
**Tabac — Dosage des résidus de pesticides
organochlorés — Méthode par
chromatographie en phase gazeuse**

*Tobacco — Determination of organochlorine pesticide residues — Gas
chromatographic method*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 4389:1997](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f8445f41-dc69-49e3-9843-cbf57a77f623/iso-4389-1997)

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f8445f41-dc69-49e3-9843-
cbf57a77f623/iso-4389-1997](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f8445f41-dc69-49e3-9843-cbf57a77f623/iso-4389-1997)



Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

La Norme internationale ISO 4389 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 126, *Tabac et produits du tabac*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 4389:1981) et constitue une révision technique à la suite d'un examen approfondi réalisé par les membres du sous-groupe «Pesticides» du CORESTA.

Des progrès ont été réalisés et les modes opératoires ont été modifiées afin d'utiliser le toluène et le *n*-hexane au lieu du benzène et de l'acétonitrile. Des limites de détection plus basses peuvent être atteintes pour la plupart des composés dont la liste figure dans le tableau 1. Un essai circulaire impliquant 12 laboratoires a permis d'obtenir des données relatives à la répétabilité et la reproductibilité ainsi que sur la récupération des étalons ajoutés. Ces informations ne figuraient pas dans la première édition.

La méthode a prouvé qu'il n'y avait pas de pics chromatographiques interférants provenant de pesticides non organochlorés, pour le tabac en feuilles. Par contre, comme ceci ne peut être affirmé en ce qui concerne l'analyse des produits du tabac, le domaine d'application a été limité au tabac en feuilles.

© ISO 1997

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie et les microfilms, sans l'accord écrit de l'éditeur.

Organisation internationale de normalisation
Case postale 56 • CH-1211 Genève 20 • Suisse
Internet central@iso.ch
X.400 c=ch; a=400net; p=iso; o=isocs; s=central

Imprimé en Suisse

La méthode peut être utilisée sur les produits du tabac à la condition que l'analyste soit capable de reconnaître les interférences possibles sur le chromatogramme, et qu'il sache les identifier par une méthode de spectrométrie de masse. De telles méthodes appropriées ne pouvant actuellement être mises à la disposition de l'utilisateur, elles ne sont pas incluses dans la présente Norme internationale.

Il y a un besoin clairement identifié d'élaborer une méthode qui soit à la fois applicable au tabac en feuilles et aux produits du tabac. Les recherches se poursuivent actuellement, et il est possible que le domaine d'application de la troisième édition de la présente Norme internationale puisse, dans le futur, couvrir cet ensemble.

Les annexes A à C de la présente Norme internationale sont données uniquement à titre d'information.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 4389:1997](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f8445f41-dc69-49e3-9843-cbf57a77f623/iso-4389-1997)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f8445f41-dc69-49e3-9843-cbf57a77f623/iso-4389-1997>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 4389:1997

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f8445f41-dc69-49e3-9843-cbf57a77f623/iso-4389-1997>

Tabac — Dosage des résidus de pesticides organochlorés — Méthode par chromatographie en phase gazeuse

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode de dosage par chromatographie en phase gazeuse des résidus de pesticides dans le tabac y compris les feuilles de tabac.

La méthode s'applique au dosage dans les feuilles de tabac, des pesticides organochlorés dont la liste figure dans le tableau 1.

La méthode est particulièrement recommandée pour le dosage de ces substances dans les limites de détection données dans le tableau 1.

NOTE Les noms chimiques et les structures correspondant aux noms communs sont indiqués dans le tableau 1.

2 Références normatives

ISO 4389:1997
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f8445f41-dc69-49e3-9843-cbf57a77f623/iso-4389-1997>

Les normes suivantes contiennent des dispositions qui, par suite de la référence qui en est faite, constituent des dispositions valables pour la présente Norme internationale. Au moment de la publication, les éditions indiquées étaient en vigueur. Toute norme est sujette à révision et les parties prenantes des accords fondés sur la présente Norme internationale sont invitées à rechercher la possibilité d'appliquer les éditions les plus récentes des normes indiquées ci-après. Les membres de la CEI et de l'ISO possèdent le registre des Normes internationales en vigueur à un moment donné.

ISO 648:1977, *Verrerie de laboratoire — Pipette à un trait.*

ISO 1042:1983, *Verrerie de laboratoire — Fioles jaugées à un trait.*

ISO 3696:1987, *Eau pour laboratoire à usage analytique — Spécification et méthodes d'essai.*

ISO 4874:1981, *Tabac — Echantillonnage des lots de matière première — Principes généraux.*

3 Principe

Dans un extracteur type Soxhlet spécial, extraction par le *n*-hexane des résidus de pesticides d'un échantillon de tabac séché et broyé, mélangé avec du Florisil®. Dosage des résidus de pesticides par chromatographie en phase gazeuse sur un appareil équipé d'un détecteur à capture d'électrons sans autre purification.

4 Réactifs

4.1 Généralités

Tous les réactifs doivent être de qualité appropriée pour l'analyse des résidus de pesticides. Vérifier la pureté de tous les solvants avant l'analyse en réalisant un essai à blanc dans les mêmes conditions opératoires que celles utilisées pour l'échantillon pour essai (extraction et chromatographie en phase gazeuse) et s'assurer que sur le chromatogramme obtenu, la ligne de base ne présente pas de pics notables susceptibles d'interférer avec ceux des résidus de pesticides à doser.

Utiliser uniquement de l'eau dégazée répondant au minimum au grade 2 de l'ISO 3696.

Tableau 1 — Liste des substances de référence et limites de détection

Substance	Nom commun donné dans l'ISO 1750	Limite de détection µg/g
aldrine	aldrine	0,02
<i>trans</i> -chlordane	chlordane	0,02
<i>p,p'</i> -DDE	-	0,02
<i>o,p'</i> -DDT	-	0,04
<i>p,p'</i> -DDT	DDT	0,06
dieldrine	dieldrine	0,02
α-endosulfan	endosulfan	0,03
HCB	hexachlorobenzene	0,02
α-HCH ou α-BHC	HCH ou BHC	0,02
β-HCH ou β-BHC	HCH ou BHC	0,02
γ-HCH ou γ-BHC	gamma-HCH (lindane) ou gamma-BHC	0,01
δ-HCH ou δ-BHC	HCH ou BHC	0,02
heptachlore	heptachlore	0,02
heptachlore époxyde	-	0,02
<i>o,p'</i> -TDE ou <i>o,p'</i> -DDD	-	0,03
<i>p,p'</i> -TDE ou <i>p,p'</i> -DDD	TDE	0,02
<i>o,p'</i> -DDE	-	0,03

4.2 *n*-Hexane.

4.3 Substances de référence

Étalons certifiés, d'une pureté minimale de 95 % (*m/m*) des substances énumérées dans le tableau 1.

NOTE Le *trans*-chlordane est utilisé comme indicateur pour le chlordane (mélange technique). Si de l'α-endosulfan est détecté par cette méthode il est conseillé de réaliser le dosage de la somme de l'α-endosulfan, du β-endosulfan et du sulfate d'endosulfan par une méthode appropriée.

4.4 Étalon interne

Utiliser Mirex¹⁾, un pesticide qui n'est plus en usage actuellement (voir référence [2] en annexe C).

NOTE Mirex est le nom générique du dodécachloropentacyclo [5.2.1.0^{2,6}.0^{3,9}.0^{5,8}] décane.

4.5 Toluène.

4.6 Solution mère d'étalon interne

Peser, à 0,000 1 g près, 0,02 g de Mirex (4.4) dans une fiole jaugée de 100 ml. Ajuster au trait repère avec du *n*

le jaugée de

n-hexane, pour obtenir une solution contenant environ 5 µg/ml de Mirex. Conserver cette solution entre 0 °C et + 4 °C et à l'abri de la lumière. Dans ces conditions, la solution d'étalon interne est stable pour une durée d'au moins 6 mois.

4.7 Solutions étalons de pesticides

Conserver toutes les solutions de pesticides entre 0 °C et + 4 °C à l'abri de la lumière. Dans ces conditions, ces solutions sont stables pour une durée d'au moins 6 mois.

4.7.1 Solutions mères de chacun des étalons de pesticides

Peser à 0,000 1 g près, 0,02 g de chacun des pesticides dans des fioles jaugées individuelles de 100 ml. Ajuster chacune des fioles au trait avec du *n*-hexane afin d'obtenir des solutions mères étalons ayant une concentration approximative en pesticide de 200 µg/ml.

NOTE Dans le cas d'utilisation de β-HCH, préparer la solution mère correspondante en diluant le pesticide dans du toluène en raison de la solubilité réduite du *n*-hexane.

4.7.2 Solution mère mélangée A

Prélever à la pipette, 5 ml de chacune des solutions mères de chacun des étalons de pesticides (4.7.1) et les introduire dans une fiole jaugée de 200 ml. Ajuster au trait avec du *n*-hexane (ou du toluène si les conditions précisées dans la note de 4.7.1 s'appliquent) pour obtenir une solution contenant approximativement 5 µg/ml de chacun des pesticides.

4.7.3 Solution mère mélangée B

Prélever à la pipette 1 ml de la solution mère mélangée A (4.7.2) et l'introduire dans une fiole jaugée de 10 ml. Ajuster au trait repère avec du *n*-hexane pour obtenir une solution contenant approximativement 0,5 µg/ml de chacun des pesticides.

4.7.4 Solution d'étalonnage

Prélever à la pipette 1 ml de la solution-mère mélangée A (4.7.2) et 1 ml de solution d'étalon interne (4.6.1) et les placer dans une fiole jaugée de 100 ml. Ajuster au trait repère avec du *n*-hexane pour obtenir une solution contenant approximativement 0,05 µg/ml de chacun des pesticides et d'étalon interne.

¹⁾ Mirex est un exemple de produit approprié disponible sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

4.8 Florisil®²⁾, de 60 mesh à 100 mesh.

NOTE Florisil® est le nom commercial d'une variété particulière de silicate de magnésium. La granulométrie indiquée de 60 mesh à 100 mesh correspond à une gamme d'ouvertures de maille allant de 250 µm à 150 µm.

4.8.1 Exigences

La qualité du Florisil® est un des points les plus critiques de la méthode d'essai. L'activité du Florisil® doit être suffisante pour retenir les impuretés présentes dans l'extrait de l'échantillon tout en permettant l'éluion des résidus de pesticides. Il est donc nécessaire de procéder à un traitement préalable du Florisil® comme indiqué en 4.8.2 et de n'utiliser que du Florisil® ayant satisfait à l'essai de vérification décrit en 4.8.3.

4.8.2 Traitement préalable

Placer une quantité suffisante de Florisil® pour l'essai de vérification dans une coupelle en quartz et chauffer dans un four à moufle à 550 °C pendant au moins 5 h. Laisser le Florisil refroidir dans un dessiccateur ne contenant pas de déshydratant, et transférer dans un ballon à fond rond. Ajouter 5 ml d'eau par 100 g de Florisil®. Mélanger soigneusement dans une fiole placée en rotation pendant environ 1 h. Laisser le Florisil® atteindre l'équilibre en le conservant dans un récipient en verre fermé étanche pendant au moins 48 h avant de procéder comme décrit en 4.8.3.

4.8.3 Vérification du niveau d'activité

Vérifier l'activité du Florisil® par l'extraction de la dieldrine à partir de la solution de *n*-hexane. La solution doit avoir une concentration équivalente à celle d'un extrait de tabac contenant 1,0 µg/g de ce pesticide. Le niveau d'activité du Florisil® prétraité est correct lorsque le taux de récupération de la dieldrine est supérieur à 95 %.

L'activité du Florisil® doit être vérifiée chaque fois qu'une nouvelle portion est préparée.

[ISO 4389:1997](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f8445f41-dc69-49e3-9843-cbf57a77f623/iso-4389-1997)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f8445f41-dc69-49e3-9843-cbf57a77f623/iso-4389-1997>

5 Appareillage

Il est essentiel de nettoyer parfaitement toute la verrerie avant utilisation et d'éviter d'utiliser des récipients en plastique et de la graisse sur les robinets d'arrêt, faute de quoi des impuretés pourraient s'introduire dans les solvants. Toutes les fioles jaugées et les pipettes doivent satisfaire aux spécifications de la classe A de l'ISO 1042 et de la classe A de l'ISO 648 respectivement.

Matériel courant de laboratoire et en particulier ce qui suit.

5.1 Évaporateur rotatif.

5.2 Broyeur à tabac, avec maille de 2 mm.

5.3 Four, avec ventilation.

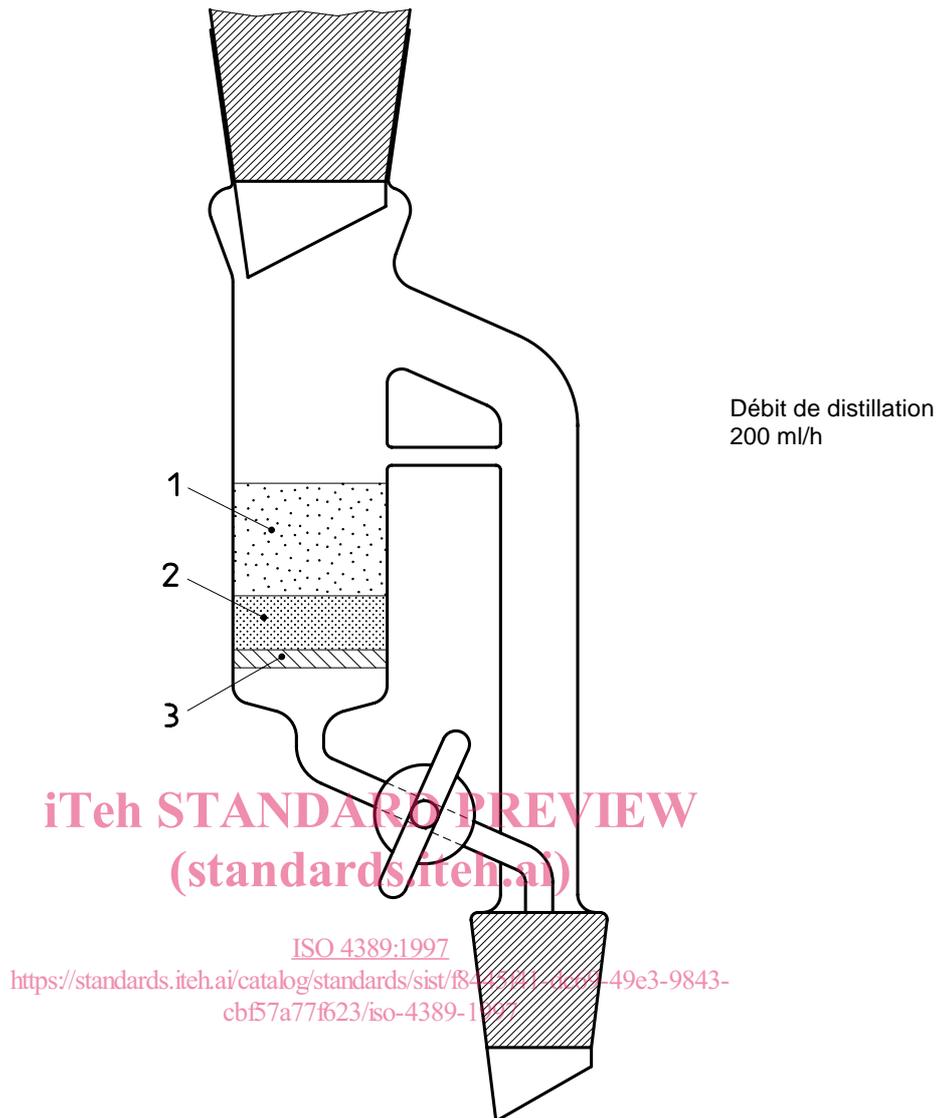
5.4 Four à moufle.

5.5 Chauffe-ballons.

5.6 Extracteur Soxhlet, pour extraction en continu (voir figure 1).

5.7 Réfrigérant à reflux.

²⁾ Florisil® est un exemple de produit approprié disponible sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.



Légende

- 1 Tabac + Florisil®
- 2 Florisil®
- 3 Disque filtrant porosité 1

Figure 1 — Appareil utilisé pour l'extraction du tabac

5.8

5.9 Coupelle en quartz.

5.10 Chromatographe en phase gazeuse.

5.10.1 Généralités

Utiliser le chromatographe en phase gazeuse en suivant les instructions données par le fabricant. Le bloc d'injection, le four et le détecteur doivent être équipés chacun d'une unité de chauffe séparée.

Les conditions indiquées de 5.10.2 à 5.10.7 ont été estimées appropriées avec un type d'instrument particulier et sont données à titre indicatif. Si d'autres conditions sont utilisées, elles doivent être validées au préalable.

5.10.2 Températures

La température de l'injecteur doit être comprise entre 180 °C et 210 °C. La température du détecteur doit être comprise entre 290 °C et 340 °C. Si d'autres conditions sont utilisées, elles doivent permettre une séparation satisfaisante de tous les composants, telle que celle représentée dans le chromatogramme type (voir figure A.1).

Le programme de température décrit ci-dessous convient :

- température initiale	40 °C
- durée initiale	2 min
- profil de température 1	20 °C/min de 40 °C à 150 °C
- profil de température 2	3 °C/min de 150 °C à 270 °C
- durée finale	15 min à 270 °C
- durée totale du cycle CPG	62,5 min

5.10.3 Débits des gaz

Les débits des gaz doivent être réglés selon les recommandations du fabricant et en tenant compte de l'expérience acquise.

Les conditions suivantes de débit des gaz conviennent :

- gaz vecteur	hélium, 4 ml/min
- gaz auxiliaire	azote, 30 ml/min
- purge du septum	5 ml/min
- débit de fuite	30 ml/min

iTech STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

5.10.4 Mode d'injection

Utiliser 2 µl splitless avec la vanne «split» fermée pendant 1 min après injection.

5.10.5 Dispositif d'injection

Utiliser un injecteur automatique ou tout autre moyen approprié d'injection.

Pour les injections manuelles, il est recommandé d'utiliser une micro-seringue pouvant injecter des volumes de 1 µl à 5 µl. Avant d'injecter des solutions avec la seringue, la rincer au moins 10 fois avec du *n*-hexane, puis 5 fois avec la solution. Après injection, rincer 5 fois la seringue avec du *n*-hexane.

5.10.6 Colonne

Il est recommandé d'utiliser une colonne capillaire en silice fondue, de 30 m de longueur et de 0,32 mm de diamètre intérieur, recouverte d'une phase stationnaire de 0,25 µm d'épaisseur de DB-5³⁾ (méthyl 5 % phénylsilicone). Les performances de la colonne doivent être suffisantes pour séparer correctement tous les composants, comme présenté sur le chromatogramme type (voir figure A.1).

5.10.7 Détecteur

Utiliser un détecteur à capture d'électrons de sensibilité suffisante pour détecter le signal de 2 µl d'une solution de *p,p'*-DDT à 0,0015 µg/ml (deux fois le bruit de la ligne de base).

³⁾ DB-5 est un exemple de produit approprié disponible sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

6 Échantillonnage et préparation de l'échantillon pour essai

6.1 Échantillonnage

Procéder à l'échantillonnage du tabac selon l'ISO 4874. S'assurer que l'échantillon pour essai est représentatif du produit reçu.

6.2 Préparation de l'échantillon pour essai

Sécher le tabac dans le four (5.3) à 50 °C pendant 2 h, jusqu'à ce que la teneur en eau soit approximativement égale à 5 % (m/m) après séchage.

Broyer le tabac dans le broyeur à tabac avec maille de 2 mm (5.2), en évitant d'élever la température au-dessus de 50 °C. Si le tabac qui est reçu est déjà broyé, s'assurer que sa teneur en eau est inférieure à 10 % (m/m).

Conserver le tabac à l'obscurité dans des récipients étanches. Les échantillons qui doivent être conservés plus d'un mois avant l'analyse doivent être conservés au réfrigérateur à une température inférieure à -8 °C.

7 Mode opératoire

7.1 Prise d'essai

Peser, à 0,01 g près, des prises d'essai de 5 g de tabac et les introduire dans des bechers de 50 ml. Ajouter 5 g de Florisil® désactivé prétraité (4.8) et mélanger soigneusement. Procéder ensuite comme décrit en 7.2 et 7.3.

7.2 Extraction

Ajouter 5 g de Florisil® désactivé (4.8) dans l'extracteur Soxhlet. Ajouter la prise d'essai préparée selon 7.1 sans mélanger de sorte que l'ensemble se présente sous forme de deux couches séparées.

NOTE À ce stade de l'essai, pour la détermination des taux de récupération, il convient d'ajouter à la pipette les solutions étalons de pesticides, sur le dessus de la couche de la prise d'essai.

Introduire 60 ml du *n*-hexane (4.2) et 1 ml de la solution d'étalon interne (4.6.1) dans un ballon approprié à fond rond de 150 ml à 250 ml de capacité.

Connecter les éléments de l'appareil d'extraction en s'assurant de l'étanchéité des raccords et enclencher les chauffe-ballons (5.5).

Régler le chauffage et le robinet de l'extracteur Soxhlet de façon à obtenir un débit de distillation d'au moins 200 ml par heure. Le niveau de *n*-hexane au-dessus du tabac doit être maintenu constant par ajustement du robinet de l'extracteur Soxhlet. Ne pas laisser le ballon s'assécher. La durée d'extraction totale est de 4 h 30 min.

Après extraction, laisser refroidir pendant au moins 30 min, et prélever une partie aliquote de l'extrait pour l'analyse par chromatographie en phase gazeuse. Ne faire aucune correction volumétrique.

7.3 Linéarité

Prélever, à la pipette, des parties aliquotes de 10 ml, 5 ml et 1 ml de la solution mère A mélangée (4.7.2) et les placer, respectivement, dans trois fioles jaugées de 100 ml de capacité. Ajouter à chaque fiole 1 ml de la solution d'étalon interne (4.6.1) et ajuster au trait avec du *n*-hexane (4.2). Prélever, à la pipette, deux parties aliquotes de 1 ml de solution mère B mélangée (4.7.3), et les placer dans deux fioles jaugées ayant respectivement 100 ml et 200 ml de capacité. Dans la fiole jaugée de 100 ml, ajouter ensuite 1 ml de solution d'étalon interne (4.6.1) et 2 ml de la solution d'étalon interne dans la fiole jaugée de 200 ml et ajuster les deux fioles au trait avec du *n*-hexane. Ceci donne des solutions dont les concentrations en pesticides sont respectivement d'environ 0,5 µg/ml, 0,25 µg/ml, 0,05 µg/ml, 0,005 µg/ml et 0,002 5 µg/ml.