
**Cigarettes — Dosage de carbonyles
sélectionnés dans le courant principal
de la fumée de cigarette — Méthode
par chromatographie liquide haute
performance**

*Cigarettes — Determination of selected carbonyls in the mainstream
smoke of cigarettes — Method using high performance liquid
chromatography*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 21160:2018

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a1d8fab4-3797-4479-a14b-7e6cbd6c07cc/iso-21160-2018>



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 21160:2018

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a1d8fab4-3797-4479-a14b-7e6cbd6c07cc/iso-21160-2018>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2018

Tous droits réservés. Sauf prescription différente ou nécessité dans le contexte de sa mise en œuvre, 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, ou la diffusion sur l'internet ou sur un intranet, sans autorisation écrite préalable. Une autorisation peut être demandée à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 401 • Ch. de Blandonnet 8
CH-1214 Vernier, Genève
Tél.: +41 22 749 01 11
Fax: +41 22 749 09 47
E-mail: copyright@iso.org
Web: www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
Introduction.....	v
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Principe	1
5 Appareillage	2
6 Réactifs	3
7 Préparation	4
7.1 Préparation de la verrerie.....	4
7.2 Préparation des solutions.....	4
7.3 Préparation des étalons.....	5
7.3.1 Solutions de travail et solutions d'étalonnage pour CLHP.....	5
7.3.2 Solutions de travail de mélange de carbonyles.....	5
8 Échantillonnage	5
9 Préparation des produits du tabac	5
10 Production d'échantillons — Fumage de cigarettes	5
10.1 Généralités.....	5
10.2 Montage de la machine à fumer.....	6
10.3 Fumage.....	7
10.3.1 Généralités.....	7
10.3.2 Fumage linéaire.....	7
10.3.3 Fumage rotatif.....	7
11 Analyse de l'échantillon	7
11.1 Préparation de la solution de l'extrait de fumée du courant principal.....	7
11.2 Chromatographie liquide à haute performance en phase inverse.....	8
11.2.1 Conditions chromatographiques.....	8
11.2.2 Réactifs pour la phase mobile.....	8
11.2.3 Conditions de séparation par CLHP.....	8
11.3 Calcul.....	9
11.3.1 Courbe d'étalonnage.....	9
11.3.2 Quantification des échantillons.....	9
12 Répétabilité et reproductibilité	10
12.1 Généralités.....	10
12.2 Résultats de l'essai interlaboratoires de 2012.....	10
13 Rapport d'essai	13
Annexe A (informative) Recristallisation de la 2,4-dinitrophénylhydrazine	14
Annexe B (normative) Exemple de préparation de solutions d'étalonnage	15
Annexe C (informative) Chromatogramme CLHP type d'une solution d'étalonnage d'un mélange de carbonyles	16
Annexe D (informative) Chromatogramme CLHP d'un extrait de carbonyles de DNPH du courant principal de fumée de cigarette	17
Bibliographie	18

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 (IEC) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/IEC, Partie 1. Il convient, en particulier de prendre note des différents critères d'approbation requis pour les différents types de documents ISO. Le présent document a été rédigé conformément aux règles de rédaction données dans les Directives ISO/IEC, Partie 2 (voir www.iso.org/directives).

L'attention est attirée 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. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou dans la liste des déclarations de brevets reçues par l'ISO (voir www.iso.org/brevets).

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité, à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

(standards.iteh.ai)

Pour une explication de la nature volontaire des normes, la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute information au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'Organisation mondiale du commerce (OMC) concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir le lien suivant: www.iso.org/iso/fr/avant-propos.

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 126, *Tabac et produits du tabac*.

Il convient que l'utilisateur adresse tout retour d'information ou toute question concernant le présent document à l'organisme national de normalisation de son pays. Une liste exhaustive desdits organismes se trouve à l'adresse www.iso.org/fr/members.html.

Introduction

Au début de ce travail, les discussions au sein du sous-groupe Analytes spéciaux du CORESTA (www.coresta.org) ont déterminé que la plupart des laboratoires utilisaient une méthode impliquant la dérivation des carbonyles avec de la 2,4-dinitrophénylhydrazine (DNPH), car ils estimaient qu'il s'agissait de la méthode la plus appropriée. Celle-ci a été choisie comme base de la méthode recommandée par le CORESTA (CRM). La CRM consistait à recueillir la fumée dans des barboteurs, à dériver les carbonyles avec de la DNPH puis à les doser par chromatographie liquide haute performance en phase inverse couplée à une détection UV ou à barrette de diodes (CLHP-UV ou CLHP-DAD).

Les premières expériences communes et les discussions engagées ont permis de résoudre certains aspects méthodologiques qui devaient être évalués avant de rédiger un projet de CRM. Cette méthode a été mise au point dans le cadre d'un essai interlaboratoires effectué en 2010 impliquant 15 laboratoires de 11 pays différents, en utilisant le régime de fumage de l'ISO 3308.^[1] D'autres données sont fournies pour les mêmes composés carbonyles sélectionnés à partir de 10 échantillons ayant différents rendements en goudrons d'après un essai interlaboratoires réalisé en 2012 impliquant 19 laboratoires de 11 pays différents^[2].

Cette méthode comprend des recommandations sur certaines des étapes critiques qu'il convient de contrôler afin de produire des données aussi fiables et cohérentes que les données de répétabilité et de reproductibilité fournies dans l'ISO document. Des évaluations statistiques ont été effectuées conformément à l'ISO 5725-1 et à l'ISO 5725-2^{[3][4]}.

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

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

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 21160:2018

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a1d8fab4-3797-4479-a14b-7e6cbd6c07cc/iso-21160-2018>

Cigarettes — Dosage de carbonyles sélectionnés dans le courant principal de la fumée de cigarette — Méthode par chromatographie liquide haute performance

AVERTISSEMENT — Le présent document peut impliquer l'utilisation de produits dangereux et la mise en œuvre de modes opératoires et d'appareillage à caractère dangereux. Le présent document n'est pas destiné à traiter de tous les problèmes de sécurité liés à son utilisation. Il incombe à l'utilisateur du présent document d'établir, avant de l'utiliser, des pratiques de sécurité et de santé appropriées et de déterminer l'applicabilité de toute autre restriction.

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie une méthode de dosage de carbonyles sélectionnés (formaldéhyde, acétaldéhyde, acétone, acroléine, propionaldéhyde, crotonaldéhyde, 2-butanone et *n*-butyraldéhyde) sous la forme de leurs 2,4-dinitrophénylhydrazones dans la fumée principale par CLHP-UV/DAD en phase inverse.

Cette méthode est applicable aux cigarettes dont les rendements en matière particulaire anhydre et exempte de nicotine (MPAEN) sont compris entre 1 mg/cigarette et 15 mg/cigarette par CLHP-UV/DAD en phase inverse.

2 Références normatives

Les documents suivants cités dans le texte constituent, pour tout ou partie de leur contenu, des exigences 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 3402, *Tabac et produits du tabac — Atmosphère de conditionnement et d'essai*

ISO 4387, *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 Termes et définitions

Aucun terme n'est défini dans le présent document.

L'ISO et l'IEC tiennent à jour des bases de données terminologiques destinées à être utilisées en normalisation, consultables aux adresses suivantes:

- ISO Online browsing platform: disponible à l'adresse <https://www.iso.org/obp>;
- IEC Electropedia: disponible à l'adresse <http://www.electropedia.org/>.

4 Principe

Fumage de cigarettes sur une machine à fumer standard comme spécifiée dans l'ISO 3308 équipée de barboteurs, mais sans le disque filtrant en fibre de verre décrit dans l'ISO 3308 (disque filtrant

Cambridge; CFP, comme exemple de produit équivalent) et le porte-disque filtrant, dans le cadre du régime de fumage de l'ISO 3308.

Les carbonyles présents dans la fumée principale de cigarette sont piégés en faisant passer chaque bouffée à travers un barboteur contenant une solution acidifiée de 2,4-dinitrophénylhydrazine (DNPH) dans un mélange acétonitrile:eau 1:1.

Une partie aliquote de l'extrait de fumée est ensuite filtrée à l'aide d'une seringue et diluée avec 1 % de tris-(hydroxyméthyl)-aminométhane dans de l'acétonitrile aqueux.

Les échantillons sont soumis à une analyse par CLHP-UV ou CLHP-DAD.

5 Appareillage

Matériel courant de laboratoire utilisé pour préparer les échantillons, les solutions et les étalons et, en particulier, le matériel suivant.

5.1 Équipement de conditionnement des produits du tabac.

5.2 Équipement de marquage de la longueur de mégot.

5.3 Machine à fumer des produits du tabac, conforme à l'ISO 3308.

5.4 Barboteurs pour piéger la fumée principale.

5.5 Fioles Erlenmeyer, de 150 ml, avec bouchons en verre rodé (ou un récipient équivalent pour mélanger les solutions des barboteurs).

5.6 Tube en polychlorure de vinyle (PVC), pour raccorder le système de piégeage.

5.7 Balance analytique, précise à quatre décimales.

5.8 Fioles jaugées en verre ambré, de 10 ml, 25 ml, 200 ml, 1 l et 2 l.

5.9 Micropipettes en verre, de 50 µl, 100 µl, 150 µl, 300 µl, 400 µl, 500 µl, 800 µl, 1 000 µl et 2 000 µl.

5.10 Pipettes volumétriques, de 1 ml, 2 ml, 5 ml, 6 ml, 7 ml, 8 ml et 20 ml.

5.11 Éprouvettes graduées en verre, de 25 ml, 50 ml et 100 ml.

5.12 Distributeur, capable de distribuer 35 ml.

5.13 Plaque chauffante/Agitateur.

5.14 Filtre pour seringue, 0,45 µm, en PVDF, ou équivalent.

5.15 Seringues jetables, de 5 ml.

5.16 Pipettes Pasteur en verre, jetables.

5.17 Poires en caoutchouc.

5.18 Flacons pour échantillonneur automatique, bouchons et septums revêtus de PTFE.

5.19 Système CLHP, constitué de:

- pompe à gradient ternaire;
- échantillonneur automatique avec boucle d'échantillonnage appropriée;
- détecteur UV et/ou DAD;
- système de collecte de données;
- colonne CL: 250 mm × 4 mm, 100 Å, en phase inverse (PI) 18e (5 µm), ou équivalent;
- précolonne jetable: 4 mm × 4 mm RP 18e (5 µm), ou équivalent;
- système de filtration sous vide;
- flacons en verre ambré de 1 l et 4 l;
- dessiccateur;
- dégazeur (facultatif).

6 Réactifs

6.1 Acétonitrile, MeCN, de qualité CLHP.

6.2 Isopropanol, IPA, de qualité CLHP.

6.3 Acétate d'éthyle, de qualité CLHP.

6.4 Tétrahydrofurane, THF, de qualité CLHP.

6.5 Éthanol, de qualité CLHP.

6.6 Acide phosphorique, 85 %.

6.7 Eau déionisée, résistivité > 18,0 MΩ.cm à 25 °C.

6.8 Formaldéhyde-DNPH, minimum 99 %.

6.9 Acétaldehyde-DNPH, minimum 99 %.

6.10 Acétone-DNPH, minimum 99 %.

6.11 Acroléine-DNPH, minimum 99 %.

6.12 Propionaldéhyde-DNPH, minimum 98 %.

6.13 Crotonaldéhyde-DNPH, minimum 99 %.

6.14 2-Butanone-DNPH, minimum 98 %; dérivé de la méthyléthylcétone-DNPH.

6.15 *n*-Butyraldéhyde-DNPH, minimum 99 %.

6.16 Tris-(hydroxyméthyl)-aminométhane, de qualité réactif ACS¹⁾.

6.17 2,4-Dinitrophénylhydrazine (DNPH).

6.18 Hélium, (UHP), si nécessaire pour le barbotage dans la phase mobile du système CLHP, ou système de dégazage équivalent.

7 Préparation

7.1 Préparation de la verrerie

La verrerie doit être nettoyée et séchée de façon à empêcher toute contamination par la verrerie.

Toutes les sources potentielles de contamination doivent être retirées de l'espace de travail (par exemple, pissettes contenant du solvant acétone).

7.2 Préparation des solutions

7.2.1 Solution de DNPH (contenant de l'acide phosphorique)

Ajouter environ 150 ml d'eau déionisée dans une fiole jaugée de 200 ml puis ajouter soigneusement 28 ml d'acide phosphorique à 85 % et mélanger la solution.

Compléter au volume avec de l'eau déionisée.

Peser environ 6,8 g (il convient d'atteindre 24,0 mmol) de DNPH (à environ 30 % d'eau) dans une fiole jaugée en verre ambré de 2 l et ajouter 1 l d'acétonitrile. Dissoudre la DNPH en remuant doucement la fiole. S'assurer qu'il ne reste pas de cristaux.

AVERTISSEMENT — Ne pas passer aux ultrasons, en raison du risque de précipitation de la DNPH.

En cas d'utilisation de la DNPH recristallisée, peser 4,8 g pour atteindre la même molarité (voir l'[Annexe A](#)).

Après dissolution de la DNPH, ajouter 58 ml de la solution d'acide phosphorique diluée tout en mélangeant doucement. Compléter au volume avec de l'eau déionisée. La couleur de la solution deviendra orange clair lors de l'ajout de l'eau déionisée.

L'ajout d'acide ou d'eau refroidira la solution et peut déclencher la précipitation de la DNPH. Ajouter l'acide ou l'eau lentement. Une agitation modérée peut être requise pour maintenir la solution à température ambiante et pour empêcher la précipitation de la DNPH. Ne pas passer aux ultrasons si des cristaux apparaissent.

Conserver la solution dans un flacon en verre ambré de 4 l à température ambiante et à l'abri de la lumière pour éviter ou réduire significativement les risques de précipitation de la DNPH. Si elle est bien refermée, cette solution restera stable pendant une semaine.

7.2.2 Solution diluée de tris-(hydroxyméthyl)-aminométhane, 80:20 (fraction volumique), MeCN: solution aqueuse à 1 %.

Dans une fiole jaugée de 1 l, dissoudre 2,00 g de tris-(hydroxyméthyl)-aminométhane dans 200 ml d'eau déionisée. Compléter au volume avec de l'acétonitrile.

Conserver dans un flacon en verre ambré de 1 l muni d'un bouchon revêtu d'un joint en PTFE ou dans un récipient équivalent à température ambiante.

1) Réactif répondant aux exigences du Comité de l'American Chemical Society (ACS) sur les réactifs analytiques.

7.3 Préparation des étalons

7.3.1 Solutions de travail et solutions d'étalonnage pour CLHP

Il convient que la gamme d'étalonnage couvre la gamme de concentration à analyser.

7.3.1.1 Étalons de carbonyles primaires

Dans des fioles jaugées individuelles de 25 ml, peser les hydrazones comme décrit dans l'[Annexe B](#), et dissoudre dans de l'acétonitrile. Enregistrer les concentrations des équivalents d'aldéhyde libre, en µg/ml.

Ces solutions se sont révélées stables pendant un an si elles étaient conservées à environ 4 °C. Il convient que le laboratoire contrôle la stabilité et la durée de conservation.

7.3.1.2 Étalons de carbonyles secondaires

À l'aide d'une pipette, transférer des volumes prédéterminés ([Annexe B](#)) de chaque étalon d'hydrazone dans une fiole jaugée de 25 ml et diluer jusqu'au trait avec de l'acétonitrile.

Conserver à environ 4 °C. Il convient que le laboratoire contrôle la stabilité et la durée de conservation.

7.3.2 Solutions de travail de mélange de carbonyles

Prélever des volumes appropriés (de 0,050 ml à 10 ml) de l'étalon de carbonyles secondaire ([7.3.1.2](#)) et diluer à 10 ml avec de l'acétonitrile pour préparer des solutions d'étalonnage présentant des concentrations approximatives en carbonyle (voir l'[Annexe B](#)).

Transférer dans des flacons pour échantillonneur automatique.

La gamme d'étalonnage décrite dans l'[Annexe B](#) s'est révélée appropriée; toutefois, il peut être nécessaire d'ajuster la gamme d'étalonnage en fonction de facteurs tels que le nombre de cigarettes fumées et les rendements en carbonyle des cigarettes soumises à essai. L'utilisateur doit s'assurer que la solution d'étalonnage de faible concentration présente un rapport signal sur bruit suffisant pour une quantification exacte ($\geq 10:1$) et que la courbe d'étalonnage est linéaire.

Ces solutions se sont révélées stables pendant 20 jours si elles sont conservées à environ 4 °C. Il convient que le laboratoire contrôle la stabilité et la durée de conservation.

8 Échantillonnage

Procéder à l'échantillonnage conformément à l'ISO 8243.

9 Préparation des produits du tabac

Conditionner les cigarettes conformément à l'ISO 3402.

10 Production d'échantillons — Fumage de cigarettes

10.1 Généralités

Les paramètres de fumage pour lesquels la méthode a été étudiée sont définis dans l'ISO 3308. Voir le [Tableau 1](#).