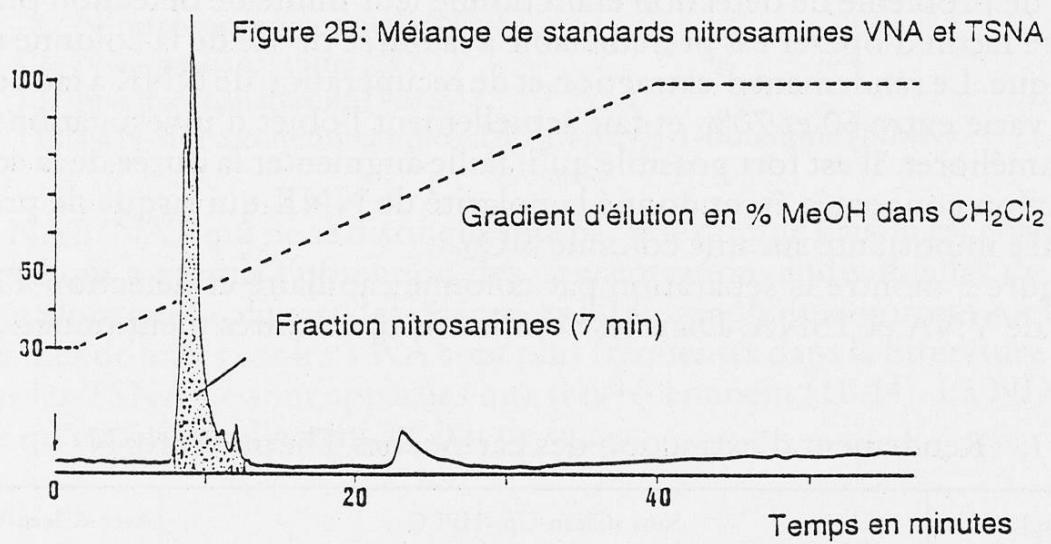


Fig. 2. Profil chromatographique d'un extrait de cigarette (fig. 2A) comparé à celui des standards nitrosamines (fig. 2B) injectés dans une colonne HPLC semi-préparative SiO<sub>2</sub> 5 µm (L = 250 mm, φ = 8 mm, Nucleosine 50) élué à 1 ml/min. par un gradient de solvant de 30% MeOH - 70% CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> pendant 2 minutes, puis gradient linéaire jusqu'à 100% MeOH pendant 40 minutes, 10 minutes à 100% MeOH et retour au point de départ. Le conditionnement dure 30 minutes avant l'injection suivante. Le détecteur UV est réglé à 254 nm, et son signal commande le collecteur de fraction pour recueillir la fraction nitrosamines qui dure 7 minutes. Les fractions ultérieures sont écartées.

utilisée comme échantillonneur solide pour prélever les nitrosamines comme la NDMA, la NDEA dans l'air (9), mais leur application n'a pas été décrite jusqu'ici pour les VNA dans la fumée de cigarettes et encore moins pour les TSNA qui diffèrent des nitrosamines aliphatiques par leur structure. Les essais montrent que le volume d'élution des TSNA de la cartouche peut s'élever à 20 ml du mélange méthanol/dichlorométhane même si 2 ml suffisent à éluer les VNA.

Le fractionnement par HPLC des extraits de fumée prépurifiés sur la colonne d'alumine est présenté sur la figure 2. Nous avons développé au laboratoire un système d'injection automatique avec collection et cumul des fractions par détection d'amplitude du signal chromatographique et un système d'évaporation simultanée de façon à réduire au maximum les manipulations dues à la préparation des échantillons. Comme on le voit sur le tableau 1, les taux de récupération des NDMA et NDEA confirment l'aptitude de l'échantillonneur solide à piéger les VNA de la fumée. Cependant, la récupération globale des TSNA n'est acceptable et possible qu'après une purification supplémentaire par HPLC. Sans cette étape de purification additionnelle, les nitrosamines spécifiques ne sont pas détectables même surchargées par ajout de 10 µg, probablement en raison de la présence de l'inhibiteur de nitrosation, sans doute l'acide sulfamique qui retient les nitrosamines. Comme on peut s'y attendre, toute opération d'évaporation sous gaz inerte (azote), même lente à la température de 40 °C entraîne des pertes très importantes de VNA. Après l'élution des cartouches ThermoSorb/N, on doit dès lors injecter directement une première fois dans le GC-TEA pour obtenir les VNA, ce qui malgré la dilution, ne pose pas de problème de détection étant donné leur limite de détection plus basse. Mais cette façon d'opérer est préjudiciable à la durée de vie de la colonne chromatographique. Le rendement d'extraction et de récupération de NNK a été déterminé 3 fois et varie entre 60 et 70% et fait actuellement l'objet d'investigations dans le but de l'améliorer. Il est fort possible qu'il faille augmenter la durée de la collection de la fraction concernée étant donné la polarité de NNK qui risque de provoquer une traînée importante sur une colonne SiO<sub>2</sub>.

La figure 3 montre la séparation par colonne capillaire et détection TEA d'un mélange de VNA et TSNA. Dans les conditions opératoires mentionnées, la paire

Tableau 1. Rendement d'extraction des cartouches ThermoSorb/N

Quantité [µg] Name	Sans «Clean-Up» HPLC			Avec «Clean-Up» HPLC
	0,5	1	10	
NDMA	87,0	98,0	99,7	29,6*
NDEA	109,0	106,2	106,6	49,1*
NNN	—	—	—	107,6
NAT	—	—	—	108,2
NAB	—	—	5,6	126,2
NNK	—	—	—	69,9

\* Pertes par évaporation

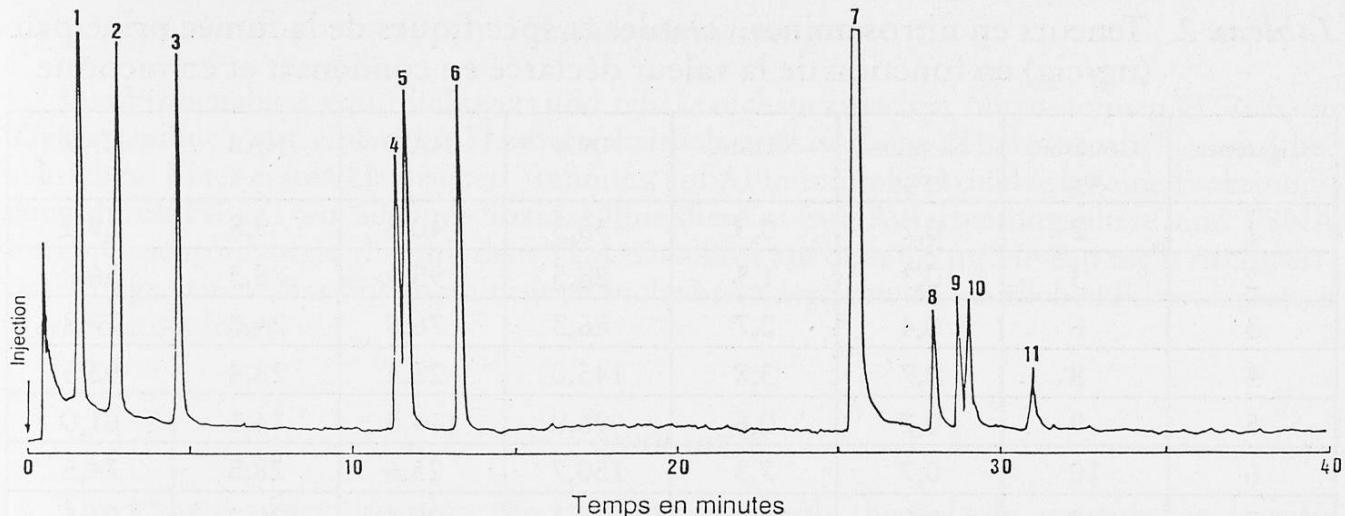


Fig. 3. Séparation et détection par TEA d'un mélange étalon de VNA et TSNA (0,5 ng par pic)

Liste des produits:

1. N-nitrosodiméthylamine (NDMA)
2. N-nitrosoéthylméthylamine (NEMA)
3. N-nitrosodiéthylamine (NDEA)
4. N-nitrosopyrrolidine (NPYR)
5. N-nitrosomorpholine (NMOR)
6. N-nitrosopipéridine (NPIP)
7. N-nitrosobutylbenzylamine (standard interne SI)
8. N-nitrosonornicotine (NNN)
9. N-nitrosoanatabine (NAT)
10. N-nitrosoanabasine (NAB)
11. 4-(N-nitrosométhylamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK)

critique NAB/NAT qui ne se distingue que par une double liaison est correctement séparée, ce qui a permis l'obtention des concentrations individuelles de ces deux composés alors que la plupart des références bibliographiques portent sur la somme des deux. Les données sur les VNA sont plus fréquentes dans la littérature (10) mais celles sur les TSNA ne sont apparues que très récemment (11-14). La NDEA n'est présente qu'occasionnellement à l'état de traces.

### Conclusion

Dans le contexte de l'évaluation de notre méthode, les résultats indiqués dans le tableau 2 sont dans l'ordre de grandeur des valeurs déjà publiées, ce qui semble montrer que l'échantillonneur solide convient aux mesures d'émission des nitrosamines dans la fumée. Dans la fumée principale des cigarettes munies de filtre vendues sur le marché suisse, la quantité de NNN/cig (domaine: 35-160 ng) est supérieure à celle de NNK (domaine: 29-93 ng). Les cigarettes de même marque

Tableau 2. Teneurs en nitrosamines volatiles et spécifiques de la fumée principale (ng/cig) en fonction de la valeur déclarée en condensat et en nicotine

Cigarettes	Goudron (mg)	Nicotine (mg)	NDMA	NNN	NAT	NAB	NNK
1	2	0,2	0,3	35,3	40,8	9,8	29,3
2	3	0,3	1,5	85,5	95,1	28,3	56,7
3	6	0,4	0,7	86,3	76,8	24,8	77,8
4	8	0,7	3,8	143,0	28,4	28,4	93,3
5	9	0,7	0,6	96,9	114,5	14,1	61,0
6	10	0,7	7,3	150,7	25,6	28,5	74,5
7	12	0,9	1,6	79,4	95,3	29,2	94,5
8	15	1,1	4,7	166,1	38,7	36,0	55,9
9	18	1,3	1,5	88,6	23,4	23,7	42,0

annonçant les mêmes taux de goudron et de nicotine peuvent générer des concentrations très différentes de TSNA dans la fumée principale, dépendant sans doute du lot de production. Il n'y a pas de relation entre les cigarettes à faible teneur en goudron et nicotine, et les taux de TSNA en particulier ceux des NNN et NNK qui sont les cancérogènes les plus puissants. Les cigarettes légères ne sont pas celles qui contiennent les plus faibles taux de nitrosamines. La même constatation a été formulée par *Fischer et al.* (12). Cette étude ouvre les perspectives d'utilisation de l'échantillonneur solide pour le piégeage des TSNA dans la fumée de tabac à l'intérieur des locaux.

### Remerciements

Nous remercions Melle *Nathalie Gueissaz* et *M. Philippe Boiteux* pour leur participation technique. Nous adressons aussi nos remerciements au Fonds National Suisse de la Recherche Scientifique pour son soutien financier (subside No 32-9522-88).

### Résumé

Ce travail décrit le captage des nitrosamines volatiles (VNA) et des nitrosamines spécifiques de la fumée de tabac (TSNA) par un échantillonneur solide du commerce (Thermo-Sorb/N) et un procédé de purification de l'échantillon par chromatographie liquide haute performance associée à la voie traditionnellement suivie qui est le passage à travers une colonne d'alumine à pression atmosphérique. Les tests de récupération à hauteur de 0,5 µg ont montré que sans le fractionnement par HPLC, les TSNA ne peuvent pas être détectées par GC-TEA dans les conditions de validité pour les VNA. La méthode est appliquée à la détermination des VNA et TSNA dans quelques marques de cigarettes vendues sur le marché suisse.

## Zusammenfassung

Die Probenahme von flüchtigen und tabakrauchspezifischen Nitrosaminen (TSNA) in Zigarettenrauch auf einem im Handel erhältlichen Adsorbens (ThermoSorb/N) wird beschrieben. Einer ersten klassischen Trennung auf Aluminiumhydroxid folgt eine Fraktionierung durch HPLC auf Siliciumdioxid. Ohne diese zweite Aufarbeitungsphase sind TSNA durch Gaschromatographie mit dem TEA-Detektor auf dem 0,5 µg Niveau nicht nachweisbar. Einige Daten über Nitrosamine im Rauch von in der Schweiz käuflichen Filterzigaretten werden aufgeführt.

## Summary

The present paper describes the attempts to sample the volatile and tobacco-specific nitrosamines in cigarettes smokes with a commercial solid sampler ThermoSorb/N. Following classical clean-up procedure with an alumina column, an HPLC fractionation step was performed on  $\text{SiO}_2$  column with subsequent collection of the fraction of interest. Without this additional sample work-up, the recovery and detection of TSNA would not be possible with the TEA detector at the 0.5 µg level. A few data on the levels of nitrosamines in filter cigarettes sold on the Swiss market are presented.

## Bibliographie

1. IARC-International Agency for Research on Cancer. IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Some N-nitroso compounds. Volume 17, IARC Lyon, France 365 p., 1978.
2. IARC-International Agency for Research on Cancer. IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Tobacco habits other than smoking; Betel-quid and arecanut chewing; and some related nitrosamines. Volume 37, IARC Lyon France 1985, pp. 205–268.
3. Nair, J., Ohshima, H., Friesen, M., Croisy, A., Bhide, S.V. and Bartsch, H.: Tobacco specific and betel nut-specific N-nitroso compounds: occurrence in saliva and urine of betel quid chewers and formation in vitro by nitrosation of betel quid. *Carcinogenesis* **6**, 295–303 (1985).
4. Dornhoffer, M.K.: Handling chemical carcinogens: A safety guide for the laboratory researcher. Chemsyn. Science Laboratories, second edition, Lenexa, Kansas 1986.
5. IARC-Laboratory decontamination and destruction of carcinogens in laboratory waste: some N-nitrosamines. Editors: Castegnaro, M., Eisenbrand, G., Ellen, G., Keefer, L., Klein, D., Sansone, E.B., Spincer, D., Telling, G. and Webb, K. IARC Scientific Publications No 43, Lyon France 1982.
6. ThermoSorb Air Sampling System. DS-11/February 1980. Thermo Electron Corporation. Waltham, MA, USA.
7. CORESTA-Centre de coopération pour les recherches scientifiques relatives au tabac. Méthode standard Coresta No 10: Fumage mécanique des cigarettes et détermination des condensats de fumée brute et anhydre. Septembre 1968.

8. *Castegnaro, M., Pignatelli, B. and Walker, E.A.*: A rapid method for the semi quantitative determination of volatile N-nitrosamines in alcoholic beverages. *Analyst* **99**, 156–162 (1974).
9. *Rounbehler, D.P., Reisch, J.W., Coombs, J.R. and Fine, D.H.*: Nitrosamine air sampling sorbents compared for quantitative collection and artifact formation. *Anal. Chem.* **52**, 273–276 (1980).
10. *Brunnemann, K.D., Fink, W. and Moser, F.*: Analysis of volatile N-nitrosamines in mainstream and sidestream smoke from cigarettes by GLC-TEA. *Oncology* **37**, 217–222 (1980).
11. *Tricker, A.R. and Preussmann, R.*: Volatile N-nitrosamines in mainstream cigarette smoke: occurrence and formation. *Clin. Investig.* **70**, 283–289 (1992).
12. *Fischer, S., Spiegelhalder, B. and Preussmann, R.*: Tobacco-specific nitrosamines in mainstream smoke of West German cigarettes – tar alone is not a sufficient index for the carcinogenic potential of cigarette smoke. *Carcinogenesis* **10**, 169–173 (1989).
13. *Tricker, A.R., Ditrich, C. and Preussmann, R.*: N-Nitroso compounds in cigarette tobacco and their occurrence in mainstream tobacco smoke. *Carcinogenesis* **12**, 257–261 (1991).
14. *Kumar, R., Siddiqi, M., Tricker, A.R. and Preussmann, R.*: Tobacco-specific N-nitrosamines in tobacco and mainstream smoke of Indian cigarettes. *Food Chem. Toxic.* **29**, 405–407 (1991).

Dr C.K. Huynh  
Dr T. Vu-Duc  
Prof. M. Guillemain  
Institut universitaire de médecine et  
d'hygiène du travail  
19 Rue du Bugnon  
CH-1005 Lausanne