
N° : T - 311
Date : 31 décembre 1999
Page : 1 de 10

1 PORTÉE

- 1.1 La saveur (entre autres, l'arôme) du tabac et de la fumée du tabac est une propriété importante pour les fumeurs et l'utilisation d'additifs dans les mélanges de tabac à pipe, à priser ou à chiquer est pratique courante depuis longtemps. La présente méthode sert à doser la triacétine ajoutée au tabac comme agent aromatisant par entraînement à la vapeur acide et dosage par chromatographie en phase gazeuse avec détection par ionisation de flamme.
- 1.2 La méthode est conçue pour servir à l'analyse de routine, sans avoir à préparer de dérivés. La quantité à doser attendue se situe autour de 14,9 mg par filtre de 20 mm, et il n'y a pas de triacétine dans les cigarettes sans filtre. Cette méthode est applicable au tabac traité pour cigarettes, au tabac de coupe fine, au tabac à pipe, au tabac à priser, au tabac à chiquer et aux cigares.

2 MÉTHODES APPLICABLES

- 2.1 American Society for Testing and Materials (ASTM) : Méthode D 1193-77 - Standard Specification for Reagent Water, Version 1977.
- 2.2 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.

3 RÉSUMÉ DE LA MÉTHODE

- 3.1 Le tabac entier est soumis à un entraînement à la vapeur dans de l'acide sulfurique 0,5 N.
- 3.2 Le produit d'entraînement est soumis à trois extractions avec du chlorure de méthylène.
- 3.3 Les extraits sont combinés, puis presque jusqu'à siccité sur un évaporateur rotatif, sous un débit d'azote.
- 3.4 L'échantillon est alors analysé par chromatographie en phase gazeuse avec injection à débit divisé et d'une détection par ionisation de flamme (DIF).
- 3.5 Le dosage est réalisé par étalonnage externe, en comparant la réponse obtenue avec un échantillon à une courbe d'étalonnage en cinq points.

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 ÉQUIPEMENT

- 4.1 Erlenmeyers de 250 mL.
- 4.2 Fioles jaugées de 2000 mL.
- 4.3 Fioles jaugées de 100 mL.
- 4.4 Fioles jaugées de 10 mL.
- 4.5 Ampoules à décanter de 500 mL.
- 4.6 Éprouvette graduée de 250 mL.
- 4.7 Ballons à distillation de 250 mL.
- 4.8 Système d'entraînement à la vapeur .
- 4.9 Évaporateur rotatif (Rotovap ou l'équivalent).
- 4.10 Appareil de traitement en lots pour broyer le tabac (Robot Coupe RS1-2V ou l'équivalent).
- 4.11 Micropipettes pour la préparation des étalons (0,050, 0,200 et 0,500 mL) (ou pipette à volume réglable).
- 4.12 Turbo-évaporateur Zymark ou l'équivalent.
- 4.13 Pipettes - classe A, 2,0 et 8,0 mL.
- 4.14 Ballons de 250 mL à font ront à joints rodés.
- 4.15 Chromatographe en phase gazeuse commandé par ordinateur, comprenant :
 - 4.15.1 Injecteur avec ou sans division du débit.
 - 4.15.2 Échantillonneur automatique.
 - 4.15.3 Détecteur à ionisation de flamme.
 - 4.15.4 Poste de travail.
- 4.16 Colonne capillaire OV101, en silice fondue.
- 4.17 Balance d'analyse (précise à la quatrième décimale).
- 4.18 Gants jetables.
- 4.19 Lunettes de protection.
- 4.20 Flacons pour échantillonneur automatique à bouchons vissants.
- 4.21 Tubes gradués à fond conique de 15 mL, pour centrifugeuse.

5 RÉACTIFS ET MATÉRIEL

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

- 5.1 Triacétine (liquide) de pureté > 99 %.
- 5.2 Chlorure de méthylène distillé sous verre (DSV).
- 5.3 Méthanol (DSV).
- 5.4 Acide sulfurique à 95 – 97 %.
- 5.5 Eau de type I conformément aux spécifications de la norme 1193 de l'ASTM.
- 5.6 Hélium UHP (ultra grande pureté), comme gaz vecteur.
- 5.7 Hydrogène UHP (pour le DIF).
- 5.8 Air extra sec (pour le DIF).
- 5.9 Azote UHP (gaz d'appoint).
- 5.10 Azote HP (pour le turbo-évaporateur).
- 5.11 Parafilm® ou l'équivalent.
- 5.12 Septums de 8 mm revêtus de téflon, 60 mil.
- 5.13 Pipettes Pasteur jetables en verre.
- 5.14 Poires en caoutchouc.
- 5.15 Billes de verres.

6 PRÉPARATION DE LA VERRERIE

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

7 PRÉPARATION DES SOLUTIONS

7.1 Ne s'applique pas à la présente méthode.

8 PREPARATION DES ETALONS

8.1 Étalons primaires 1^e de triacétine

8.1.1 Peser 100 mg de triacétine liquide dans une fiole jaugée de 100 mL.

8.1.2 Remplir au trait avec du méthanol.

8.2 Étalons dilués triacétine

8.2.1 Prélever des volumes appropriés de l'étalon primaire (de 0,050 à 8 mL) et les diluer à 10 mL avec du chlorure de méthylène, afin d'obtenir des étalons dont les concentrations se situent dans les gammes détaillées ci-dessous.

Étalons de triacétine (solution mère primaire à 1,06029 mg/mL)

Étalon	Volume (mL) de solution mère primaire	Volume final en mL	Triacétine [$\mu\text{g/mL}$]
Noir 0	0,0	10	0,0
Étalon 1	0,050	10	5
Étalon 2	0,200	10	20
Étalon 3	0,500	10	50
Étalon 4	2,0	10	200
Étalon 5	8,0	10	800

Nota 1 : La concentration de triacétine varie en fonction de la concentration exacte de la solution mère préparée.

8.2.2 Transvaser dans des flacons ambrés de 1,5 mL pour échantillonneur automatique Varian. Rincer d'abord les flacons, puis les remplir de manière à réduire au minimum l'espace de tête.

8.2.3 Placer les flacons dans un carrousel et les conserver à 4 °C, à l'abri de la lumière jusqu'à la réalisation du dosage.

8.2.4 De nouveaux étalons de triacétine sont préparés tous les cinq jours ouvrables.

9 PREPARATION DES PRODUITS DU TABAC

9.1 Préparation des échantillons

9.1.1 Le tabac entier à analyser doit être retiré de son emballage d'origine, puis inspecté afin d'en éliminer tout corps étranger.

9.1.2 Les échantillons de tabac entier doivent être conditionnés dans le Robot Coupe de façon à passer un tamis de maille 20.

- 9.1.3** Les échantillons de tabac entier sont conditionnés conformément aux spécifications de la publication T-115.

10 PRÉPARATION DE L'APPAREIL À FUMER

- 10.1** Ne s'applique pas à cette méthode.

11 PRODUCTION DES ÉCHANTILLONS

- 11.1** Peser avec précision 2 g de tabac entier conditionné dans un ballon à distillation de 250 mL.
- 11.1.1** Y ajouter 150 mL de solution aqueuse d'acide sulfurique 0,5 N et quelques billes en verre.
- 11.1.2** Ajouter environ 25 mL d'eau de type I dans un erlenmeyer de 250 mL placé à la sortie du réfrigérant du système d'entraînement à la vapeur (l'extrémité du tube de sortie du condenseur doit plonger dans l'eau).
- 11.1.3** Commencer l'entraînement et récupérer environ 200 mL de distillat.
- 11.1.4** Noter le débit d'eau circulant dans le système d'entraînement (à des fins de reproductibilité et pour assurer une récupération optimale de la triacétine).
- 11.1.5** Transvaser le distillat dans une ampoule à décanter de 500 mL et y ajouter 50 mL de chlorure de méthylène.
- 11.1.6** Agiter l'ampoule, puis soutirer le chlorure de méthylène. Recueillir la couche extraite dans un ballon à fond rond de 250 mL.
- 11.1.7** Faire l'extraction trois fois.
- 11.1.8** Réunir les trois extraits dans un ballon.
- 11.1.9** Réduire le volume à environ 5 mL sur un évaporateur rotatif (à la température ambiante).
- 11.1.10** À l'aide d'une pipette, transvaser tout ce résidu dans une tube de 15 mL à fond conique pour centrifugeuse, avec deux rinçages avec 2 mL de chlorure de méthylène.
- 11.1.11** Réduire le volume à 1 mL sur un turbo-évaporateur avec un courant d'azote constant.
- 11.1.12** Avec une pipette Pasteur jetable, transférer ce résidu dans un flacon ambré de 1,5 mL pour échantillonneur automatique.
- 11.1.13** Placer les flacons dans un carrousel et les conserver à une température de 4 °C, à l'abri de la lumière jusqu'à la réalisation du dosage.
- 11.1.14** Préparer comme suit un BR, un BF et une MF (voir la section 13) avec chaque série d'échantillons de tabac entier, pour montrer que le système analytique, la verrerie ou les réactifs ne causent aucune perturbation.

11.1.14.1 BR : Entraîner à la vapeur 150 mL d'acide sulfurique 0,5 N, et traiter comme les échantillons.

11.1.14.2 BF : Ajouter 0,1 mL de l'étalon primaire de triacétine et 140 mL d'acide sulfurique 0,5 N dans un flacon à distillation. Traiter comme les échantillons.

11.1.14.3 MF : Ajouter 0,1 mL de l'étalon primaire de triacétine à un échantillon de tabac entier préparé en double. Traiter comme les échantillons.

12 ANALYSE DES ÉCHANTILLONS

12.1 Configuration du chromatographe en phase gazeuse

- Injecteur: en mode de division du débit, avec un rapport de 20.
- Tube d'insertion silanisé (sans division).
- Colonne : Capillaire, en silice fondue, HP – 101.
- Détecteur : À ionisation de flamme (DIF).
- Canal A, 1 volt pleine échelle.
- Gamme : 12, atténuation : 8.
- Zéro automatique : Activé.
- Gaz vecteur : He, 40,0 lb/po², débit = 2,3 mL/minute à 70 °C.
- Division (débit de purge) = 50 mL/minute.
- Relais : état initial, activé.
- Durée du relais : 0,40 min jusqu'à l'arrêt.

Nota : Régler les débits de gaz du détecteur conformément aux spécifications du fabricant.

12.2 Conditions pour la chromatographie en phase gazeuse

12.2.1 Injecteur : 220 °C.

12.2.2 Détecteur : 250 °C.

12.2.3 Profil de température pour la colonne :

Température de départ : 70 °C, maintenir 2,0 minutes.

Programmation : 5,0 °C/minute jusqu'à 220 °C, maintenir 3 minutes.

Durée totale d'analyse : 35,00 minutes.

12.3 Conditions pour l'échantillonneur automatique

- Volume injecté : 1,0 µL
- Solvant sélectionné : Hexane; puis méthanol
- Échantillonnage au solvant : Oui
- Bouchon de solvant : 0,1 µL
- Espace d'air supérieur : Oui
- Espace d'air inférieur : Oui
- Temps de lavage de la seringue : 20 secondes
- Vitesse de prélèvement : 1,0 µL/seconde

- Vitesse d'injection : 10,0 µL/seconde
- Temps de chauffage de l'aiguille : 0,02 minute
- Temps de résonance de l'aiguille : 0,01 minute
- Durée de la pause : 2,0 secondes.

12.4 Analyse des échantillons

12.4.1 Les flacons d'échantillons sont chargés sur l'échantillonneur automatique de telle manière qu'une solution étalon se trouve tous les 10 échantillons et que la durée totale de préparation et d'analyse de ces échantillons ne dépassent 24 heures.

12.4.2 Prélever 1 µL de chaque échantillon, l'injecter sur la colonne et l'analyser.

12.5 Calculs

12.5.1 Préparation d'une courbe d'étalonnage :

12.5.1.1 Injecter 1 µL de chaque étalon sur la colonne de CPG et l'analyser dans les conditions chromatographiques spécifiées.

12.5.1.2 Préparer une courbe d'étalonnage en rapportant la concentration en fonction de l'aire sous le pic correspondant.

12.5.1.3 Déterminer le facteur de réponse à partir de la courbe d'étalonnage.

12.5.2 Dosage des échantillons

12.5.2.1 Mesurer les teneurs en triacétine du tabac entier par la méthode de l'étalon externe (voir la **figure 3, Superposition de chromatogrammes**).

12.5.2.2 Identifier les pics par comparaison des temps de rétention observés avec les étalons et par dopage d'échantillons.

12.6 Calcul de la teneur en triacétine, en [µg/cigarette]

$$\text{Triacétine } [\mu\text{g/g}] = \frac{\text{aire sous le pic}}{\text{fact. de rép.}} \times \frac{\text{mL de solution}}{\text{masse de tabac}}$$

12.6.1 En introduisant le multiplicateur (volume total de dilution de l'échantillon original, en mL) et le diviseur (poids de l'échantillon original, en g) appropriés, la teneur en triacétine est calculée automatiquement en µg/g.

12.6.2 Pour convertir cette teneur en %, il suffit de la diviser par 10 000.

12.6.3 Tous les résultats sont exprimés en fonction du « tabac conditionné ». Ils peuvent l'être en fonction du tabac sec en tenant compte du degré d'humidité mesuré.

13 CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

13.1 Chromatogrammes typiques

13.1.1 Voir les figures 1, 2 et 3.

13.2 Taux de récupération et niveaux de contamination

13.2.1 Chaque série d'analyses d'échantillons doit aussi comprendre :

13.2.1.1 Un blanc de réactif (BR) pour évaluer l'ampleur des perturbations dues à la verrerie, aux solvants d'extraction, aux filtres et au système d'analyse.

13.2.1.2 Un blanc fortifié (BF) pour évaluer l'ampleur de la perte éventuelle d'analyte.

13.2.1.3 Une matrice fortifiée (MF) pour évaluer les effets de matrice. Pour ce faire, doper un échantillon réel avec une quantité connue de triacétine et déterminer le taux de récupération (%).

13.3 Limite de détection de la méthode (LDM) et limite de dosage (LD)

13.3.1 Limite de détection de la méthode (LDM)

13.3.1.1 La limite de détection de la méthode est déterminée par analyse de l'étalon le moins concentré au moins 10 fois sur une période de plusieurs jours. La LDM est égale à trois fois l'écart-type de ces mesure.

13.3.2 Limite de dosage (LD)

13.3.2.1 La limite de dosage est déterminée par analyse de l'étalon le moins concentré au moins 10 fois sur une période de plusieurs jours. La LD est égale à 10 fois l'écart-type de ces mesures.

13.4 Stabilité des réactifs et des échantillons

13.4.1 Préparer de nouveaux étalons primaires de triacétine à toutes les semaines.

13.4.2 Préparer de nouveaux étalons dilués et de nouveaux solvants d'extraction à toutes les semaines.

13.4.3 Analyser tous les échantillons dans les 24 heures.

14 RÉFÉRENCES

- 14.1 LaVoie, E.J., Shigematsu, A., Tucciarone, P.L., Adams, J.D. et Hoffmann, D., 1985. « *Comparison of the Steam-Volatile Components of Commercial Cigarette, Pipe, and Chewing Tobaccos* ». *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33, p. 876-879.

ANNEXES

figure 1 : Chromatogramme d'un étalon typique de triacétine

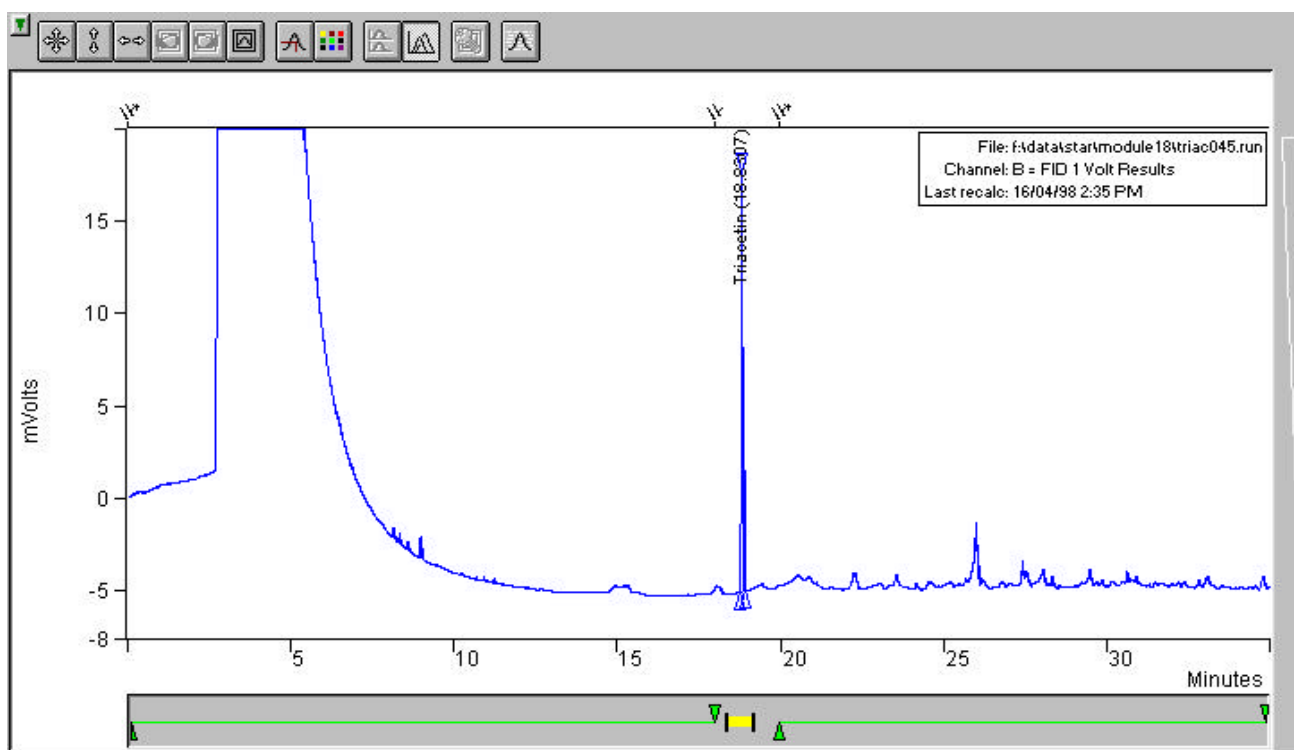


figure 2 : Chromatogramme d'un échantillon de tabac entier (témoin)

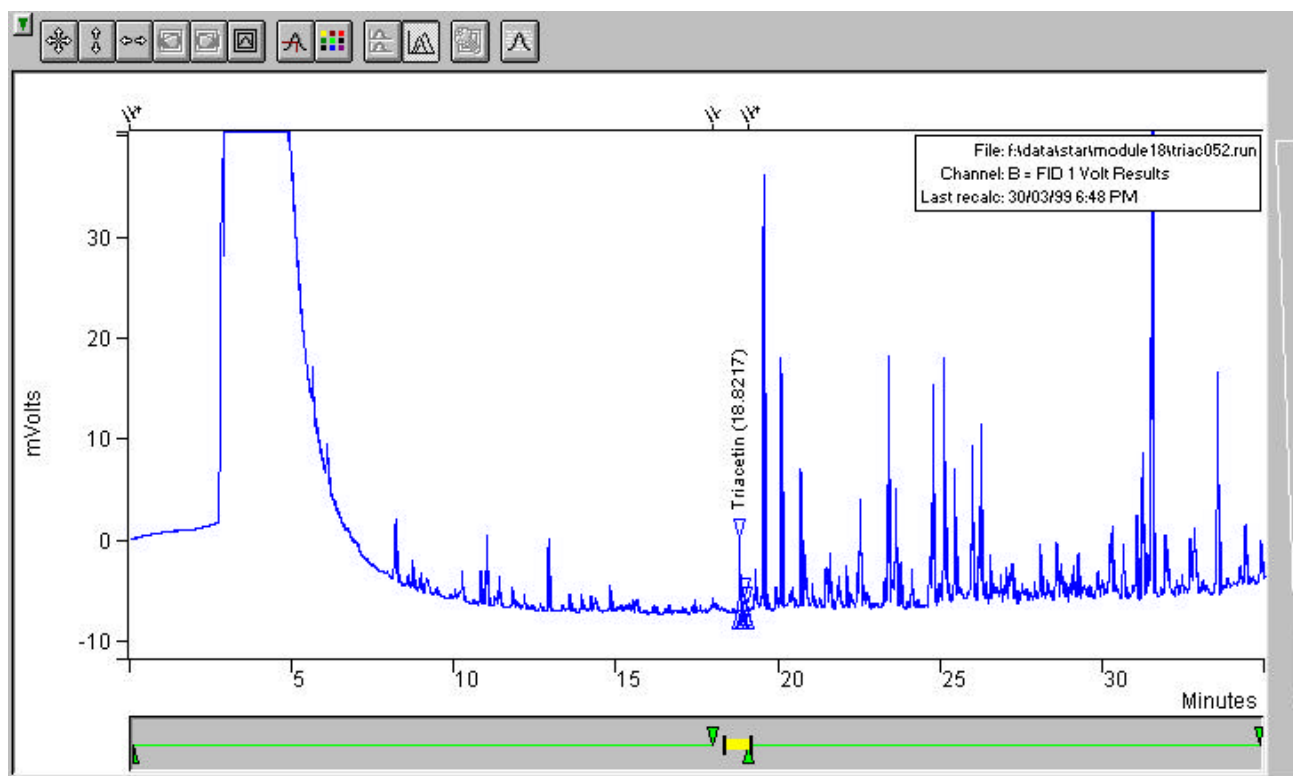


figure 3 : Superposition des chromatogrammes d'un échantillon de tabac entier de contrôle et d'un étalon de triacétine

