

Material zur Herstellung von Umhüllungen für Zigarettenfilter,  
Zigaretten und andere Tabakerzeugnisse

## Bestimmung des Citratgehaltes

**DIN**  
10259

ICS 65.160

Deskriptoren: Tabakerzeugnis, Zigarettenfilter, Zigarette, Umhüllung, Citratgehalt

Material used for producing wrappings for cigarette filters, cigarettes and other tobacco products – Determination of citrate content

Matériaux utilisés pour la fabrication des enveloppes pour les bouts filtres des cigarettes et des autres produits de tabac – Dosage de la citrate

### Vorwort

Diese Norm wurde vom Arbeitsausschuß "Tabak- und Tabakrauchanalyse" des Normenausschusses Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN erarbeitet. Die Norm enthält den informativen Anhang A.

### 1 Anwendungsbereich

Diese Norm legt ein Verfahren zur Bestimmung des Citratgehaltes von Material fest, das zur Herstellung von Umhüllungen für Zigarettenfilter, Zigaretten und andere Tabakerzeugnisse verwendet wird.

### 2 Normative Verweisungen

Diese Norm enthält durch datierte und undatierte Verweisungen Festlegungen aus anderen Publikationen. Diese normativen Verweisungen sind an den jeweiligen Stellen im Text zitiert, und die Publikationen sind nachstehend aufgeführt. Bei datierten Verweisungen gehören spätere Änderungen oder Überarbeitungen dieser Publikationen nur zu dieser Norm, falls sie durch Änderung oder Überarbeitung eingearbeitet sind. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe der in Bezug genommenen Publikation.

DIN 12699

Laborgeräte aus Glas – Enzymtest-Meßpipetten, schnellablaufend; Wartezeit 15 Sekunden; Klasse AS

DIN EN 20187

Papier, Pappe und Zellstoff – Normalklima für die Vorbehandlung und Prüfung und Verfahren zur Überwachung des Klimas und der Probenvorbehandlung (ISO 187 : 1990);  
Deutsche Fassung EN 20187 : 1993

DIN EN 20287

Papier und Pappe – Bestimmung des Feuchtegehaltes – Wärmeschrankverfahren (ISO 287 : 1985); Deutsche Fassung EN 20287 : 1994

DIN ISO 3696

Wasser für analytische Zwecke – Anforderungen und Prüfungen; Identisch mit ISO 3696 : 1987

### 3 Definitionen

Für die Anwendung dieser Norm gilt die folgende Definition:

**Citratgehalt** (in Materialien zur Herstellung von Umhüllungen für Zigarettenfilter, Zigaretten und andere Tabakwaren): Der nach dieser Norm mit enzymatischem Verfahren bestimmte Gehalt an Citronensäure-Monohydrat.

ANMERKUNG: Citrat wird Umhüllungsmaterialien, insbesondere Zigarettenpapier, in der Regel als Trinatrium-Salz und als Trikalium-Salz der Citronensäure oder Mischungen daraus zugesetzt, um die Brenngeschwindigkeit und damit die Zugzahl der Zigarette zu beeinflussen.

Fortsetzung Seite 2 bis 5

Normenausschuß Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V.  
Normenausschuß Papier und Pappe (NPa) im DIN

## 4 Prinzip

Die Bestimmung des Citratgehaltes erfolgt enzymatisch. Dabei wird zunächst Citronensäure (Citrat), katalysiert durch das Enzym Citrat-Lyase (CL), nach folgender Reaktion (1) in Oxalacetat und Acetat umgewandelt:



In Anwesenheit der Enzyme Malat-Dehydrogenase (MDH) und L-Lactat-Dehydrogenase (L-LDH) werden Oxalacetat sowie dessen Decarboxylierungsprodukt Pyruvat durch reduziertes Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NADH) nach folgenden Reaktionen (2), (3) in L-Malat und L-Lactat umgewandelt:



Die Menge an oxidiertem NADH ist der Citratmenge äquivalent. Das verbleibende NADH wird aufgrund seiner Absorption bei 334 nm, 340 nm oder 365 nm spektralphotometrisch bestimmt.

## 5 Chemikalien

### 5.1 Allgemeines

Es sind analysenreine Chemikalien und Wasser, das mindestens der Qualität 3 nach DIN ISO 3696 entspricht, zu verwenden.

### 5.2 Enzym-Testkombination zur Citratbestimmung

#### 5.2.1 Allgemeines

Es sollten die im Handel erhältlichen Testkombinationen zur enzymatischen Bestimmung des Citratgehaltes verwendet werden, die in der Regel aus zwei Reagenzienmischungen bestehen.

ANMERKUNG: Wahlweise darf die Bestimmung mit Einzelreagenzien durchgeführt werden. Anleitungen dafür sind in der Literatur oder in Informationsmaterialien des Handels beschrieben.

#### 5.2.2 Reagenzienmischung 1

Die Reagenzienmischung 1 ist nach Herstellerangaben mit Wasser zu verdünnen. Die mittels Glycylglycin-Puffer auf einen pH-Wert von 7,8 gepufferte gebrauchsfertige Lösung 1 enthält:

- Malat-Dehydrogenase (MDH), etwa 12 IE<sup>1)</sup>/ml;
- L-Lactat-Dehydrogenase (LDH), etwa 23 IE/ml;
- Nicotinamid-adenin-dinucleotid reduziert (NADH), etwa 0,5 mg/ml,
- Stabilisatoren.

Lösung 1 darf bei + 4 °C zwei Wochen, bei – 20 °C vier Wochen aufbewahrt werden.

#### 5.2.3 Reagenzienmischung 2

Die Reagenzienmischung 2 ist nach Herstellerangaben mit Wasser zu verdünnen. Die gebrauchsfertige Lösung 2 enthält:

- Citrat-Lyase, etwa 40 IE/ml.

ANMERKUNG: Die Aktivität des Enzymsystems sollte (100 ± 5)% betragen.

### 5.3 Citronensäure-Monohydrat

---

<sup>1)</sup> IE Internationale Einheit

Mit 1 IE wird die Enzymmenge (-aktivität) angegeben, die unter Standardbedingungen die Umsetzung von 1 µmol Substrat je min katalysiert.