
**Cigarettes — Dosage du benzo[a]pyrène
dans le courant principal de la fumée de
cigarettes — Méthode par couplage de
chromatographie en phase
gazeuse/spectrométrie de masse**

*Cigarettes — Determination of benzo[a]pyrene in cigarette mainstream
smoke — Method using gas chromatography/mass spectrometry*
(standards.iteh.ai)

ISO 22634:2008

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bd16798c-fa0d-42f2-a7cb-a0480ae72f3b/iso-22634-2008>



PDF – Exonération de responsabilité

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO décline toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 22634:2008

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bd16798c-fa0d-42f2-a7cb-a0480ae72f3b/iso-22634-2008>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2008

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie et les microfilms, sans l'accord écrit de l'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.org
Web www.iso.org

Publié en Suisse

Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

L'ISO 22634 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 126, *Tabac et produits du tabac*.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 22634:2008

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bd16798c-fa0d-42f2-a7cb-a0480ae72f3b/iso-22634-2008>

Introduction

Entre 1999 et 2003, un groupe d'études composé de membres du CORESTA¹⁾ a étudié les méthodologies existantes relatives au dosage du benzo[a]pyrène (B[a]P) dans le courant principal de la fumée de cigarette. Plusieurs méthodes ont été proposées, reposant principalement sur deux types de méthodes d'analyse: la chromatographie en phase liquide à haute performance avec détection par fluorescence et le couplage chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse. Dans les deux cas, il est nécessaire de purifier l'extrait de condensat de fumée avant de procéder à l'analyse par chromatographie, pour obtenir une séparation correcte du pic de B[a]P.

Le groupe d'études a, dans un premier temps, décidé d'élaborer une méthode par chromatographie en phase liquide à haute performance avec détection par fluorescence. Cependant, plusieurs expériences collectives ont montré qu'il serait techniquement très difficile d'obtenir une réduction sensible de la variabilité initialement observée. Le groupe d'études a alors envisagé une autre méthode, la chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse, et a pu démontrer par des expériences collectives que cette méthode permettait de réduire la variabilité.

La présente Norme internationale, qui est le fruit d'expériences collectives impliquant de nombreux laboratoires dans de nombreux pays, propose un mode opératoire optimisé pour le dosage du benzo[a]pyrène dans le courant principal de la fumée de cigarette. La répétabilité et la reproductibilité de cette méthode ont été évaluées conformément aux recommandations de l'ISO et sont incluses dans le présent document.

Aucun régime de fumage mécanique ne peut reproduire parfaitement le comportement des fumeurs:

- il est recommandé que les cigarettes soient aussi soumises à essai sous les conditions d'une différente intensité de fumage mécanique que celles spécifiées dans la présente Norme internationale;
- l'essai de fumage mécanique permet de caractériser les émissions des cigarettes pour des besoins de conception et de réglementation, mais communiquer aux fumeurs les résultats de mesures sur machine peut susciter des malentendus sur les niveaux d'exposition et de risque selon les marques;
- les données concernant l'émission de fumées obtenues par des mesurages mécaniques peuvent être utilisées comme des données de base pour l'évaluation des dangers du produit mais elles ne constituent pas des mesures valables de l'exposition des individus et des risques et ce n'est pas leur but. C'est faire un usage impropre des essais réalisés conformément aux normes ISO de communiquer que les différences de mesures mécaniques entre différents produits correspondent à des différences de niveaux d'exposition ou de risque.

1) CORESTA: Centre de Coopération pour les Recherches Scientifiques Relatives au Tabac.

Cigarettes — Dosage du benzo[a]pyrène dans le courant principal de la fumée de cigarettes — Méthode par couplage de chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode de dosage du benzo[a]pyrène (B[a]P) dans la matière particulaire totale du courant principal de la fumée de cigarette.

Cette méthode est spécifiée en utilisant les paramètres de fumage de l'ISO 3308, mais elle est techniquement compatible avec d'autres régimes de fumage.

2 Références normatives

Les documents de référence suivants sont indispensables pour l'application du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence s'applique (y compris les éventuels amendements).

ISO 3308, *Machine à fumer analytique de routine pour cigarettes — Définitions et conditions normalisées*

ISO 3696, *Eau pour laboratoire à usage analytique — Spécification et méthodes d'essai*
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bd16798c-fa0d-42f2-a7cb-48c335765e-22634-2008>

ISO 4387 + ISO 4387:2000/Amd.1:2008, *Cigarettes — Détermination de la matière particulaire totale et de la matière particulaire anhydre et exempte de nicotine au moyen d'une machine à fumer analytique de routine*

ISO 8243, *Cigarettes — Échantillonnage*

3 Principe

- Échantillonnage des cigarettes pour essai.
- Conditionnement des cigarettes pour essai.
- Fumage des cigarettes pour essai conformément au mode opératoire de fumage spécifié dans l'ISO 4387.
- Extraction au méthanol de la matière particulaire totale recueillie sur le filtre en fibre de verre.
- Dilution de l'extrait de méthanol par de l'eau.
- Éluion de la solution eau/méthanol sur une cartouche d'extraction en phase solide cyclohexyle (CH SPE), puis éluion du B[a]P par du cyclohexane.
- Dosage du B[a]P par chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse.

4 Appareillage

Appareillage et matériel courants de laboratoire et, en particulier, ce qui suit.

4.1 Machine à fumer analytique de routine pour cigarettes, conforme aux exigences de l'ISO 3308 et équipée pour le fumage selon l'ISO 4387.

4.2 Système de chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse, équipé de son système informatisé de pilotage et de collecte, et de traitement des données. Ce système doit être capable de piloter le spectromètre de masse pour obtenir des données chromatographiques en mode de détection SIM (*Single Ion Monitoring*). Le chromatographe en phase gazeuse doit être configuré pour effectuer des injections en mode «splitless» sur une colonne capillaire. Il est recommandé d'équiper le chromatographe d'un passeur d'échantillons pour l'injection des échantillons.

4.3 Colonne capillaire en silice fondue, avec une phase stationnaire constituée de méthylphényl (5 %) polysiloxane. Par exemple, une colonne de longueur 30 m, de diamètre intérieur 0,25 mm et d'épaisseur de film 0,25 µm convient pour cette analyse.

4.4 Évaporateur rotatif ou **équipement équivalent**.

4.5 Unité de préparation des échantillons sous vide ou **équipement équivalent**.

4.6 Cartouches d'extraction en phase solide de cyclohexyle (CH SPE), phase: cyclohexyle greffée sur silice. Une cartouche de 6 ml avec remplissage de 1 g convient.

4.7 Seringues étanches aux gaz, de capacités 25 µl, 100 µl, 250 µl et 1 000 µl.

4.8 Matériel courant de laboratoire, pour la préparation des échantillons, étalons et réactifs. Afin d'éviter tout risque de contamination, toute la verrerie doit être nettoyée avant utilisation.

ISO 22634:2008
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bd16798c-fa0d-42f2-a7cb-a0480ae72f3b/iso-22634-2008>

5 Réactifs

Tous les réactifs utilisés doivent être de qualité analytique.

5.1 Méthanol.

5.2 Eau, de qualité 2 telle que définie dans l'ISO 3696 ou de qualité supérieure.

5.3 Cyclohexane.

5.4 Toluène.

5.5 Benzo[a]pyrène.

5.6 Benzo[a]pyrène-d12.

AVERTISSEMENT — Le benzo[a]pyrène et le benzo[a]pyrène-d12 sont des substances potentiellement cancérigènes. Prendre les mesures de sécurité appropriées lors de la manipulation de ces composés ou de toute solution contenant ces composés.

6 Étalons

6.1 Solution mère primaire de B[a]P

Dissoudre environ 10 mg de B[a]P, pesé à 0,01 mg près, dans 10 ml de toluène.

6.2 Solution mère secondaire de B[a]P

Diluer 1 ml de la solution mère primaire de B[a]P (6.1) au volume de 100 ml à l'aide de méthanol.

6.3 Solution mère de B[a]P-d12

Dissoudre environ 10 mg de B[a]P-d12, pesé à 0,01 mg près, dans 10 ml de toluène.

6.4 Solution de dopage de B[a]P-d12

À l'aide d'une seringue étanche aux gaz, transférer 100 µl de la solution mère de B[a]P-d12 (6.3) dans une fiole jaugée de 100 ml et compléter au volume à l'aide de méthanol. Cette solution a une concentration massique d'environ 1 µg/ml.

6.5 Solutions de travail titrées

Préparer six solutions de travail titrées couvrant la plage de concentrations considérée. Par exemple, transférer 20 µl de la solution mère de B[a]P-d12 (6.3) et 10 µl à 2 000 µl de la solution mère secondaire de B[a]P (6.2) dans des fioles jaugées de 100 ml et compléter au volume avec du cyclohexane. Ces solutions ont une concentration massique d'environ 0,2 µg/ml de B[a]P-d12 et des concentrations massiques de 1 ng/ml à 200 ng/ml de B[a]P.

ISO 22634:2008

6.6 Conservation

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bd16798c-fa0d-42f2-a7cb-a0480ae72f3b/iso-22634-2008>

Les solutions titrées (voir 6.1 à 6.5) sont stables pendant six mois si elles sont conservées à une température inférieure à -18 °C.

7 Préparation de l'échantillon

7.1 Échantillonnage

Réaliser l'échantillonnage des cigarettes conformément à l'ISO 8243.

7.2 Fumage

Fumer les cigarettes conformément à l'ISO 4387. En général, il convient de fumer 10 cigarettes sur un filtre Cambridge de 44 mm de diamètre et 20 cigarettes sur un filtre Cambridge de 92 mm. Les filtres Cambridge de 44 mm sont capables de retenir jusqu'à 150 mg de matière particulaire totale et les filtres de 92 mm jusqu'à 600 mg. Si cette masse est dépassée, le nombre de cigarettes doit être réduit. Pour les produits à faible teneur en goudrons, il est possible de fumer un plus grand nombre de cigarettes pour obtenir une valeur nominale de matière particulaire totale de 10 mg pour un filtre de 44 mm et de 20 mg pour un filtre de 92 mm.

7.3 Extraction des filtres

7.3.1 Retirer le filtre du porte-filtre, le plier deux fois (avec le condensat à l'intérieur) et essuyer l'intérieur du porte-filtre avec le filtre.

7.3.2 Transférer le filtre dans une fiole jaugée (de 100 ml pour un filtre de 44 mm, de 200 ml pour un filtre de 92 mm).

7.3.3 Pour un filtre de 44 mm, ajouter 20 ml de méthanol dans la fiole, puis 200 µl de la solution de dopage du B[a]P-d12 (6.4) à l'aide d'une seringue appropriée. Pour un filtre de 92 mm, ajouter 50 ml de méthanol dans la fiole, puis 400 µl de la solution de dopage du B[a]P-d12 (6.4) à l'aide d'une seringue appropriée.

7.3.4 Agiter vigoureusement la fiole jusqu'à la désintégration du filtre et filtrer la solution à travers un filtre sous vide en verre ou à l'aide d'un papier filtre.

7.3.5 Laver le résidu de filtration avec, respectivement, environ 15 ml de méthanol pour un filtre de 44 mm ou 25 ml de méthanol pour un filtre de 92 mm. Ajouter cette solution de lavage à l'extrait de filtre et compléter au volume, à savoir au moins 40 ml pour un filtre de 44 mm ou au moins 80 ml pour un filtre de 92 mm, à l'aide de méthanol. Par souci de commodité, des volumes finaux plus importants peuvent être utilisés, mais sans dilution excessive de la solution.

7.3.6 Transvaser une partie aliquote de la solution obtenue en 7.3.5 dans une ampoule à décanter. Le volume de cette partie aliquote ne doit pas excéder 40 ml, ce qui convient pour cette opération. Néanmoins, une partie aliquote réduite peut être utilisée pour raccourcir le temps d'élution pendant l'étape de purification (voir 7.4.2).

7.3.7 Ajouter de l'eau dans l'ampoule à décanter pour obtenir une solution contenant 60 % d'eau et 40 % de méthanol, et homogénéiser. Par exemple, si une partie aliquote de 40 ml est utilisée en 7.3.6, ajouter 60 ml d'eau.

iTeh STANDARD PREVIEW

(standards.iteh.ai)

ISO 22634:2008

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bd16798c-fa0d-42f2-a7cb-a0480ae72f3b/iso-22634-2008>

7.4 Purification de l'échantillon

7.4.1 La cartouche CH SPE est préconditionnée avant utilisation par passage successif de 10 ml de méthanol et 10 ml d'un mélange d'eau et de méthanol (fraction massique 60:40).

7.4.2 Dans l'unité de préparation des échantillons sous vide, laisser la solution d'extraction passer à travers la cartouche CH SPE sous vide, à un débit d'environ 2 ml/min (1 goutte par seconde). Rincer l'ampoule à décanter avec 10 ml d'un mélange d'eau et de méthanol (fraction volumique 60:40). Sécher la cartouche par exposition à un courant d'air pendant au moins 30 min.

7.4.3 Éluer la cartouche avec 15 ml de cyclohexane (5.3).

7.4.4 Réduire le volume de la solution de cyclohexane à environ 0,5 ml à l'aide de l'évaporateur rotatif (4.4). Ajouter ensuite du cyclohexane pour obtenir un volume d'environ 1 ml.

NOTE Malgré l'opération de séchage décrite en 7.4.2, la solution de cyclohexane obtenue selon 7.4.3 peut encore contenir une quantité importante d'eau et une solution diphasique peut être obtenue après la réduction de volume prescrite en 7.4.4. Dans ce cas, il faut séparer la phase cyclohexane de la phase aqueuse avant d'ajuster le volume final à 1 ml. Il est également possible de sécher la solution de cyclohexane selon 7.4.3 sur un adsorbant d'eau avant la réduction de volume.

7.4.5 Transvaser la solution obtenue dans une fiole pour échantillons munie d'un bouchon étanche et d'un septum revêtu de polytétrafluoroéthylène (PTFE).

8 Dosage

8.1 Conditions de fonctionnement appropriées pour les analyses par chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse

Température de l'injecteur:	290 °C
Mode:	débit constant
Débit initial:	0,9 ml/min
Injection:	1 µl en mode «splitless»
Température de la colonne:	80 °C pendant 3 min 5 °C/min jusqu'à 290 °C maintenue à 290 °C pendant 20 min
Température de la ligne de transfert:	270 °C
Source du spectromètre de masse:	230 °C
Traces d'ions:	B[a]P: m/z 252 (quantification) et 250 (confirmation) B[a]P-d12: m/z 264 (quantification) et 260 (confirmation)

Ces conditions de chromatographie doivent être adaptées pour obtenir une résolution correcte des pics de B[a]P et de B[a]P-d12. L'Annexe A présente un chromatogramme type.

8.2 Étalonnage

Injecter successivement chaque solution de travail titrée (6.5) dans le système de chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse. Enregistrer la surface des pics de B[a]P et de B[a]P-d12. Une courbe d'étalonnage pour le B[a]P est obtenue par régression linéaire des ratios de surface des pics de B[a]P par rapport aux pics de B[a]P-d12 en fonction des concentrations de B[a]P. Il convient que l'ordonnée à l'origine de cette droite de régression soit proche de zéro. Injecter une solution de travail titrée (6.5) après 10 analyses d'échantillons, et, si la concentration mesurée pour cette solution diffère de plus de 15 % de la valeur nominale, répéter l'opération d'étalonnage.

8.3 Dosage du B[a]P

Injecter l'échantillon, calculer le rapport de surface des pics de B[a]P par rapport aux pics de B[a]P-d12 et obtenir la concentration de B[a]P dans la solution en comparant ce ratio avec la droite d'étalonnage du B[a]P.

NOTE Au cours d'une séquence d'analyse normale, plusieurs laboratoires ont observé que la valeur absolue de la surface de pic du B[a]P-d12 peut présenter des variations importantes. Les raisons de cette variabilité de la réponse n'ont pas été approfondies. Cependant, ce phénomène n'a pas d'incidence sur le résultat final car l'utilisation d'un étalon interne dans le cadre de cette méthode compense ces variations.