
**Tabac — Détermination de la teneur en
hydrates de carbone réducteurs —
Méthode par analyse en flux continu**

*Tobacco — Determination of the content of reducing carbohydrates —
Continuous-flow analysis method*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 15154:2003](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/10e29f86-1a3a-4f8d-a0fd-db3522d363a6/iso-15154-2003)

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/10e29f86-1a3a-4f8d-a0fd-
db3522d363a6/iso-15154-2003](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/10e29f86-1a3a-4f8d-a0fd-db3522d363a6/iso-15154-2003)



PDF — Exonération de responsabilité

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO décline toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 15154:2003](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/10e29f86-1a3a-4f8d-a0fd-db3522d363a6/iso-15154-2003)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/10e29f86-1a3a-4f8d-a0fd-db3522d363a6/iso-15154-2003>

© ISO 2003

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'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.org
Web www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

1	Domaine d'application	1
2	Principe	1
3	Réactifs	1
4	Appareillage	2
5	Mode opératoire	3
6	Calculs	3
7	Répétabilité et reproductibilité	4
8	Rapport d'essai	4
	Annexe A (informative) Prévention de tout précipité de PAHBAH	5
	Annexe B (informative) Exemple d'analyseur à flux continu	6
	Bibliographie	7

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 15154:2003](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/10e29f86-1a3a-4f8d-a0fd-db3522d363a6/iso-15154-2003)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/10e29f86-1a3a-4f8d-a0fd-db3522d363a6/iso-15154-2003>

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 Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. 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.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

L'ISO 15154 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 126, *Tabac et produits du tabac*, sous-comité SC 2, *Tabacs en feuilles*.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 15154:2003
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/10e29f86-1a3a-4f8d-a0fd-db3522d363a6/iso-15154-2003>

Introduction

Un groupe de travail du CORESTA¹⁾ a étudié les différents modes opératoires utilisés pour la détermination des sucres réducteurs dans le tabac afin d'en retenir un qui deviendra la méthode recommandée par le CORESTA. Deux modes opératoires ont été adoptés: l'ISO 15153 et la présente Norme internationale. Des études menées par le groupe de travail du CORESTA entre 1989 et 1993 ont montré que ces deux méthodes peuvent ne pas donner les mêmes résultats. Pour certains tabacs, les résultats obtenus avec la méthode de l'ISO 15153 sont plus élevés que ceux obtenus avec la méthode de la présente Norme internationale car la méthode de l'ISO 15153 est sensible aux interférences dues aux substances réductrices, autres que les sucres et présentes dans le tabac. Des études interlaboratoires ont montré que l'extraction à l'eau distillée s'accompagne d'une hydrolyse du saccharose, dans le cas de certains tabacs.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 15154:2003](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/10e29f86-1a3a-4f8d-a0fd-db3522d363a6/iso-15154-2003)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/10e29f86-1a3a-4f8d-a0fd-db3522d363a6/iso-15154-2003>

1) CORESTA: Centre de coopération pour les recherches scientifiques relatives au tabac.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 15154:2003

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/10e29f86-1a3a-4f8d-a0fd-db3522d363a6/iso-15154-2003>

Tabac — Détermination de la teneur en hydrates de carbone réducteurs — Méthode par analyse en flux continu

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode pour la détermination de la teneur en hydrates de carbone réducteurs dans le tabac, par analyse en flux continu.

La présente méthode est applicable aux tabacs bruts et aux tabacs manufacturés.

2 Principe

Un extrait de tabac en solution dans l'acide acétique à 5 % est préparé et la teneur en hydrates de carbone réducteurs de l'extrait est déterminée par réaction avec de l'hydrazide *p*-hydrobenzoïque. Dans un milieu alcalin à 85 °C, se forme une osazone jaune qui possède un maximum d'absorption à 410 nm.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

3 Réactifs

Tous les réactifs doivent être utilisés selon les bonnes pratiques de laboratoire et les réglementations nationales en vigueur. Utiliser de l'eau distillée ou de pureté au moins équivalente.

3.1 Éther laurique de polyoxyéthylène (solution de Brij 35)

Ajouter 1 litre d'eau à 250 g de solution de Brij 35. Chauffer et agiter jusqu'à dissolution.

3.2 Solution d'hydroxyde de sodium, $c(\text{NaOH}) = 0,5 \text{ mol/l}$.

Préparer 1 litre de solution d'hydroxyde de sodium à 0,5 mol/l à partir d'ampoules ou dissoudre 20,0 g d'hydroxyde de sodium dans 800 ml d'eau. Mélanger et laisser refroidir. Après complète dissolution, ajouter 0,5 ml de solution de Brij 35 (3.1) et compléter à 1 litre avec de l'eau.

3.3 Solution de chlorure de calcium, $c(\text{CaCl}_2) = 0,008 \text{ mol/l}$.

Dissoudre 1,75 g de chlorure de calcium hexahydraté dans de l'eau. Ajouter 0,5 ml de solution de Brij 35 (3.1) et compléter à 1 litre avec de l'eau.

Si un précipité se forme, filtrer la solution à travers un papier-filtre Whatman n° 1²⁾ (ou l'équivalent).

3.4 Solution d'acide acétique (CH_3COOH), 5 % en fraction volumique.

Préparer une solution d'acide acétique à 5 % (fraction volumique) à partir d'acide acétique cristallisable. (Ceci est utilisé dans la préparation d'étalons, d'échantillons et de la solution de rinçage de l'analyseur à flux continu.)

2) Whatman n° 1 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.

3.5 Acide chlorhydrique dilué, $c(\text{HCl}) = 0,5 \text{ mol/l}$.

Verser 500 ml d'eau dans une fiole jaugée de 1 litre. Ajouter lentement 42 ml d'acide chlorhydrique concentré (37 % en fraction massique). Compléter au volume avec de l'eau.

3.6 Solution d'hydrazide *p*-hydrobenzoïque (PAHBAH), $(\text{HOC}_6\text{H}_4\text{CONHNH}_2)$.

Verser 250 ml d'acide chlorhydrique dilué (3.5) dans une fiole jaugée de 500 ml. Ajouter 25 g d'hydrazide *p*-hydrobenzoïque et laisser se dissoudre. Ajouter 10,5 g d'acide citrique monohydraté $[\text{HOC}(\text{CH}_2\text{COOH})_2\text{COOH}, \text{H}_2\text{O}]$. Compléter au volume avec de l'acide chlorhydrique dilué (3.5). Conserver à 5 °C et sortir du réfrigérateur uniquement le volume nécessaire pour couvrir les besoins journaliers.

Il est très important que le PAHBAH (de fraction massique > 97 %) soit pur puisqu'un précipité peut se former dans le courant analytique si la solution contient des impuretés. Il est possible de recristalliser le PAHBAH à partir de l'eau (voir [4]). Le PAHBAH est impur lorsque les caractéristiques suivantes sont observées:

- a) des particules sombres mélangées aux cristaux blancs de PAHBAH;
- b) une couleur jaune dans la solution de PAHBAH à 5 % préparée à partir de HCl à 0,5 mol/l;
- c) des difficultés à dissoudre les cristaux de PAHBAH dans du NaOH à 0,5 mol/l;
- d) des particules étrangères flottant dans le réactif;
- e) instabilité de la ligne de base pour le réactif.

Il est également possible de préparer une solution de PAHBAH comme suit. Verser les 250 ml d'acide chlorhydrique dilué dans un bécher. Chauffer à $45 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$ et ajouter, sans cesser d'agiter, le PAHBAH ainsi que l'acide citrique monohydraté à l'acide chlorhydrique dilué. Laisser refroidir la solution, la verser dans une fiole jaugée et compléter au volume. Il a été observé que le fait de préparer la solution de PAHBAH selon le présent mode opératoire évite la formation d'un précipité dans le flux analytique.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/10e29f86-1a3a-4f8d-a0fd-db3522d363a6/iso-15154-2003>

L'Annexe A donne d'autres méthodes relatives à la prévention de la formation de précipité de PAHBAH.

3.7 D-Glucose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$)

Conserver dans un dessiccateur.

3.8 Solutions étalons de glucose

3.8.1 Solution mère

Peser, à 0,1 mg près, environ 10,0 g de glucose (3.7). Dissoudre dans 800 ml d'acide acétique à 5 % (3.4) dans une fiole jaugée de 1 litre et compléter au volume avec de l'acide acétique. Cette solution contient environ 10 mg/ml de glucose. Conserver au réfrigérateur. Préparer une solution fraîche tous les mois.

3.8.2 Solutions d'étalonnage

À partir de la solution mère (3.8.1), préparer, par dilution avec l'acide acétique à 5 % (3.4), une série d'au moins cinq solutions d'étalonnage dont les concentrations en glucose couvrent la gamme de concentrations présumées des échantillons à analyser (par exemple de 0,2 mg/ml à 1,8 mg/ml). Calculer la concentration exacte pour chaque étalon. Conserver au réfrigérateur. Préparer des solutions fraîches toutes les deux semaines.

4 Appareillage

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

4.1 Analyseur à flux continu, comprenant

- un échantillonneur,
- une pompe volumétrique,
- un dialyseur,
- un bain-marie,
- des bobines de réaction,
- un colorimètre (ou l'équivalent) avec filtre(s) de 410 nm, et
- un enregistreur.

Voir un exemple à l'Annexe B.

5 Mode opératoire

5.1 Préparation des échantillons à analyser

Broyer les échantillons de tabac à analyser (il convient que la totalité de l'échantillon passe à travers un tamis de 1 mm d'ouverture de maille) et en déterminer le taux d'humidité. Si le tabac est trop humide pour être broyé, il peut être séché à une température n'excédant pas 40 °C.

5.2 Prise d'essai

Peser, à 0,1 mg près, environ 250 mg de tabac dans une fiole conique sèche de 50 ml. Ajouter 25 ml d'acide acétique (3.4), boucher la fiole et agiter pendant 30 min.

5.3 Préparation de l'extrait pour essai

Filtrer l'extrait à travers un papier-filtre Whatman n° 40³⁾ (ou l'équivalent). Rejeter les premiers millilitres de filtrat et recueillir le reste dans un flacon de l'analyseur.

Analyser les échantillons et les étalons de façon habituelle (par exemple commencer avec six extraits de tabac, des solutions d'étalonnage et des échantillons avec une solution d'étalonnage intermédiaire tous les six échantillons). Si les concentrations des échantillons se trouvent hors de la gamme d'étalonnage, les échantillons doivent être dilués avec la solution d'acide acétique (3.4) et l'analyse doit être recommencée.

Lors d'extractions à l'acide acétique à 5 %, la solution de rinçage doit être de l'acide acétique à 5 %.

NOTE Des solutions étalons combinées peuvent être préparées si la présente méthode est utilisée simultanément avec les méthodes décrites dans l'ISO 15152 ou dans l'ISO 15517. Après environ 2 semaines, un précipité peut se former dans les solutions mères combinées.

6 Calculs

6.1 Tracer la courbe représentative des hauteurs de pics en fonction des concentrations équivalentes en glucose pour toutes les solutions d'étalonnage.

3) Whatman n° 40 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.