
**Tabac — Dosage des nitrosamines
spécifiques du tabac — Méthode
d'extraction par solution tampon**

*Tobacco — Determination of tobacco specific nitrosamines — Method
using buffer extraction*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 22303:2008](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2178d447-9c00-4bac-915b-cd4da730bf0b/iso-22303-2008)

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2178d447-9c00-4bac-915b-
cd4da730bf0b/iso-22303-2008](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2178d447-9c00-4bac-915b-cd4da730bf0b/iso-22303-2008)



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 22303:2008

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2178d447-9c00-4bac-915b-cd4da730bf0b/iso-22303-2008>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2008

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

Avant-propos.....	iv
Introduction	v
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Principe	1
5 Réactifs	2
6 Appareillage	2
7 Préparation de la solution d'extraction et des étalons	3
7.1 Préparation de la solution tampon d'extraction	3
7.2 Préparation de l'étalon interne	3
7.3 Préparation des étalons d'étalonnage	3
7.4 Réglage du chromatographe en phase gazeuse et du détecteur	4
7.5 Extraction du tabac et isolation des nitrosamines spécifiques du tabac	5
7.6 Concentration de l'extrait	5
8 Analyse des données et calcul des résultats	6
9 Répétabilité et reproductibilité	6
10 Rapport d'essai	7
Annexe A (informative) Exemples de chromatogrammes et de courbes d'étalonnage	8
Bibliographie	10

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 22303 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 126, *Tabac et produits du tabac*.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 22303:2008
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2178d447-9c00-4bac-915b-cd4da730bf0b/iso-22303-2008>

Introduction

Au cours de l'élaboration de la présente Norme internationale, des essais interlaboratoires ont été effectués à l'aide de deux méthodes différentes de dosage des nitrosamines spécifiques du tabac: la présente méthode par extraction par solution tampon et la méthode par extraction au chlorure de méthylène alcalin (voir Références [2] et [3]).

Ces études montrent qu'il n'existe aucune différence entre les résultats obtenus avec ces deux méthodes (voir Référence [4]). La méthode par extraction au chlorure de méthylène alcalin est décrite dans la Spécification technique ISO/TS 22304, (voir Référence [1]).

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 22303:2008](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2178d447-9c00-4bac-915b-cd4da730bf0b/iso-22303-2008)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2178d447-9c00-4bac-915b-cd4da730bf0b/iso-22303-2008>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 22303:2008

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2178d447-9c00-4bac-915b-cd4da730bf0b/iso-22303-2008>

Tabac — Dosage des nitrosamines spécifiques du tabac — Méthode d'extraction par solution tampon

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie le mode opératoire à suivre pour le dosage des nitrosamines spécifiques du tabac (TSNAs): N-nitrosornicotine (NNN), N-nitrosoanatabine (NAT), N-nitrosoanabasine (NAB) et 4-(méthylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) par chromatographie en phase gazeuse dans le tabac en feuilles broyées, le tabac manufacturé et les produits du tabac manufacturés.

2 Références normatives

Les documents de référence suivants sont indispensables pour l'application du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence (y compris les éventuels amendements) s'applique.

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

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

[ISO 22303:2008](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2178d447-9c00-4bac-915b-cd4da730bf0b/iso-22303-2008)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2178d447-9c00-4bac-915b-cd4da730bf0b/iso-22303-2008>

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants s'appliquent.

3.1

nitrosamines spécifiques du tabac

TSNAs

quatre nitrosamines sont prédominantes dans le tabac: la N-nitrosornicotine (NNN), la N-nitrosoanatabine (NAT), la N-nitrosoanabasine (NAB) et la 4-(méthylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK)

4 Principe

Les nitrosamines spécifiques du tabac sont extraites d'échantillons de tabac broyé à l'aide d'une solution tampon. La portion aqueuse de la solution tampon est absorbée sur de la terre de diatomées. Les nitrosamines spécifiques du tabac sont ensuite éluées de la terre de diatomées à l'aide de chlorure de méthylène et concentrées à l'aide d'azote dans un bain d'eau chauffé. Elles sont ensuite séparées et quantifiées par chromatographie en phase gazeuse avec détection par chimiluminescence. La quantification est réalisée par une technique d'étalonnage interne.

5 Réactifs

Utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue.

PRÉCAUTIONS DE SÉCURITÉ — Les nitrosamines sont considérées être des substances cancérigènes; il convient donc de prendre les précautions appropriées pour la préparation des étalons. Toujours porter des gants de laboratoire pour manipuler les solutions titrées et pour effectuer les dilutions.

- 5.1 **N-nitrosornicotine**, (NNN, CAS:¹⁾ 53759-22-1), $w \geq 98$ % (fraction massique).
- 5.2 **N-nitrosoanatabine**, (NAT, CAS: 71267-22-6), $w \geq 98$ %.
- 5.3 **N-nitrosoanabasine**, (NAB, CAS: 1133-64-8), $w \geq 98$ %.
- 5.4 **4-(méthylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone**, (NNK, CAS: 64091-91-4), $w \geq 98$ %.
- 5.5 **N-nitrosodi-*n*-hexylamine**, (NDHA, CAS: 6949-28-6) (étalon interne), $w \geq 98$ %.
- 5.6 **Acide citrique**, anhydre (CAS: 77-92-9), $w \geq 99,5$ %.
- 5.7 **Phosphate d'hydrogène de sodium**, (Na_2HPO_4), anhydre (CAS: 7558-79-4), $w \geq 99$ %.
- 5.8 **Acide L-ascorbique**, (CAS: 50-81-7), $w \geq 99$ %.
- 5.9 **Dichlorométhane**, (CAS: 75-09-02), $w \geq 99,9$ %.
- 5.10 **Eau**, (CAS: 7732-18-5), au moins conforme à la qualité 2 de l'ISO 3696.
- 5.11 **Azote**, (CAS: 7727-37-9), pour évaporateur d'éluant, $w \geq 99,995$ %.
- 5.12 **Hélium**, (CAS: 7440-59-7), pour gaz vecteur, $w \geq 99,995$ %.
- 5.13 **Oxygène**, (CAS: 7782-44-7), pour générer de l'ozone dans le détecteur, $w \geq 99,6$ %.

6 Appareillage

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

- 6.1 **Chromatographe en phase gazeuse (CG)**, avec un détecteur à chimiluminescence et un passeur d'échantillons (facultatif).
- 6.2 **Évaporateur de solvant**, pour concentrer l'extrait d'échantillon.
- 6.3 **Bain à ultrasons**, pour l'extraction de l'échantillon.
- 6.4 **Colonne de CG**, colonne capillaire en silice fondue d'une longueur de 30 m et d'un diamètre intérieur de 0,53 mm, revêtue d'un film de 3,0 μm de diméthylpolysiloxane à 100 %.

NOTE D'autres colonnes peuvent être utilisées si elles permettent d'obtenir une séparation satisfaisante.

1) CAS: Chemical Abstract Service.

- 6.5 Colonne de terre de diatomées calcinées**, d'une capacité de 100 ml.
- 6.6 Système de collecte de données chromatographiques**, permettant de mesurer les surfaces de pic par des moyens électroniques.
- 6.7 Fioles jaugées à un trait**, conformes à la classe A de l'ISO 1042.
- 6.8 Pipettes en verre jetables**, d'une longueur de 229 mm.
- 6.9 Systèmes de distribution de solvant inclinés en verre**, de volumes constants, 10 ml et 50 ml.
- 6.10 Erlenmeyers en verre**, d'une capacité de 125 ml.
- 6.11 Éprouvette graduée en verre**, d'une capacité de 250 ml.
- 6.12 Récipients à échantillons**, flacons en verre borosilicaté pour passeur d'échantillons, d'une capacité de 2 ml, fermés par un septum revêtu de PTFE.
- 6.13 Tube pour prélèvement**, d'une capacité de 300 ml.
- 6.14 Unité de réfrigération**, pour stocker des étalons à -20 °C .

7 Préparation de la solution d'extraction et des étalons

7.1 Préparation de la solution tampon d'extraction

Les quantités nécessaires pour préparer 2 l de solution tampon sont $(21,1 \pm 0,1)$ g d'acide citrique (5.6), $(25,6 \pm 0,1)$ g d'hydrogénophosphate de sodium (5.7) et $(7,0 \pm 0,1)$ g d'acide L-ascorbique (5.8). Le volume est complété à l'aide d'eau distillée déionisée et le mélange est homogénéisé jusqu'à dissolution de tous les solides. Il convient de préparer la solution tampon une fois par semaine et de la conserver à environ 4 °C lorsqu'elle n'est pas utilisée. La solution tampon d'extraction est limpide et incolore avec un pH de $(4,3 \pm 0,2)$.

7.2 Préparation de l'étalon interne

Préparer l'étalon interne en dissolvant le NDHA (5.5) dans le dichlorométhane (5.9) de manière à obtenir une réponse suffisante dans le chromatogramme. Par exemple, lorsque la masse de l'échantillon est de 1 g et que la dilution finale est de 2 ml, préparer l'étalon interne à une concentration massique d'environ $2,0\text{ }\mu\text{g}$ de NDHA par millilitre de dichlorométhane. On obtiendra ainsi une concentration massique d'environ $1,0\text{ }\mu\text{g}$ de NDHA par millilitre dans la dilution finale (en supposant que la récupération est complète), permettant la détection par le système de chromatographie. Conserver l'étalon interne à environ -20 °C lorsqu'il n'est pas utilisé.

7.3 Préparation des étalons d'étalonnage

Le Tableau 1 indique les concentrations types des étalons à utiliser pour l'analyse d'échantillons de tabac. Il convient d'utiliser pour l'étalonnage au moins quatre niveaux de nitrosamines spécifiques du tabac. Lorsqu'elles ne sont pas utilisées, conserver les solutions titrées à environ -20 °C .