

N° : T - 210
Date : 31 décembre 1999
Page : 1 de 12

1 PORTÉE

1.1 La présente méthode s'applique à la séparation et au dosage de la pyridine et de la quinoléine contenues dans la fumée latérale, par chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (GC/MS).

2 MÉTHODE APPLICABLE

2.1 Méthode d'analyse T-115 de Santé Canada : Dosage du « goudron », de l'eau, de la nicotine et du monoxyde de carbone dans la fumée principale de tabac, 1999-12-31.

3 DÉFINITIONS

3.1 Pour la définition des termes utilisés dans le présent document, se reporter à la méthode d'analyse T-115.

4 RÉSUMÉ DE LA MÉTHODE

4.1 La présente méthode permet d'analyser la fumée latérale à l'aide d'une chambre en Y de la British American Tobacco (BAT). La fumée latérale est toute la fumée émise spontanément à l'extrémité distale d'un produit du tabac en combustion. Elle est recueillie à l'aide d'une chambre en Y placée au-dessus du produit en combustion qui achemine la fumée vers un système d'analyse en vue du dosage de ses constituants.

4.2 La pyridine et la quinoléine sont piégées en acheminant la fumée latérale sur un disque en fibre de verre (tampon), puis dans deux impacteurs contenant du méthanol. Le premier impacteur est maintenu à la température ambiante et le second à une température égale ou inférieure à - 70 °C dans un bain de glace carbonique/isopropanol. Le tampon est ensuite agité dans une solution d'étalons internes (D₅-pyridine et D₇-pyridine) et dans la solution de piégeage, puis il est filtré. Le filtrat est analysé par GC/MS.

Nota : L'analyse et l'évaluation de certains produits à l'aide de cette méthode d'analyse peut 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'analyse, 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 fumage mécanique, tel que précisé dans la méthode T-115.

5.2 Équipement nécessaire au conditionnement des produits de tabac, tel que précisé dans la méthode T-115.

- 5.3 Équipement nécessaire au marquage de la longueur des mégots, tels que précisé dans la méthode T-115.
- 5.4 Balance précise à au moins quatre places décimales.
- 5.5 Impacteurs de verre de 70 mL, avec frittés extra-grossiers.
- 5.6 Tubes en Tygon et raccords.
- 5.7 Chambre en Y, avec statif et pinces.
- 5.8 Pompes à vides (GAST ou l'équivalent).
- 5.9 Débitmètres.
- 5.10 Erlenmeyers de 125 mL, en polyméthylpentène (PMP), avec bouchons à vis.
- 5.11 Éprouvette graduée, capacité de 20 mL.
- 5.12 Agitateur oscillant.
- 5.13 Fioles jaugées de 10, 25, 50 et 100 mL.
- 5.14 Pipettes jaugées ou seringues étanches, capacité de 100 à 1000 µL.
- 5.15 Flacons pour autoéchantillonneur, avec bouchons et septums rouges garnis de téflon.
- 5.16 Système CG/SM Varian Saturn I, comprenant un autoéchantillonneur modèle 8100, un CG modèle 3400 avec injecteur à débit divisé/non divisé modèle 1077 et un piège ionique (ou l'équivalent).
- 5.17 Colonne Supelcowax, 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm (ou produit l'équivalent), munie d'un tube de transfert en silice fondue désactivée de 1 m x 0,25 mm.

6 RÉACTIFS ET MATÉRIEL

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

- 6.1 Glace carbonique.
- 6.2 Isopropanol.
- 6.3 Méthanol (distillé en verre).
- 6.4 D₅ - Pyridine (qualité isotope ou l'équivalent) – pureté d'au moins 98 %.
- 6.5 D₇ - Quinoléine (qualité isotope ou l'équivalent) – pureté d'au moins 98 %.
- 6.6 Pyridine.
- 6.7 Quinoléine.
- 6.8 Seringue jetable de 5 cm³.
- 6.9 Filtres à seringue - 0,45 µm, en PTFE, 25 mm, ou l'équivalent.

7 PRÉPARATION DE LA VERRERIE

- 7.1 Nettoyer et sécher la verrerie de manière à s'assurer qu'elle ne constituera pas une source de contamination.
- 7.2 Entre chaque échantillon, rincer les impacteurs et la chambre en Y avec du méthanol, puis les sécher à l'air.

8 PRÉPARATION DES SOLUTIONS

- 8.1 Sans objet.

9 PRÉPARATION DES ÉTALONS

- 9.1 Préparer une solution mère primaire de pyridine en pesant avec précision environ 100 mg de pyridine dans une fiole jaugée de 10 mL. Compléter au trait avec du méthanol et bien mélanger. [Concentration d'environ 10 mg/mL].

-
- 9.2** Préparer une solution mère primaire de quinoléine en pesant avec précision environ 100 mg de quinoléine dans une fiole jaugée de 100 mL. Compléter au trait avec du méthanol et bien mélanger. [Concentration d'environ 1 mg/mL].
- 9.3** Préparer une solution mère secondaire mixte en transvidant 100 µL de chaque solution mère dans une fiole jaugée de 50 mL; compléter au trait avec du méthanol et bien mélanger. [Concentration d'environ 20 et 2 µg/mL, respectivement].
- 9.4** Préparer une solution mère de D₅-pyridine en pesant avec précision 100 mg de D₅-pyridine dans une fiole jaugée de 10 mL; compléter au trait avec du méthanol et bien mélanger.
- 9.5** Préparer une solution mère de D₇-quinoléine en pesant avec précision 25 mg de D₇-quinoléine dans une fiole jaugée de 25 mL; compléter au trait avec du méthanol et bien mélanger.
- 9.6** Préparer une solution d'étalon interne pour dopage en diluant 2 mL de chacune des solutions mères jusqu'à 100 mL avec du méthanol; bien mélanger. Conserver des portions de cette solution de dopage dans des flacons de 25 mL munis d'un bouchon garni de téflon, à - 20 °C. [Concentration d'environ 200 et 20 µg/mL, respectivement].
- 9.7** Préparer cinq solutions d'étalonnage en transvidant 100 µL de solution d'étalon interne pour dopage dans cinq fioles jaugées de 10 mL. Rincer les parois avec du méthanol, puis ajouter des portions appropriées (par exemple, 2, 1, 0,5, 0,25 et 0,1 mL) de la solution mère secondaire dans chaque fiole. Compléter au trait avec du méthanol et bien mélanger.
- 9.8** Transvider les solutions dans une série de flacons pour autoéchantillonneur munis d'une étiquette, les boucher avec des septums garnis de téflon et les conserver à - 20 °C jusqu'au moment de l'analyse.

Nota : Chaque flacon n'est utilisé qu'une seule fois.

10 ÉCHANTILLONNAGE

- 10.1** L'échantillonnage de produits du tabac en vue de l'analyse est réalisé conformément à la méthode T-115.

11 PRÉPARATION DES PRODUITS DU TABAC

- 11.1** Conditionner les produits de la manière précisée dans la méthode T-115.
- 11.2** Marquer la longueur des mégots de la manière précisée dans la méthode T-115.
- 11.3** Préparer les cigarettes devant être fumées dans des conditions intenses, de la manière précisée dans la méthode T-115.

12 PRÉPARATION DE LA MACHINE À FUMER

- 12.1 Conditions ambiantes**

12.1.1 Les conditions ambiantes lors du fumage doivent être celles précisées dans la méthode T-115.

12.2 Paramètres de fumage

12.2.1 Les paramètres de fumage doivent être ceux précisés dans la méthode T-115.

12.2.1.1 Effectuer le fumage mécanique sur quatre à huit canaux d'une machine à fumer linéaire à 20 canaux. La fumée latérale est piégée dans une chambre en Y installée au-dessus de la cigarette (voir l'illustration suivante).

12.2.2 Peser les porte-tampons et les tampons pour fumée principale de tabac et pour fumée latérale.

12.2.3 Insérer le porte-tampon pour fumée principale de tabac, muni d'un tampon, dans le canal désigné de la machine à fumer.

12.2.4 Préparer les impacteurs en versant 10 mL de méthanol dans le premier impacteur et 20 mL dans le second.

12.2.5 Immerger le second impacteur dans un bain de glace carbonique/isopropanol (à une température égale ou inférieure à -70 °C). Le premier impacteur reste à la température ambiante et piège l'eau; ainsi, l'impacteur dans le bain de glace carbonique ne gèle pas.

12.2.6 Placer le porte-tampon pour fumée latérale à la partie supérieure de la chambre en Y, puis relier deux impacteurs en série au porte-tampon. Relier le second impacteur au débitmètre, puis relier ce dernier à la pompe à vide.

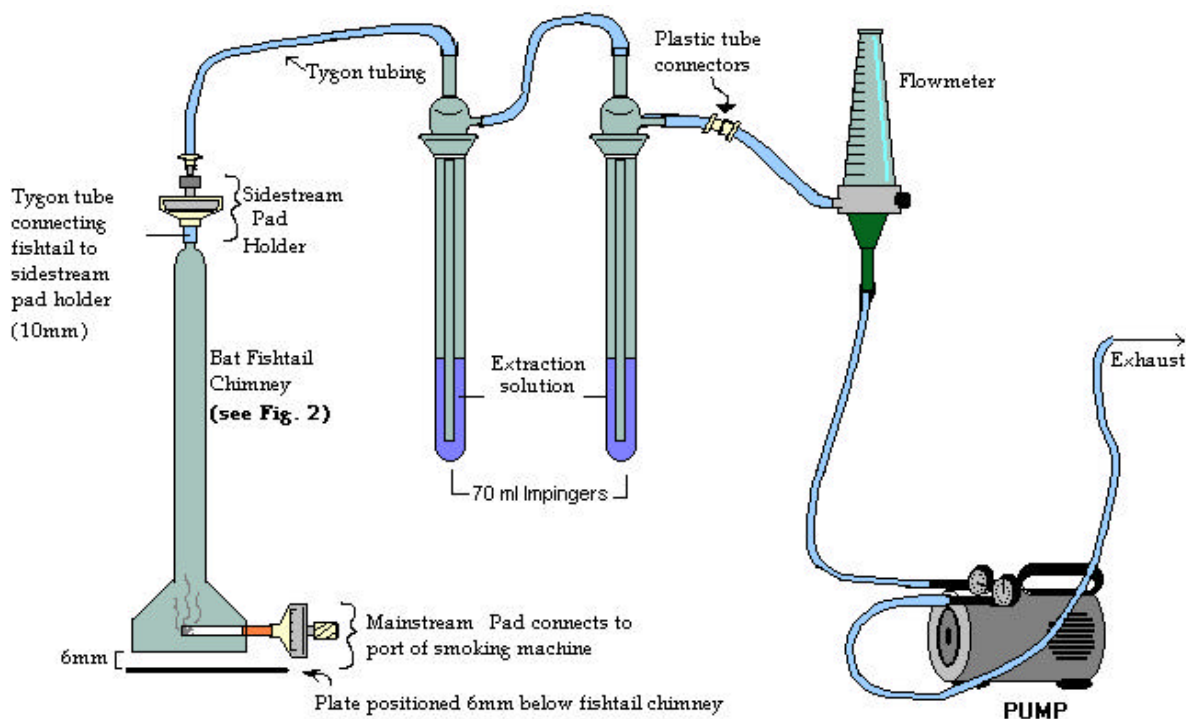


FIGURE 1b: SIDESTREAM APPARATUS USING TWO IMPINGERS

FIGURE 1B : Appareillage à deux impacteurs servant à l'analyse de la fumée latérale de tabac

Tygon tube connecting fishtail to sidestream pad holder (10 mm) = Tube en Tygon reliant la chambre en Y au porte-tampon (10 mm)
Sidestream pad holder = Porte-tampon pour fumée latérale
Tygon tubing = Tube en Tygon
Plastic tube connectors = Raccords en plastique
Flowmeter = Débitmètre
Extraction solution = Solution d'extraction
BAT Fishtail chimney (see Figure 2) = Chambre en Y BAT (voir Figure 2)
70 mL Impacters = Impacteurs de 70 mL
Mainstream pad connects to port of smoking machine = Tampon pour fumée principale de tabac, relié au canal de la machine à fumer
Plate positioned 6 mm below fishtail chimney = Plaque située à 6 mm sous la chambre en Y
Exhaust = Évacuation
PUMP = POMPE

13 PRODUCTION D'ÉCHANTILLONS

- 13.1 Mettre la pompe en marche (débit de 2 L/minute) juste avant l'allumage de la cigarette. Allumer la cigarette et amorcer le comptage des bouffées.

-
- 13.2** Abaisser la chambre à la position minimum. La cigarette ne doit pas toucher à la paroi de la chambre. Maintenir la chambre à environ 6 mm de la plaque située au-dessous de la cigarette.
- 13.3** Fumer la cigarette jusqu'à la longueur de mégot standard prédéterminée. Retirer le mégot. Après fumage de la cigarette jusqu'à la marque, laisser la pompe fonctionner pendant environ 20 secondes afin d'entraîner toute la fumée se trouvant dans la chambre en Y. Relever la chambre à sa position maximum et arrêter la pompe.
- 13.4** Fumer la seconde cigarette de la même manière que la première.
- 13.5** Après fumage de deux cigarettes par canal, retirer les porte-tampons pour fumée principale de tabac et pour fumée latérale et noter leur poids final sur la feuille de résultats pour obtenir la teneur en matière particulaire totale (MPT) de la fumée principale de tabac et de la fumée latérale. Déterminer la teneur en MPT conformément à la norme ISO 4387. Les données sur la MPT dans la fumée principale de tabac et la fumée latérale sont utilisées pour caractériser les échantillons et pour contrôler le processus de fumage.

14 ANALYSE DES ÉCHANTILLONS

14.1 Extraction des tampons

- 14.1.1** Déposer le tampon pour fumée latérale dans un erlenmeyer propre de 125 mL en PMP. Doper le tampon avec 500 µL de la solution d'étalon interne pour dopage.
- 14.1.2** Transvider le contenu des deux impacteurs dans l'erlenmeyer. Rincer chaque impacteur avec 10 mL de méthanol; verser les liquides de rinçage dans la chambre en Y et les récupérer dans l'erlenmeyer (volume total de 50 mL).
- 14.1.3** Boucher et agiter sur l'agitateur oscillant pendant 30 minutes.
- 14.1.4** Verser 4 mL de la solution dans une seringue de 5 mL munie d'un filtre.
- 14.1.5** Remplir jusqu'à la base du col deux flacons pour autoéchantillonneur munis d'une étiquette, puis les boucher avec un bouchon pour autoéchantillonneur et un septum garni de téflon.
- 14.1.6** Conserver les échantillons à – 20 °C pendant au plus 48 heures avant l'analyse.

14.2 Analyse instrumentale

14.2.1 Paramètres du système GC/MS

- 14.2.1.1 Température du système d'injection : 250 °C.
14.2.1.2 Température de la colonne : 70 °C pendant deux minutes.
3 °C par minute jusqu'à 150 °C.
20 °C par minute jusqu'à 250 °C, maintenir pendant trois minutes.
- 14.2.1.1 Pression dans la colonne : 12 lb/po².
14.2.1.2 Température du tube de transfert : 240 °C.
14.2.1.3 Température du collecteur : 240 °C.

14.2.2 Injecter 1 µL de la solution de méthanol au rythme de 5 µL/s dans le système CG/SM utilisé en mode à débit non divisé (débit divisé de 20 mL/minute).

14.2.3 Utiliser le CG/SM en mode pleine échelle (50 à 200 uma). Utiliser l'aire sous les pics suivants pour le dosage :

D ₅ -pyridine	84
D ₇ -quinoléine	136
Pyridine	79
Quinoléine	129

Nota : Ces masses sont attribuées selon la meilleure réponse (c'est-à-dire, pic de base) et la nécessité d'éviter toute contamination par des pics perturbants susceptibles de correspondre à des ions semblables. Les ions choisis pour le dosage peuvent être différents avec des instruments possédant une configuration différente.

Nota : On peut déterminer la quantité à partir de la hauteur des pics, si les pics perturbants ne peuvent être entièrement résolus.

14.3 Calculs

14.3.1 Courbe d'étalonnage

14.3.1.1 Préparer une nouvelle courbe d'étalonnage au début de chaque série d'échantillons ou de chaque « projet ». Injecter chaque solution étalon une seule fois et créer un fichier d'étalonnage à l'aide de la méthode de dosage avec étalons internes du logiciel approprié du système Saturn.

14.3.1.2 Analyser un étalon de vérification à chaque série de 20 échantillons et au moins une fois par série d'analyses. Traiter cet étalon comme s'il s'agissait d'un échantillon et comparer la valeur observée à la valeur prévue pour cet

étalon. En présence d'un écart de plus de 10 %, prendre les mesures suivantes.

14.3.1.3 Préparer de nouvelles solutions étalons et les analyser comme étalons de vérification.

14.3.1.4 Si l'écart entre la valeur observée et la valeur prévue est égal ou inférieur à 10 %, jeter le premier lot d'étalons et utiliser le nouveau lot. L'étalonnage est encore valide.

14.3.1.5 Si l'écart entre la valeur observée et la valeur prévue est supérieur à 10 %, l'étalonnage n'est plus valide et il faut préparer une nouvelle courbe d'étalonnage.

14.3.2 Exemple de calcul

14.3.2.1 Utiliser le logiciel du système CG/SM pour obtenir des résultats pour chaque analyte à partir des concentrations des solutions étalons. Les résultats sont exprimés en µg/mL. Calculer les résultats finals à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{Analyte } (\mu\text{g/cigarette}) = \frac{\text{Conc. de l'analyte dans l'échantillon } (\mu\text{g/mL}) \times \text{Volume (mL)}}{\text{Nombre de cigarettes}}$$

Nota : Normalement, le volume est de 50 mL et il y a deux cigarettes.

15 CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

15.1 Taux de récupération et niveaux de contamination

15.1.1 Les blancs de réactifs (BR) permettent de déterminer les effets perturbants possibles des réactifs. Analyser un BR pour chaque série de 20 échantillons. Déposer dans un TFC dans un erlenmeyer en PMP contenant 500 µL de solution étalon et 50 mL de méthanol. Traiter le BR comme s'il s'agissait d'un échantillon

Nota : Au lieu d'un BR, on peut utiliser un blanc de fumage pour déterminer s'il y a contamination des réactifs et de l'air ambiant dans la chambre de fumage. Pour ce faire, procéder au fumage mécanique sans cigarette, en réglant l'appareil au même nombre de bouffées que celui utilisé pour une cigarette témoin.

15.1.2 Les blancs fortifiés (BF) permettent d'évaluer l'importance des pertes possibles d'analyte. Analyser un BF pour chaque série de 20 échantillons. Déposer un TFC dans une fiole contenant 500 µL de la solution d'étalon interne pour dopage, une portion appropriée de la solution mère secondaire mixte et 50 mL de méthanol. Traiter ensuite le BF comme s'il s'agissait d'un échantillon. En raison de la simplicité de la méthode et de l'utilisation d'étalons internes deutérés, les taux de récupération devraient être très proches de 100 %.

15.1.3 La matrice fortifiée (MF) permet d'évaluer l'effet perturbant possible de la matrice. Fumer un échantillon de cigarette de la marque témoin et transférer le tampon dans un flacon à sérum. Doper le tampon avec la

solution d'étalon interne et une portion de solution mère secondaire mixte. Ajouter les solutions de piégeage au tampon et traiter cet échantillon conformément à la méthode. Le taux de récupération devrait être proche de 100 %.

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

15.2.1 La LDM est égale à la concentration pour laquelle le rapport signal/bruit est de 3/1. La LDD est égale à la concentration pour laquelle le rapport signal/bruit est de 10/1

Nota : La présente méthode comprend le dosage des constituants de la fumée de tabac entier qui sont solubles dans le méthanol, sans purification préalable des échantillons. Il faut donc contrôler étroitement les paramètres chromatographiques pour obtenir des pics bien définis et pouvoir bien distinguer les analytes recherchés des autres constituants.

15.3 Stabilité des réactifs et des échantillons

15.3.1 Les solutions mères sont stables pendant au moins un mois si elles sont conservées à une température de - 20 °C.

15.3.2 Les solutions d'étalonnage sont stables pendant au moins une semaine si elles sont conservées à une température de - 20 °C. Les flacons ne sont généralement utilisés qu'une seule fois, car il peut y avoir perte de la pyridine, qui est plus volatile, une fois la pellicule perforée.

15.3.3 Les échantillons sont stables pendant au moins une semaine s'ils sont conservés à une température de - 20 °C. Il est essentiel de préparer au moins deux flacons pour chaque échantillon, car on se débarrasse du flacon une fois la pellicule perforée.

16 SPÉCIFICATIONS RELATIVES AUX CONDITIONS DE FUMAGE INTENSES

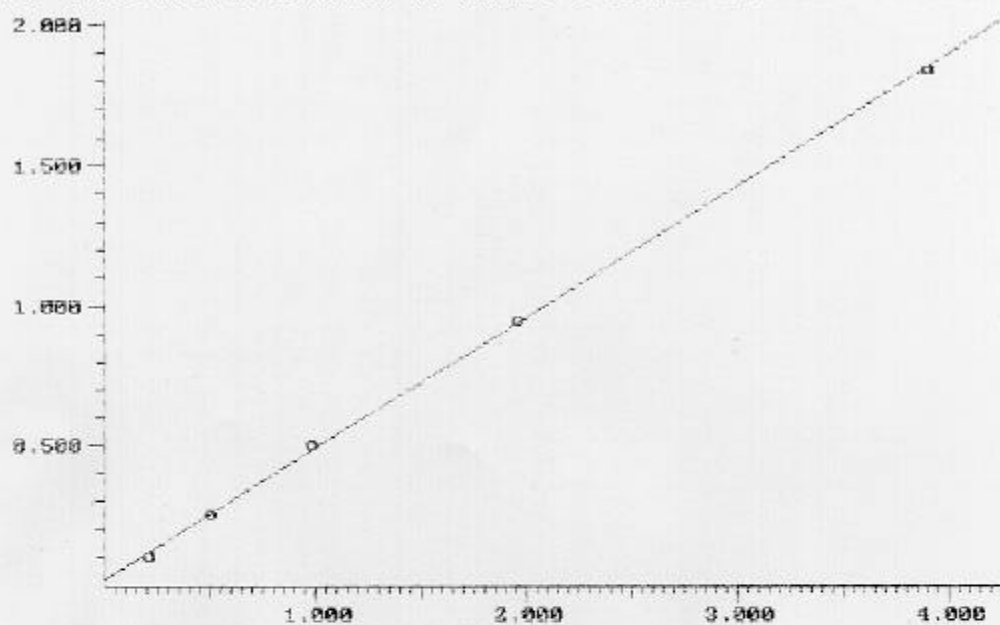
16.1 Aucun changement applicable aux conditions de fumage intenses.

17 RÉFÉRENCES

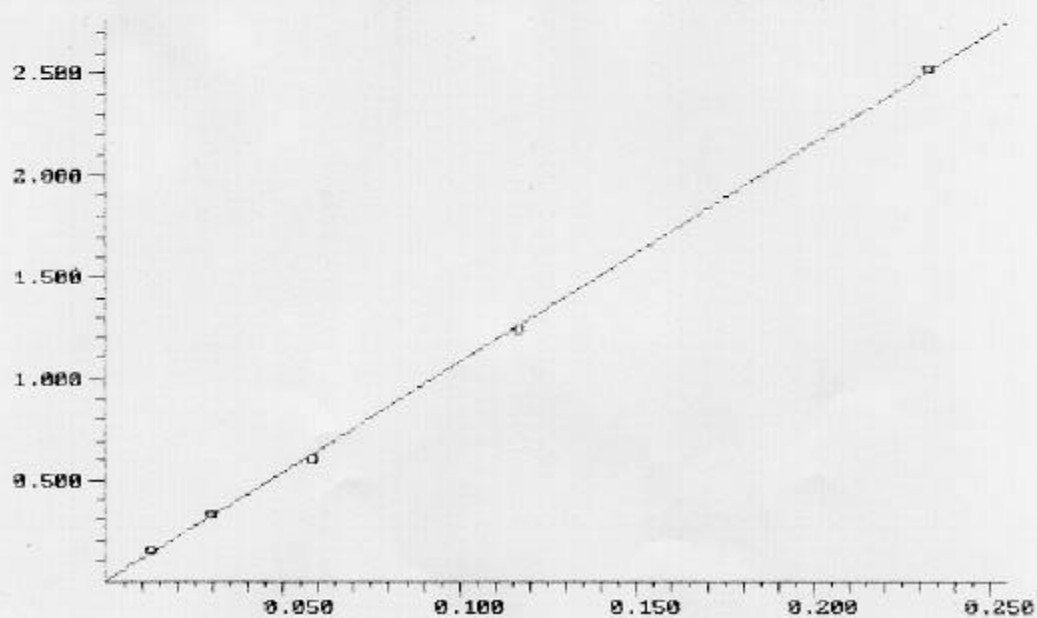
- 17.1** White, E., Uhrig, M., Johnson, T., Gordon, B., Hicks, R., Borgerding, M., Coleman, W. et Elder, J., 1990. Quantitative Determination of Selected Compounds in a Kentucky 1R4F Reference Cigarette Smoke by Multidimensional Gas Chromatography and Selected Ion Monitoring - Mass Spectrometry. *Journal of Chromatographic Science* 26, p. 393-399.
- 17.2** Sakuma, H., Kusama, M., Yamaguchi, K., Matsuki, T. et Sugawara, S., 1984. The Distribution of Cigarette Smoke Components between Mainstream and Sidestream Smoke. II. Bases, *Beiträge zur Takakforschung International* 12, p. 199-209.
- 17.3** Brunnemann, K.D., Stahnke, G. et Hoffmann, D., 1978. Chemical Studies on Tobacco Smoke. LXI. Volatile Pyridines: Quantitative Analysis in Mainstream and Sidestream Smoke of Cigarettes and Cigars, *Analytical Letters* A11, p. 545-560.

- 17.4** Sakuma, H., Kissama, M., Yamaguchi, K. et Sugawara, S., 1984. The Distribution of Cigarette Smoke Components between Mainstream and Sidestream Smoke. III. Middle and Higher Boiling Components, *Beiträge zur Takakforschung International* 12, p. 251-258.
- 17.5** Proctor, C.J., Martin, C., Beven, J.L. et Dymond H.F., 1988. Evaluation of an Apparatus Designed for the Collection of Sidestream Tobacco Smoke, *Analyst* 113: p. 1509-1513.

Calibration Plot (Int Stds) Filename: PYR0317 Correlation Coeff: 1.000
Pyridine Compound: 3 of 5 Standard Deviation: 0.013
(Area of Sample/Area of Standard) vs (Amount of Sample Injected) (Lin/Lin)



Calibration Plot (Int Stds) Filename: PYR0317 Correlation Coeff: 1.000
Quinoline Compound: 5 of 5 Standard Deviation: 0.015
(Area of Sample/Area of Standard) vs (Amount of Sample Injected) (Lin/Lin)



Calibration Plot (Int Stds) : Courbe d'étalonnage (Étalons internes)
Filename : Nom de fichier
Correlation Coeff : Coefficient de corrélation
Pyridine : Pyridine
Compound : Composé

3 of 5 : 3 de 5

Standard Deviation : Écart-type

(Area of Sample/Area of Standard) vs (Amount of Sample Injected) :

(Aire sous le pic de l'échantillon/Aire sous le pic de l'étalon) vs (Quantité d'échantillon injecté)

(Lin/Lin) : (Linéaire/Linéaire)

Quinoline : Quinoléine