

N° : T - 201
Date : 31 décembre 1999
Page : 1 de 11

1 PORTÉE

- 1.1 La présente méthode s'applique à la séparation et au dosage de l'ammoniac dans la fumée latérale de tabac.

2 NORMES APPLICABLES

- 2.1 Méthode D 1193-77 de l'American Society for Testing and Materials (ASTM), Version 1977.
- 2.2 Méthode d'essai T-115 de Santé Canada – Dosage du goudron, de l'eau, de la nicotine et du monoxyde carbone dans la fumée principale de tabac, 1999-12-31.

3 DÉFINITIONS

- 3.1 Pour une définition des termes utilisés dans le présent document, se reporter à la méthode T-115.

4 RÉSUMÉ DE LA MÉTHODE

- 4.1 Deux cigarettes* sont fumées mécaniquement dans une chambre en Y, munie d'un disque filtrant en fibre de verre (tampon), de 44 mm, et d'un flacon laveur. La fumée latérale est envoyée dans la chambre grâce à un flux d'air de 3 L/minute créé par un vide partiel.

* Pour l'analyse d'autres produits du tabac, choisir un nombre de produits tel que le filtre ne soit pas saturé.

Nota : Il faut d'abord évaluer la capacité des flacons laveurs requis en montant un circuit comportant trois flacons laveurs disposés en série. Il faut analyser séparément le contenu de tous les éléments du circuit afin de déterminer leur efficacité de piégeage. Si la quantité de produit se retrouvant dans le deuxième et le troisième flacons laveurs est supérieure à 3 % de la quantité dans le premier, il faut inclure ces flacons laveurs dans le circuit. L'efficacité de piégeage peut différer légèrement selon la conception du flacon laveur.

- 4.2 Lorsque le fumage mécanique est terminé, la chambre en Y est rincée avec la solution de H₂SO₄ 0,1 N. Cette solution est ensuite utilisée pour l'extraction du filtre à fumée latérale préalablement plié en quatre et placé dans un erlenmeyer de 250 mL. L'erlenmeyer est bouché et placé sur un agitateur oscillant pour l'extraction.
- 4.3 Le tampon est extrait sur un agitateur oscillant, pendant 30 minutes. Ce mélange est ensuite filtré à l'aide d'une seringue-filtre de 0,45 µm dans un flacon à scintillation, où le filtrat peut être conservé à 4°C jusqu'à 48 heures.
- 4.4 Une portion de l'échantillon filtré est ensuite diluée (1/10) avec du H₂SO₄ 0,025 N, afin d'obtenir un échantillon à analyser ayant une concentration de H₂SO₄ de

0,025 N. Cette solution est ensuite transférée dans un flacon pour échantillonneur automatique; on peut alors l'analyser par chromatographie d'échange de cations.

- 4.5** Une portion de 35 µL d'échantillon est injectée sur une colonne analytique d'échange de cations. Cette colonne permet de séparer les ions ammonium des cations monovalents grâce à des groupements fonctionnels acide carboxylique/acide phosphonique. Pour séparer convenablement le sodium de l'ion ammonium, qui sera dosé, on utilise comme phase mobile une solution 0,003 N d'acide méthanesulfonique. Après élution de l'ion ammonium, on ajoute du H₂SO₄ à un gradient de concentration allant de 0,2 N à 0,05 N pour éliminer tout cation divalent et toute amine quaternaire susceptibles d'être présents dans l'échantillon.
- 4.6** Les cations sont détectés à l'aide d'un détecteur de conductivité compensée, fonctionnant en mode eau externe. Cette méthode de détection permet de réduire la conductivité de fond attribuable à la phase mobile, et ainsi d'accroître la sensibilité du détecteur à l'analyte.
- 4.7** On détermine la quantité d'ammoniac à partir d'une courbe d'étalonnage établie à l'aide de cinq étalons externes, en utilisant comme réponse la hauteur du pic correspondant au sulfate d'ammonium. On détermine la quantité d'ammoniac par cigarette en calculant la quantité d'ammoniac présente dans la solution analysée, puis en multipliant celle-ci par le facteur approprié (volume de solution dans le flacon laveur X dilutions) et en la divisant par le nombre de cigarettes fumées.

Nota : L'analyse et l'évaluation de certains produits à l'aide de cette méthode d'essai peuvent nécessiter l'utilisation de substances ou d'équipement potentiellement dangereux. Le présent document n'entend pas répondre à tous les aspects concernant la sécurité de son utilisation. Avant d'utiliser cette méthode d'essai, toute personne a la responsabilité de consulter les autorités compétentes et de prendre des mesures de protection de la santé et des mesures de sécurité qui tiennent compte des règlements en vigueur.

5 APPAREILLAGE ET ÉQUIPEMENT

- 5.1** Équipement nécessaire au conditionnement, tel que défini dans la méthode T-115.
- 5.2** Équipement nécessaire au marquage de la longueur des mégots, tel que défini dans la méthode T-115.
- 5.3** Équipement nécessaire au fumage mécanique des produits du tabac, tel que défini dans la méthode T-115.
- 5.4** Balance analytique, précise à au moins quatre places décimales.
- 5.5** Pompes à vide GAST ou l'équivalent.
- 5.6** Brucelles et gants propres pour le transfert des tampons.
- 5.7** Erlenmeyers de 250 mL en polyméthylpentène (PMP), munis d'un bouchon à vis.
- 5.8** Agitateur oscillant à vitesse constante.
- 5.9** Seringue-filtre avec filtre en fibre de verre (25 mm X 0,45 µm).
- 5.10** Flacons laveurs de 250 mL, sans fritté.
- 5.11** Fioles jaugées de 25, 50 et 100 mL.
- 5.12** Seringue jetable de 5 cm³.
- 5.13** Flacons à vis de 7 mL, avec bouchons à vis garnis d'aluminium.
- 5.14** Flacons pour échantillonneur automatique, avec bouchons et septums recouvert de téflon.

- 5.15** Appareil pour chromatographie liquide haute performance (CLHP) muni de :
- 5.15.1** Échantillonneur automatique réfrigéré avec boucle d'injection de 100 µL à remplissage partiel.
 - 5.15.2** Système pour gradient ternaire.
 - 5.15.3** Chauffe-colonne.
 - 5.15.4** Détecteur de conductivité Dionex ED-40, ou l'équivalent.
 - 5.15.5** Piège à cations Dionex CTC-1, ou l'équivalent.
 - 5.15.6** Compensateur de conductivité Dionex CSRS-II en mode eau externe, ou l'équivalent.
 - 5.15.7** Chauffe-colonne et contrôleur de température.
 - 5.15.8** Colonne d'analyses échangeuse de cations Dionex IonPac CS12A (250 mm X 4 mm), ou l'équivalent.
 - 5.15.9** Colonne de garde échangeuse de cations Dionex IonPac CG12A (50 mm X 4 mm), ou l'équivalent.
 - 5.15.10** Système de collecte des données.
- 5.16** Chambre en Y.
- 5.17** Débit mètre.

6 RÉACTIFS ET MATÉRIEL

Nota : Tous les réactifs doivent être, au minimum, des réactifs de qualité analytique.

- 6.1** Sulfate d'ammonium (pureté de 99 %).
- 6.2** Acide sulfurique (96 % pds/pds).
- 6.3** Acide méthanesulfonique (MSA) (pureté de 100 %).
- 6.4** Eau de type I (satisfaisant à la norme D 1193 de l'ASTM) .

7 PRÉPARATION DE LA VERRERIE

- 7.1** Le lavage et la séchage de la verrerie doivent être effectués de manière à ce que celle-ci ne cause pas de contamination.
- 7.2** Tout juste avant de s'en servir, tous les flacons laveurs doivent être rincés deux fois avec du H₂SO₄ 0,1 N, puis trois fois avec de l'eau de type I.

8 PRÉPARATION DES SOLUTIONS

8.1 Solution d'acide sulfurique 0,10 N – Solution pour flacons laveurs

- 8.1.1** Ajouter avec soin 5,108 g de H₂SO₄ dans 900 mL d'eau de type I.
- 8.1.2** Mélanger et diluer jusqu'à 1 L avec de l'eau de type I.

8.2 Solution d'acide sulfurique 0,20 N - Solution C (chromatographie d'échange d'ions)

- 8.2.1** Ajouter avec soin 10,216 g de H₂SO₄ dans 900 mL d'eau de type I.
- 8.2.2** Mélanger et diluer jusqu'à 1 L avec de l'eau de type I.

8.3 Solution de MSA 0,003 N - Solution A (chromatographie d'échange d'ions)

- 8.3.1** Ajouter avec soin 0,2883 g d'acide méthanesulfonique (MSA) dans 900 mL d'eau de type I.

8.3.2 Mélanger et diluer jusqu'à 1 L avec de l'eau de type I.

9 PRÉPARATION DES ÉTALONS

9.1 Solution mère primaire d'ammonium :

9.1.1 Peser avec précision 0,20 g de sulfate d'ammonium dans une fiole jaugée de 50 mL.

9.1.2 Dissoudre dans du H₂SO₄ 0,1 N.

9.1.3 Mélanger et diluer jusqu'au trait avec de l'eau de type I.

9.1.4 Préparer une nouvelle solution tous les 10 jours.

Nota : Cette solution mère contient 1,0898 mg/mL de NH₄⁺.

9.1.5 Étalons de travail :

Étalon n ^o	Volume de solution mère primaire (µL)	Volume final (mL)	Concentration [µg/mL]
0	0	25	0,000
1	250	25	10,898
2	175	25	7,6283
3	75	25	3,2693
4	75	50	1,6346
5	50	100	0,5449
6	20	100	0,2180

Nota : Tous ces étalons de travail sont dilués de manière à obtenir une concentration de de H₂SO₄ de 0,025 N.

Nota : Tous les poids, tous les volumes et toutes les puretés doivent être consignés et utilisés pour calculer avec précision la concentration des étalons. Préparer de nouveaux étalons de travail tous les cinq jours.

10 ÉCHANTILLONNAGE

10.1 L'échantillonnage des produits du tabac à analyser doit être effectué conformément à la méthode T-115.

11 PRÉPARATION DES PRODUITS DU TABAC

11.1 Le conditionnement du produit doit être effectué conformément à la méthode T-115.

11.2 La longueur de mégot des cigarettes, des équivalents-cigarettes, des bidis, des kreteks et des cigares doit être indiquée conformément à la méthode T-115.

11.3 La préparation des cigarettes à être fumées dans des conditions intenses doit être effectuée conformément à la méthode T-115.

12 PRÉPARATION DE LA MACHINE À FUMER

12.1 Conditions ambiantes

12.1.1 Les conditions ambiantes de fumage doivent être conformes à celles de la méthode T-115.

12.1.2

12.2 Conditions relatives à la machine à fumer

12.2.1 Les conditions relatives à la machine à fumer doivent être conformes à celles de la méthode T-115, sauf pour les modifications détaillées ci-après :

12.2.1.1 Pour le dosage de l'ammoniac dans la fumée latérale, ajouter 100 mL de H_2SO_4 0,1 N dans le flacon laveur de 250 mL (grand format).

12.2.1.2 Monter le flacon laveur, bouché, à l'arrière de la machine à fumer. Le tube interne du flacon laveur est relié au port-filtre à fumée secondaire, et le tube latéral est relié à la source de vide, qui assure un flux d'air de 3 L/minute.

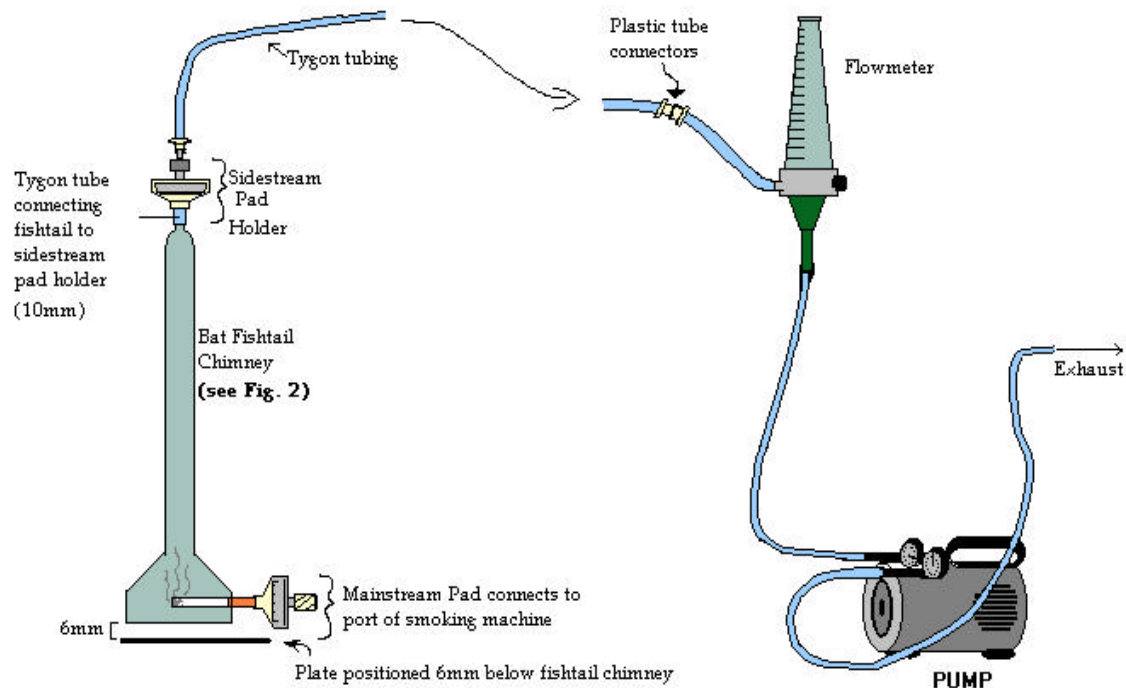


FIGURE 1a: SIDESTREAM APPARATUS

FIGURE 1a: SIDESTREAM APPARATUS = Figure 1a : DISPOSITIF POUR FUMÉE

Tygon tubing = Tube en tygon

Sidestream pad holder = Porte-filtre à fumée latérale

Tygon tube connecting fishtail to sidestream pad holder (10mm) = Tube en tygon reliant la chambre en Y au porte-filtre à fumée secondaire (10 mm)

Bat Fishtail Chimney = Chambre en Y BAT

6mm = 6 mm

Mainstream Pad connects to port of smoking machine = Porte-filtre à fumée principale de tabac relié au canal de la machine à fumer

Plate positionned 6mm below fishtail chimney = Plaque située à 6 mm sous la chambre en Y

Plastic tube connectors = Raccords pour tube en plastique

Flowmeter = Débitmètre

Exhaust = Évacuation

PUMP = POMPE

12.2.1.3 Attacher les porte-filtres à fumée latérale préalablement pesé et numéroté au canal pour fumée latérale correspondant sur la machine à fumer.

12.2.1.4 Ancrer la cheminée au niveau le plus élevé (position de chargement).

13 PRODUCTION DES ÉCHANTILLONS

13.1 Le fumage mécanique est réalisé dans les conditions définies dans la méthode T-115 avec les modifications suivantes :

13.1.1 Mettre la pompe à vide en marche juste avant d'allumer la cigarette.

13.1.2 Allumer la cigarette et commencer à compter les bouffées.

13.1.3 Descendre la chambre en Y en position minimum.

Nota : La cigarette ne doit pas toucher à la chambre. Maintenir la chambre à environ 6 mm de la plaque.

13.1.4 Fumer la cigarette jusqu'à la marque, puis retirer la cigarette et éteindre le mégot.

13.1.5 Laisser la pompe en marche pendant environ 30 secondes afin d'éliminer toute la fumée de la chambre en Y.

13.1.6 Arrêter la pompe et relever la chambre en position maximum.

13.1.7 Peser de nouveau le filtre à fumée latérale avec son porte-filtre et consigner leur poids.

14 ANALYSE DES ÉCHANTILLONS

14.1 Extraction des filtres

14.1.1 Verser la solution du flacon laveur dans un erlenmeyer de 250 mL.

14.1.2 Rincer le flacon laveur avec une nouvelle portion de 50 mL de H₂SO₄ 0,1 N, puis laver la chambre et recueillir les liquides de rinçage dans le même erlenmeyer de 250 mL.

14.1.3 Répéter l'étape **14.1.2**.

Nota : Les rinçages doivent être faits avec un soin extrême et à fond.

14.1.4 Tous les liquides provenant du flacon laveur et du lavage de la chambre sont mélangés dans l'erlenmeyer de 250 mL. Le volume total de la solution d'extraction est de 200 mL.

14.1.5 Retirer le tampon du porte-filtre à fumée latérale, le plier en quatre et le placer dans le même erlenmeyer de 250 mL.

14.1.6 Boucher et agiter sur un agitateur oscillant pendant 30 minutes.

14.2 Purification des échantillons

14.2.1 Filtrer la solution avec une seringue-filtre en récupérant le filtrat dans un flacon de 7 mL. Rincer d'abord le flacon avec environ 1 mL d'échantillon.

14.2.2 Transférer quantitativement 100 µL de l'extrait filtré dans un flacon pour échantillonneur automatique.

14.2.3 Ajouter quantitativement 1000 µL de H₂SO₄ 0,025N dans le même flacon pour échantillonneur automatique pour diluer l'échantillon et maintenir une concentration de H₂SO₄ d'environ 0,025 N pendant l'analyse.

14.2.4 Les échantillons peuvent être conservés au réfrigérateur jusqu'à 48 heures avant l'analyse.

Nota : Des dilutions supplémentaires peuvent s'avérer nécessaires pour ramener l'échantillon dans la plage d'étalonnage. Dans ce cas, diluer en tentant de maintenir une concentration de H₂SO₄ de 0,025 N.

Nota : Il n'est pas nécessaire de faire les dilutions de cette manière. Les dilutions réalisées à l'aide de fioles jaugées seront plus précises (mais elles exigent plus de temps et seront plus susceptibles à la contamination).

14.3 Analyse

14.3.1 Paramètres pour le Dionex ED-40

Compensateur de conductivité (SRS) : 100 mA
Échelle : 20 µS
Signal : déport
Mise à zéro : 1 % de la pleine échelle.

14.3.2 Échantillonneur automatique : volume injecté

Faire les analyses à l'aide d'une boucle d'échantillonnage de 100 µL, un volume d'injection réglé à 35 µL et un volume de lavage de 60 µL.

14.3.3 Température de la colonne : 30 °C.

14.3.4 Phase mobile et gradient (système ternaire à gradient)

Solvant A : MSA 0,003 N.
Solvant B : Eau de type I.
Solvant C : H₂SO₄ 0,2 N.
Débit : 1,5 mL/minute.

Gradient : Des ajustements mineurs peuvent être nécessaires selon la condition de la colonne et la résolution des analytes.

Temps (minutes)	Composition		
	% A	% B	% C
0,00	100	0	0
13,00	100	0	0
13,01	0	80	20
14,00	0	80	20
14,01	0	90	10
19,00	0	90	10
19,01	0	99	1
20,00	0	99	1
25,00	99	1	0
25,00	Fin de l'analyse :		Équilibrer

Temps d'équilibrage : 9,00 minutes.

14.4 Calculs

14.4.1 Détermination du facteur de réponse (FR)

14.4.1.1 Procéder à un premier étalonnage en analysant les étalons préparés; commencer par les concentrations élevées et progresser vers les concentrations faibles (injecter le tout premier étalon au moins deux fois jusqu'à l'obtention d'une réponse et d'un temps de rétention constants).

14.4.1.2 Préparer une courbe d'étalonnage en traçant la concentration des ions NH_4^+ dans l'étalon en fonction de la hauteur du pic fourni par le détecteur de conductivité.

14.4.1.3 Le facteur de réponse est égal à la pente de la droite déterminée par régression linéaire (hauteur / concentration).

14.4.2 Calcul de la teneur en ions ammonium

$$\text{NH}_4^+ [\mu\text{g}/\text{cigarette}] = \frac{\text{hauteur de pic} \times \text{volume de solvant d'extraction (mL)} \times \text{volume final (mL)}}{\text{FR} \times \text{nbre de cigarettes fumées} \times \text{volume de la portion analysée (mL)}}$$

dans laquelle, le volume de la portion analysée (mL) est le volume transféré quantitativement dans le flacon pour l'échantillonneur automatique.

14.4.3 Calcul de la teneur en ammoniac

$$\text{NH}_3 [\mu\text{g}/\text{cigarette}] = \text{NH}_4^+ [\mu\text{g}/\text{cigarette}] \times 17/18$$

dans laquelle le rapport 17/18 permet de tenir compte du poids moléculaire.

14.4.4 Calcul de la quantité de matière particulaire totale (MPT)

$$\text{MPT [mg/cigarette]} = \frac{[(\text{Filtre} + \text{porte-filtre})_{\text{après fumage}} (\text{g}) - (\text{filtre} + \text{porte-filtre})_{\text{avant fumage}} (\text{g})]}{1000 \text{ mg/g}}$$

15 CONTRÔLE DE LA QUALITÉ**15.1 Chromatogramme typique**

15.1.1 Voir l'annexe 1.

15.2 Paramètres de contrôle typiques

15.2.1 Blanc de réactifs (BR) : Avant de traiter un échantillon, l'analyste doit établir, par analyse d'un blanc de réactifs, que le système d'analyse, la verrerie et les réactifs ne constituent pas une source de perturbation.

15.2.2 Pour chaque série d'analyses, il faut analyser un blanc de réactifs et un blanc fortifié. Le blanc et l'échantillon dopé doivent être soumis à toutes les étapes de la préparation et du dosage des échantillons.

15.2.3 Inclure dans chaque groupe d'échantillons inconnus une cigarette présentant des caractéristiques connues (p. ex., une cigarette témoin Kentucky 1R4F).

15.2.4 Matrice fortifiée (MF) : Pour évaluer les interférence dues à la matrice, doper un échantillon véritable avec une concentration connue et déterminer le % de récupération.

15.3 Taux de récupération et niveaux de contamination

15.3.1 Les taux de récupération typiques des blancs fortifiés (BF) et des matrices fortifiées (MF) se situent dans la gamme 85 - 110 % lorsqu'une solution dopée (ou un échantillon) est soumise au processus d'extraction au complet.

15.3.2 Les résultats obtenus avec des blancs de réactif (BR) typiques ont une valeur calculée de 0 µg/cig. Normalement, une contamination de ce type est associée à une contamination du tampon-filtre au cours du conditionnement ou à un nettoyage inadéquat de la verrerie.

15.4 Limite de détection de la méthode (LDM) / Limite de dosage (LDD)

15.4.1 Déterminer la limite de détection de la méthode (LDM) en analysant l'étalon le moins concentré, comme s'il s'agissait d'un échantillon inconnu, au moins 10 fois sur une période de plusieurs jours. La LDM est égale à trois fois l'écart-type de ces résultats.

15.4.2 On peut modifier la LDM (en ng/cigarette) en changeant le nombre de cigarettes fumées et les volumes utilisés pour l'extraction et la purification.

15.4.3 Déterminer la limite de dosage (LDD) pratique en analysant l'étalon le moins concentré, comme s'il s'agissait d'un échantillon inconnu, au moins 10 fois sur une période de plusieurs jours. La LDD est égale à 10 fois l'écart-type de ces résultats.

15.4.4 Dans le cas d'échantillons véritables, la LDM et la LDD dépendent de la résolution chromatographique et de la quantité d'ions sodium dans l'échantillon, car la traînée derrière un énorme pic correspondant au sodium peut masquer les ions ammonium présents.

15.5 Stabilité des réactifs et des échantillons

15.5.1 Préparer de nouveaux étalons primaires tous les 10 jours et les conserver à 4 °C.

15.5.2 Préparer de nouveaux étalons de travail à partir de la solution mère toutes les semaines et les conserver à 4 °C.

15.5.3 Les échantillons sont stables à 4 °C au réfrigérateur pendant une semaine après l'extraction.

15.5.4 Analyser les échantillons dilués dans les 48 heures.

16 RÉFÉRENCES

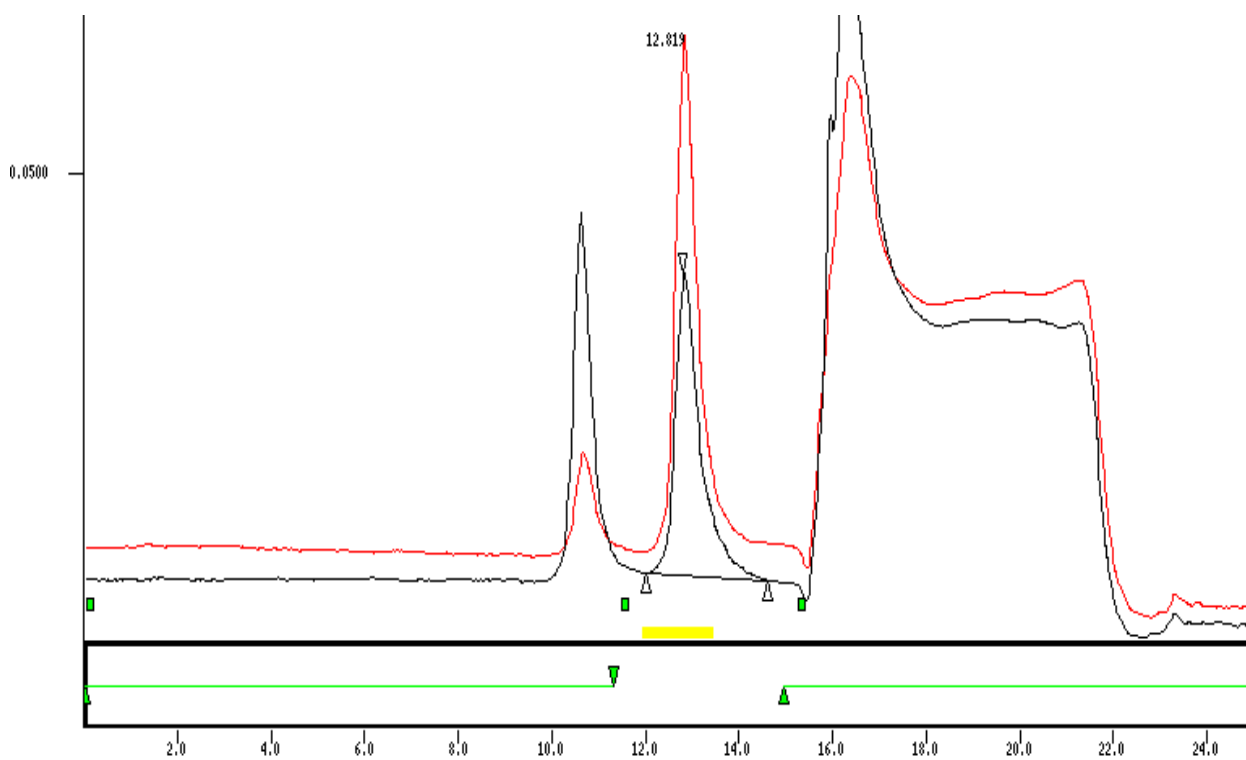
16.1 Risner, C.H. et Conner, J.M. Collection of Ammonia in Indoor Air by Means of a Weak Cation Exchange Cartridge. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 10, p. 1417-1423, 1991.

16.2 Nanni, E.J., Lovette, M.E., Hicks, R.D., Fowler, K.W. et Borgerding, M.F. Separation and Quantitation of Monovalent and Cationic Species in mainstream Cigarette Smoke Aerosols by High-Performance Ion Chromatography. *Journal of Chromatographic Science*, vol. 28, août 1990.

16.3 IonPac CS12A Analytical Column, Installation Instructions and Troubleshooting Guide, Document No. 031132, Revision 01, Dionex Corporation, 1995.

ANNEXE

Annexe 1 : Chromatogramme typique



Superposition des chromatogrammes obtenus avec un étalon et une cigarette témoin, avec un décalage de 5 %.