

Untersuchung von Tabak und Tabakerzeugnissen
**Bestimmung des Glucose-, Fructose-
 und Saccharosegehaltes**
 Hochleistungs-flüssigchromatographisches Verfahren

DIN
10371

ICS 65.160

Analysis of tobacco and tobacco products —
 Determination of glucose, fructose and sucrose contents —
 Method using high performance liquid chromatography

Analyse du tabac et des produits du tabac —
 Dosage du glucose du fructose et du saccharose —
 Méthode par chromatographie liquide haute performance

Inhalt

	Seite
Vorwort	2
1 Anwendungsbereich	2
2 Normative Verweisungen	2
3 Symbole und Abkürzungen	2
4 Prinzip	2
5 Chemikalien	3
6 Geräte	3
7 Durchführung	4
8 Berechnung	5
9 Präzision des Verfahrens	6
10 Untersuchungsbericht	7
Anhang A (informativ) Beispielhaftes Chromatogramm für die Bestimmung von Zuckern durch HPLC	7
Anhang B (informativ) Beispiel für ein geeignetes Injektionsschema ..	8
Anhang C (informativ) Regenerierung der HPLC-Säulen und Kontrolle der Trennleistung	10
Anhang D (informativ) Statistische Ergebnisse des Ringversuches ...	11
Literaturhinweise	13

Fortsetzung Seite 2 bis 13

Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)
 im DIN Deutsches Institut für Normung e. V.

Vorwort

Diese Norm wurde vom Arbeitsausschuss „Tabak- und Tabakrauchanalyse“ des Normenausschusses Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) erarbeitet.

Die Anhänge A, B, C und D sind informativ.

1 Anwendungsbereich

Diese Norm legt ein Verfahren zur Bestimmung des Gehaltes an Glucose, Fructose und Saccharose in Tabak und Tabakerzeugnissen mit Hilfe der Hochleistungs-Flüssigchromatographie fest.

ANMERKUNG Unter Verwendung des in dieser Norm beschriebenen Verfahrens können die Gehalte an Glycerol, Sorbitol und 1,2-Propylenglycol in Tabak und Tabakerzeugnissen gleichzeitig nach DIN 10372 bestimmt werden.

2 Normative Verweisungen

Diese Norm enthält durch datierte oder 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 (einschließlich Änderungen).

DIN 10252, *Untersuchung von Tabak und Tabakerzeugnissen — Bestimmung des Wassergehaltes — Karl-Fischer-Verfahren.*

DIN ISO 3696, *Wasser für analytische Zwecke — Anforderungen und Prüfungen; Identisch mit ISO 3696:1987.*

3 Symbole und Abkürzungen

3.1 Symbole

Für die Anwendung dieser Norm gelten die folgenden Symbole:

c Stoffmengenkonzentration;

ρ Massenkonzentration.

3.2 Abkürzungen

Für die Anwendung dieser Norm gelten die folgenden Abkürzungen:

HPLC Hochleistungs-Flüssigchromatographie;

SPE Solid Phase Extraction (Festphasenextraktion);

EDTA Ethylendiamintetraessigsäure.

4 Prinzip

Die Zucker werden aus dem gemahlene Tabak oder Tabakerzeugnis durch Schütteln mit verdünnter Natriumhydroxidlösung extrahiert. Durch Verwendung von standardisierter Kieselgur während der Extraktion wird eine Reinigung des Extraktes erzielt. Die Zucker werden an einem Ionenaustauscher-Harz (sulfoniertes Polystyrol-Divinylbenzol in der Ca^{2+} -Form) durch isokratische Elution mit einer wässrigen Lösung von Calciumdinatrium-EDTA als mobiler Phase getrennt. Die Detektion der Zucker erfolgt durch ein Differential-Refraktometer, ihre quantitative Bestimmung nach dem Verfahren des externen Standards.

5 Chemikalien

5.1 Allgemeines

Es sind, sofern nicht anders angegeben, analysenreine Chemikalien zu verwenden.

5.2 Wasser für den Laborgebrauch, mindestens der Qualität 3 nach DIN ISO 3696.

5.3 Calciumdinatrium-EDTA-Lösung I, $\rho(\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_8\text{CaNa}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}) = 50 \text{ mg/l}$, zum Eluieren der Zucker.

Die Lösung ist täglich frisch anzusetzen. Vor der Verwendung ist die Lösung über einen Membranfilter zu filtrieren und zu entgasen.

5.4 Calciumdinatrium-EDTA-Lösung II, $\rho(\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_8\text{CaNa}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}) = 500 \text{ mg/l}$, zum Regenerieren der HPLC-Säule.

5.5 Natriumhydroxidlösung I, $c(\text{NaOH}) = 1,0 \text{ mol/l}$.

5.6 Natriumhydroxidlösung II, $c(\text{NaOH}) = 0,01 \text{ mol/l}$, hergestellt durch Verdünnen der Natronlauge nach 5.5 mit Wasser nach 5.2.

5.7 Kalibrierlösungen

Durch Lösen von Glucose, Fructose und Saccharose in Wasser (5.2) wird eine Stammlösung mit einer Massenkonzentration von jeweils $2\,500 \text{ mg/l}$ hergestellt. Aus der Stammlösung werden durch Verdünnung mit Wasser Kalibrierstandards hergestellt. Bezogen auf die in 7.1 beschriebene Vorbereitung der Untersuchungsprobe und übliche Zuckergehalte von Tabak und Tabakerzeugnissen sind folgende Verdünnungen als Kalibrierstandards geeignet:

<u>Verdünnungsfaktor</u>		<u>$\rho(\text{Zucker})$</u>
—	=	$2\,500 \text{ }\mu\text{g/ml}$
2	=	$1\,250 \text{ }\mu\text{g/ml}$
5	=	$500 \text{ }\mu\text{g/ml}$
10	=	$250 \text{ }\mu\text{g/ml}$
20	=	$125 \text{ }\mu\text{g/ml}$
50	=	$50 \text{ }\mu\text{g/ml}$

5.8 standardisierte Kieselgur¹⁾

Wenn andere Filterhilfsmittel verwendet werden, ist es notwendig sicherzustellen, dass ein ausreichender Reinigungseffekt erzielt wird, keine störenden Peaks im Chromatogramm auftauchen und eine ausreichende Stabilität der messfertigen Extrakte gegeben ist.

6 Geräte

Übliche Laboreinrichtungsgeräte und insbesondere die Folgenden:

6.1 HPLC-Gerät, bestehend aus HPLC-Pumpe, HPLC-Säule (6.2) und Differential-Refraktometer (RI) sowie Säulenofen und Einspritzvorrichtung.

ANMERKUNG Falls eine automatisierte Einspritzvorrichtung zum Einsatz kommt, ist eine Kühlung freigestellt.

¹⁾ Über Bezugsquellen gibt der Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte im DIN, Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin, Auskunft.