
Cigarettes — Dosage du benzo[a]pyrène dans le courant principal de la fumée de cigarette par CG/SM — Partie 1: Méthode utilisant du méthanol comme solvant d'extraction

Cigarettes — Determination of benzo[a]pyrene in cigarette mainstream smoke using GC/MS — Part 1: Method using methanol as extraction solvent

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 22634-1:2019](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/649276fc-6959-4e62-889a-2890e5cf2e9d/iso-22634-1-2019)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/649276fc-6959-4e62-889a-2890e5cf2e9d/iso-22634-1-2019>



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 22634-1:2019

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/649276fc-6959-4e62-889a-2890e5cf2e9d/iso-22634-1-2019>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2019

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	2
5 Appareillage	2
6 Réactifs	3
7 Étalons	3
7.1 Généralités.....	3
7.2 Solution mère primaire de B[a]P.....	3
7.3 Solution mère secondaire de B[a]P.....	3
7.4 Solution mère de B[a]P-d12.....	3
7.5 Solution de dopage de B[a]P-d12.....	3
7.6 Solutions étalons de travail.....	4
7.7 Stockage des solutions étalons.....	4
8 Préparation de l'échantillon	4
8.1 Échantillonnage.....	4
8.2 Fumage.....	4
8.3 Extraction sur filtre en fibre de verre.....	4
8.4 Purification de l'échantillon.....	5
9 Dosage	5
9.1 Conditions de fonctionnement CG/SM.....	5
9.2 Étalonnage.....	6
9.3 Dosage du B[a]P.....	6
9.4 Calcul.....	6
10 Répétabilité et reproductibilité	7
11 Rapport d'essai	7
11.1 Généralités.....	7
11.2 Données caractéristiques concernant la cigarette.....	8
11.3 Données concernant l'échantillonnage.....	8
11.4 Description de l'essai.....	8
11.5 Résultats de l'essai.....	9
Annexe A (informative) Exemple de chromatogramme d'un extrait de fumée de cigarette	10
Bibliographie	12

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.

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*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 22634-1:2017), qui a fait l'objet d'une révision technique.

Les principales modifications par rapport à l'édition précédente sont les suivantes:

- la répétabilité (*r*) et la reproductibilité (*R*) pour le B[a]P (ng/cigarette) ont été révisées;
- les réactifs ont été modifiés avec ajout d'hélium;
- le stockage des solutions étalons a été modifié;
- l'agitateur et l'appareillage de filtration ont été ajoutés;
- la Bibliographie a été étendue.

Une liste de toutes les parties de la série ISO 22634 se trouve sur le site web de l'ISO.

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

Entre 1999 et 2003, un groupe d'études composé de membres du Centre de Coopération pour les Recherches Scientifiques Relatives au Tabac (CORESTA) 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 de dosage ont été proposées, reposant principalement sur deux types de méthodes d'analyse: la chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP) avec détection par fluorescence et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM). Dans les deux cas, il est nécessaire de purifier l'extrait de matière particulaire totale (MPT) avant de procéder à l'analyse par chromatographie, pour obtenir une séparation correcte du pic de B[a]P.

Dans un premier temps, le groupe d'étude a 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 couplée à la spectrométrie de masse, et a pu démontrer par des expériences collectives que cette méthode permettait de réduire la variabilité.

Le présent document, qui est le fruit d'expériences collectives impliquant de nombreux laboratoires dans de nombreux pays, propose un mode opératoire pour le dosage du B[a]P 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 le présent document.
- 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 des 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 que de communiquer que les différences de mesures mécaniques entre différents produits correspondent à des différences de niveaux d'exposition ou de risque.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 22634-1:2019

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/649276fc-6959-4e62-889a-2890e5cf2e9d/iso-22634-1-2019>

Cigarettes — Dosage du benzo[a]pyrène dans le courant principal de la fumée de cigarette par CG/SM — Partie 1: Méthode utilisant du méthanol comme solvant d'extraction

AVERTISSEMENT — L'utilisation du présent document peut impliquer l'utilisation de produits et la mise en œuvre de modes opératoires et d'appareillages à caractère dangereux. Le présent document n'a pas pour but de traiter tous les problèmes de sécurité qui sont liés à son utilisation. Il incombe à l'utilisateur du présent document d'établir, avant de l'utiliser, des pratiques d'hygiène et de sécurité appropriées et de déterminer l'applicabilité des restrictions réglementaires.

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie une méthode de dosage du benzo[a]pyrène (B[a]P) dans la matière particulaire totale (MPT) du courant principal de la fumée de cigarette par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM) en utilisant du méthanol comme solvant d'extraction.

Cette méthode est spécifiée en utilisant les paramètres de fumage de l'ISO 3308. Une méthode alternative pour le dosage du B[a]P est spécifiée dans l'ISO 22634-2 avec une purification différente utilisant du cyclohexane comme solvant et un temps total d'analyse plus court.

2 Références normatives

ISO 22634-1:2019

Les documents suivants sont cités dans le texte de sorte qu'ils 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 3696, *Eau pour laboratoire à usage analytique — Spécification et méthodes d'essai*

ISO 4387, *Cigarettes — Détermination de la teneur en matière particulaire totale et en 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

- Échantillonnage des cigarettes pour essai conformément au mode opératoire d'échantillonnage spécifié dans l'ISO 8243.
- Conditionnement des cigarettes pour essai conformément au mode opératoire de conditionnement spécifié dans l'ISO 3402.
- Fumage des cigarettes pour essai conformément au mode opératoire de fumage spécifié dans l'ISO 4387.
- Extraction au méthanol de la MPT, recueillie sur le filtre en fibre de verre approprié.
- Dilution de l'extrait de méthanol avec de l'eau.
- Chargement de la solution eau/méthanol sur une cartouche d'extraction en phase solide de type cyclohexyle (CH SPE), puis élution du B[a]P avec du cyclohexane.
- Dosage analytique du B[a]P par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

5 Appareillage

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

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

5.2 Chromatographe en phase gazeuse doté d'un détecteur sélectif de masse, équipé de son système informatisé de pilotage, 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 » suivi d'ion sélectionné). Le chromatographe en phase gazeuse doit être configuré pour effectuer des injections en mode splitless « sans division » sur une colonne capillaire. Il est recommandé d'équiper le chromatographe en phase gazeuse d'un passeur automatique d'échantillons pour l'injection des échantillons.

5.3 Colonne capillaire en silice fondue, par exemple, une phase stationnaire constituée de (5 %-phényl)-méthylpolysiloxane et une colonne de 30 m de longueur et de 0,25 mm de diamètre interne avec une épaisseur de film de 0,25 µm conviennent pour cette analyse.

NOTE D'autres colonnes peuvent être utilisées, sous réserve qu'une séparation de pic appropriée soit obtenue.

5.4 Évaporateur rotatif ou équipement équivalent.

5.5 Unité d'aspiration sous vide pour préparation d'échantillons ou équipement équivalent.

5.6 Cartouches d'extraction en phase solide, un volume de phase cyclohexyle greffée sur silice de 6 ml et un garnissage de 1 g sont adaptés.

5.7 Seringues étanches aux gaz ou pipettes à déplacement positif, de capacités 25 µl, 100 µl, 250 µl et 1 000 µl.

5.8 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. Une verrerie ambrée peut être nécessaire.

5.9 Agitateur et appareillage de filtration.

6 Réactifs

Tous les réactifs utilisés doivent être de qualité analytique.

6.1 Méthanol, de pureté connue, pas moins de 99 %, CAS 67-56-1.

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

6.3 Cyclohexane, de pureté connue, pas moins de 99 %, CAS 110-82-7.

6.4 Toluène, de pureté connue, pas moins de 99 %, CAS 108-88-3.

6.5 Benzo[a]pyrène, de pureté connue, pas moins de 98 %, CAS 50-32-8.

6.6 Benzo[a]pyrène-d12, de pureté connue, pas moins de 98 %, CAS 63466-71-7.

6.7 Hélium, gaz vecteur de pureté connue, pas moins de 99,999 %, CAS 7440-59-7.

AVERTISSEMENT — Le **benzo[a]pyrène** et le **benzo[a]pyrène-d12** sont des substances **cancérogènes**. Les mesures de sécurité appropriées doivent être prises lors de la manipulation de ces composés ou de toute solution contenant ces composés.

(standards.iteh.ai)

7 Étalons

ISO 22634-1:2019

7.1 Généralités <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/649276fc-6959-4e62-889a-2890e5cf2e9d/iso-22634-1-2019>

Des solutions de B[a]P ou de B[a]P-d12 certifiées peuvent être utilisées comme matériau de référence.

7.2 Solution mère primaire de B[a]P

Dissoudre 10 mg de B[a]P, pesé à 0,01 mg près, dans une fiole jaugée de 10 ml et compléter au trait de jauge par du toluène.

7.3 Solution mère secondaire de B[a]P

Diluer 1 ml de la solution mère primaire de B[a]P (7.2) dans une fiole jaugée de 100 ml et compléter au trait de jauge avec du méthanol.

7.4 Solution mère de B[a]P-d12

Dissoudre 10 mg de B[a]P-d12, pesé à 0,01 mg près, dans une fiole jaugée de 10 ml et compléter au trait de jauge par du toluène.

7.5 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 (7.4) dans une fiole jaugée de 100 ml et compléter au trait de jauge avec du méthanol. Cette solution a une concentration massique d'environ 1 µg/ml.

7.6 Solutions étalons de travail

Préparer six solutions étalons de travail couvrant la plage de concentrations considérée. Par exemple, transférer 20 µl de la solution mère de B[a]P-d12 (7.4) et 10 µl à 2 000 µl de la solution mère secondaire de B[a]P (7.3) dans des fioles jaugées de 100 ml et compléter au trait de jauge 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.

7.7 Stockage des solutions étalons

Les solutions étalons (7.2 à 7.6) sont stables pendant six mois si elles sont conservées à une température inférieure à -18 °C. Le stockage dans une verrerie ambrée et à l'abri de la lumière est recommandé.

8 Préparation de l'échantillon

8.1 Échantillonnage

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

8.2 Fumage

Conditionner les échantillons conformément à l'ISO 3402 et fumer les cigarettes conformément à l'ISO 4387. En général, il convient de fumer cinq cigarettes sur un filtre en fibre de verre de 44 mm de diamètre et 20 cigarettes sur un filtre en fibre de verre de 92 mm. Les filtres en fibre de verre de 44 mm de diamètre sont capables de retenir jusqu'à 150 mg de MPT 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 admis de fumer un plus grand nombre de cigarettes sur un filtre en fibre de verre pour obtenir une valeur minimale de MPT de 10 mg pour un filtre en fibre de verre de 44 mm et de 20 mg pour un filtre en fibre de verre de 92 mm.

<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:code:38100:2019:fr:01/catalog/standards/sist/649276fc-6959-4e62-889a-2890e5cf2e9d/iso-22634-1-2019>

8.3 Extraction sur filtre en fibre de verre

8.3.1 Retirer le filtre en fibre de verre du porte-filtre, le plier en quatre (avec la MPT à l'intérieur) et essuyer l'intérieur du porte-filtre avec les deux quarts séparés d'un filtre en fibre de verre conditionné inutilisé. Se référer à l'ISO 4387 pour des informations complémentaires.

8.3.2 Transférer le filtre en fibre de verre dans un erlenmeyer avec bouchon (de 100 ml pour un filtre en fibre de verre de 44 mm, de 200 ml pour un filtre en fibre de verre de 92 mm).

8.3.3 Pour un filtre en fibre de verre de 44 mm, ajouter 20 ml de méthanol dans l'erlenmeyer, puis 200 µl de la solution de dopage du B[a]P-d12 (7.5) à l'aide d'une seringue ou d'une micropipette appropriée (5.7). Boucher l'erlenmeyer immédiatement.

Pour un filtre en fibre de verre de 92 mm, ajouter 50 ml de méthanol dans l'erlenmeyer, puis 400 µl de la solution de dopage du B[a]P-d12 (7.5) à l'aide d'une seringue ou d'une micropipette appropriée (5.7). Boucher l'erlenmeyer immédiatement.

8.3.4 Agiter vigoureusement l'erlenmeyer (5.9) jusqu'à la désintégration du filtre en fibre de verre et filtrer la solution à travers un dispositif de filtration sous vide en verre ou à l'aide d'un papier filtre.

8.3.5 Laver le résidu du filtre en fibre de verre avec, respectivement, environ 15 ml de méthanol pour un filtre en fibre de verre de 44 mm ou 25 ml de méthanol pour un filtre en fibre de verre de 92 mm. Ajouter cette solution de lavage à l'extrait de filtre en fibre de verre et compléter au volume, à savoir: ≥ 40 ml pour un filtre en fibre de verre de 44 mm ou ≥ 80 ml pour un filtre en fibre de verre de 92 mm, avec du

méthanol. Par souci de commodité, des volumes finaux plus importants peuvent être utilisés, mais sans dilution excessive de la solution.

8.3.6 Transvaser une partie aliquote de la solution obtenue en [8.3.5](#) 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 [8.4.2](#)).

8.3.7 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 [8.3.6](#), ajouter 60 ml d'eau.

8.4 Purification de l'échantillon

8.4.1 La cartouche CH SPE est préconditionnée avant utilisation en faisant passer 10 ml de méthanol à travers celle-ci, puis 10 ml d'un mélange d'eau et de méthanol (fraction volumique 60:40).

8.4.2 Dans l'unité d'aspiration sous vide pour préparation d'échantillons, laisser la solution d'extraction (voir [8.3.7](#)) 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.

8.4.3 Éluer la cartouche avec 15 ml de cyclohexane ([6.3](#)).

8.4.4 Réduire le volume de la solution de cyclohexane à environ 0,5 ml à l'aide de l'évaporateur rotatif ([5.4](#)). Ajouter ensuite du cyclohexane pour obtenir un volume d'environ 1 ml.

Malgré le mode opératoire de séchage décrit en [8.4.2](#), la solution de cyclohexane obtenue selon [8.4.3](#) peut encore contenir une quantité importante d'eau et une solution diphasique peut être obtenue après la réduction de volume spécifiée en [8.4.4](#). Dans ce cas, la phase cyclohexane doit être séparée de la phase aqueuse avant d'ajuster le volume final à 1 ml. Il est également permis de sécher la solution de cyclohexane selon [8.4.3](#) sur un adsorbant d'eau avant la réduction de volume.

Il est également permis de réduire à sec le volume de cyclohexane, puis d'ajouter 1 ml de cyclohexane, tant qu'il est démontré que les résultats obtenus sont équivalents.

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

9 Dosage

9.1 Conditions de fonctionnement CG/SM

Les conditions de fonctionnement suivantes pour une colonne capillaire en silice fondue spécifiée en [5.3](#) se sont avérées adaptées pour le dosage. Les conditions et la colonne sont considérées comme un exemple.

— Température de l'injecteur:	290 °C
— Mode:	débit constant
— Débit:	0,9 ml/min
— Mode d'injection:	1 µl sans division