

N° : T - 204
Date : 31 décembre 1999
Page : 1 de 16

1 PORTÉE

- 1.1 La présente méthode décrit le prélèvement des principaux carbonyles volatils (sous la forme de 2,4 –dinitrophénylhydrazones) dans la fumée latérale de tabac, à l'aide d'une chambre en Y, ainsi que leur séparation et leur dosage par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) en phase inverse. Les carbonyles dosés sont le formaldéhyde, l'acétaldéhyde, l'acétone, l'acroléine, le propionaldéhyde, le crotonaldéhyde et le butyraldéhyde. La présente méthode s'applique à la fumée de tabac provenant des cigarettes, des équivalents-cigarettes, des bidis, des kreteks et des cigares.
- 1.2 La présente méthode ne s'applique qu'aux composés carbonylés extraits de la phase vapeur latérale (y compris des tampons-filtres pour fumée latérale) et dosés dans la solution de piégeage de 2,4-dinitrophénylhydrazine (DNPH).

2 NORMES APPLICABLES

- 2.1 Méthode d'analyse T-115 de Santé Canada : Dosage du « goudron », de la nicotine et du monoxyde de carbone (CO) dans la fumée principale de tabac, 1999-12-31.
- 2.2 American Society for Testing and Materials (ASTM) : Méthode D 1193-77, Standard Specifications for Reagent Water. mécaniquement., Version 1977.

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 La configuration de quatre canaux équidistants d'une machine à fumer linéaire standard à 20 canaux est modifiée à l'aide de chambres en Y BAT (British American Tobacco Company) et de pompes à vide à débit réglable.
- 4.2 Les cigarettes sont fumées mécaniquement sous les chambres en Y. La fumée est aspirée vers le haut de la cheminée à l'aide d'une pompe à vide, à débit de 2 L/min.
- 4.3 La matière particulaire totale (MPT) présente dans la fumée latérale est recueillie sur un tampon-filtre en fibre de verre au haut de la cheminée. On fait ensuite barboter la phase vapeur latérale filtrée dans un impacteur contenant 100 mL d'une solution aqueuse de 2,4-dinitrophénylhydrazine (DNPH) dans l'acétonitrile.
- 4.4 Une fois que deux cigarettes* ont été fumées, la cheminée de la chambre en Y est rincée avec deux portions de 20 mL d'une nouvelle solution de DNPH; le produit de rinçage est recueilli dans un erlenmeyer à bouchon en verre rodé.

*Pour l'analyse d'autres produits du tabac, choisir un nombre de produits tel que les filtres pourront piéger toute la matière solide.

- 4.5** Le disque filtrant (tampon-filtre) en fibre de verre pour la fumée latérale est introduit dans l'erlenmeyer contenant le produit de rinçage (40 mL) de la chambre en Y; l'extraction se fait sur un agitateur oscillant.
- 4.6** La solution de piégeage est ajoutée à l'erlenmeyer et on mélange bien le tout.
- 4.7** Une portion de ce produit d'extraction de la MPT et de la phase vapeur est ensuite filtrée dans une seringue et diluée à l'aide d'une solution aqueuse de Trizma à 1 % dans l'acétonitrile.
- 4.8** Les échantillons sont analysés par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) en phase inverse et dosés à l'aide d'un détecteur ultraviolet.

Nota : L'analyse et l'évaluation de certains produits à l'aide de cette méthode 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 normalisée, 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.

La préparation des échantillons et leur analyse devraient être effectuées en une journée. Les solvants contaminés obtenus lors de l'analyse par CLHP doivent être conservés afin d'être ultérieurement éliminés par une firme autorisée à recycler les produits chimiques.

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 précise à au moins quatre places décimales.
- 5.5** Huit (8) pièges en verre de type Drechsel (volume de 250 mL) avec impacteurs.
- 5.6** Tubes en Nalgène, ¼ pouce d.i. x 3/8 pouce d.e.
- 5.7** Pompes à vide – GAST, ou l'équivalent.
- 5.8** Débitmètres.
- 5.9** Chambres en Y – BAT.
- 5.10** Fioles jaugées – 10 mL, 25 mL, 50 mL, 1 L et 2 L.
- 5.11** Erlenmeyers à joints en verre rodé – 250 mL.
- 5.12** Micropipettes en verre – divers volumes (100, 150, 300, 400, 500, 800, 1000 et 2000 µL).
- 5.13** Pipettes en verre (pour transvider) – 1, 2, 5, 6, 7, 8 et 20 mL.
- 5.14** Filtres à seringue - 0,45 µm PVDF.
- 5.15** Seringues jetables - 5 cm³.
- 5.16** Éprouvettes graduées, en verre – 25 et 50 mL.
- 5.17** Pipettes Pasteur jetables, en verre.
- 5.18** Poires en caoutchouc.
- 5.19** Flacons (ambrés) pour échantillonneur automatique; bouchons à vis, septums garnis de téflon.

- 5.20 Agitateur oscillant.
- 5.21 Mini plaque chauffante à agitation magnétique.
- 5.22 Système de chromatographie liquide à haute pression, ou l'équivalent, contrôlé par ordinateur personnel, composé des éléments suivants :
 - 5.22.1 Pompe pour gradient ternaire.
 - 5.22.2 Échantillonneur automatique avec boucle d'échantillonnage de 50 µL.
 - 5.22.3 Détecteur UV.
 - 5.22.4 Poste de travail.
 - 5.22.5 Colonne : Merck Lichrosphere, 250 X 4 mm, 100, RP 18e (5 µm), ou l'équivalent.
 - 5.22.6 Colonne de garde jetable : Lichrocart, 4 X 4 mm, Lichrosphere RP 18e (5 µm), ou l'équivalent.

6 RÉACTIFS ET MATÉRIEL

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

- 6.1 Méthanol - DIG (« Distilled-in-glass »).
- 6.2 Acétonitrile – DIG.
- 6.3 Isopropanol – DIG.
- 6.4 Acétate d'éthyle – DIG.
- 6.5 Tétrahydrofurane (THF) – DIG.
- 6.6 Alcool de qualité réactif - Qualité CLHP.
- 6.7 Acide perchlorique (60 %).
- 6.8 Acide chlorhydrique (35 %).
- 6.9 Acide sulfurique concentré (H₂SO₄).
- 6.10 Eau de type I (tel que décrite dans la méthode ASTM D1193).
- 6.11 Solution de formaldéhyde - 37-41 % (p/v).
- 6.12 Acétaldéhyde - pureté > 99 %.
- 6.13 Acétone – DIG.
- 6.14 Acroléine - pureté > 99 %.
- 6.15 Propionaldéhyde - pureté > 97 %.
- 6.16 Crotonaldéhyde - pureté > 99+ %.
- 6.17 Méthyléthylcétone - pureté > 99+ %.
- 6.18 Isobutyraldéhyde - pureté > 99 %.
- 6.19 Butyraldéhyde - pureté > 99+ %.
- 6.20 Base Trizma.
- 6.21 Hélium - qualité UHP.
- 6.22 Parafilm®, ou l'équivalent.

7 PRÉPARATION DE LA VERRERIE

- 7.1 Le lavage et le séchage de la verrerie doivent être effectués de manière à ce que celle-ci ne cause pas de contamination
 - 7.1.1 Il est extrêmement important d'éliminer toute source potentielle de contamination, par exemple les flacons-laveurs contenant de l'acétone, de la zone de travail.

8 PRÉPARATION DES SOLUTIONS

- 8.1 Préparation de la solution de DNPH

- 8.1.1 Peser 6,792 g (24,0 mmol) de 2,4-dinitrophénylhydrazine (DNPH) disponible sur le marché. Ajouter à 1 L d'acétonitrile frais dans une fiole jaugée de 2 L. Dissoudre la DNPH en agitant légèrement d'un mouvement rotatif, puis en chauffant la fiole. S'assurer qu'il ne reste aucun cristal avant de passer à l'étape suivante. (**Attention! Ne pas traiter par sonification**).
- 8.1.2 Une fois la DNHP entièrement dissoute, ajouter 5,6 mL d'acide perchlorique à 60 % en agitant légèrement. La solution se colorera en jaune.
- 8.1.3 Compléter au trait avec de l'eau de type I. L'ajout de l'eau colorera la solution en orange vif.
- 8.1.4 Transvider la solution dans une fiole ambrée de 4 L et la conserver à la température ambiante, à l'obscurité, afin d'éviter la précipitation de DNHP. Cette solution, conservée dans un contenant étanche et dans ces conditions, sera stable pendant une semaine.

8.2 Préparation de la solution de dilution de base Trizma (80 /20, MeCN/solution aqueuse de Trizma à 1 %)

- 8.2.1 Dissoudre 2,00 g de base Trizma dans 200 mL d'eau de type 1 dans une fiole jaugée de 1 L.
- 8.2.2 Compléter au trait avec de l'acétonitrile.
- 8.2.3 Transvider la solution dans une fiole ambrée de 1 L à bouchon revêtu de téflon et conserver à la température ambiante. Cette solution devrait être stable pendant plusieurs semaines dans ces conditions.

9 PRÉPARATION DES ÉTALONS

9.1 Préparation des dérivés dinitrophénylhydrazone

- 9.1.1 Dissoudre 600 mg de DNHP disponible sur le marché dans 2 mL de H₂SO₄ concentré, dans un erlenmeyer de 50 mL.
- 9.1.2 Ajouter 3 mL d'eau de type I, tout en agitant avec une tige de verre (la solution doit être transparente). Ajouter ensuite 10 mL d'alcool de qualité réactif.
- 9.1.3 Ajouter la solution de DNPH à une solution de chacun des aldéhydes ou cétones appropriés :
 - 120 mg de formaldéhyde
 - 50 mg d'acétaldéhyde
 - 40 mg d'acétone
 - 40 mg d'acroléine
 - 40 mg de propionaldéhyde
 - 35 mg de crotonaldéhyde
 - 33 mg de méthyléthylcétone
 - 33 mg de butyraldéhyde

Habituellement, la cristallisation s'amorce assez rapidement.

- 9.1.4** Filtrer les cristaux d'hydrazone sous vide et les rincer avec de l'alcool de qualité réactif froid (4 °C).
- 9.1.5** Recristallisation des hydrazones : ajouter environ 10 mL d'alcool de qualité réactif aux cristaux dans un petit erlenmeyer, chauffer, puis ajouter 3 mL d'acétate d'éthyle, goutte à goutte, pour dissoudre les cristaux. Ramener la solution à la température ambiante.
- 9.1.6** Filtrer les cristaux sous vide, les rincer avec de l'alcool de qualité réactif froid (4 °C), les sécher à l'air et les conserver dans des fioles au dessiccateur, à -20 °C.

9.2 Étalons et solutions de travail pour l'analyse par CLHP

9.2.1 Étalons primaires (1°) de carbonyles

- 9.2.1.1** Peser les quantités d'hydrazones purifiées indiquées à l'**annexe 1(a)**. Les introduire dans des fioles jaugées individuelles de 25 mL et les dissoudre dans de l'acétonitrile. La concentration indiquée est celle de l'aldéhyde libre.
- 9.2.1.2** Sceller les fioles avec du Parafilm et les garder au froid à 4 °C. Les solutions sont stables pendant une période pouvant atteindre un an si elles sont conservées dans des conditions appropriées.

9.2.2 Étalons secondaires (2°) de carbonyles

- 9.2.2.1** Pipetter des volumes prédéterminés de chacune des solutions étalons primaires d'hydrazones dans une seule fiole jaugée de 25 mL et diluer jusqu'au trait avec de l'acétonitrile (voir l'**annexe 1(a)**).
- 9.2.2.2** Sceller la fiole avec du Parafilm et garder au froid à 4 °C. Préparer de nouvelles solutions à tous les 20 jours.

9.2.3 Étalons de travail de carbonyles

- 9.2.3.1** Mesurer des volumes appropriés (0,050 à 7,5 mL) des solutions étalons secondaires de carbonyles et diluer jusqu'à 10 mL avec de l'acétonitrile pour obtenir des étalons dont les concentrations sont dans les intervalles indiqués à l'**annexe 1(b)**.
- 9.2.3.2** Transvider une partie des solutions dans des flacons pour échantillonneur automatique.
- 9.2.3.3** Préparer de nouveaux étalons de carbonyles à tous les 20 jours.

9.2.4 Solutions de dopage de carbonyles

- 9.2.4.1** Pipetter des volumes prédéterminés de chacune des solutions étalons primaires d'hydrazones dans une seule fiole jaugée de

25 mL et diluer en complétant jusqu'au trait avec de l'acétonitrile (voir l'**annexe 1(c)**).

9.2.4.2 Préparer de nouvelles solutions à tous les 20 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 celles décrites dans la méthode T-115.

12.2 Conditions relatives à la machine à fumer

12.2.1 Les conditions relatives à la machine à fumer doivent être celles décrites dans la méthode T-115 (avec les modifications suivantes) :

12.2.1.1 Monter le circuit de la chambre en Y pour fumée latérale et les pompes à vide selon la figure suivante :

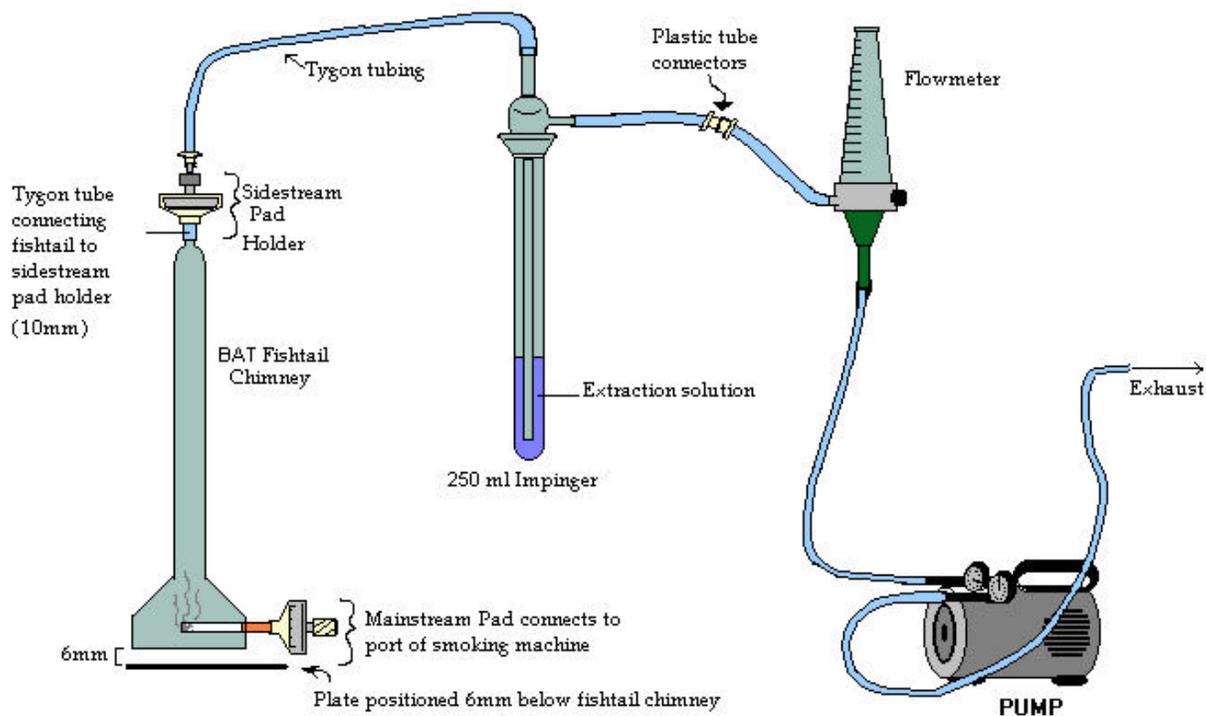


FIGURE 1a : SIDESTREAM APPARATUS

FIGURE 1a : SIDESTREAM APPARATUS : figure 1a : circuit de fumée latérale

BAT Fishtail Chimney : chambre en Y BAT

Mainstream Pad connects to port of smoking machine : tampon-filtre pour fumée principale de tabac, relié à un canal de la machine à fumer

Plate positionned 6 mm below Fishtail : plaque située à 6 mm sous la chambre en Y

Sidestream Pad Holder : porte-tampon-filtre pour fumée latérale

Tygon tube connecting fishtail to sidestream pad holder (10 mm) : tube en tygon reliant la chambre en Y au porte-tampon-filtre pour fumée latérale (10 mm)

Tygon tubing : tubes en tygon

Extraction solution : solution d'extraction

250 mL impinger : impacteur de 250 mL

Plastic tube connectors : raccords à tube en plastique

Flowmeter : débitmètre

Exhaust : évacuation

PUMP : POMPE

12.2.2 Verser 100 mL de solution de DNPH dans l'impacteur de 250 mL.

12.2.3 Installer le porte-filtre pour fumée latérale à la partie supérieure de la chambre en Y et l'impacteur à l'arrière de la machine à fumer.

12.2.4 Raccorder, à l'aide de tubes, la section avant de l'impacteur (relié à la tige interne) au porte-filtre pour fumée latérale, ainsi que la section arrière de l'impacteur (reliée au réservoir) au débitmètre et à la pompe à vide.

- 12.2.5 Régler les pompes à vide à un débit de 2 L/min, en présence de solution dans les impacteurs. Noter les débits.
- 12.2.6 Une fois l'impacteur étalonné, jeter la solution de DNPH qu'il contient, le nettoyer, puis le remplir avec une nouvelle solution de DNPH. (Cette étape permet d'éviter toute contamination possible par l'air ambiant ou le débitmètre).
- 12.2.7 Relever la chambre en Y en position maximale (position de chargement).
- 12.2.8 Fixer les porte-filtres pour fumée principale de tabac aux canaux correspondants de la machine à fumer.
- 12.2.9 À l'aide de la barre de réglage du vide, insérer les premières cigarettes dans les quatre canaux déjà réglés, sous la chambre en Y. Les insérer délicatement dans le porte-cigarette, jusqu'à la marque de 9 mm.
- 12.2.10 Mettre des gants jetables en latex, puis, à l'aide de pinces, introduire un tampon-filtre conditionné dans chacun des porte-filtres numérotés, la surface à grain grossier étant orientée dans la direction d'où provient la fumée.

13 TRAITEMENT DES ÉCHANTILLONS

Nota : Il est important de s'assurer qu'une quantité d'au moins 25 à 100 mg de MPT est piégée sur le tampon-filtre pour la fumée latérale avant de procéder à l'analyse. Cette condition peut être satisfaite en déterminant la MPT de la fumée du courant principal, conformément à la méthode T-115, c'est-à-dire la différence nette de poids du tampon-filtre avant et après fumage.

- 13.1 Mettre en marche les pompes d'aspiration de la fumée latérale et amorcer la séquence d'allumage 30 secondes avant la première bouffée.
- 13.2 Allumer la cigarette (à la première bouffée) et amorcer le comptage des bouffées selon la séquence suivante.
- 13.3 La séquence normale d'allumage consiste en une période de préchauffage de 15 s débutant au temps « t-18 secondes », suivie d'une inflammation de cinq secondes (trois secondes avant la première bouffée plus les deux secondes que dure la première bouffée).
- 13.4 Abaisser la chambre en Y au-dessus de la cigarette, jusqu'à 6 mm de la plaque se trouvant sous la cigarette, ce qui permettra à l'air de s'écouler uniformément autour de la cigarette et dans la cheminée. **S'assurer qu'il n'y a aucun contact entre la cigarette et les parois de la cheminée.**
- 13.5 Une fois les cigarettes fumées jusqu'à la marque de la longueur de mégot standard, les éteindre et les retirer de la chambre en Y BAT.
- 13.6 Laisser la pompe fonctionner pendant encore 30 secondes pour s'assurer que toute fumée résiduelle est recueillie sur le tampon-filtre pour fumée latérale.
- 13.7 Répéter la séquence de fumage avec la seconde cigarette (13.1-13.6).

- 13.8** Une fois la dernière cigarette brûlée jusqu'à la longueur de mégot prédéterminée, le fumage est terminé et le mégot est éteint et retiré du canal.
- 13.9** À la fin de la séquence de fumage, relever la cheminée et démonter le système de récupération de la fumée latérale.
- 13.10** Peser les porte-filtres pour fumée latérale et noter leur poids « après-fumage ».

14 ANALYSE DES ÉCHANTILLONS

14.1 Solutions d'extrait de la fumée latérale

- 14.1.1** Une série d'analyses comprend huit échantillons. Traiter huit échantillons à la fois, mais pas plus de cinq séries, soit 40 échantillons, par jour. Ne pas fumer plus d'échantillons que le nombre pouvant être analysés en 24 heures.
- 14.1.2** Rincer la cheminée de la chambre en Y avec deux portions de 20 mL d'une nouvelle solution de DNPH. Verser le liquide de rinçage dans un erlenmeyer de 250 mL à joint en verre rodé.
- 14.1.3** Retirer le tampon pour fumée latérale, le plier en quatre, la surface « propre » vers l'extérieur. À l'aide de pinces propres, utiliser le tampon pour essuyer le porte-filtre. Le déposer dans l'erlenmeyer de 250 mL contenant le produit de rinçage de la chambre en Y.
- 14.1.4** Fixer le bouchon en verre rodé en le recouvrant d'un morceau de papier-cache.
- 14.1.5** Fixer les erlenmeyers de 250 mL sur l'agitateur oscillant et agiter pendant 30 minutes.
- 14.1.6** Rincer les tubes reliés à l'impacteur en refoulant la solution de piégeage jusqu'au raccord le reliant au porte-filtre (en appliquant une pression positive), puis en aspirant de l'air dans la solution (en appliquant une pression négative). Répéter cette étape de rinçage au moins trois fois pour chaque impacteur.
- 14.1.7** Une fois l'agitation terminée, ajouter à l'erlenmeyer le contenu de l'impacteur (volume total de 140 mL, en plus du tampon).
- 14.1.8** Boucher l'erlenmeyer et bien mélanger le contenu (retourner l'erlenmeyer au moins 10 fois).
- 14.1.9** Laisser reposer l'erlenmeyer pendant au moins cinq minutes avant de continuer le traitement.
- 14.1.10** Pipetter 6 mL d'une solution de base Trizma à 1 % dans une fiole jaugée de 10 mL.
- 14.1.11** Ajouter 4 mL de la solution d'extrait DNPH/fumée filtrée à la seringue, à la fiole jaugée.

14.1.12 Bien agiter la fiole jaugée. Transvider une portion de cette solution, à l'aide d'une pipette Pasteur, dans des flacons pour échantillonneur automatique (échantillons dédoublés). (Rincer d'abord les flacons avec quelques gouttes de la solution, les vider, puis les remplir en minimisant l'espace libre).

14.1.13 Boucher les flacons à l'aide de septums garnis de téflon et les conserver à 4 °C jusqu'à l'analyse.

14.2 Préparation de témoins et des blancs

14.2.1 Préparer un blanc de réactifs (BR), un blanc fortifié (BF) et une matrice fortifiée (MF) pour chaque série d'analyses, selon les instructions suivantes, afin de s'assurer que le système d'analyse, la verrerie et les réactifs ne constituent pas des sources de perturbation.

14.3 Blanc de réactifs (BR)

14.3.1 Introduire un tampon-filtre conditionné inutilisé dans un erlenmeyer propre de 250 mL; ajouter 40 mL de solution de DNPH inutilisée et boucher. Agiter pendant 30 minutes sur un agitateur oscillant. Ajouter encore 100 mL de DNPH à la fiole et bien mélanger.

14.3.2 Pipetter 6 mL de la solution de dilution de base Trizma à 1 % dans une fiole jaugée de 10 mL.

14.3.3 Ajouter 4 mL de solution filtrée de DNPH inutilisée à la fiole jaugée. Boucher et bien mélanger.

14.3.4 Transvider dans deux flacons pour échantillonneur automatique, boucher et conserver jusqu'à l'analyse.

14.4 Blanc fortifié (BF)

14.4.1 Introduire un tampon-filtre conditionné inutilisé dans un erlenmeyer propre de 250 mL; ajouter 39 mL de solution de DNPH inutilisée et 1 mL de la solution de dopage de carbonyles. Agiter pendant 30 minutes sur l'agitateur oscillant. Ajouter encore 100 mL de DNPH à la fiole et bien mélanger.

14.4.2 Pipetter 6 mL de la solution de dilution de base Trizma à 1 % dans une fiole jaugée de 10 mL.

14.4.3 Ajouter 4 mL de la solution mixte filtrée de DNPH/solution de dopage (article 14.4.1) à la fiole.

14.4.4 Boucher la fiole jaugée et bien mélanger.

14.4.5 Transvider dans deux flacons pour échantillonneur automatique, boucher et conserver jusqu'à l'analyse.

14.5 Matrice fortifiée (MF)

14.5.1 Une fois l'agitation des échantillons terminée, préparer une MF en utilisant une marque témoin, pour chaque série d'analyses.

- 14.5.2** Pipetter 5 mL de la solution de dilution de base Trizma à 1 % dans une fiole jaugée de 10 mL.
- 14.5.3** Ajouter 1 mL de la solution de dopage de carbonyles.
- 14.5.4** Ajouter 4 mL de la solution filtrée de DNPH/extrait de fumée provenant d'une marque témoin à la fiole jaugée.
- 14.5.5** Transvider dans deux flacons pour échantillonneur automatique, boucher et conserver jusqu'à l'analyse.
- 14.5.6** Comparer ces résultats avec ceux obtenus pour le même échantillon utilisé pour préparer la solution de MF.

14.6 Conditions d'analyse : chromatographie liquide à haute performance en phase inverse

- 14.6.1** Température de la colonne : 30 °C.
- 14.6.2** Volume d'injection : 20 µL.
- 14.6.3** Longueur d'onde, détection UV : 365 nm.
- 14.6.4** Phase mobile : Réactifs

Solvant A : Préparer deux litres d'une solution contenant 30 % d'acétonitrile, 10 % de THF et 1 % d'isopropanol dans de l'eau de type 1; filtrer et dégazer (barbotage avec de l'hélium de qualité UHP).

Solvant B : Préparer deux litres d'une solution contenant 65 % d'acétonitrile, 1 % de THF et 1 % d'isopropanol dans de l'eau de type 1; filtrer et dégazer (barbotage avec de l'hélium de qualité UHP).

Solvant C : Acétonitrile (barbotage avec de l'hélium de qualité UHP).

- 14.6.5** Solution de lavage pour échantillons : Solvant A

- 14.6.6** Phase mobile : Gradient.

Débit : 1,5 mL/minutes

Temps (minutes)	Composition		
0,0	100 % A	0 % B	0 % C
8,0	70 % A	30 % B	0 % C
0,0	47 % A	53 % B	0 % C
7,0	0 % A	100 % B	0 % C
30,0	0 % A	0 % B	100 % C
32,0	0 % A	0 % B	100 % C
34,0	95 % A	5 % B	0 % C

Fin de méthode 100 % A 0 % B 0 % C

(Équilibrer pendant 10 minutes).

14.7 Analyse des échantillons

- 14.7.1** Charger les flacons contenant les échantillons sur l'échantillonneur automatique de façon qu'il y ait une solution étalon à tous les huit flacons; de plus, la durée totale de l'analyse ne doit pas dépasser 24 heures.
- 14.7.2** Prélever 20 µL d'un flacon de chaque échantillon et injecter sur la colonne CLHP; effectuer l'analyse selon les conditions d'analyse chromatographique. L'autre flacon est l'échantillon de réserve qui pourra être utilisé en cas de problème
- 14.7.3** Les chromatogrammes devraient ressembler à celui de la **figure 1**.

14.8 Calculs

14.8.1 Préparation d'une courbe d'étalonnage

- 14.8.1.1** Injecter 20 µL de chaque solution étalon sur la colonne du système CLHP et analyser selon les conditions d'analyse chromatographique. Effectuer l'analyse en double. Les chromatogrammes devraient ressembler à celui de la **figure 2**.

14.9 Détermination du facteur de réponse

- 14.9.1** Préparer une courbe d'étalonnage pour chacun des composés carbonylés en traçant la concentration des étalons en fonction de l'aire sous les pics correspondants.
- 14.9.2** Calculer les facteurs de réponse pour chacun des composés carbonylés à partir des courbes d'étalonnage.

14.10 Dosage des échantillons

- 14.10.1** Doser les différents composés carbonylés dans les échantillons de fumée par la méthode de l'étalon externe.
- 14.10.2** Les concentrations de carbonyles sont calculés en µg/mL.
- 14.10.3** Détermination de la teneur en carbonyles de la fumée latérale [en µg/cigarette] :

$$\text{Composé carbonylé } [\mu\text{g/cigarette}] = \frac{\text{Aire sous le pic}}{\text{Facteur de réponse}} \times \frac{\text{FD}}{\text{Nbre de cigarettes}}$$

où FD représente le facteur de dilution. Le facteur de réponse doit être déterminé à partir de la courbe de calibration.

15 CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

15.1 Chromatogrammes typiques

15.1.1 Voir les figures n° 1 et 2.

15.2 Taux de récupération et niveaux de contamination

15.2.1 Chaque série d'analyses doit aussi comprendre :

15.2.1.1 Un blanc de réactifs (BR) pour évaluer l'importance des perturbations dues à la verrerie, aux réactifs de piégeage, aux tampons-filtres et aux effets du système d'analyse.

15.2.1.2 Une matrice fortifiée (MF) pour évaluer l'importance des pertes possibles d'analyte

15.2.2 Pour chaque série d'analyses, analyser un étalon comme s'il s'agissait d'un échantillon pour vérifier les calculs et valider l'étalonnage.

15.3 Limite de détection de la méthode (LDM) et limite de dosage (LDD)

15.3.1 Limite de détection de la méthode (LDM)

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

15.3.2 Limite de dosage (LDD)

15.3.2.1 Déterminer la limite de dosage en analysant l'étalon le moins concentré, comme s'il s'agissait d'un échantillon, 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 Stabilité des réactifs et des échantillons

15.4.1 Préparer toutes les solutions étalons primaires de carbonyles selon les besoins.

15.4.2 Préparer de nouvelles solutions étalons de travail et de nouvelles solutions de réactifs à tous les 20 jours .

15.4.3 Analyser tous les échantillons dès qu'ils ont passé l'étape de la préparation et en moins de 24 heures.

16 MODIFICATIONS POUR DES CONDITIONS INTENSES DE FUMAGE

16.1 Aucune modification n'est nécessaire pour des conditions intenses de fumage.

17 RÉFÉRENCES

17.1 Risner, C.H. et Martin, P. Quantitation of Formaldehyde, Acetaldehyde, and Acetone in Sidestream Cigarette Smoke By High Performance Liquid Chromatography; *Journal of Chromatographic Science*, 32, 1994.

-
- 17.2** Adams, J.D. et Parent-Ermini, A.J. Volatile Carbonyls in Sidestream Tobacco Smoke; American Health Foundation Method 4, p. 205-212.
- 17.3** Manning, D.L., Maskerinec, M.P., Jenkins, R.A. et Marshall, A.H. High Performance Liquid Chromatographic Determinations of Selected Gas Phase Carbonyls in Tobacco Smoke; *Journal of Assoc. of Anal. Chem.*, 66, p. 8-12.

ANNEXES

Annexe 1 - Solutions étalons typiques

(a) : Solutions-mères étalons

Hydrazone	Étalon primaire						Étalon de travail *		
	Masse mol. Hydrazone	Masse mol. Carbonyle	Poids (mg)	Pureté (%)	Volume (mL)	Sol.-mère [ug/mL]	Vol (mL) Étalon prim.	Diluer à : Vol (mL)	Sol.-mère [ug/mL]
Formaldéhyde	211.20	30.03	39.72	100.0	25.0	225.879	0.5	25.0	4.51758
Acétaldéhyde	225.14	44.05	53.90	100.0	25.0	421.834	0.5	25.0	8.43669
Acétone	239.17	58.08	31.20	100.0	25.0	303.064	0.5	25.0	6.06128
Acroléine	237.15	56.06	32.27	100.0	25.0	305.133	0.5	25.0	6.10266
Propionaldéhyde	239.17	58.08	31.18	100.0	25.0	302.870	0.5	25.0	6.05740
Crotonaldéhyde	251.18	70.09	27.37	100.0	25.0	305.496	0.5	25.0	6.10992
MÉC	253.20	72.11	27.43	100.0	25.0	312.477	0.5	25.0	6.24953
IsoButyraldéhyde	253.20	72.11	18.58	100.0	25.0	211.659	0.6	25.0	5.07982
Butyraldéhyde	253.20	72.11	23.28	100.0	25.0	265.201	0.5	25.0	5.30402

* Une seule fiole jaugée de 25 mL complétée au trait avec de l'acétonitrile.

(b) : Étalons d'analyse **

Étiquette	5	50	100	250	500	750	1000
Vol (mL) W/S	0.050	0.500	1.000	2.500	5.000	7.500	10.000
Carbonyle [ug/mL]	[ug/mL]	[ug/mL]	[ug/mL]	[ug/mL]	[ug/mL]	[ug/mL]	[ug/mL]
Formaldéhyde	0.0226	0.2259	0.4518	1.1294	2.2588	3.3882	4.5176
Acétaldéhyde	0.0422	0.4218	0.8437	2.1092	4.2183	6.3275	8.4367
Acétone	0.0303	0.3031	0.6061	1.5153	3.0306	4.5460	6.0613
Acroléine	0.0305	0.3051	0.6103	1.5257	3.0513	4.5770	6.1027
Propionaldéhyde	0.0303	0.3029	0.6057	1.5143	3.0287	4.5430	6.0574
Crotonaldéhyde	0.0305	0.3055	0.6110	1.5275	3.0550	4.5824	6.1099
MÉC	0.0312	0.3125	0.6250	1.5624	3.1248	4.6872	6.2495
IsoButyraldéhyde	0.0254	0.2540	0.5080	1.2700	2.5399	3.8099	5.0798
Butyraldéhyde	0.0265	0.2652	0.5304	1.3260	2.6520	3.9780	5.3040
Butyraldéhyde total	0.0519	0.5192	1.0384	2.5960	5.1919	7.7879	10.3838

** Préparés dans une seule fiole jaugée de 10 mL complétée au trait avec de l'acétonitrile.

(c) : Solutions de dopage

Carbonyle	Solution de dopage de blanc fortifié (BF) ***					
	Niveau de la sol.-mère	Sol.-mère [mg/mL]	Volume (mL)	Diluer à : Vol (mL)	Dopage [ug/mL]	Tel que dosé [ug/mL]
Formaldéhyde	Primaire	225,879	2,8		63,24614	0,22588
Acétone	Primaire	303,064	2,0	10,0	60,61282	0,21647
IsoButyraldéhyde	Primaire	211,659	1,0		21,16594	0,07559
Butyraldéhyde	Primaire	265,201	1,0		26,52008	0,09471
Butyraldéhyde total					47,68601	0,1703

*** Dans une seule fiole jaugée de 10 mL complétée au trait avec de l'acétonitrile.

Figure 1 : Chromatogramme des carbonyles volatils dans un extrait à la DNPH de la fumée latérale de tabac

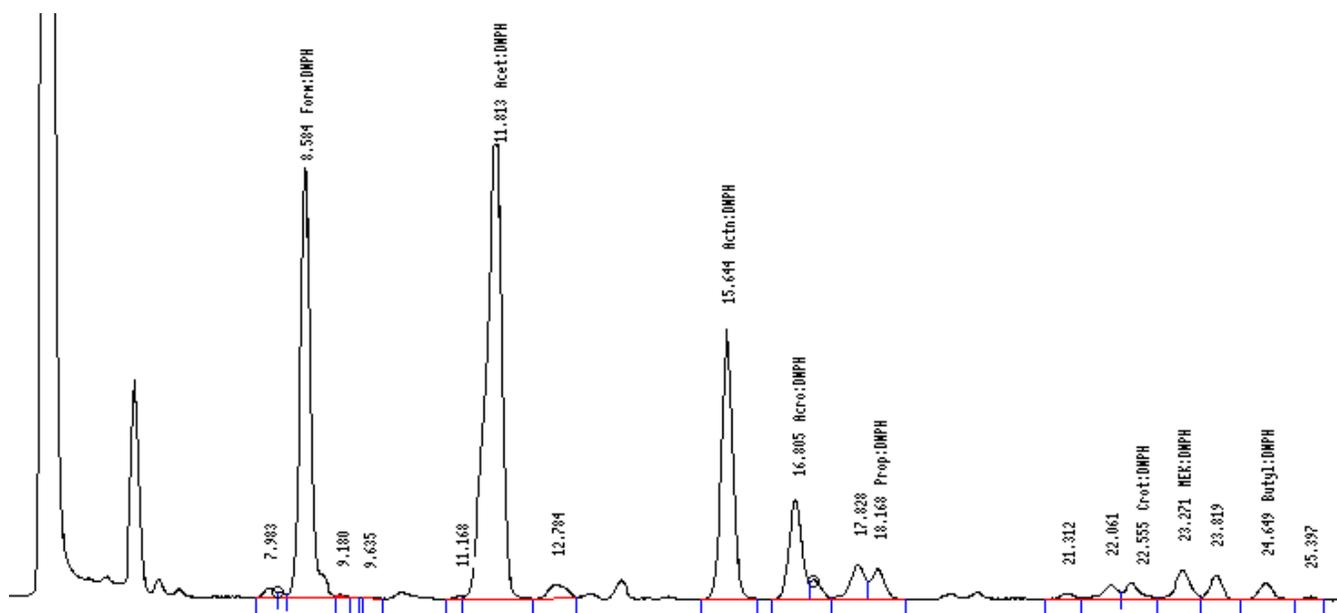


Figure 2 : Chromatogramme d'un mélange typique de solutions étalons de carbonyles

