

N° : T - 304  
Date : 31 décembre 1999  
Page : 1 de 7

## 1 PORTÉE DES APPLICATIONS

- 1.1 Cette méthode s'applique au dosage de la teneur en glycérol, en propylèneglycol et en triéthylèneglycol, qui ont pu être ajoutés au tabac comme humectants. La gamme de teneur anticipée pour chacun de ces humectants va de 0,5 à 4,0 %, dans un produit « tel que reçu ».
- 1.2 Cette méthode n'est pas conçue pour la mesure de traces de contamination provenant de sources extérieures et ne permet pas de faire la distinction entre la quantité d'humectant ajouté et la quantité de ce même produit d'origine naturelle (le cas échéant).

## 2 MÉTHODES APPLICABLES

- 2.1 Méthode d'essai de Santé Canada T-115 - Dosage du goudron, de la nicotine et du monoxyde de carbone dans la fumée principale de tabac, 1999-12-31.
- 2.2 Méthode d'essai de Santé Canada T-402 - Préparation des cigarettes, du tabac à cigarettes, des cigares, des kreteks, des bidis, du tabac en feuille, du tabac à pipe et du tabac sans fumée aux fins d'essais, 1999-12-31.

## 3 RÉSUMÉ DE LA MÉTHODE

- 3.1 Cette méthode est une méthode d'analyse par chromatographie en phase gazeuse (CPG) avec détection par ionisation de flamme (DIF) sur une colonne mégabore en silice fondue. Quatre grammes de tabac, provenant d'un emballage fraîchement ouvert (emballage ou boîte de tabac fine coupe), sont soumis à une extraction avec 50 mL d'un solvant à base de méthanol, sur un agitateur mécanique pendant 60 minutes. L'échantillon est ensuite mis dans le noir et laissé au repos pendant une heure, jusqu'à ce que le surnageant soit limpide. Une partie du surnageant est transférée dans un flacon de 2 mL pour échantillonneur automatique et les teneurs en humectant, dosées par chromatographie en phase gazeuse (CPG).
- 3.2 Les humectants sont analysés sur une colonne mégabore en silice fondue, garnie d'une phase stationnaire de polyéthylèneglycol (PEG). Le dosage est réalisé en comparant les réponses obtenues par DIF pour les analytes aux courbes d'étalonnage en quatre points préparées avec les humectants correspondants.
- 3.3 Afin de comparer avec exactitude la teneur en humectant d'une marque à l'autre et de calculer la teneur en humectant en fonction de la « matière sèche », une mesure du degré d'humidité est réalisée.

*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.

#### 4 APPAREILLAGE ET EQUIPEMENT

- 4.1 Erlenmeyers de 125 mL, avec bouchons ou l'équivalent.
- 4.2 Fioles jaugées de 10, de 100 et de 2000 mL.
- 4.3 Pipette de 20 mL pour la préparation du solvant d'extraction.
- 4.4 Pipettes jaugées pour la préparation des étalons (diverses tailles).
- 4.5 Pipette Brinkmann, 10 - 50 mL.
- 4.6 Chromatographe en phase gazeuse avec détecteur à ionisation de flamme (DIF).
- 4.7 Échantillonneur automatique.
- 4.8 Flacons de 2 mL pour échantillonneur automatique, avec bouchon et septum recouvert de téflon.
- 4.9 Colonne DB-Wax en silice fondue de 15 m X 0,53 mm X 1 µm.
- 4.10 Agitateur oscillant mécanique.
- 4.11 Pipettes jetables.
- 4.12 Balance analytique précise à la quatrième décimale.

#### 5 REACTIFS ET MATERIEL

*Nota* : tous les réactifs doivent être au moins de qualité réactif.

- 5.1 Méthanol distillé sous verre.
- 5.2 Glycérol.
- 5.3 Triéthylèneglycol.
- 5.4 Propylèneglycol.
- 5.5 1,3-Butanediol (utilisé comme étalon interne -ISTD).

#### 6 PREPARATION DE LA VERRERIE

- 6.1 La verrerie doit être lavée et séchée de façon à s'assurer qu'elle ne causera aucune contamination.

#### 7 PREPARATION DES SOLUTIONS ET DES ETALONS

- 7.1 **Solution d'extraction (concentration approximative de 1,3-butanediol : 2 mg/mL)**
  - 7.1.1 Peser exactement (sur une balance précise à la quatrième décimale) 20 g (+/- 0,05 g) de 1,3-butanediol dans une fiole jaugée de 100 mL et remplir au trait avec du méthanol.
  - 7.1.2 Apposer une étiquette indiquant « solution primaire de 1,3-butanediol ».
  - 7.1.3 Pipeter 20 mL de solution primaire (1<sup>o</sup>) et verser la portion dans une fiole jaugée de 2 L, puis remplir au trait avec du méthanol. Bien mélanger.

#### 8 PRÉPARATION DES ÉTALONS

- 8.1 **Étalon mère primaire (1<sup>e</sup>) de glycérol (environ 100 mg/mL)**

**8.1.1** Peser exactement (sur une balance précise à la quatrième décimale) 10 g (+/- 0,05 g) de glycérol dans une fiole jaugée de 100 mL et remplir au trait avec la solution d'extraction.

**8.2 Étalon mère primaire (1<sup>e</sup>) de propylèneglycol (environ 50 mg/mL)**

**8.2.1** Peser exactement (sur une balance précise à la quatrième décimale) 5 g (+/- 0,05 g) de propylèneglycol dans une fiole jaugée de 100 mL et remplir au trait avec de la solution d'extraction.

**8.3 Étalon mère primaire (1<sup>e</sup>) de triéthylèneglycol (environ 50 mg/mL)**

**8.3.1** Peser exactement 5 g (+/- 0,05 g) de triéthylèneglycol dans une fiole jaugée de 100 mL et remplir au trait avec la solution d'extraction.

**8.4 Étalon mère secondaire (2<sup>e</sup>) mixte (étalon dilué n° 4)**

**8.4.1** Prélever 4 mL de chacun des étalons mères primaires et les verser dans une fiole jaugée de 100 mL.

**8.4.2** Remplir au trait avec de solution d'extraction.

**8.5 Étalons dilués**

Tous les étalons sont préparés dans des fioles jaugées aux dilutions suivantes :

Étalon	Volume d'étalon mère mixte (mL)	Volume (mL)	Glycérol [mg/mL]	Propylène-glycol [mg/mL]	Triéthylène-glycol [mg/mL]
Étalon 1	2	10	0,8	0,4	0,4
Étalon 2	4	10	1,6	0,8	0,8
Étalon 3	7	10	2,8	1,4	1,4
Étalon 4 (mère 2 <sup>e</sup> )			4,0	2,0	2,0

*Nota 1* : Les fioles jaugées sont remplies au trait avec la solution d'extraction (qui contient l'étalon interne ISTD).

*Nota 2* : Les concentrations analytiques peuvent varier en fonction des concentrations des solutions mères primaires. Elles doivent être calculées afin d'obtenir un étalonnage exact.

*Nota 3* : Au besoin, un étalon de très faible concentration peut être préparé en diluant 500 µL de solution mère secondaire mixte à 10 mL de la solution d'extraction. Bien que la sensibilité ne soit pas un problème, une extrapolation en dehors de ces concentrations peut conduire à une mauvaise identification des pics.

## 9 ÉCHANTILLONNAGE

**9.1** L'échantillonnage des produits du tabac aux fins des essais doit se faire de la façon précisée dans la publication T-115.

## 10 ANALYSE DES ÉCHANTILLONS

### 10.1 Extraction des échantillons

10.1.1 Peser exactement 4 g de tabac dans un erlenmeyer de 125 mL.

10.1.2 Ajouter 50 mL de solution d'extraction.

10.1.3 Boucher les erlenmeyers et les placer sur un agitateur oscillant pendant 60 minutes.

10.1.4 Retirer les échantillons de l'agitateur, agiter le flacon en tournoyant de manière à faire passer tout le tabac dans le solvant.

10.1.5 Laisser les échantillons au repos 30 minutes, jusqu'à ce que le surnageant soit limpide.

10.1.6 Transférer le surnageant dans un flacon pour échantillonneur automatique et passer à l'analyse par CPG.

### 10.2 Conditions pour la chromatographie en phase gazeuse

**Injecteur** : à débit divisé, avec un débit d'environ 50 mL/min à 120 °C.

**Colonne** : DB-WAX de 15 m X 0,53 mm X 1,0 µm.

**Détecteur** : À ionisation de flamme (DIF), canal A, 1 volt à pleine échelle, gamme : 12, atténuation : 8.

**Zéro automatique** : Activé.

**Gaz vecteur** : He à 10,0 lb/po<sup>2</sup>, vitesse linéaire environ 150 cm/seconde

**Relais** : État initial : tous activés.

*Nota 1* : Les débits de H<sub>2</sub> et d'air extra sec sont réglés conformément aux spécifications du fabricant.

*Nota 2* : Aucun gaz d'appoint n'est nécessaire vu le débit élevé du gaz vecteur.

#### Programmation de température

**Injecteur** : 220 °C.

**Détecteur** : 260 °C.

**Température initiale** : 120 °C, maintenir deux minutes.

**Gradient** : 15 °C/min jusqu'à 180 °C, maintenir quatre minutes.

**Temps total d'analyse** : 10,00 minutes.

#### Conditions pour l'échantillonneur automatique - volume injecté : 1,0 µL.

10.2.1 Avant d'effectuer toute analyse d'échantillon, préparer une nouvelle courbe d'étalonnage en chargeant le carrousel de l'échantillonneur automatique dans l'ordre croissant de la concentration des étalons.

*Nota* : Le premier étalon doit être injecté au minimum trois fois initialement pour conditionner la colonne de nouveau.

- 10.2.2** Charger les échantillons dans le carrousel, en plaçant un étalon tous les 10 échantillons pour vérifier l'étalonnage et la qualité de la chromatographie.

**10.2.3** La colonne DB-WAX est garnie d'une phase stationnaire de polyéthylèneglycol, l'idéale pour la séparation des glycols. Cependant, de très importants problèmes de traînée peuvent survenir dans le cas du glycérol si les conditions chromatographiques sont mauvaises. Ces traînées peuvent aussi être dues au solvant et/ou à la réactivité dans l'injecteur.

**10.2.3.1** Le méthanol n'est, en général, pas un bon solvant à injecter dans un CPG, car il forme une énorme traînée. Cet effet est réduit au minimum en utilisant une division importante du débit, une très grande vitesse linéaire et une phase stationnaire épaisse et en insérant des tubes en verre silanisé dans l'injecteur.

**10.2.3.2** La réactivité dans l'injecteur est minimalisée en y insérant des tubes en verre silanisé. Il faut remplacer ces tubes entre chaque série d'échantillons (en gros 40 échantillons réels), car la solution injectée est relativement sale et crée des sites actifs sur le tube après des injections répétées.

### 10.3 Calculs

**10.3.1** Tous les résultats sont exprimés en fonction du tabac « tel que reçu ». Il est possible de les exprimer en fonction de la matière sèche en faisant intervenir le degré d'humidité appropriée.

#### Résultats analytiques :

$$\text{Analyte [mg/g]} = [\text{aire}(\text{Analyte échantillon}) / \text{aire}(\text{Étalon interne})] \times \text{FR}_{(\text{mg/mL})} \times [\text{Multiplicateur}_{(\text{mL})} / \text{Diviseur}_{(\text{g})}]$$

où FR est calculé à partir de la courbe d'étalonnage.

#### Conversion en pourcentage (« tel que reçu ») :

$$\text{Analyte (\%)}_{\text{« tel que reçu »}} = \frac{\text{résultat}_{(\text{en mg/g})}}{10}$$

#### Conversion en fonction de la matière sèche :

$$\text{Analyte [\% de matière anhydre]} = \frac{\text{Analyte (\%)}_{\text{« tel que reçu »}}}{[1 - (\% \text{ d'eau} / 100)]}$$

où le % d'eau est déterminé dans l'échantillon même reçu pour dosage des humectants.

## 11 CONTROLE DE LA QUALITE

**11.1** Chromatogramme typique – voir l'annexe 1.

**11.2** Taux de récupération et niveaux de contamination

**11.2.1** La détermination de l'ampleur éventuelle de la perte d'analyte et des perturbations dues aux réactifs se fait par l'analyse de blancs de réactif (BR) et de blancs fortifiés (BF). Les réactifs sont soigneusement choisis

afin d'obtenir des BR aussi près de zéro que possible et des BF aussi près de 100 % que possible.

**11.2.2** Chaque série d'analyses doit contenir un BR par lot de 20 échantillons au maximum.

**11.2.3** Il est nécessaire de se servir d'un blanc fortifié (BF) pour évaluer diverse matrices, le taux de récupération de l'analyte et les perturbations chromatographiques éventuelles dues à l'échantillon, qui pourraient influencer sur le dosage.

**11.2.4** Un double peut être analysé afin de déterminer la reproductibilité de la méthode.

### **11.3 Limite de détection de la méthode (LDM)/Limite de dosage (LD)**

**11.3.1** Ces limites sont déterminées avec une matière d'essai ayant une faible teneur d'analyte ou avec l'étalon de plus faible concentration. L'écart-type de ces mesures est calculé. La LDM et la LD sont respectivement égales à trois et 10 fois cet écart-type.

**11.3.2** La présente méthode est conçue pour doser des teneurs relativement élevées en humectants dans des matrices de tabac. La LDM et la LD n'ont donc pas été déterminées comme telles. Si leur détermination s'avère nécessaire, il est impératif de le faire pour chaque série d'analyses, à cause de la variabilité chromatographique de ces analytes.

### **11.4 Stabilité des réactifs et des échantillons**

**11.4.1** Les solutions mères sont stables pendant au moins un mois à 4 °C.

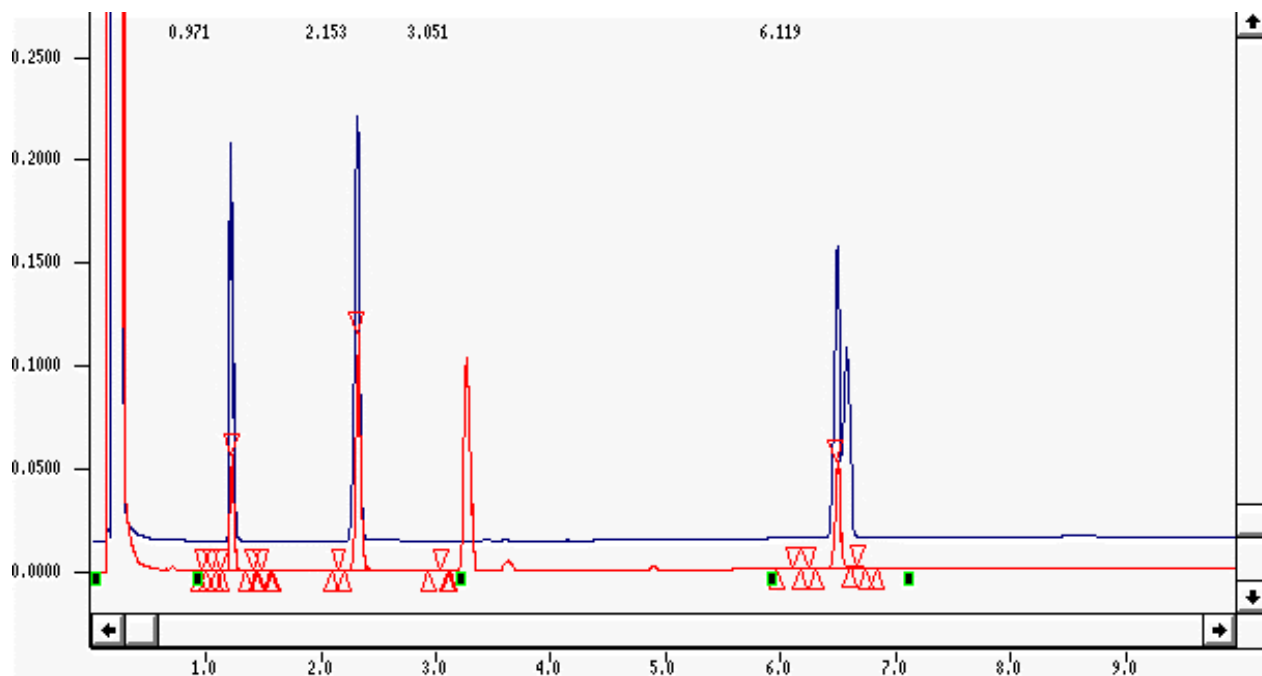
**11.4.2** De nouvelles solutions étalons doivent être préparées lors de chaque nouveau projet ou si l'étalon de contrôle pose un problème.

**11.4.3** La solution d'extraction peut être utilisée indéfiniment, puisque de nouvelles solutions étalons sont réalisées pour chaque nouvelle série d'échantillons.

## **12 REFERENCES**

**12.1** Méthode officielle 971.02 de l'AOAC, « *Glycerol, Propylene Glycol, and Triethylene Glycol in Cased Cigarette Cut Filler and Ground Tobacco, Gas Chromatographic Method* ». AOAC *Official Methods of Analysis*, 1995 ch. 3, p. 30.

**12.2** Méthode officielle 968.03 de l'AOAC, « *Menthol in Cigarette Filler, Gas Chromatographic Method* ». AOAC, *Official Methods of Analysis (1995)*, ch. 3, p. 35.

**ANNEXE****Annexe I : Exemples chromatographiques**

**Figure 1 :** Superposition des chromatogrammes d'un échantillon réel de tabac et d'un étalon, avec un décalage de 5 %.

Temps de rétention :

Propylèneglycol : 0,971 minutes.

1,3-Butanediol (étalon interne) : 2,153 minutes.

Glycérol : 6,119 minutes.

Triéthylèneglycol : 6,220 minutes.

*Nota :* La nicotine présente dans l'échantillon est éluée à ~ 3,20 minutes.