

DIN ISO 15152



ICS 65.160

Entwurf

Einsprüche bis 2019-03-11
Vorgesehen als Ersatz für
DIN ISO 15152:2005-02

**Tabak –
Bestimmung des Gesamtalkaloidgehaltes als Nikotin –
Kontinuierliches Durchflussverfahren (ISO 15152:2003 + Amd.1:2012 +
Amd.2:2018);
Text Deutsch und Englisch**

Tobacco –

Determination of the content of total alkaloids as nicotine –
Continuous-flow analysis method (ISO 15152:2003 + Amd.1:2012 + Amd.2:2018);
Text in German and English

Tabac –

Détermination de la teneur en alcaloïdes totaux exprimés en nicotine –
Méthode par analyse en flux continu (ISO 15152:2003 + Amd.1:2012 + Amd.2:2018);
Texte en allemand et anglais

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2019-01-11 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfs besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal von DIN unter www.din.de/go/entwuerfe bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an nal@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL), 10772 Berlin, Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin.

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 38 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Inhalt

	Seite
Nationales Vorwort.....	3
Nationaler Anhang NA (informativ) Literaturhinweise	4
Vorwort	5
Einleitung	6
1 Anwendungsbereich.....	7
2 Normative Verweisungen	7
3 Kurzbeschreibung	7
4 Sicherheitsvorkehrungen.....	7
5 Chemikalien.....	10
5.1 Ethoxylierter Laurylalkohol (Brij-35-Lösung)	10
5.2 Pufferlösung A	10
5.3 Pufferlösung B	10
5.4 Chloramin-T-Lösung (N-Chlor-4-toluolsulfonamid-Natrium), [CH ₃ C ₆ H ₄ SO ₂ N(Na)Cl·3H ₂ O].....	10
5.5 Cyanid-Neutralisationslösung A.....	10
5.6 Cyanid-Neutralisationslösung B.....	10
5.7 ^[A1] Alternative Neutralisationslösung C	10
5.8 Kaliumcyanidlösung (KCN)	11
5.9 Nikotinhydrogentartrat [C ₁₀ H ₁₄ N ₂ (C ₄ H ₆ O ₆) ₂ ·2H ₂ O]	11
5.10 Nikotin-Standardlösungen.....	11
5.10.1 Stammlösung.....	11
5.10.2 Arbeitsstandardlösungen	11
6 Geräte.....	11
6.1 Durchflussanalysator, bestehend aus.....	11
6.2 Gewundene Mischkapillare zur Chlorcyan-Erzeugung.....	12
7 Durchführung.....	12
7.1 Herstellen der Proben für die Analyse	12
7.2 Prüfmenge	12
7.3 Herstellung des Prüfextraktes.....	12
8 Auswertung.....	13
9 Wiederholpräzision und Vergleichpräzision	13
10 Untersuchungsbericht.....	14
Anhang A (informativ) Angaben über alternative Analysenverfahren	15
Anhang B (informativ) Beispiel eines Durchflussanalysators.....	16
Anhang C (informativ) Herstellen einer 5-fach gewundenen Mischkapillare	17
Literaturhinweise.....	18

Nationales Vorwort

Die Internationale Norm ISO 15152:2003+Amd 1:2012 und Amd 2:2018 wurde vom ISO/TC 126 „Tabak und Tabakerzeugnisse“, Unterkomitee SC 2 „Blatt-Tabak“ (Sekretariat: Türkei und China) ausgearbeitet.

Der Arbeitsausschuss „Tabak- und Tabakerzeugnisse“ des Normenausschusses Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN beschloss die Ergänzung der im Jahr 2005 erschienenen DIN ISO 15152 durch die Aufnahme der im Jahr 2012 und 2018 erschienenen Änderung der ISO 15152.

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

Zur Bestimmung des Nikotingehaltes in Tabak und Tabakerzeugnissen existieren drei Normen, die unterschiedlichen Prinzipien folgen:

- der Spektralphotometrie
- der Gaschromatographie
- dem kontinuierlichen Durchflussverfahren.

Nach der aus dem internationalen Normenwerk übernommenen nationalen Norm DIN ISO 2881 werden die Gesamtalkaloide spektralphotometrisch bestimmt, nach DIN 10373 ausschließlich der Nikotingehalt auf gaschromatographischer Basis und bei der vorliegenden Norm die Gesamtalkaloide auf Basis des kontinuierlichen Durchflussverfahrens. Bei einigen Tabaksorten können gelegentlich Differenzen zwischen den Ergebnissen auftreten, wenn geringfügige Mengen anderer Alkaloide neben Nikotin auftreten.

Für die im Abschnitt 2 zitierte Internationale Norm wird im Folgenden auf die entsprechende Deutsche Norm hingewiesen.

ISO 13276:2017 siehe DIN ISO 13276:2018-09

Änderungen

Gegenüber DIN ISO 15152:2005-02 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Aufnahme eines Warnhinweises vor Abschnitt 1;
- b) Überarbeitung des Abschnitts 10 „Untersuchungsbericht“;
- c) Neuer Abschnitt für eine alternative Neutralisationslösung C ergänzt;
- d) Anhang B „Beispiel eines Durchflussanalysators“ überarbeitet;
- e) Norm redaktionell überarbeitet und damit an die derzeit gültigen Gestaltungsregeln angepasst.

Die vorgenommenen Änderungen wurden im Text mit folgenden Änderungsmarken gekennzeichnet:

- **A₁** **A₁** für hinzugefügten bzw. geänderten Inhalt
- **A₂** *gestrichener Text* **A₂** für gelöschten Inhalt

Nationaler Anhang NA
(informativ)

Literaturhinweise

DIN ISO 13276:2018-09, *Tabak und Tabakerzeugnisse — Bestimmung der Nikotinreinheit — Gravimetrisches Verfahren mit Kieselwolframsäure (ISO 13276:2017)*.

Vorwort

Die ISO (Internationale Organisation für Normung) ist die weltweite Vereinigung nationaler Normungsinstitute (ISO-Mitgliedskörperschaften). Die Erarbeitung Internationaler Normen obliegt den Technischen Komitees der ISO. Jede Mitgliedskörperschaft, die sich für ein Thema interessiert, für das ein Technisches Komitee eingesetzt wurde, ist berechtigt, in diesem Komitee mitzuarbeiten. Internationale (staatliche und nichtstaatliche) Organisationen, die mit der ISO in Verbindung stehen, sind an den Arbeiten ebenfalls beteiligt. Die ISO arbeitet bei allen Angelegenheiten der elektrotechnischen Normung eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) zusammen.

Internationale Normen werden in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC Direktiven, Teil 2 erstellt.

Die Hauptaufgabe der Technischen Komitees ist die Erarbeitung von Internationalen Normen. Die von den Technischen Komitees verabschiedeten internationalen Norm-Entwürfe werden den Mitgliedskörperschaften zur Abstimmung vorgelegt. Die Veröffentlichung als Internationale Norm erfordert Zustimmung von mindestens 75 % der abstimmenden Mitgliedskörperschaften.

Es wird darauf hingewiesen, dass die Möglichkeit besteht, dass einige Teile dieser Internationalen Norm Patentrechte berühren können. Die ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

ISO 15152 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 126 „*Tabak und Tabakerzeugnisse*“, Unterkomitee SC 2 „*Blatt-Tabak*“ erarbeitet.

Einleitung

Eine CORESTA-Arbeitsgruppe¹⁾ untersuchte die verschiedenen allgemein angewandten Verfahren zur Bestimmung des Gesamtalkaloidgehaltes in Tabak, um eines von diesen als "CORESTA Recommended Method" zu übernehmen. Zwei Verfahren wurden als ISO 2881 und als diese Internationale Norm angenommen. Die zwischen 1989 und 1993 von der CORESTA-Arbeitsgruppe durchgeführten Untersuchungen haben gezeigt, dass die beiden Verfahren für einige schwarze Tabaksorten oder solche Sorten, die wesentliche Gehalte an anderen Alkaloiden als Nikotin enthalten, unterschiedliche Ergebnisse liefern können. Die Untersuchungen ergaben, dass diese Unterschiede auf der Tatsache beruhen können, dass die Ausbeuten und Nachweisempfindlichkeiten der Verfahren für andere Alkaloide als Nikotin anders sind.

[A₁] WARNUNG — Bei der Anwendung dieser Norm ist es möglich, dass gefährliche Substanzen, Arbeitsgänge und Geräte angewendet werden. Diese Norm erhebt nicht den Anspruch, dass alle mit ihrer Anwendung verbundenen Sicherheitsprobleme angesprochen werden. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders dieser Norm, geeignete Vorkehrungen für die Sicherheit und den Gesundheitsschutz zu treffen und vor der Anwendung die Anwendbarkeit einschränkender Vorschriften zu bestimmen. [A₁]

¹⁾ CORESTA: Cooperation Centre for Scientific Research Relative to Tobacco.

1 Anwendungsbereich

Diese Internationale Norm legt ein Verfahren zur Bestimmung des Gesamtalkaloidgehaltes als Nikotin in Tabak mittels kontinuierlicher Durchflussanalyse fest.

Das Verfahren ist für verarbeiteten und unverarbeiteten Tabak anwendbar.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden zitierten Dokumente sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

ISO 13276, *Tobacco and tobacco products — Determination of nicotine purity — Gravimetric method using tungstosilicic acid*.

3 Kurzbeschreibung

Es wird ein wässriger Extrakt (siehe nachstehende Ausführungen) des Tabaks hergestellt und der Gesamtalkaloidgehalt (als Nikotin) des Extraktes durch Reaktion mit Sulfanilsäure und Chlorcyan bestimmt. Das Chlorcyan wird in-situ durch die Reaktion von Kaliumcyanid mit Chloramin-T erzeugt (siehe Anhang A). Die gebildete Farbintensität wird bei 460 nm gemessen.

Ringversuche haben gezeigt, dass dieses Verfahren gleichwertige Ergebnisse für Extrakte mit reinem Wasser und mit 5%-iger Essigsäure liefert. Wenn gleichzeitig Analysen auf Gesamtalkaloide (als Nikotin) und reduzierend wirkende Substanzen (siehe ISO 15153) oder reduzierend wirkende Kohlenhydrate (siehe ISO 15154) durchzuführen sind, wird die Verwendung von Extrakten mit 5%-iger Essigsäure empfohlen.

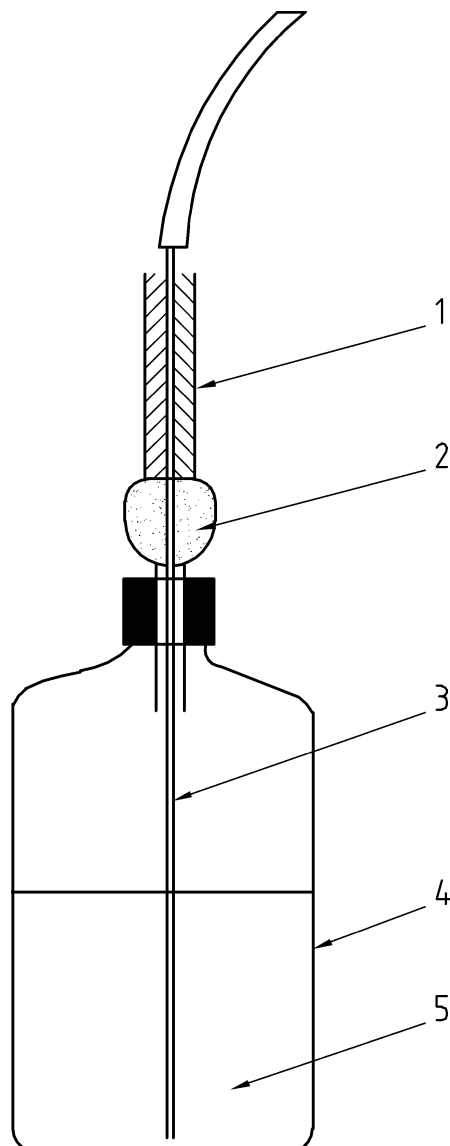
4 Sicherheitsvorkehrungen

WARNUNG —Kaliumcyanid ist giftig und ein Reizstoff, weshalb alle Sicherheitsvorkehrungen bei der Handhabung dieser Substanz beachtet werden müssen.

Die Lösungen sind von einer ernannten verantwortlichen Person herzustellen. Bei der Herstellung der Lösungen müssen immer Handschuhe und Schutzbrille getragen werden. Die Flaschen mit den hergestellten Reagenzien sind stets in einer geeigneten Sicherheitstragevorrichtung zu transportieren. Um ein Entweichen von Dampf in das Laboratorium zu vermeiden, müssen die Reagenz-Heberrohre durch eine Natronkalk-Falle in die Reagenz-Vorratsflasche führen (siehe Bild 1).

Die cyanid-neutralisierenden Lösungen A und B (5.5 und 5.6) müssen in einen 2-Liter-Büchnerkolben gepumpt und durch Magnetrühren (siehe Bild 2) gemischt werden. Alle Chlorcyan enthaltene Abfalllösungen müssen in diesen Kolben laufen, in dem die Überführung in den Eisen(III)-hexacyanoferrat(II)-Komplex (Berliner Blau) stattfindet. Der Inhalt des Büchnerkolbens muss über einen Überlauf in eine Vorratsflasche für Flüssigkeiten abfließen können, deren Inhalte über Nacht im Abzug aufzubewahren und dann als Abfall zu entsorgen sind. ^[A2] Alternativ ist die Neutralisationslösung C (5.7) durch das System zu pumpen und in einem 2-Liter-Büchner-Kolben zu mischen. ^[A2]

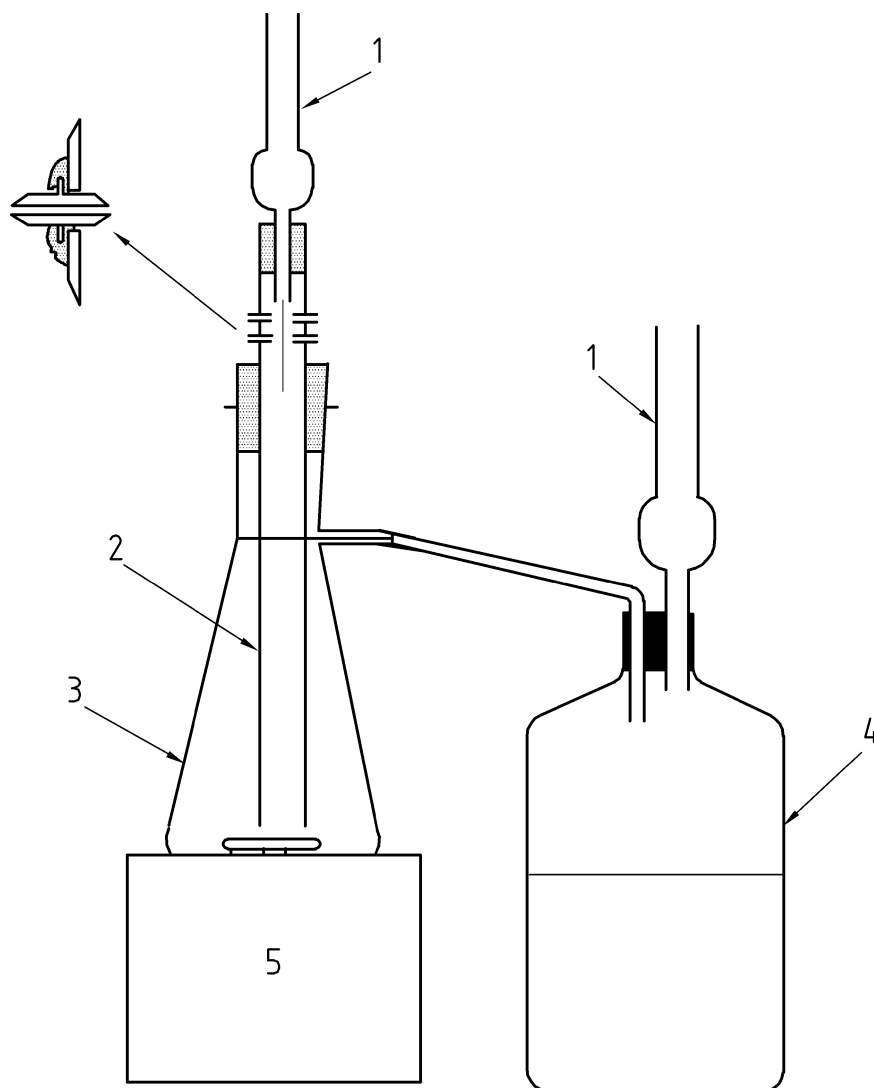
Geeignete medizinische Ausrüstungen zur Behandlung von Cyanidvergiftungen sind von Laborausrüstern erhältlich und müssen in der Nähe des von einer kompetenten Person bedienten Analysators bereit liegen.



Legende

- 1 Natronkalk
- 2 Baumwolle
- 3 Reagenz-Heberrohr
- 4 Aufbewahrungskolben
- 5 Reagenz

Bild 1 — Natronkalk-Falle



Legende

- 1 Natronkalk-Fallen
- 2 PVC-Rohr, Durchmesser 2 cm
- 3 Büchnerkolben
- 4 Vorratsflasche für Flüssigkeiten
- 5 Magnetrührwerk

ANMERKUNG Die Apparatur besteht aus einem 2-Liter-Büchnerkolben auf einem Magnetrührwerk, der mit einem durch einen Gummistopfen hindurchgehenden PVC-Rohr mit dem Durchmesser von 2 cm versehen ist, wobei das Rohr gerade oberhalb des im Kolben befindlichen Rührmagneten endet. In das Rohr sind vier Löcher gebohrt, in die Rohrstopfen eingeklebt sind. Die Chlorcyan enthaltende Rückzugleitung und Entgasungsleitung werden zusammen mit den zwei Leitungen für die Neutralisationsagenzien an diesen Stopfen befestigt. Diese Anordnung sorgt dafür, dass das Chlorcyan vor dem Überlaufen als Abfall erst durch das Rohr nach unten und dann durch den Kolben geleitet wird, wodurch die vollständige Neutralisation sichergestellt ist.

Bild 2 — Direkt angeschlossene Apparatur zur Zersetzung des Chlorcyans

5 Chemikalien

Alle Chemikalien müssen entsprechend der guten Laborpraxis und den bestehenden nationalen Bestimmungen eingesetzt werden. Es ist destilliertes Wasser oder Wasser von mindestens gleichwertiger Reinheit zu verwenden.

5.1 Ethoxylierter Laurylalkohol (Brij-35-Lösung)

Zu 250 g Brij 35 sind 1 Liter Wasser zu geben. Es ist bis zum vollständigen Lösen zu erwärmen und zu rühren.

5.2 Pufferlösung A

2,35 g Natriumchlorid (NaCl) und 7,60 g Natriumtetraborat ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) sind in Wasser zu lösen. Die Lösung ist in einen 1-Liter-Messkolben zu überführen, mit 1 ml Brij-35-Lösung (5.1) zu versetzen und mit Wasser bis zum Füllstrich zu verdünnen. Vor der Verwendung ist die Lösung durch ein Filtrierpapier (Whatman No. 1²⁾ oder ein gleichwertiges Filtrierpapier) zu filtrieren.

5.3 Pufferlösung B

Es sind 26 g wasserfreies Dinatriumhydrogenphosphat (Na_2HPO_4), 10,4 g Zitronensäure-Monohydrat [$\text{COH}(\text{COOH})(\text{CH}_2\text{COOH})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$] und 7 g Sulfanilsäure ($\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{H}$) in Wasser zu lösen. Die Lösung ist in einen 1-Liter-Messkolben zu überführen, mit 1 ml Brij-35-Lösung (5.1) zu versetzen und mit Wasser bis zum Füllstrich zu verdünnen. Vor der Verwendung ist die Lösung durch ein Filtrierpapier (Whatman No. 1²⁾ oder ein gleichwertiges Filtrierpapier) zu filtrieren.

5.4 Chloramin-T-Lösung (N-Chlor-4-toluolsulfonamid-Natrium), [$\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{N}(\text{Na})\text{Cl} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$]

8,65 g Chloramin-T sind in Wasser zu lösen. Nach Überführung in einen 500-ml-Messkolben ist mit Wasser bis zum Füllstrich zu verdünnen. Vor der Verwendung ist die Lösung durch ein Filtrierpapier (Whatman No. 1²⁾ oder ein gleichwertiges Filtrierpapier) zu filtrieren.

5.5 Cyanid-Neutralisationslösung A

1 g Zitronensäure (siehe 5.3) und 10 g Eisen(II)-sulfat ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) sind in Wasser zu lösen und auf 1 Liter zu verdünnen.

^{A2} gestrichener Text ^{A2}

5.6 Cyanid-Neutralisationslösung B

10 g wasserfreies Natriumcarbonat (Na_2CO_3) sind in Wasser zu lösen und auf 1 Liter zu verdünnen.

^{A2} gestrichener Text ^{A2}

5.7 ^{A1} Alternative Neutralisationslösung C

Mischen von 500 ml Natriumhydroxid (Massenanteil von 20 %) mit 70 ml Natriumhypochlorit, das einen Massenanteil von 5 % Aktivchlor enthält. ^{A1}

²⁾ Whatman No. 1 ist ein Beispiel für ein geeignetes im Handel erhältliches Erzeugnis. Diese Angabe dient der Information des Anwenders dieser Internationalen Norm und stellt keine Anerkennung des Erzeugnisses durch ISO dar.

5.8 Kaliumcyanidlösung (KCN)

WARNUNG — Vorsicht: Kaliumcyanid ist hochgiftig. Siehe Sicherheitsvorkehrungen in Abschnitt 4.

In einem Abzug sind 2 g Kaliumcyanid in ein 1-Liter-Becherglas einzuwägen. Nach der Zugabe von 500 ml Wasser ist solange zu rühren (mit Magnetrührwerk), bis der gesamte Feststoff gelöst ist. Die Aufbewahrung erfolgt in einer braunen Flasche.

5.9 Nikotinhydrogentartrat $[C_{10}H_{14}N_2(C_4H_6O_6)_2 \cdot 2H_2O]$

Die Reinheit des Nikotinhydrogentartrats ist nach ISO 13276 zu überprüfen.

5.10 Nikotin-Standardlösungen

Die Reinheit des Nikotinhydrogentartrats ist nach ISO 13276 zu überprüfen.

5.10.1 Stammlösung

Etwa 1,3 g Nikotinhydrogentartrat (5.8) sind auf 0,1 mg zu wägen. Es wird in Wasser gelöst, die Lösung in einen 250-ml-Messkolben überführt und mit Wasser bis zum Füllstrich verdünnt.

Die Nikotin-Stammlösung darf auch mit Nikotin oder Nikotinsalzen bekannter Reinheit hergestellt werden.

5.10.2 Arbeitsstandardlösungen

Aus der Stammlösung (5.9.1) ist eine Reihe von mindestens fünf Kalibrierlösungen herzustellen, deren Nikotinkonzentrationen den in den Proben zu erwartenden Konzentrationsbereich umfassen, z. B. 0,04 mg/ml bis 0,80 mg/ml.

Wenn 5%-ige Essigsäure ~~A2~~ gestrichener Text ~~A2~~ zum Extrahieren des Nikotins aus der Probe in 7.2 verwendet werden soll, müssen die Arbeitsstandardlösungen alle 2 Wochen aus der Stammlösung unter Verwendung von 5%-iger Essigsäure anstelle von Wasser hergestellt werden.

6 Geräte

Übliche Laborausrüstung und insbesondere die Folgenden:

6.1 Durchflussanalysator, bestehend aus

- Probenehmer,
- Dosierpumpe,
- Dialysegerät,
- Gewundene Verzögerungs-/Reaktionskapillaren,
- Kolorimeter (oder gleichwertiges Gerät) mit 460-nm-Filter(n),
- Aufzeichnungsgerät.

Ein Beispiel für eine geeignete Anordnung ist in Anhang B abgebildet.

6.2 Gewundene Mischkapillare zur Chlorcyan-Erzeugung

Zur In-situ-Erzeugung des Chlorcyans darf eine im Handel erhältliche gewundene Mischkapillare verwendet werden. Alternativ hierzu darf eine Mischkapillare mit fünf Windungen angefertigt werden (siehe Anhang C).

7 Durchführung

7.1 Herstellen der Proben für die Analyse

Die Tabakproben sind für die Analyse durch Mahlen herzustellen (die Probe muss vollständig durch ein 1-mm-Sieb hindurchgehen) und deren Feuchtigkeitsgehalt ist zu bestimmen. Wenn der Tabak zu feucht zum Mahlen ist, darf er bei Temperaturen bis maximal 40 °C getrocknet werden.

7.2 Prüfmenge

Etwa 250 mg des vorbereiteten Tabaks sind in einen trocknen 50-ml-Erlenmeyerkolben auf 0,1 mg einzuwägen. Nach Zugabe von 25 ml Wasser ist der Kolben mit einem Stopfen zu verschließen und für 30 min zu schütteln.

7.3 Herstellung des Prüfextraktes

Das Extrakt ist durch ein Filtrierpapier (Whatman No. 40³⁾ oder ein gleichwertiges Filtrierpapier) zu filtrieren. Die ersten paar Milliliter des Filtrats sind zu verwerfen und das restliche Filtrat in einem Analysatorbecher zu sammeln.

Wenn die Probe gleichzeitig auf reduzierend wirkende Substanzen (siehe ISO 15153), reduzierend wirkende Kohlenhydrate (siehe ISO 15154) oder Nitrate (siehe ISO 15517) untersucht werden soll, sind an Stelle des Wassers 25 ml 5%-ige Essigsäure A2 gestrichener Text A2 zur Extraktion zu verwenden.

Das System ist mit den Proben und den Standardlösungen in der üblichen Weise zu betreiben (z. B. Laden mit sechs Tabakextrakten, Kalibrierstandards und Proben mit einer Zwischenkalibrierlösung nach jeder sechsten Probe). Wenn die Probenkonzentrationen außerhalb des Konzentrationsbereiches der Standards liegen, müssen die Proben verdünnt werden und erneut das System durchlaufen.

Bei Verwendung von 5%-igen Essigsäure-Extrakten, ist als Waschlösung 5%-ige Essigsäure zu verwenden.

ANMERKUNG Wenn dieses Verfahren gleichzeitig zu den in ISO 15154 und ISO 15517 beschriebenen Verfahren durchgeführt wird, dürfen gemeinsame Standards hergestellt werden. Bei kombinierten Standardlösungen können sich nach etwa 2 Wochen Niederschläge bilden.

³⁾ Whatman No. 40 ist ein Beispiel für ein geeignetes im Handel erhältliches Erzeugnis. Diese Angabe dient der Information des Anwenders dieser Internationalen Norm und stellt keine Anerkennung des Erzeugnisses durch ISO dar.