

# Pivovarství a sladařství

## Analytika N-nitrosaminů

547.231/233

Ing. VLADIMÍR KELLNER, CSc., Ing. JIŘÍ ČULÍK, Ing. GABRIELA BASAŘOVÁ, DrSc., Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Praha

### 1. ÚVOD

Problematika nitrosaminů zneklidňuje odborníky v celém světě zhruba 15 let. Údaje o jejich toxicitě, karcinogenních a mutagenních vlastnostech [1] si vynutily i dokonalejší analytické postupy.

Metody používané pro stanovení N-nitrosaminů lze zhruba rozdělit

a) na metody nepřímé detekce (tj. založené na tvorbě vhodných derivátů, na rozštěpení nitrosaminů, na jejich oxidaci nebo redukcí);

b) metody přímé detekce.

Všechny moderní postupy používají k rozdelení nitrosaminů plynovou chromatografii (GC), popřípadě vysokoučinnou kapalinovou chromatografii (HPLC).

Dříve byly používány hlavně polarografické metody [2, 3, 4] a kolorimetrické metody [5, 6]. Pečenka *et al.* vypracovali metodu stanovení N-nitrosodimethylaminu (NDMA) diferenční pulsní polarografií [7, 8].

Vzhledem k tomu, že skutečné koncentrace nitrosaminů v potravinách jsou velmi nízké — pohybují se v rozmezí koncentrací mg/kg (ppm) až µg/kg (ppb) [1] — je jejich stanovení možné až po dokonalé separaci od ostatních, velmi často interferujících látek, kterých je v přírodním materiálu vždy široká paleta. V opačném případě jsou získávány nespolehlivé výsledky, často falešně pozitivní, kdy není jisté, zda se skutečně jedná o N-nitrosaminy.

### 2. METODY STANOVENÍ

#### 2.1 Metody nepřímé detekce

##### 2.1.1 Metody založené na rozštěpení N-nitrosaminů a tvorbě vhodných derivátů

Ke štěpení byla vyzkoušena různá činidla, např. HBF<sub>4</sub>/CH<sub>3</sub>COOH, CF<sub>3</sub>COOH, HCl/dioxan, HBr/CH<sub>3</sub>COOH [9]. Nejvhodnější je systém HBr/CH<sub>3</sub>COOH. Eisenbrand uvádí, že k rozštěpení 10<sup>-6</sup> molárního roztoku nitrosaminu stačí působení 1,5% HBr po dobu 10–15 minut za normální teploty, při zahřátí na 50 °C postačí 3 minuty [9]. Při 20% obsahu vody ve vzorku však reakce neprobíhá [10]. Po rozpuštění nitrosaminu směsi HBr/CH<sub>3</sub>COOH vzniklý nitrosylbromid podléhá diazotaci ky selinou p-aminobenzensulfonovou a reaguje s N-naftyl-(1)-ethylendiaminem. Produkt se stanoví fotometricky [9, 10]. Eisenbrand uvádí procentní stanovení, citlivost a standardní odchylku [9].

Tuto metodu lze použít i ke stanovení nitrosaminů.

Limitujícím faktorem použití metod štěpení je to, že po rozštěpení se nitrosaminy stanoví nepřímo — převedením na vhodný derivát. Vzhledem k tomu, že přirozeně se vyskytující aminy v analyzovaném materiálu poskytují často stejně deriváty, je nutno odstranit tyto volné aminy před štěpením N-nitrosaminů a dále zabránit jejich následné tvorbě.

Tabulka 1. Fotometrické stanovení nitrosaminů podle Eisenbranda a Preussmanna [10]-% stanovení (vztaženo na teoret. 100 %), citlivost a směrodatná odchylka

Nitrosamin	% stanovení	Citlivost ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ vzorku)	Směrodatná odchylka
NDMA <sup>a</sup>	99,2	0,85	1,48
NDEA <sup>b</sup>	99,7	1,16	1,20
NDPA <sup>c</sup>	99,5	1,48	2,17
NDPeA <sup>d</sup>	99,5	2,12	1,49
NPIPE <sup>e</sup>	98,3	1,30	2,11
NMOR <sup>f</sup>	98,3	1,32	1,90

a — N-nitrosodimethylamin

d — N-nitrosodipentylamin

b — N-nitrosodiethylamin

e — N-nitrosopiperidin

c — N-nitrosodipropylamin

f — N-nitrosomorfolin

Tabulka 2. Výšeček reakce 0,5 µg nitrosaminu s HFB-Cl, stanoveno hmotnostní spektrometrií (MS) [9]

Nitrosamin	Průměrný výšeček (% teorie)	Počet stanovení	Směrodatná odchylka
NDMA <sup>a</sup>	72,3	19	6,4
NDEA <sup>b</sup>	77,6	19	6,3
NDPA <sup>c</sup>	77,1	10	6,4
NDBA <sup>d</sup>	75,8	10	6,8
NPYRe <sup>e</sup>	75,1	11	8,2
NPIP <sup>f</sup>	77,3	18	5,5

a — N-nitrosodimethylamin

d — N-nitrosodibutylamin

b — N-nitrosodiethylamin

e — N-nitrosopyrrolidin

c — N-nitrosodipropylamin

f — N-nitrosopiperidin

Eisenbrand [11, 12] využili fotolytický rozklad nitrosaminů UV zářením s následnou detekcí postříkem činidlem PdCl<sub>2</sub>-difenylamin nebo Griessovým činidlem (kyselina p-aminobenzensulfonová a 1-naftylamin). Při tomto způsobu existuje nebezpečí falešně pozitivních výsledků, proto je nutno získat pozitivní odezvu při detekci oběma činidly. Byla rovněž popsána detekce Brattton-Marshallovým činidlem [13] (kyselina p-aminobenzensulfonová, N-naftyl-(1)-ethylendiamoniumdichlorid) a ninhydrinem [14].

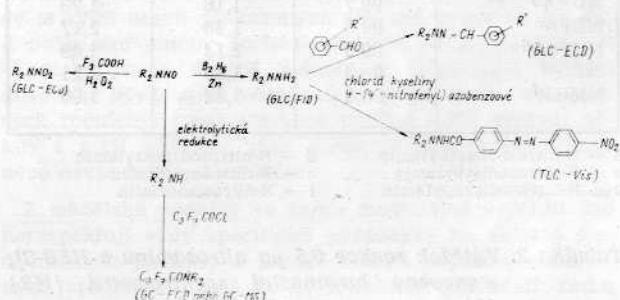
K detekci byly použity též reakce fluorescenčního dansylchloridu DANS-Cl (5-dimethylaminonaftyl-1-sulfonylchlorid) a aminu vzniklého po rozštěpení nitrosaminu činidlem HBr/CH<sub>3</sub>COOH [15, 16], reakce aminu s 1-fluor-2,4-dinitrobenzenem [17], s NBD-Cl (7-chlor-4-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazol) [18, 19]. Young *et al.* používali jako detekční činidlo fluorescamín [20, 21, 22]. Eisenbrand a Preussmann použili k derivatizaci heptafluorbutyryl-

chlorid (HFB-Cl) a následnou detekci pomocí detektoru elektronového záchytu (ECD) [23]. (Použití ECD je výhodné, protože většina vzorků biologických materiálů neobsahuje látky, které by vykazovaly podstatnější signál v ECD). Heptafluorbutyrylderiváty se rovněž využívají při stanovení hmotnostním spektrometrem (MS), kdy se pro kvantitativní stanovení s výhodou používá ion  $C_3F_7^+$  (m/e 169) [9, 24].

V tabulce 2 je uveden výtěžek reakce s HFB-Cl pro 0,5 µg nitrosaminu, stanovení provedeno pomocí MS [9].

### 2.1.2 Metody založené na oxidačně-redukčních reakcích

Přehled používaných metod je na obr. 1. Použitím vhodných činidel se N-nitrosamin zoxiduje na příslušný nitramin (např.  $H_2O_2$  v kyselině trifluoroctové), který lze stanovit pomocí ECD [25, 26, 27]. Nitrosamin lze též redukcí např. Zn nebo diboranem [28] převést na asymetrický hydrazin a reakcí s 3,5-dinitrobenzaldehydem vzniklý hydrazen stanovit rovněž pomocí ECD. Asymetrický hydrazin může reagovat s různými arylaldehydy, přičemž vznikají intenzivně zbarvené produkty, které jsou využity pro stanovení [30]. Alliston *et al.* [29] provedli elektrolytickou redukci nitrosaminu v zásaditém prostředí na amín s následnou reakcí s HFB-Cl.



Obr. 1. Přehled metod založených na oxidačně redukčních reakcích

Při vzniku aminů je možné pro stanovení použít reakce uvedené v kap. 2.1.1, kdy amín vznikl štěpením nitrosaminu činidlem  $HBr/CH_3COOH$ .

Mnohých oxidačně-redukčních a štěpicích metod lze využít, jak bylo již uvedeno, i ve spojení s plynovou (GC) nebo kapalinovou chromatografií (LC) [31, 32, 33, 34].

### 2.2 Metody přímé detekce

#### 2.2.1 Metody stanovení s využitím GC

Na symposiu IARC (International Agency for Research on Cancer) v Heidelbergu (NSR) v roce 1971 [35] bylo konstatováno, že ani při velmi pečlivém čištění vzorků se nedosáhne čistoty potřebné pro použití plameno-ionizačního detektoru (FID). Proto bylo další úsilí směrováno k použití selektivních detekčních systémů. Byly prováděny pokusy s termoionizačními detektory se solí alkaličkého kovu (AFID, NPD). Howard *et al.* použili KCl [36], Fiddler *et al.*:  $Rb_2SO_4$  [37, 38], Kawabata používal KBr [39]. Použití AFID rovněž popisují Fazio *et al.* [40], Crosby *et al.* [41], Wassermann *et al.* [42] a Haverty *et al.* [43].

Dalším detektorem, který byl s úspěchem použit, je Coulsonův detektor elektrolytické vodivosti (CECD) [44]. Byl zdokonalen Rhoadesem a Johnsonem [45, 46], kteří ho poprvé použili ke stanovení koncentrace nitrosaminů v tabákovém kouři. Jsou známé dva typy CECD, a to reduktivní a pyrolytický. Bud jde o katalytickou redukci organického dušku na Ni-spirále v proudu

vodíku a vznikající amoniak se stanoví ve vodivostní cele nebo o pyrolýzu v křemenné píce v proudu hélia. Tato pyrolýza je vysoko selektivní na nitrosaminy. Reduktivní CECD použili Crosby *et al.* [41], pyrolytický CECD použil Sen *et al.* [47, 48, 49, 50]. Paljraman *et al.* uvádějí, že CECD má v porovnání s AFID vyšší stabilitu, lepší reproducovatelnost a vyšší specifičnost na nitrosaminy [51]. Nevýhodou CECD je jeho nižší citlivost v porovnání s ostatními detektory a tendence k chvostování píků [52]. Pomocí GC-MS bylo prokázáno, že zhruba polovina CECD výsledků je falešně pozitivní [53].

Hall navrhl mikrovariantu Coulsonova detektoru [54], kterou zdokonalil Eisenbrand [15]. Pro NDMA udává citlivost tohoto detektoru 50 pg při poměru signál/šum 2 : 1, pro NPIP udává 0,5 ng a pro NPYR 1 ng [15].

Velmi často se využívá metody hmotnostní spektrometrie ve spojení s plynovou chromatografií (GC-MS). V literatuře je popsáno fragmentační schéma nitrosaminů [55, 56, 57], Lijinsky *et al.* [58, 59] publikovali hmotnostní spektra velkého počtu nitrosaminů [60, 61]. Gough se zabývá aplikací metody GC-MS v analytice nitrosaminů [62].

V praxi se používá hmotnostní spektrometrie s nízkou rozlišovací schopností, kdy se měří celé spektrum nebo alespoň několik signifikantních iontů [63, 64, 65, 66, 67, 68, 69], a hmotnostní spektrometrie s vysokou rozlišovací schopností (10 000 nebo lepší), kdy se měří specifický ion, kterým je nejčastěji molekulární ion [49, 70, 71, 72, 73, 74, 75]. Pro MS s nízkou rozlišovací schopností je předem nutno nitrosamine oddělit od interferujících složek pečlivou přípravou vzorku [9, 52]. Metoda GC-MS byla použita k důkazu a stanovení nitrosaminů v různých potravinách, vzduchu, vodě, léčivech, alkoholických nápojích a zemědělských produktech [76].

#### 2.2.2 Metoda s využitím chemiluminiscenčního detektoru

V poslední době na celém světě převládá metoda využívající vysoko citlivého a na nitrosaminy specifického chemiluminiscenčního detektoru, či spíše detekční systém TEA (Thermal Energy Analyzer), vyráběný firmou Thermo Electron Corp. (Waltham, USA).

Detektor TEA je použitelný buď jako samostatný analyzátor ke zjištění sumární koncentrace nitrosaminů bez rozdělení podle struktury, nebo ve spojení s GC, popř. s HPLC [77, 78]. Tato přístrojová kombinace spojuje přednosti plynového nebo kapalinového chromatografu se zřetelem na dokonalé rozdělení nitrosaminů s vysokou citlivostí a selektivitou detektoru TEA.

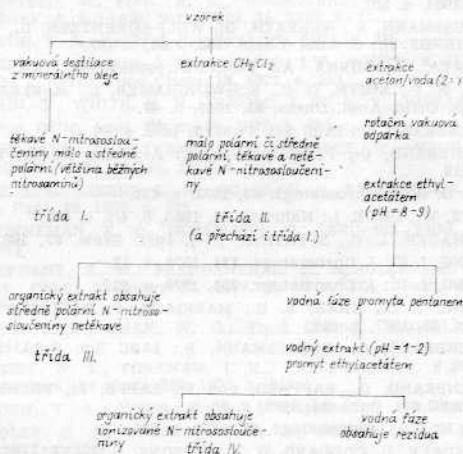
Detektor TEA 502A s plynovým chromatografem Hewlett-Packard HP 5880 A je jako jediný v ČSSR ve Výzkumném ústavu pivovarském a sladařském v Praze v oddělení speciálních analýz, kde slouží ke stanovení koncentrací nitrosaminů v pivovarských surovinách a pivu.

I přes vysokou citlivost dnes používaných přístrojů vzhledem k nebezpečí přítomnosti interferujících látek probíhá analýza vzorků v několika stupních;

- a) oddělení frakce obsahující nitrosamine od ostatního biologického materiálu;
- aa) destilace z minerálního oleje v uzavřeném systému, popř. vakuová destilace,
- ab) izolace nitrosaminů — extrakce destilátu dichlormethanem,
- ac) zkonzentrování vzorku — zahuštění extraktu;
- b) rozdělení nitrosaminů (popř. oddělení od zbylých interferujících složek) na chromatografické kolony (GC, HPLC) s následující detekcí buď interním detektorem AFID, ECD, CECD s dřívě uvedenými nevý-

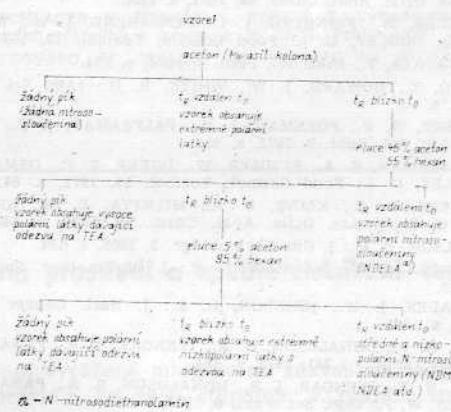
hodami nebo externím detektorem TEA, popř. pomocí MS.

*Fan et al.* navrhli schéma postupu izolace těkavých, netěkavých polárních a nepolárních N-nitrososloučenin [79]. Schéma je uvedeno na obr. 2. Pro těkavé nitrososloučeniny je nejvhodnějším extrakčním činidlem dichlormethan.



Obr. 2. Postup izolace těkavých a netěkavých polárních a nepolárních N-nitrososloučenin [79]

Izolace nitrosaminů od zbylých interferujících složek a oddělení jejich zón v závislosti na rozdílných retenčních časech probíhá nejčastěji na koloně GC nebo HPLC. Přitom je vždy snaha, aby se kapacitní faktor pro sledovanou látku pohyboval v rozmezí 2 až 5 [79]. Kapacitní faktor je definován jako  $(t_R - t_0)/t_0$ , kde  $t_R$  je retenční čas píku nitrosaminy,  $t_0$  je mrtvý eluční čas, tj. retenční čas odezvy detektoru na resorbovanou látku (rozpuštědlo). Vhodnou volbou rozpouštědla lze tento faktor úspěšně ovlivňovat, a tím dosáhnout požadovaného rozlišení jednotlivých píků [79]. Způsob hledání vhodných chromatografických podmínek a stanovení N-nitrososloučenin ve vzorku pesticidu je uveden na obr. 3 [79].

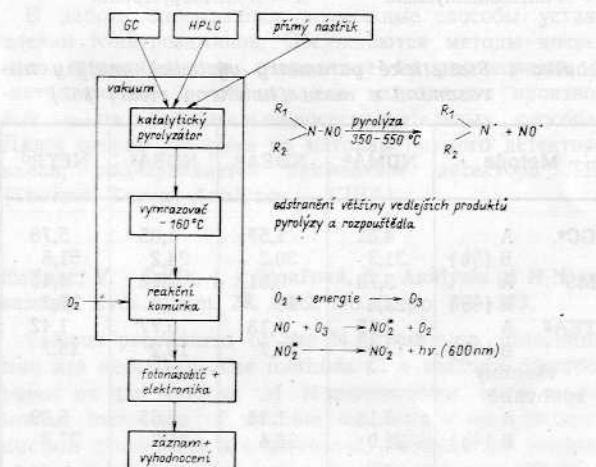


Obr. 3. Postup sledování koncentrací N-nitrososloučenin ve vzorcích pesticidů (TEA-GC, TEA-HPLC) [79]

### 3. CHEMILUMINISCENČNÍ DETEKTOR TEA

Blokové schéma detektoru TEA je na obr. 4 [80]. N-nitrososloučenina je v pyrolyzátoru rozštěpena v přítomnosti katalyzátoru (směs WO<sub>3</sub> a W<sub>20</sub>O<sub>56</sub>). Vazba N—N v >N—NO je relativně slabá. Její vazebná energie se pohybuje asi od 40–210 kJ/mol, zatímco energie vazeb

C—N, C—C a C—H se pohybuje zhruba v rozmezí 250 až 420 kJ/mol. Vazba N—N se štěpí při teplotě asi 450 °C. Ve vymrazovači se při –160 °C (směs isopentan-kapalný dusík) oddělí interferující složky do nitrosolových radikálů. Ty jsou nosným plynem vnášeny do reakční komůrky, kde reagují s ozónem za vzniku excitovaného NO<sub>2</sub>. Excitovaný NO<sub>2</sub> vyzáří při přechodu do základního stavu kvantum v oblasti 600–3000 nm. Emitované kvanturno, které je úměrné koncentraci nitrosaminů, je měřeno fotonásobičem, před nímž je umístěn červený optický filtr.



Obr. 4. Blokové schéma detektoru TEA [80]

Při detekci nitrosaminů detektorem TEA ve spojení s GC musí sloučenina splňovat tyto podmínky:

- a) nesmí se rozkládat v nástříkovém prostoru GC;
- b) musí mít dostatečnou tenzi par, aby se mohla eluovat z GC kolony;
- c) je z kolony eluována v závislosti na své struktuře;
- d) musí se rozkládat v pyrolyzátoru za mírných podmínek v přítomnosti katalyzátoru;
- e) musí „přežít“ vymrazení na –159 °C;
- f) musí reagovat s ozónem za emise v blízké infracervené oblasti.

Přes vysokou selektivitu detektoru TEA vůči nitrosaminům existuje nebezpečí ovlivnění výsledků některými interferujícími látkami, které mají na TEA rovněž odezvu [77, 78, 79]. Mezi tyto látky patří hlavně organické nitrity, C-nitro, C-nitrososloučeniny a pyroly [81]. Volbou vhodných pracovních podmínek přístroje (teplota pyrolyzy, průtok nosného plynu atd.) nebo vhodnou přípravou vzorku lze však interferenci těchto látek téměř zabránit [9, 78].

Detektor TEA má vyšší citlivost na nitrosamine než detektory AFID, ECD nebo CECD [80, 82, 83]. Citlivost detektoru je definována jako koncentrace stanovované látky, při které  $S/N = 3$ , kde  $S$  je úroveň signálu a  $N$  úroveň šumu způsobeného detektorem. Citlivost nelze zaměňovat za nejnižší prokazatelné množství stanovovaných látek. Výrobce detektoru TEA uvádí jako nejnižší prokazatelné množství 50–100 pg v nástříku [80].

### 4. PŘESNOST STANOVENÍ

Většina autorů vzhledem k rozsahu stanovovaných koncentrací nitrosaminů udává výsledky rozborů pouze na jedno desetinné místo bez udání přesnosti. K tomuto problému uvádí Brauwelt, že pro stanovení 2,5 ppb je nutno připustit interval 1,2–3,8 ppb [84]. Walker *et al.* [85] uvádějí pro obsah NDMA ve sladu 34,2 ppb směro-

Tabulka 3. Směrodatná odchylka a variační koeficient stanovení nitrosaminů v masu [52]

	NDMA <sup>a</sup>	NDEA <sup>b</sup>	NDBA <sup>c</sup>	NPYR <sup>d</sup>
Směrodatná odchylka	2,15	1,18	0,77	1,42
Variační koeficient (%)	13,9	25,7	10,2	15,7

a — N-nitrosodimethylamin  
b — N-nitrosodiethylamin

c — N-nitrosodibutylamin  
d — N-nitrosopyrrolidin

Tabulka 4. Statistiké parametry výsledků analýzy nitrosaminů v masu (luncheon meat) [87]

Metoda	NDMA <sup>a</sup>	NDEA <sup>b</sup>	NDBA <sup>c</sup>	NPYR <sup>d</sup>
GC <sup>e</sup>	4,61	1,57	1,65	5,76
	B (%)	31,3	36,2	51,8
MS <sup>f</sup>	A	3,73	0,91	4,41
	B (%)	24,8	18	37,2
TEA <sup>g</sup>	A	2,15	1,18	0,77
	B (%)	13,9	25,7	10,2
všechny souhrnně	A	3,18	1,18	2,53
	B (%)	21,0	25,4	35,7
				3,99
				37,7

a — N-nitrosodimethylamin  
b — N-nitrosodiethylamin  
c — N-nitrosodibutylamin  
d — N-nitrosopyrrolidin  
e — plynová chromatografie s detektorem selektivním na dus.k (AFID, NPD, CECD)

f — hmotnostní spektrometrie  
g — TEA ve spojení s GC, příp. s HPLC

A — směrodatná odchylka

B — variační koeficient

datnou odchylku 9,62 a variační koeficient 28,1 % [86], pro 6,25 ppb NDMA uvádějí směrodatnou odchylku 1,97 ppb a variační koeficient 31,6 %. Tyto hodnoty byly získány statistickým vyhodnocením 37 laboratoří z 10 různých zemí. Walker rovněž uvádí statistické parametry získané při stanovení nitrosaminů v masu v 10 laboratořích metodou s TEA (tab. 3) [52].

Castegnaro a Walker [87] se zabývali srovnáním přesnosti stanovení různých metod používaných pro stanovení nitrosaminů. Rozeslali do 18 vybraných laboratoří vzorky masa (luncheon meat) s přesným přídavkem nitrosaminů. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 4.

## ZÁVĚR

Je třeba zdůraznit, že v současné době se ve světě pro stanovení nitrosaminů používají hlavně metody GC-MS a GC-TEA, popř. HPLC-TEA. Metody s využitím detektoru TEA však převládají jak při kontrolních analýzách, tak ve výzkumu, protože pracnost ve srovnání s jinými metodami je mnohem menší, což je rozhodující i při vysoké pořizovací hodnotě přístrojů.

## Literatura

- [1] KELLNER, V., ČULÍK, J., BASAROVÁ, G.: Kvas. prům. **28**, 1982, s. 7.
- [2] HEATH, D. F., JARVIS, J. A. E.: Analyst (London) **80**, 1955, s. 613.
- [3] DEVIK, O. G.: Acta Chem. Scand. **21**, 1967, s. 2302.
- [4] WALTERS, C. L., JOHNSON, E. M., RAY, N.: Analyst (London), **95**, 1970, s. 485.
- [5] ENDER, F., CEH, L.: Z. Lebensm. Unters. Forsch. **145**, 1971, s. 133.
- [6] NEURATH, G., PIERMAN, B., DUENGER, M.: Ber. **97**, 1964, s. 1631.
- [7] Výzkumná zpráva č. 2295, díl V. Výzkumný ústav organických syntéz, Pardubice-Rybítví 1979.
- [8] Výzkumná zpráva č. 2367, díl V. Výzkumný ústav organických syntéz, Pardubice-Rybítví 1980.
- [9] EISENBRAND, G.: N-Nitrosoverbindungen in Nahrung und Umwelt, kap. 3. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart 1981.
- [10] EISENBRAND, G., PREUSSMANN, R.: Arzneim. Forsch. **20**, 1970, s. 1517.
- [11] PREUSSMANN, R., DAIBER, D., HENGY, H.: Nature (London) **201**, 1964, s. 502.
- [12] PREUSSMANN, R., NEURATH, G., WULF-LORENTZEN, G., DAIBER, D., HENGY, H.: Z. Anal. Chem. **202**, 1964, s. 187.
- [13] NAGATA, Y., MIRNA, A.: Fleischwirtschaft **54**, 1974, s. 1781.
- [14] SEN, N. P., SMITH, D. C., SCHWINGHAMER, L., MARLEAU, J. J.: J. Ass. Offic. Anal. Chem. **52**, 1969, s. 47.
- [15] EISENBRAND, G.: IARC Sci. Publ. **3**, 1972, s. 64.
- [16] EISENBRAND, G., PREUSSMANN, R.: Arzneim. Forsch. **20**, 1979, s. 1513.
- [17] COX, G. B.: J. Chromatogr. **83**, 1973, s. 471.
- [18] FRITZ, W., UHDE, J.: Nahrung **24**, 1980, č. 4/5, s. 471.
- [19] VERHAGEN, L. C., STRATING, J.: J. Inst. Brew. **87**, 1981, s. 57.
- [20] YOUNG, J. C.: J. Chromatogr. **124**, 1976, s. 17.
- [21] YOUNG, J. C.: J. Chromatogr. **151**, 1978, s. 215.
- [22] YOUNG, J. C., KHAN, S. U., MARRIAGE, P. B.: J. Agric. Food Chem. **25**, 1977, s. 918.
- [23] EISENBRAND, G., PREUSSMANN, R.: IARC Sci. Publ. **18**, 1978, s. 199.
- [24] EISENBRAND, G., RAPPARD, von E., ZAPPE, R., PREUSSMANN, R.: IARC Sci. Publ. **14**, 1976, s. 65.
- [25] SEN, N. P.: J. Chromatogr. **51**, 1970, s. 301.
- [26] ALTHORPE, J., GODDARD, D. A., SISSONS, D. J., TELLING, G. M.: J. Chromatogr. **53**, 1970, s. 371.
- [27] CASTEGNARO, M., WALKER, E. A. v knize Proceedings of the Second Int. Symposium on Nitrite in Meat Products. (B. J. Tinbergen, B. Krol, Eds.), str. 187. Centre for Agricultural Publishing And Documentation, Zeist 1976.
- [28] HOFFMANN, D., RATHKAMP, G., LIN, Y. Y.: IARC Sci. Publ. **9**, 1974, s. 159.
- [29] ALLISTON, T. G., COX, B. G., KIRK, R. B.: Analyst (London) **97**, 1972, s. 915.
- [30] FIDDLER, W.: Toxicol. Appl. Pharmacol. **31**, 1975, s. 352.
- [31] HEYNIS, K., ROEPER, H., STOLZENBURG, K.: Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm. **5**, 1978, č. 5, s. 155.
- [32] POPOVICH, J. J., DIXON, J. B., EHRLICH, B. J.: J. Chromatogr. Sci. **17**, 1979, s. 643.
- [33] KUBACKI, S. J., BORYS, A.: IARC Sci. Publ. **18** (1), 1978, s. 189.
- [34] WALKER, E. A., CASTEGNARO, M., PIGNATELLI, B.: IALC Sci. Publ. **18** (1), 1978, s. 175.
- [35] N-Nitroso Compounds. Analysis and Formation. Proc. Working Conference, Heidelberg, FRG, October 1971, IARC Sci. Publ. **3**, 1972.
- [36] HOWARD, J. W., FAZIO, T., WATTS, J. O.: J. Ass. Offic. Anal. Chem. **53**, 1970, s. 269.
- [37] FIDDLER, W., DOERR, R. C., ERTEL, J. R., WASSERMAN, A. E.: J. Ass. Offic. Anal. Chem. **54**, 1971, s. 1160.
- [38] FIDDLER, W., FEINBERG, J. I., PENSABENE, J. W., WILLIAMS, A. C., DOOLEY, C. J.: Food Cosmet. Toxicol. **13**, 1975, s. 653.
- [39] KAWABATA, T.: IARC Sci. Publ. **9**, 1974, s. 154.
- [40] FAZIO, T., HOWARD, J. W., WHITE, R. H.: IARC Sci. Publ. **3**, 1972, s. 18.
- [41] CROSBY, N. T., FOREMAN, J. K., PALFRAMAN, J. F., SAWYER, R.: IARC Sci. Publ. **3**, 1972, s. 38.
- [42] WASSERMAN, E. A., FIDDLER, W., DOERR, R. C., OSMAN, S. F., DOOLEY, C. J.: Food Cosmet. Toxicol. **13**, 1972, s. 681.
- [43] HAVERY, D. C., KLINE, D. A., MILETTA, E. M., JOE, F. L., FAZIO, T.: J. Ass. Offic. Anal. Chem. **59**, 1976, s. 540.
- [44] COULSON, D. M.: J. Gas Chromatogr. **3**, 1965, s. 134.
- [45] RHOADES, J. W., JOHNSON, D. E.: J. Chromatogr. Sci. **8**, 1970, s. 616.
- [46] RHOADES, J. W., JOHNSON, D. E.: J. Natl. Cancer Inst. **48**, 1972, s. 1841.
- [47] SEN, N. P., DONALDSON, B. A., IYENGAR, J. R., PANALAKS, T.: Nature (London) **241**, 1973, s. 473.
- [48] SEN, N. P., IYENGAR, J. R., DONALDSON, B. A., PANALAKS, T., MILES, W. F.: IARC Sci. Publ. **9**, 1974, s. 49.
- [49] SEN, N. P., DONALDSON, B. A., SEAMAN, S., IYENGAR, J. R., MILES, W. F.: J. Agric. Food Chem. **24**, 1976, s. 397.
- [50] SEN, N. P., SEAMAN, S., MILES, W. F.: Food Cosmet. Toxicol. **14**, 1976, s. 167.
- [51] PALFRAMAN, J. F., MACNAB, J., CROSBY, N. T.: J. Chromatogr. **76**, 1973, s. 307.
- [52] WALKER, E. A. v knize Developments in Chromatography — 2 (C. E. H. Knapman, Ed.), kap. 3. Applied Science Publ. Ltd., London 1980.
- [53] GOODHEAD, K., GOUGH, T. A.: Food Cosmet. Toxicol. **13**, 1975, s. 307.
- [54] HALL, R. C.: J. Chromatogr. Sci. **12**, 1974, s. 152.
- [55] COLLIN, J.: Bull. Soc. Roy. Sci. Liège, **23**, 1954, s. 201.
- [56] SAXBY, M. J.: J. Ass. Offic. Anal. Chem. **55**, 1972, s. 9.
- [57] SCHROLL, G., COOBS, R. G., KLEMMENSEN, P., LAWESSON,

- S. O.: *Ark. Kemi.* **28**, 1967, s. 413. *Chem. Abstr.* **69**, 1968, 26 600v.
- [58] LIJINSKY, W., CHRISTIE, W. H., RAINES, W. T.: Report ORNL-TM-4359, 1973, s. 109. Citováno podle *Nucl. Sci. Abstr.* **28**, 1973, č. 11, 29536. *Chem. Abstr.* **80**, 1974, 75 618 t.
- [59] RAINES, W. T., CHRISTIE, W. H., PRITCHARD, C. A., LIJINSKY, W.: Report ORNL-TM-5500, 1977. Citováno podle ERDA Energy Res. Abstr. **2**, 1977, 3807. *Chem. Abstr.* **86**, 1977, 154 796 b.
- [60] GADBOIS, D. F., RAVES, E. M., LUNDSTROM, R. C., MANEY, R. S.: *J. Agric. Food Chem.* **23**, 1975, s. 665.
- [61] GAFFIELD, W., FISH, R. H., HOLMSTEAD, R. L., POPPITT, J., YERGEY, A. L.: IARC Sci. Publ. **14**, 1976, s. 11.
- [62] GOUGH, T. A.: *Analyst (London)* **103**, 1978, s. 785.
- [63] FAZIO, T., DAMICO, J. N., HOWARD, J. W., WHITE, R. H., WATTS, J. O.: *J. Agric. Food Chem.* **19**, 1971, s. 250.
- [64] FAZIO, T., WHITE, R. H., DUSOLD, L. D. L. R., HOWARD, J. W.: *J. Ass. Offic. Anal. Chem.* **56**, 1973, s. 919.
- [65] KAWABATA, T., NAKAMURA, M., MATSUI, M., ISHIBASHI, T.: IARC Sci. Publ. **18** (1), 1978, s. 97.
- [66] LEE, J. S., LIBBEY, L. M., SCANLAN, R. A., BARBOUR, J.: IARC Sci. Publ. **19**, 1978, s. 325.
- [67] BRUNNEMAN, K. D., HOFFMANN, D.: IARC Sci. Publ. **19**, 1978, s. 343.
- [68] STEPHANY, R. W., FREUDENTHAL, J., SCHULLER, P. L.: *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **97**, 1978, č. 6, s. 177. *Chem. Abstr.* **89**, 1978, 149 068y.
- [69] FONG, Y. Y., CHAN, W. C.: *Food Cosmet. Toxicol.* **11**, 1973, s. 841.
- [70] CROSBY, N. T., FOREMAN, J. K., PALFRAMAN, J. F., SAWYER, R.: *Nature (London)* **328**, 1972, s. 342.
- [71] GOUGH, T. A., WEBB, K. S.: *J. Chromatogr.* **79**, 1973, s. 57.
- [72] DOOLEY, C. J., WASSERMAN, A. E., OSMAN, S.: *J. Food Sci.* **38**, 1973, s. 1096.
- [73] TELLING, G. M., BRYCE, T. A., ALTHORPE, J.: *J. Agric. Food Chem.* **19**, 1971, s. 937.
- [74] SEN, N. P., IYENGAR, J. R., MILES, W. F., PANALAKS, T.: IARC Sci. Publ. **14**, 1976, s. 333.
- [75] CASTEGNARO, M., WALKER, E. A.: *Analysis* **6**, 1978, s. 437.
- [76] MAGEE, P. N., MONTESANO, R., PREUSSMANN, R.: ACS Monographs Series No. 173, kap. II, str. 491, C. E. SEARLE, Ed., Amer. Chem. Soc. 1976.
- [77] FIDDLER, W., DOERR, R. C., PIOTROWSKI, E. G.: IARC Sci. Publ. **19**, 1978, s. 33.
- [78] BAKER, J. K., CHENG-YU MA: IARC Sci. Publ. **19**, 1978, s. 19.
- [79] FAN, T. Y., KRULL, I. S., ROSS, R. D., WOLF, M. H., FINE, D. H.: IARC Sci. Publ. **19**, 1978, s. 3.
- [80] Firemní materiály výrobce TEA, Thermo Electron Corp., WALTHAM, U. S. A.
- [81] FINE, D. H., RUFEH, F., LIEB, D., ROUNBEHLER, D. P.: *Anal. Chem.* **47**, 1975, s. 1188.
- [82] ROEPER, H.: *J. Chromatogr.* **166**, 1978, s. 305.
- [83] FINE, D. H., ROUNBEHLER, D. P., SEN, N. P.: *J. Agric. Food Chem.* **24**, 1976, s. 980.
- [84] ANONYM: *Brauwelt* **120**, 1980, s. 1908.
- [85] WALKER, E. A., CASTEGNARO, M., SCRIBAN, R.: Bios **11**, 1980, s. 66.
- [86] ECKSCHLAGER, K., HORSÁK, I., KODEJS, Z.: *Vyhodnocování analytických výsledků a metod*, s. 26. SNTL, Praha 1980.
- [87] CASTEGNARO, M., WALKER, E. A.: IARC Sci. Publ. **19**, 1978, s. 53.

**Kellner, V. - Čulík, J. - Basařová, G.: Analytika N-nitrosaminů.** Kvas. prům., **28**, 1982, č. 5, s. 99—103.

V práci jsou popsány možné postupy stanovení N-nitrosaminů. Jsou diskutovány metody nepřímé detekce založené na rozštěpení N-nitrosaminů a tvorbě vhodných derivátů a na oxidačně-redukčních postupech. Dále jsou shrnutы metody přímé detekce s důrazem na použití detektoru TEA (Thermal Energy Analyzer — USA).

**Келлер, В., Чулик, И., Басаржова, Г.: Аналитика N-нитрозаминов.** Квас. прум., **28**, 1982, № 5, с. 99—103.

В работе описываются возможные способы установления N-нитрозаминов. Обсуждаются методы косвенного детектирования, основанные на расщеплении N-нитрозаминов и образовании подходящих производных и на окислительно-восстановительных способах. Далее собран материал по методам прямого детектирования, подчеркивается применение детектора TEA (Thermal Energy Analyzer — США).

**Kellner, V. - Čulík, J. - Basařová, G.: Analysis of N-Nitrosamine.** Kvas. prům. **28**, 1982, No. 5, pp. 99—103.

Various procedures of the N-nitrosamine determination are described. The methods of a indirect detection based on the splitting of N-nitrosamines with a following formation of suitable derivatives and oxido-reduction procedures are discussed. Further, the methods of the direct detection using the TEA detector (Thermal Energy Analyzer — USA) are described.

**Kellner, V. - Čulík, J. - Basařová, G.: Analytik der N-Nitrosamine.** Kvas. prům. **28**, 1982, Nr. 5, S. 99—103.

In der Arbeit werden die zur Bestimmung der N-Nitrosamine applizierbaren analytischen Methoden beschrieben. Es werden zuerst die Methoden zum indirekten Nachweis der N-Nitrosamine diskutiert, die auf der Aufspaltung der N-Nitrosamine, der Bildung geeigneter Derivate und auf Oxido-Reduktionsverfahren basieren. Im weiteren werden die Methoden zum direkten Nachweis zusammengefaßt, und zwar mit besonderer Hinsicht zu der Applikation des TEA - Detektors (Thermal Energy Analyzer — USA).