

---

---

**Tabac et produits du tabac — Dosage des  
résidus de pesticides organochlorés —  
Méthode par chromatographie en phase  
gazeuse**

iTeh STANDARD PREVIEW

*Tobacco and tobacco products — Determination of organochlorine  
pesticide residues — Gas chromatographic method*

[ISO 4389:2000](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/51978da7-acac-4d36-b3d4-f065cc5b285/iso-4389-2000>



**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 4389:2000](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/51978da7-acac-4d36-b3d4-f065cc5b285/iso-4389-2000)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/51978da7-acac-4d36-b3d4-f065cc5b285/iso-4389-2000>

© ISO 2000

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.ch](mailto:copyright@iso.ch)  
Web [www.iso.ch](http://www.iso.ch)

Imprimé en Suisse

## 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 3.

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 de la présente Norme internationale 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.

La Norme internationale ISO 4389 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 4389:1997). À la suite d'un examen approfondi, le domaine d'application de la troisième édition a été étendu aux produits du tabac. Le Rectificatif technique 1:1998 a été inclus.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/51978da7-acac-4d36-b3d4-f065cc5b285/iso-4389-2000>

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

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 4389:2000

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/51978da7-acac-4d36-b3d4-f065cc5bf285/iso-4389-2000>

# Tabac et produits du 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 le tabac en feuilles, le tabac manufacturé et les produits du tabac.

La méthode est applicable au dosage 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 1 Il a été démontré que cette méthode, lorsqu'elle est appliquée à différentes sortes de tabac en feuilles, est exempte d'erreurs imputables à des pics de produits pesticides non organochlorés interférants sur le chromatogramme. Cependant, on ne peut pas supposer que cette affirmation s'étende à toutes les formes et variantes du tabac et des produits du tabac, et il convient de prendre des précautions dans l'interprétation de résultats inattendus et apparemment positifs. Certains chimistes sont partisans du recours à la spectrométrie de masse pour confirmer, dans de telles circonstances, la structure chimique des composés détectés par chromatographie.

NOTE 2 L'ISO 1750 contient les noms chimiques systématiques et les structures correspondant aux noms communs donnés dans le Tableau 1.

[ISO 4389:2000](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/51978da7-acac-4d36-b3d4-f065cc5b285/iso-4389-2000)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/51978da7-acac-4d36-b3d4-f065cc5b285/iso-4389-2000>

## 2 Références normatives

Les documents normatifs suivants contiennent des dispositions qui, par suite de la référence qui y est faite, constituent des dispositions valables pour la présente Norme internationale. Pour les références datées, les amendements ultérieurs ou les révisions de ces publications ne s'appliquent pas. Toutefois, les parties prenantes aux accords fondés sur la présente Norme internationale sont invitées à rechercher la possibilité d'appliquer les éditions les plus récentes des documents normatifs indiqués ci-après. Pour les références non datées, la dernière édition du document normatif en référence s'applique. Les membres de l'ISO et de la CEI possèdent le registre des Normes internationales en vigueur.

ISO 648, *Verrerie de laboratoire — Pipettes à un trait.*

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

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

ISO 4874, *Tabac — Échantillonnage des lots de matières premières — Principes généraux.*

ISO 8243, *Cigarettes — Échantillonnage.*

### 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®<sup>1)</sup>. Dosage, sans autre purification, des résidus de pesticides par chromatographie en phase gazeuse sur un appareil équipé d'un détecteur à capture d'électrons.

### 4 Réactifs

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.

**4.1 Eau**, dégazée, répondant au minimum au grade 2 de l'ISO 3696.

**4.2 *n*-Hexane**.

**4.3 Toluène**.

**4.4 Substances de référence**: étalons certifiés, d'une pureté minimale de 95 % (fraction massique), des substances énumérées dans le Tableau 1.

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

**4.5 Solution mère d'étalon interne**.

Utiliser du Mirex<sup>2)</sup>, un pesticide qui n'est plus en usage actuellement (voir référence [2] dans la bibliographie).

NOTE Mirex est le nom générique du dodécachloropentacyclo [5.2.1.0<sup>2,6</sup>.0<sup>3,9</sup>.0<sup>5,8</sup>] décane.

Peser, à 0,000 1 g près, 0,02 g de Mirex dans une fiole jaugée de 100 ml. Ajuster au trait repère avec du *n*-hexane (4.2).

**4.6 Solution d'étalon interne**.

À l'aide d'une pipette, prélever 5 ml de la solution mère d'étalon interne (4.5) et les placer dans une fiole jaugée de 200 ml. Ajuster au trait avec du *n*-hexane (4.2), pour obtenir une solution contenant environ 5  $\mu$ g/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.

---

1) 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.

2) 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.

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

Substance	Nom commun (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
$\alpha$ -Endosulfan	endosulfan	0,03
HCB	hexachlorobenzène	0,02
$\alpha$ -HCH ou $\alpha$ -BHC	HCH ou BHC	0,02
$\beta$ -HCH ou $\beta$ -BHC	HCH ou BHC	0,02
$\gamma$ -HCH ou $\gamma$ -BHC	gamma-HCH (lindane) ou gamma-BHC	0,01
$\delta$ -HCH ou $\delta$ -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

#### 4.7 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 chacune des substances de référence (4.4) dans des fioles jaugées individuelles de 100 ml. Ajuster chacune des fioles au trait avec du *n*-hexane (4.2) afin d'obtenir des solutions mères étalons ayant une concentration approximative en pesticide de 200 µg/ml.

Dans le cas d'utilisation de  $\beta$ -HCH, il convient de préparer la solution mère en diluant le pesticide dans du toluène (4.3) en raison de la solubilité réduite dans du *n*-hexane.

#### 4.7.2 Solution mère mélangée A.

À l'aide d'une pipette, prélever 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 (4.2) [ou du toluène (4.3) dans le cas d'utilisation de  $\beta$ -HCH] pour obtenir une solution contenant approximativement 5  $\mu$ g/ml de chacun des pesticides.

#### 4.7.3 Solution mère mélangée B.

À l'aide d'une pipette, prélever 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 (4.2) pour obtenir une solution contenant approximativement 0,5  $\mu$ g/ml de chacun des pesticides.

#### 4.7.4 Solution d'étalonnage.

À l'aide d'une pipette, prélever 1 ml de la solution mère mélangée A (4.7.2) et 1 ml de la solution d'étalon interne (4.6) et les placer dans une fiole jaugée de 100 ml. Ajuster au trait repère avec du *n*-hexane (4.2) pour obtenir une solution contenant approximativement 0,05  $\mu$ g/ml de chacun des pesticides et d'étalon interne.

#### 4.8 Florisil<sup>®</sup>, de 150 $\mu$ m à 250 $\mu$ m.

NOTE Florisil<sup>®</sup> est une variété particulière de silicate de magnésium. La gamme nominale d'ouvertures de maille de 150  $\mu$ m à 250  $\mu$ m correspond à une granulométrie indiquée de 60 mesh à 100 mesh.

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

4.8.2 Placer une quantité suffisante de Florisil<sup>®</sup> 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<sup>®</sup> refroidir dans un dessiccateur ne contenant pas de déshydratant, et transférer dans un ballon à fond rond. Ajouter 5 ml d'eau (4.1) par 100 g de Florisil<sup>®</sup>. Mélanger soigneusement dans une fiole placée en rotation pendant environ 1 h. Laisser le Florisil<sup>®</sup> 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 Vérifier le niveau d'activité du Florisil<sup>®</sup> 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  $\mu$ g/g de ce pesticide. Le niveau d'activité du Florisil<sup>®</sup> prétraité est correct lorsque le taux de récupération de la dieldrine est supérieur à 95 %.

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

## 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.

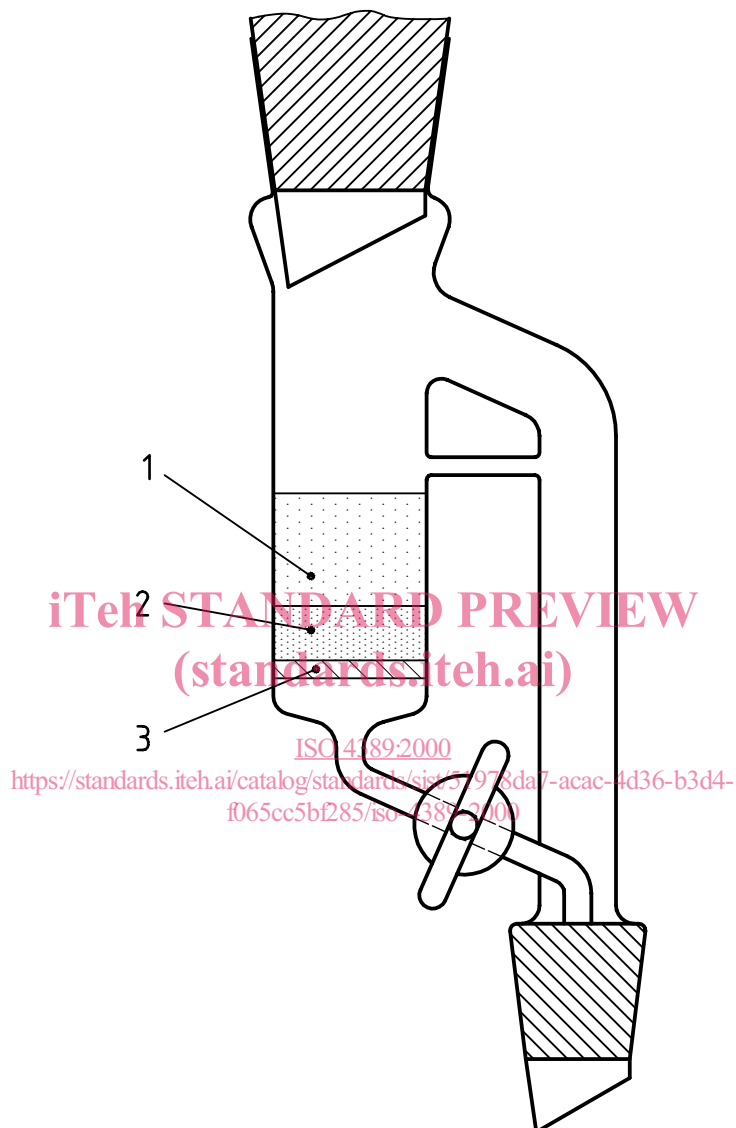
#### 5.3 Four, avec ventilation.



5.4 Four à moufle.

5.5 Chauffe-ballons.

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



#### Légende

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

NOTE Débit de distillation: 200 ml/h.

Figure 1 — Appareil utilisé pour l'extraction du tabac

**5.7 Réfrigérant à reflux.**

**5.8 Dessiccateur.**

**5.9 Coupelle en quartz.**

**5.10 Chromatographe en phase gazeuse.**

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 suivantes 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.

a) 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 (pour un exemple, 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

b) 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

c) Mode d'injection

Injecter 2 µl dans la boucle d'injection en maintenant la vanne fermée pendant 1 min après l'injection.

**5.10.1 Dispositif d'injection.**

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

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

### 5.10.2 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-5<sup>3)</sup> (5 % méthyl phénylsilicone). Les performances de la colonne doivent être suffisantes pour séparer correctement tous les composants, comme présenté sur le chromatogramme type (pour un exemple, voir Figure A.1).

### 5.10.3 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 0,001 5 µg/ml (deux fois le bruit de la ligne de base).

## 6 Échantillonnage et préparation de l'échantillon pour essai

### 6.1 Échantillonnage

Procéder à l'échantillonnage du tabac selon l'ISO 4874 ou des cigarettes selon l'ISO 8243. 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 % (fraction massique) 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 % (fraction massique).

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<sup>®</sup> prétraité (4.8) et mélanger soigneusement. Procéder ensuite comme décrit en 7.2 et 7.3.

### 7.2 Extraction

Ajouter 5 g de Florisil<sup>®</sup> prétraité (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.

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) dans un ballon approprié à fond rond de 150 ml à 250 ml de capacité.

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.