
**Cigarettes — Détermination des alcaloïdes
dans les condensats de fumée — Méthode
spectrométrique**

*Cigarettes — Determination of alkaloids in smoke condensates —
Spectrometric method*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 3400:1997](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4ab546d0-5b71-4c7e-b9ef-436978f5f283/iso-3400-1997>



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 3400 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 126, *Tabac et produits du tabac*.

Cette troisième édition annule et remplace la deuxième édition (ISO 3400:1989), dont elle constitue une révision technique.

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

ITeCh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 3400:1997](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4ab546d0-5b71-4c7e-b9ef-436978f5f283/iso-3400-1997)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4ab546d0-5b71-4c7e-b9ef-436978f5f283/iso-3400-1997>

© 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

Cigarettes – Détermination des alcaloïdes dans les condensats de fumée – Méthode spectrométrique

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale prescrit une méthode pour le dosage spectrométrique des alcaloïdes dans les condensats de fumée de cigarettes. Le fumage des cigarettes et la collecte du courant principal de fumée sont normalement effectués conformément à l'ISO 4387. Néanmoins, la présente méthode est également applicable au dosage de la nicotine dans les condensats de fumée de cigarettes obtenus par un fumage non normalisé.

NOTE 1 L'ISO 4387 prescrit l'utilisation de la méthode par chromatographie en phase gazeuse pour le dosage de la nicotine dans les solutions de condensats de fumée (voir également l'ISO 10315). Dans les pays qui ne sont pas en mesure d'utiliser la méthode par chromatographie en phase gazeuse, il convient d'effectuer le dosage de la nicotine dans les condensats de fumée en appliquant la méthode décrite dans la présente Norme internationale, moyennant l'adjonction d'une note appropriée dans l'expression des résultats.

La présente Norme internationale permet de doser les alcaloïdes totaux, alors que l'ISO 10315 permet de doser uniquement la nicotine par séparation chromatographique en phase gazeuse. Des différences peuvent éventuellement apparaître du fait de la présence, dans certains types de tabac, de quantités minimales d'alcaloïdes autres que la nicotine.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4ab546d0-5b71-4c7e-b9ef-436978f5283/iso-3400-1997>

2 Références normatives

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 3696:1987, *Eau pour laboratoire à usage analytique - Spécifications et méthodes d'essai.*

ISO 4387:1991, *Cigarettes - Détermination de la matière particulaire totale et de la matière anhydre et exempte de nicotine au moyen d'une machine à fumer analytique de routine.*

ISO 13276:1997, *Tabac et produits du tabac - Détermination de la pureté de la nicotine - Méthode gravimétrique à l'acide tungstosilicique.*

3 Principe

Dissolution du condensat de fumée obtenu du courant principal de fumée dans un solvant. Entraînement à la vapeur d'eau d'une partie aliquote de la solution en deux étapes. Acidification de la solution avec un acide minéral et élimination des substances neutres et acides entraînés à la vapeur par distillation, puis, à partir de la même solution rendue fortement alcaline, distillation des alcaloïdes. Mesurage spectrométrique de l'absorbance du distillat provenant de la distillation alcaline et calcul de la teneur en alcaloïdes exprimés en nicotine.

4 Réactifs

Utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau de qualité 3, conformément à l'ISO 3696.

4.1 Propanol-2 [(CH₃)₂CHOH], solvant d'extraction.

4.2 Hydroxyde de sodium, solution, $c(\text{NaOH}) = 8 \text{ mol/l}$.

4.3 Acide sulfurique, solution, $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 1 \text{ mol/l}$.

4.4 Acide sulfurique, solution, $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,025 \text{ mol/l}$.

4.5 Nicotine, d'une pureté minimale de 98 %.

Conserver la nicotine à une température comprise entre 0 °C et + 4 °C à l'abri de la lumière.

Vérifier la pureté de la nicotine conformément à l'ISO 13276.

NOTE 2 Il est également possible d'utiliser de l'hydrogénotartrate de nicotine ayant une pureté minimale de 98 %.

5 Appareillage

Matériel courant de laboratoire et, en particulier, ce qui suit.

5.1 Appareil de distillation par entraînement à la vapeur d'eau, comprenant les éléments énumérés en 5.1.1 à 5.1.4.

Il est essentiel de vérifier régulièrement les performances de l'appareil de distillation par entraînement à la vapeur d'eau. Préparer une solution de nicotine pure en utilisant le solvant d'extraction (4.1) de telle sorte que la partie aliquote de 10 ml contienne une quantité exactement connue d'environ 5 mg. L'utiliser comme prise d'essai (6.2) et s'assurer que la récupération est supérieure à 98 %. Sinon, optimiser en modifiant la vitesse de distillation.

NOTE 3 Les schémas d'appareils couramment utilisés (annexe A, figures A.1 à A.3) sont donnés à titre d'exemples. D'autres appareils peuvent aussi être utilisés à condition qu'ils conduisent aux mêmes résultats.

5.1.1 Chambre de distillation.

Chambre cylindrique montée verticalement, d'environ 50 ml à 100 ml de capacité, et comportant à sa base une arrivée de vapeur.

Le système doit comprendre un chauffage auxiliaire permettant de maintenir constant le niveau du liquide pendant la distillation.

5.1.2 Tête de distillation anti-projection.

5.1.3 Réfrigérant à serpentin à double enveloppe, adaptable à la tête de distillation (5.1.2) par rodage sphérique.

5.1.4 Ampoule à introduire, ou autre système pour l'introduction de la solution d'hydroxyde de sodium.

Il est important d'empêcher tout échappement de vapeur par le bouchon au cours de l'introduction de la solution d'hydroxyde de sodium (4.2).

5.2 Spectromètre, couvrant les longueurs d'ondes comprises entre 230 nm et 290 nm. (Voir également la note 7.)

5.3 Cuves en quartz appariées, de 1 cm de parcours optique.

Des cellules en quartz appariées plus grandes peuvent être utilisées pour les très faibles concentrations en nicotine.

- 5.4 **Fioles jaugées**, de 250 ml de capacité, munies d'un bouchon rodé.
- 5.5 **Pipettes à un trait**, de 5 ml, 10 ml et 25 ml de capacité.
- 5.6 **Entonnoirs en verre**, de 55 mm de diamètre environ.
- 5.7 **Papier filtre**, à filtration rapide, d'un diamètre approprié à l'entonnoir en verre (5.6).

6 Mode opératoire

6.1 Préparation de l'échantillon pour essai

Préparer l'échantillon pour essai en dissolvant le condensat de fumée obtenu en fumant, par la machine à fumer, un nombre déterminé de cigarettes. Utiliser 25 ml de solvant (4.1) pour le disque de 44 mm et 50 ml pour celui de 92 mm. Il convient d'effectuer l'analyse dès que possible mais si un stockage est inévitable, conserver alors l'échantillon à une température comprise entre 0 °C et + 4 °C, à l'abri de la lumière.

Se reporter à l'ISO 4387 pour le fumage normalisé et la dissolution du condensat de fumée.

6.2 Prise d'essai

Prendre comme prise d'essai une partie aliquote (V_1) de la solution de condensat de fumée correspondant à environ 3 mg à 5 mg d'alcaloïdes.

NOTE 4 Cette prescription ne peut être remplie avec des cigarettes à basse teneur en nicotine.

6.3 Distillation

AVERTISSEMENT - Prendre toutes précautions utiles lors de la distillation, lors de l'ajout d'hydroxyde de sodium, et porter des vêtements de sécurité appropriés.

NOTE 5 Les quantités prescrites dans ce paragraphe sont adaptées au type d'appareil indiqué en 5.1. Si un autre appareil est utilisé, ces quantités peuvent être modifiées pourvu qu'elles conduisent aux mêmes résultats.

Introduire la prise d'essai (6.2) dans la chambre de distillation de l'appareil de distillation (5.1). Ajouter 10 ml de la solution d'acide sulfurique (4.3) et commencer la distillation. Recueillir environ 100 ml du distillat dans un bécher. Sans interrompre la distillation, retirer le bécher et éliminer le distillat. Insérer le tube à dispenser dans une fiole jaugée de 250 ml (5.4) contenant 10 ml de la solution d'acide sulfurique (4.3). S'assurer que l'extrémité du tube est immergée dans l'acide. Ajouter lentement 5 ml de la solution d'hydroxyde de sodium (4.2) et fermer l'ampoule d'introduction après passage de la dernière goutte. Recueillir 220 ml à 230 ml de distillat. Retirer la fiole en rinçant le tube à dispenser avec un peu d'eau. Arrêter la distillation et rincer l'appareil de distillation. En s'assurant que la fiole est à la température ambiante, diluer jusqu'au trait de jauge (volume V_2) avec de l'eau. Agiter et utiliser cette solution pour réaliser la détermination spectrométrique des alcaloïdes dans le condensat de fumée. Filtrer si la solution n'est pas claire.

NOTE 6 Si une filtration est nécessaire, éliminer les premiers 150 ml du filtrat ou bien laver le papier filtre avec une quantité suffisante d'eau, puis le sécher avant emploi.

6.4 Dosage des alcaloïdes dans le distillat

À l'aide du spectromètre (5.2), mesurer l'absorbance du filtrat aux longueurs d'ondes de 236 nm, 259 nm et 282 nm par rapport à une solution de référence préparée à partir de 10 ml de solution d'acide sulfurique (4.3) dilués jusqu'à 250 ml avec de l'eau.

Si l'absorbance à 259 nm est supérieure à 0,8 diluer une partie aliquote (V_3) du distillat jusqu'à un volume approprié (V_4) avec la solution d'acide sulfurique (4.4) et mesurer l'absorbance de cette solution comme ci-dessus. La solution de référence est également diluée avec la solution d'acide sulfurique (4.4) jusqu'à un volume approprié (V_4) identique à celui de la partie aliquote (V_3). Si l'absorbance à 259 nm est inférieure à 0,2, utiliser des cellules plus grandes (5.3).

Effectuer deux déterminations sur le même échantillon pour essai dans les mêmes conditions.

7 Calcul et expression des résultats

Pour chaque opération élémentaire de fumage, la teneur en alcaloïdes, H_{nic} , du condensat de fumée, exprimée en nicotine, en milligrammes par cigarette, est donnée par la formule

$$H_{\text{nic}} = \frac{A V_0 V_2 V_4}{a l V_1 V_3 n} \quad \dots (1)$$

où

- a est le coefficient d'extinction spécifique de la nicotine dans la solution d'acide sulfurique à 0,025 mol/l (4.4) (c'est-à-dire 34,3 au maximum d'absorption de 259 nm), donné en $\text{ml} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$;
- A est l'absorbance corrigée (extinction) calculée à partir des absorbances mesurées aux longueurs d'ondes de 236 nm, 259 nm et 282 nm, à l'aide de la formule:

$$A = 1,059 \left(A_{259} - \frac{A_{236} + A_{282}}{2} \right) \quad \dots (2)$$

- l est la longueur, en centimètres, du parcours optique de la cuve;
- V_0 est le volume, en millilitres, de la solution de propanol-2 du condensat de fumée brut;
- V_1 est la partie aliquote, en millilitres, du volume V_0 , utilisée pour la distillation;
- V_2 est le volume, en millilitres, du distillat provenant de la distillation alcaline;
- V_3 est la partie aliquote, en millilitres, du distillat V_2 , utilisée pour la dilution ultérieure jusqu'à V_4 ;
- V_4 est le volume, en millilitres, auquel la partie aliquote V_3 du distillat a été ultérieurement diluée;
- n est le nombre de cigarettes fumées dans le piège à fumée.

NOTE 7 L'expérience a montré que la valeur donnée pour le coefficient d'extinction spécifique de la nicotine, c'est-à-dire 34,3, de même que le facteur de 1,059 pour l'absorbance corrigée dans l'équation établie dans la référence [2] (annexe B), ne s'appliquent pas à tous les spectromètres. Par conséquent, il convient de contrôler chaque spectromètre afin de s'assurer que ces facteurs sont valables à l'aide d'une série de solutions étalons de nicotine dans la gamme de travail.

Exprimer les résultats d'essais comme suit:

- a) teneur en alcaloïdes, exprimés en nicotine, en milligrammes par cigarette, à 0,01 mg près, pour chaque canal;
- b) teneur en alcaloïdes, exprimés en nicotine, comme étant la moyenne par cigarette, à 0,1 mg près.

8 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit indiquer le taux de nicotine par cigarette fumée et la méthode utilisée. Il doit, en outre, mentionner tous les détails opératoires ayant pu influencer le résultat (par exemple la pression atmosphérique au cours de l'analyse). Il doit également donner tous les détails nécessaires à l'identification de la cigarette fumée.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

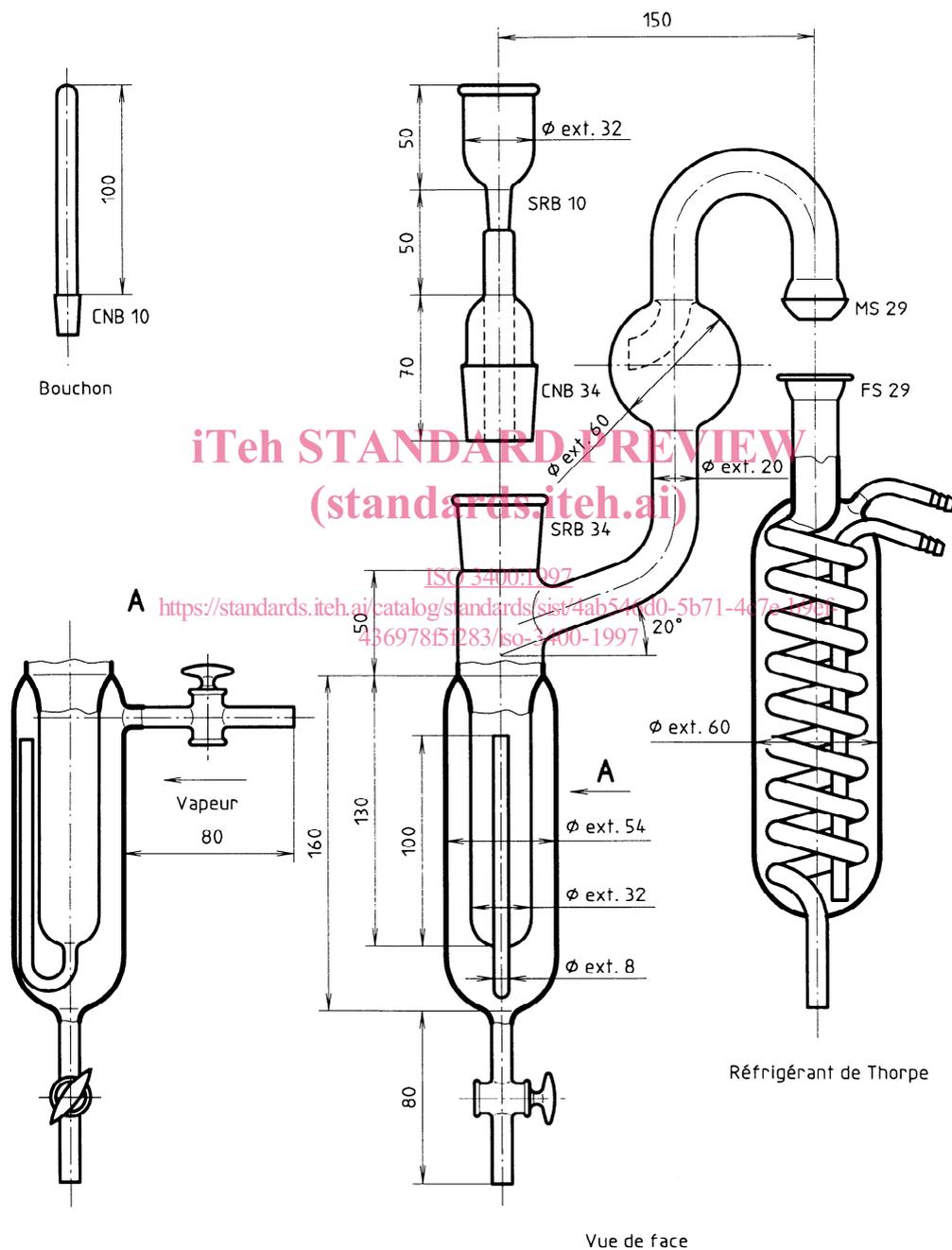
[ISO 3400:1997](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4ab546d0-5b71-4c7e-b9ef-436978f5f283/iso-3400-1997)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4ab546d0-5b71-4c7e-b9ef-436978f5f283/iso-3400-1997>

Annexe A (informative)

Schémas des appareils couramment utilisés

Dimensions en millimètres



NOTES

- 1 Toute la verrerie est en borosilicate d'épaisseur moyenne.
- 2 Robinets: PTFE, voie 4 mm.

Figure A.1 — Exemple d'appareil couramment utilisé

Dimensions en millimètres

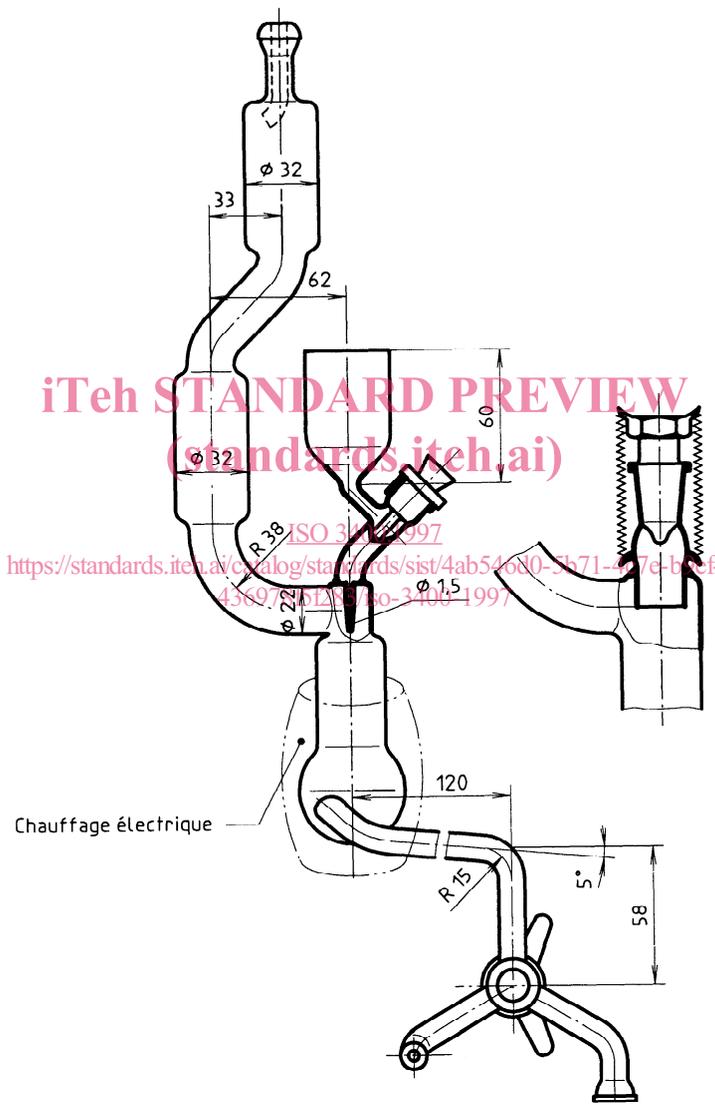


Figure A.2 — Exemple d'appareil couramment utilisé