



Government
of Canada

Gouvernement
du Canada

Canadian General
Standards Board

Office des normes
générales du Canada

Series 176
Série des 176

WITHDRAWAL

October 2016

Standards in series Tobacco

These National Standards of Canada are hereby withdrawn due to limited use and support for their revision. This withdrawal notice removes all remaining standards in the series.

The Standards Council of Canada requires that accredited Standards Development Organizations, such as the CGSB, regularly review a consensus Standard to determine whether to re-approve, revise or withdraw. The review cycle is normally five years from the publication date of the latest edition of the Standard.

The information contained in these Standards was originally developed pursuant to a voluntary standards development initiative of the CGSB. The information contained therein may no longer represent the most current, reliable, and/or available information on these subjects. CGSB hereby disclaims any and all claims, representation or warranty of scientific validity, or technical accuracy implied or expressed respecting the information therein contained. The CGSB shall not take responsibility nor be held liable for any errors, omissions, inaccuracies or any other liabilities that may arise from the provision or subsequent use

RETRAIT

Octobre 2016

Normes de la série Tabac

Ces Normes nationales du Canada sont retirées par le présent avis en raison de leur utilisation limitée et du manque de support pour leur révision. Cet avis de retrait supprime toutes les normes restantes de la présente série.

Le Conseil canadien des normes exige que les organismes accrédités d'élaboration de normes, tel que l'ONGC, effectue régulièrement un examen des normes consensuelles afin de déterminer s'il y a lieu d'en renouveler l'approbation, de les réviser ou de les retirer. Le cycle d'examen d'une norme est généralement de cinq ans à partir de la date de publication de la dernière édition de celle-ci.

L'information contenue dans ces normes a été élaborée initialement en vertu d'une initiative volontaire d'élaboration de normes de l'ONGC. Elle peut ne plus représenter l'information disponible et/ou l'information la plus actuelle ou la plus fiable à ce sujet. L'ONGC décline par la présente toute responsabilité à l'égard de toute affirmation, déclaration ou garantie de validité scientifique ou d'exactitude technique implicite ou explicite relative à l'information contenue dans ces normes. L'ONGC n'assumera aucune responsabilité et ne sera pas tenu responsable quant à toute erreur, omission, inexactitude ou autre conséquence pouvant découler de la fourniture ou de l'utilisation subséquente de

of such information.

Copies of withdrawn standards are available from the CGSB Sales Centre by telephone at 819-956-0425 or 1-800-665-2472, by fax at 819-956-5740, by Internet at www.tpsgc-pwgsc.gc.ca/ongc-cgsb/index-eng.html, by e-mail at ncr.CGSB-ONGC@tpsgc-pwgsc.gc.ca or by mail at Sales Centre, Canadian General Standards Board, 11 Laurier Street, Gatineau, Canada K1A 1G6.

CAN/CGSB-176.1-92

Preparation of cigarettes from cigarette tobacco for testing (ICS 65.160)

CAN/CGSB-176.2 No.1-96

Methods of sampling and testing tobacco
Determination of Benzo(α)pyrene in total particulate matter of tobacco smoke (ICS 65.160)

cette information.

Des copies des normes retirées peuvent être obtenues auprès du Centre des ventes de l'ONGC. Il suffit d'en faire la demande par téléphone au 819-956-0425 ou 1-800-665-2472, par télécopieur au 819-956-5740, par Internet à : www.tpsgc-pwgsc.gc.ca/ongc-cgsb/index-fra.html, par courriel à ncr.CGSB-ONGC@tpsgc-pwgsc.gc.ca, ou par courrier adressé au Centre des ventes, Office des normes générales du Canada, 11, rue Laurier, Gatineau, Canada K1A 1G6.

CAN/CGSB-176.1-92

Préparation des cigarettes à l'aide de tabac aux fins d'essais (ICS 65.160)

CAN/CGSB-176.2 N° 1-96

Méthodes d'échantillonnage et d'essai du tabac
Détermination du benzo(α)-pyrène dans la matière particulaire totale de la fumée de tabac (ICS 65.160)

Méthodes d'échantillonnage et d'essai du tabac

Détermination du benzo[*a*]pyrène dans la matière particulaire
totale de la fumée de tabac

Withdrawn/Retirée



La présente norme a été élaborée sous les auspices de l'OFFICE DES NORMES GÉNÉRALES DU CANADA (ONGC), qui est un organisme fédéral relevant du ministère des Approvisionnement et Services. L'ONGC participe à la production de normes facultatives dans une gamme étendue de domaines, par l'entremise de ses comités des normes qui se prononcent par consensus. Les comités des normes sont composés de représentants des groupes intéressés aux normes à l'étude, notamment les fabricants, les consommateurs et autres utilisateurs, les détaillants, les gouvernements, les institutions d'enseignement, les associations techniques, professionnelles et commerciales ainsi que les organismes de recherche et d'essai. Chaque norme est élaborée avec l'accord de tous les représentants. Le Conseil consultatif du Ministre pour l'ONGC passe en revue les décisions prises par consensus.

Le Conseil canadien des normes a conféré à l'ONGC le titre d'organisme rédacteur de normes nationales. En conséquence, les normes que l'Office élabore et soumet à titre de Normes nationales du Canada se conforment aux critères et procédures établis à cette fin par le Conseil canadien des normes. Outre la publication de normes nationales, l'ONGC rédige également des normes visant des besoins particuliers, à la demande de plusieurs organismes tant du secteur privé que du secteur public. Les normes de l'ONGC et les normes nationales établies par cet organisme sont conformes aux politiques énoncées dans le Manuel des politiques pour l'élaboration et la mise à jour des normes de l'ONGC.

Étant donné l'évolution technique, les normes de l'ONGC font l'objet de révisions périodiques. Toutes les suggestions susceptibles d'en améliorer la teneur sont accueillies avec grand intérêt et portées à l'attention des comités des normes concernés. Les changements apportés aux normes font l'objet de modificatifs distincts ou sont incorporés dans les nouvelles éditions des normes.

Une liste à jour des normes de l'ONGC comprenant des renseignements sur les normes récentes et les derniers modificatifs parus, et sur la façon de se les procurer figure au Catalogue de l'ONGC publié chaque année. Cette publication peut également être obtenue sur demande, sans frais.

Même si l'objet de la présente norme précise l'application première que l'on peut en faire, il faut cependant remarquer qu'il incombe à l'utilisateur, au tout premier chef, de décider si la norme peut servir aux fins qu'il envisage.

Plusieurs des tests requis aux termes des normes de l'ONGC sont dangereux. L'ONGC n'assume ni n'accepte aucune responsabilité pour les blessures ou les dommages qui pourraient survenir pendant les essais, peu importe l'endroit où ceux-ci sont effectués.

L'ONGC ne se prononce pas quant à la validité de la propriété industrielle de chaque article assujéti à la présente norme. Les utilisateurs de la norme sont informés de façon personnelle qu'il leur revient entièrement de déterminer la validité de la propriété industrielle.

Pour de plus amples renseignements sur l'ONGC, ses services et les normes en général, prière de communiquer avec:

Le Gestionnaire
Division de l'information sur la normalisation
Office des normes générales du Canada
Ottawa, Canada
K1A 1G6

Le CONSEIL CANADIEN DES NORMES est l'organisme de coordination du Système de normes nationales, une fédération d'organismes indépendants et autonomes qui travaillent au développement et à l'amélioration de la normalisation volontaire dans l'intérêt national.

Les principaux buts du Conseil sont d'encourager et de promouvoir la normalisation volontaire comme moyen d'améliorer l'économie nationale, d'améliorer la santé, la sécurité et le bien-être du public, d'aider et de protéger le consommateur, de faciliter le commerce national et international et de favoriser la coopération internationale dans le domaine de la normalisation.

Une Norme nationale du Canada est une norme, approuvée par le Conseil canadien des normes, qui reflète une entente raisonnable parmi les points de vue d'un certain nombre de personnes compétentes dont les intérêts réunis forment, au degré le plus élevé possible, une représentation équilibrée des producteurs, utilisateurs, consommateurs et d'autres personnes intéressées, selon le domaine envisagé. Il s'agit généralement d'une norme qui peut apporter une contribution appréciable, en temps opportun, à l'intérêt national.

L'approbation d'une norme en tant que Norme nationale du Canada indique qu'elle est conforme aux critères et méthodes établis par le Conseil canadien des normes. L'approbation ne porte pas sur l'aspect technique de la norme; cet aspect demeure la responsabilité de l'organisme rédacteur de normes accrédité.

Il est recommandé aux personnes qui ont besoin de normes de se servir des Normes nationales du Canada lorsque la chose est possible. Ces normes font l'objet d'examen périodiques; c'est pourquoi il est recommandé aux utilisateurs de se procurer l'édition la plus récente de la norme auprès de l'organisme qui l'a préparée.

La responsabilité d'approuver les Normes nationales du Canada incombe au:

Conseil canadien des normes
45, rue O'Connor
Bureau 1200
Ottawa, Ontario
K1P 6N7

Comment commander des publications de l'ONGC:

par téléphone — (613) 941-8703 ou
— 1-800-665-CGSB
(Canada seulement)

par télécopieur — (613) 941-8705

par la poste — Centre des ventes de l'ONGC
Ottawa, Canada
K1A 1G6

en personne — Bureau 1402
222, rue Queen
Ottawa, Ontario

MÉTHODES D'ÉCHANTILLONNAGE ET D'ESSAI DU TABAC

DÉTERMINATION DU BENZO[a]PYRÈNE DANS LA MATIÈRE PARTICULAIRE TOTALE DE LA FUMÉE DE TABAC

Préparée par

l'Office des normes générales du Canada



Approuvée par le

Conseil canadien des normes



Publiée, mars 1996, par
l'Office des normes générales du Canada
Ottawa, Canada K1A 1G6

©Ministre des Approvisionnements et Services Canada — 1996

Aucune partie de cette publication ne peut être reproduite d'aucune manière sans la permission préalable de l'éditeur.

OFFICE DES NORMES GÉNÉRALES DU CANADA
COMITÉ DES MÉTHODES D'ESSAI DU TABAC

(Composition à la date d'approbation)

Rickert, W.R.	<i>Président</i>	Labstat Inc.
Archer, M.C.		Société canadienne du cancer
Beech, B.		Ministère de la Santé, Colombie-Britannique
Callard, C.		Physicians for a Smoke-Free Canada
Diana, J.		Tobacco and Health Research Institute
Jenkins, R.A.		Oak Ridge National Laboratory
Jette, R.		The Lung Association
Kaiserman, M.		Santé Canada
Lue, D.		City of York Health Unit
House, J.F.		Conseil canadien sur le tabagisme et la santé
Sweanor, D.		Non-Smokers' Rights Association
Wilson, E.		Fondation des maladies du coeur du Canada
Poirier, R.	<i>Secrétaire</i>	Office des normes générales du Canada

Nous remercions le Bureau de la traduction du Secrétariat d'État de la traduction de la présente Norme nationale du Canada.

Préface de la Norme nationale du Canada

La présente Norme nationale du Canada a été élaborée par le comité des méthodes d'essai du tabac de l'Office des normes générales du Canada (ONGC) pour le compte de Santé Canada.

Withdrawn/Retirée

 Ottawa Canada K1A 1G6	MÉTHODES D'ÉCHANTILLONNAGE ET D'ESSAI DU TABAC	CAN/CGSB-176.2
	Détermination du benzo[a]pyrène dans la matière particulaire totale de la fumée de tabac	N° 1-96

1. OBJET

- 1.1 La présente méthode sert à isoler et à doser le benzo[a]pyrène (B[a]P) dans la matière particulaire totale (MPT) de la fumée de tabac.
- 1.2 La mise à l'essai et l'évaluation d'un produit en regard de la présente méthode peuvent nécessiter l'emploi de matériaux et d'équipement susceptibles d'être dangereux. Le présent document n'entend pas traiter de tous les aspects liés à la sécurité de son utilisation. Il appartient à l'utilisateur de la méthode de se renseigner auprès des autorités compétentes et d'adopter des pratiques d'hygiène et de sécurité conformes aux règlements en vigueur avant de l'utiliser.

2. PRINCIPE

- 2.1 Les particules totales sont recueillies sur un filtre tampon Cambridge taré dopé avec du ^{14}C -B[a]P, extraites à l'acétone par un traitement aux ultrasons et par centrifugation. L'extrait brut est séché, dissous dans du tétrahydrofurane et dans de l'hexane, puis filtré à travers une cartouche de gel de silice. La solution obtenue à partir de la cartouche est séchée, dissoute dans 1 mL d'hexane; une portion de 250 μL est fractionnée par chromatographie en phase liquide préparatoire normale. Les fractions radioactives sont recueillies, rassemblées et séchées sous un courant d'azote.
- 2.2 Le résidu est ensuite dissous dans l'acétonitrile et soumis à une chromatographie à polarité de phase inversée. La quantification du B[a]P est basée sur la détection de la fluorescence et sur la radioactivité récupérée.

3. PUBLICATIONS DE RÉFÉRENCE

- 3.1 La présente norme fait référence aux publications suivantes:
 - 3.1.1 American Society for Testing and Materials (ASTM)
D 1193 — Standard Specification for Reagent Water.
 - 3.1.2 Organisation internationale de normalisation (ISO)
ISO 2602 — Interprétation statistique des résultats d'essais — Estimation de la moyenne — Intervalle de confiance
ISO 3308:1986 — Cigarettes — 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 3534 — Statistique — Vocabulaire et symboles
ISO 4387 — Cigarettes — Détermination de la matière particulaire totale et de la matière anhydre et exempte de nicotine au moyen d'une machine à fumer analytique de routine — Méthode du piège à fumer à filtre en fibres de verre
ISO 8243 — Cigarettes — Échantillonnage.
- 3.2 Tout renvoi à un règlement s'entend de l'édition la plus récente. Toute référence datée renvoie à l'édition mentionnée. Sauf indication contraire de l'autorité appliquant la présente méthode, toute référence non datée renvoie à l'édition la plus récente. Les sources de diffusion sont indiquées dans la section intitulée Remarques.

4. TERMINOLOGIE

4.1 La définition suivante s'applique à la présente méthode:

Matière particulaire totale (MPT): partie de la fumée de tabac retenue par un filtre Cambridge en fibres de verre dont l'efficacité est d'au moins 99.9% pour les particules $>0.1 \mu\text{m}$.

5. PRÉPARATION ET CARACTÉRISATION DES ÉCHANTILLONS

5.1 Cigarettes

5.1.1 Lorsqu'il est essentiel d'obtenir des résultats précis, le critère de rejet des cigarettes doit être clairement défini et il faut consigner la proportion rejetée. Il est toujours utile de déterminer la masse des cigarettes avant de commencer la combustion. La relation entre le rendement de la fumée et la masse des cigarettes n'est pas simple, mais si on constate de grandes variations de masse, celle-ci peut parfois être corrigée au moyen d'une analyse statistique spéciale. Comme le but de la méthode est d'estimer la teneur en B[a]P dans la fumée principale des cigarettes vendues sur le marché, le choix basé sur la masse n'est pas jugé critique. La variabilité accrue résultante du rendement de B[a]P reflète mieux les véritables caractéristiques du produit.

5.1.2 Lorsqu'on trie les cigarettes en fonction de la masse, on obtient souvent un échantillon qui n'est pas représentatif de la population. Par exemple, les cigarettes sont fabriquées en fonction d'une spécification donnée, mais il arrive souvent qu'un lot ait une masse moyenne qui diffère assez de la spécification pour influencer sur les résultats de l'essai. Le fait de trier un échantillon en fonction de la détermination d'une masse en vrac plutôt qu'en fonction de la masse spécifiée, peut donc donner un échantillon qui n'est pas représentatif de la population originale.

5.2 Combustion

5.2.1 Pour tous les essais comparatifs, le conditionnement préalable des cigarettes doit être effectué à un taux d'humidité relative de $60 \pm 2\%$ et à une température de $21 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant au moins 48 h, conformément à la norme ISO 3402. Les cigarettes doivent être exposées au milieu de conditionnement en une seule couche.

5.2.2 La préparation, le montage du filtre Cambridge et le fonctionnement de la machine à fumer doivent être effectués conformément à la norme ISO 3308:1986. Noter les points suivants:

- a. La plupart des machines à fumer présentent un certain nombre d'orifices d'admission et même si les plus grandes précautions sont prises, il y aura des différences entre chaque orifice. Il y aura également des différences d'un passage à l'autre, lesquelles seront habituellement beaucoup plus importantes que les différences d'un orifice à l'autre pour le même passage.
- b. Il est plus simple de poser un type de cigarette différent dans chaque orifice de la machine en changeant au hasard la position d'un passage à l'autre de manière à tester chaque type de cigarette plus ou moins également sur chaque orifice. L'écart-type tiendra alors compte des variations d'un orifice à un autre, d'un passage à un autre et des limites de confiance valables peuvent être calculées.
- c. Il est important de s'assurer que 70 à 100 mg de la MPT ont été déposées sur le tampon filtre Cambridge avant de passer à l'analyse. Cette opération est facile à réaliser si le rendement en MPT de la cigarette a été déterminé au préalable. Si ce n'est pas le cas, alors cinq cigarettes devraient être fumées par tampon Cambridge dans le cas de la plupart des cigarettes. Dans le cas des cigarettes à faible rendement, il peut se révéler nécessaire de faire fumer au moins dix cigarettes.

5.3 Matière particulaire totale

5.3.1 La MPT doit être déterminée conformément à la norme ISO 4387. Les données fournies par la détermination de la MPT doivent être utilisées pour caractériser les échantillons et pour surveiller le processus de combustion.

6. ESSAIS

6.1 Préparation de la verrerie

6.1.1 Faire tremper toute la verrerie pendant la nuit dans une solution à 5% de solution de nettoyage Decon® dans de l'eau désionisée. Après le trempage, rincer toute la verrerie trois fois à l'eau du robinet, trois fois avec de l'eau désionisée et deux fois avec du méthanol (DSV). Sécher à l'étuve à 160°C .

6.2 Extraction de la MPT

6.2.1 Réactifs

Marqueur (remarque¹) de B[a]P — 50 μCi de $[17,10-14\text{C}] \text{ B[a]P}$ sont dilués à 50 mL avec de l'acétone. Cette solution mère est diluée 5 fois dans de l'acétone pour donner une solution de dopage dont la concentration est de 0.2 $\mu\text{Ci/mL}$. À un taux d'activité de 205 $\mu\text{Ci/mg}$, la concentration de B[a]P est de 0.9756 $\mu\text{g/mL}$. La solution est emmagasinée dans une série de flacons de 2 mL de l'autoéchantillonneur munis de couvercles garnis de téflon et ces flacons sont déposés dans une boîte conservée à 4°C. Un flacon frais est utilisé pour chaque série d'échantillons.

Acétone — Distillée sous verre (DSV) ou l'équivalent.

Tétrahydrofurane, (THF) — Distillé sous verre (DSV) ou l'équivalent.

Hexane — Distillé sous verre (DSV) ou l'équivalent.

6.2.2 Appareillage et matériel

Centrifugeuse — Capable de fonctionner à une force centrifuge relative de 210 G.

Tubes à centrifuger en verre — Capacité de 20 mL, avec couvercles garnis de téflon.

Appareil à ultrasons — Modèle Branson 3200 ou l'équivalent.

Ballons à fond rond — Capacité de 500 mL et 250 mL.

Évaporateur rotatif — Évaporateur rotatif de type Büchi ou l'équivalent.

Sep-Paks de silice (remarque²) — Paquets de 1 g.

Seringues jetables — Capacité de 5 mL.

Pipettes Pasteur.

Poires en caoutchouc.

Flacons pour «autoéchantillonneur» — 20 $\times$ 10 mm, munis de couvercles filetés garnis de téflon.

6.2.3 Mode opératoire

6.2.3.1 Une fois que le passage sur la machine à fumer est terminé (remarque³), déterminer la masse des filtres tampons Cambridge à utiliser pour la détermination de la MPT. Couper les tampons et déposer les morceaux dans un tube à centrifuger de 20 mL avec une paire de pinces propres.

6.2.3.2 Ajouter 100 μL de solution de marqueur de B[a]P à chaque tube à centrifuger. Les deux échantillons témoins ne sont pas dopés.

6.2.3.3 Ajouter exactement 16 mL d'acétone au tube.

6.2.3.4 Fermer le tube. Soumettre aux ultrasons pendant 30 min dans un bain-marie à 22°C; puis centrifuger pendant 5 min à 210 G.

6.2.3.5 Si nécessaire, on peut alors prélever une portion de 20 μL de l'extrait à l'acétone en vue du dosage de la nicotine (remarque⁴). Transférer la solution d'acétone restante dans un ballon à fond rond de 500 mL à l'aide d'une pipette pasteur.

6.2.3.6 Ajouter environ 12 mL d'acétone au tube. Agiter à la main pendant 1 min, puis centrifuger 5 min à 210 G. Transférer dans le ballon à fond rond avec la même pipette pasteur.

6.2.3.7 Répéter les opérations décrites à l'al. 6.2.3.6 encore quatre fois.

¹ Un marqueur à 30-50 $\mu\text{Ci/mmol}$ pour le B[a]P est disponible auprès de l'Amersham Corp.

² Peut s'obtenir auprès de Waters Chromatography, Division de Millipore.

³ Un passage sur une machine à fumer comprend 18 échantillons et 2 témoins. Un groupe de travail est constitué de 5 échantillons.

⁴ ISO 10315 — Cigarettes — Dosage de la nicotine dans les condensats de fumée — Méthode par chromatographie en phase gazeuse.

- 6.2.3.8 Faire évaporer l'acétone du ballon au moyen d'un évaporateur rotatif dans un bain-marie maintenu à une température de 40°C.
- 6.2.3.9 Préparer le Sep-Pak en fixant une seringue de 5 mL à une extrémité et faire passer à travers 5 mL d'hexane qui seront recueillis dans un bécher; s'assurer que le Sep-Pak n'est pas traversé par de l'air. Prélever 5 mL d'hexane avec la seringue. Poursuivre cette étape jusqu'à ce que la silice soit bien saturée et qu'on ne voit pas de bulles d'air. Monter la seringue et la cartouche sur un ballon à fond rond de 250 mL.
- 6.2.3.10 Ajouter 2 mL de THF au ballon à fond rond de 500 mL (al. 6.2.3.8) et dissoudre le résidu de goudron.
- 6.2.3.11 Agiter le ballon de 500 mL en ajoutant les 30 mL d'hexane. Un précipité collant de type goudron se formera et recouvrera le côté du ballon.
- 6.2.3.12 À l'aide d'une pipette pasteur, transférer environ 5 mL d'hexane de ce ballon dans la seringue de 5 mL. Laisser l'hexane filtrer par gravité dans le ballon à fond rond de 250 mL. Le niveau de la solution d'hexane dans la seringue est maintenu à environ 5 mL jusqu'à ce que l'hexane ait été transféré.
- 6.2.3.13 Lorsque le transfert de l'hexane est terminé, rincer le flacon de 500 mL deux fois avec 5 mL d'hexane, lequel est transféré dans la seringue.
- 6.2.3.14 Une fois que tout l'hexane a traversé le Sep-Pak pour tomber dans le ballon à fond rond de 250 mL, évaporer l'hexane sur un évaporateur rotatif dans un bain-marie maintenu à 40°C.
- 6.2.3.15 Dissoudre le résidu dans environ 2 mL d'hexane et transférer dans un flacon pour autoéchantillonneur de 2 mL.
- 6.2.3.16 Évaporer le contenu (volume) du flacon sous un léger courant d'azote dans un bloc chauffant maintenu à 40°C.
- 6.2.3.17 Au fur et à mesure que l'hexane du flacon s'évapore, rincer le ballon de 250 mL deux fois avec 2 mL d'hexane qui sont ensuite transférés dans le flacon.
- 6.2.3.18 Poursuivre l'évaporation de l'hexane à partir du flacon jusqu'à ce qu'il reste environ 1 mL de solution. Fermer le flacon, le conserver à 4°C et le protéger de la lumière jusqu'à l'isolement par CLHP.

6.3 Chromatographie préparatoire en phase liquide (phase normale)

6.3.1 Réactifs

Hexane — Distillé sous verre (DSV) ou l'équivalent.

Dichlorométhane (DCM) — Distillé sous verre (DSV) ou l'équivalent.

Acétonitrile — Distillé sous verre (DSV) ou l'équivalent.

6.3.2 Appareillage et matériel

Système de chromatographie liquide haute performance (CLHP) — Système de chromatographie liquide haute pression Varian Star muni d'un logiciel fonctionnant sous MS Windows pouvant effectuer le contrôle des appareils, le traitement des données, l'intégration, la quantification et la présentation des résultats sous forme de rapport ou sous d'autres formes.

Pompe à gradient ternaire.

Autoéchantillonneur — Avec boucles à échantillons de 50 et 250 µL.

Détecteur UV-VIS — Détecteur à longueur d'onde variable UV-VIS.

Détecteur de fluorescence — Détecteur de fluorescence à balayage programmable JASCO, avec longueur d'onde d'excitation de 365 nm et longueur d'onde d'émission de 425 nm ou l'équivalent.

Moniteur de radioactivité — Moniteur de radioactivité Berthold avec cuve YG-600 U4 ou l'équivalent.

Collecteur — Collecteur Foxy II programmable ou l'équivalent.

Colonne CLHP — Colonne Merck mesurant 250 mm de longueur × 10 mm de diamètre interne, garnie de LiChrospher Si 60 à granulométrie de 10 µm ou l'équivalent.

6.3.3 Mode opératoire

- 6.3.3.1 Le gradient d'élution (remarque⁵) se présente comme suit: 100% d'hexane (débit de 3.5 mL/min) jusqu'à 90:10 d'hexane:DCM à 20 min, jusqu'à 50:50 d'hexane:DCM à 30 min, jusqu'à 100% DCM à 32 min, maintenir 5 min, jusqu'à 100% d'acétonitrile (débit de 5.0 mL/min) à 40 min, maintenir 5 min, jusqu'à 100% DCM à 50 min, jusqu'à 100% d'hexane à 55 min, puis maintenir l'équilibre pendant 10 min.
- 6.3.3.2 Injecter 250 µL de l'extrait final (al. 6.2.3.18) dans le système de CLHP. On analyse un passage de 20 échantillons à la fois.
- 6.3.3.3 Recueillir des portions de deux minutes (7 mL) entre 20 à 30 min. On isole le B[a]P en observant la réponse sur le moniteur de radioactivité. Les portions contenant le B[a]P marqué sont recueillies (normalement 3 portions vers 25 min).
- 6.3.3.4 À l'aide d'une pipette pasteur, transférer les portions dans un ballon à fond rond de 250 mL. Rincer les tubes deux fois avec environ 2 mL d'hexane. Transférer les liquides de rinçage dans le ballon. Évaporer le contenu du ballon jusqu'à environ 1 mL sur un évaporateur rotatif dans un bain-marie maintenu à 40°C.
- 6.3.3.5 À l'aide d'une pipette pasteur, transférer le contenu du ballon à fond rond dans un flacon pour autoéchantillonneur de 2 mL. Placer le flacon dans un bloc chauffant maintenu à 40°C sous un léger courant d'azote. Rincer le ballon à fond rond deux fois avec 2 mL d'hexane. Transférer les liquides de rinçage dans le flacon. Ajouter 25 µL de la solution de marqueur aux deux flacons contenant les deux échantillons témoins antérieurement non dopés (al. 6.2.3.2). Sécher le contenu du flacon.
- 6.3.3.6 Ajouter 250 µL d'acétonitrile aux flacons. Boucher les flacons avec un couvercle garni de téflon et conserver à 4°C. Protéger de la lumière jusqu'à la chromatographie liquide analytique (CL).

6.4 Chromatographie liquide analytique (à polarité de phase inversée)

6.4.1 Réactifs

Acétonitrile — Distillé sous verre (DSV) ou l'équivalent.

Eau de qualité réactif — Conforme au type I de la spécification D 1193 de l'ASTM.

Solution mère primaire de B[a]P (200 µg/mL) — Dissoudre 10 ± 0.01 mg de B[a]P dans 50 mL d'acétonitrile.

Solution mère secondaire de B[a]P (5 µg/mL) — Diluer 250 µL de la solution mère primaire décrite ci-haut à 10 mL d'acétonitrile.

Étalons d'étalonnage de B[a]P — À partir de la solution mère susmentionnée, préparer en double, trois dilutions dans la gamme allant à peu près de 0.02 à 0.1 µg/mL. Conserver à 4°C les étalons d'étalonnage dans des flacons de 2 mL d'autoéchantillonneur munis de couvercles garnis de téflon, jusqu'à l'utilisation (remarque⁶).

6.4.2 Appareillage et matériel

Système de chromatographie liquide haute performance (CLHP) — Voir al. 6.3.2.

Cartouche de CLHP — Colonne Merck mesurant 250 mm de longueur × 4 mm de diamètre interne et garnissage de 3 µm Superspher 100 RP-18 avec colonne de garde mesurant 4 mm de longueur × 4 mm de diamètre interne et garnissage de 5 µm Superspher 100 RP-18, ou l'équivalent.

6.4.3 Mode opératoire

- 6.4.3.1 Le gradient d'élution (remarque⁷) se présente comme suit: 40:60 d'eau:acétonitrile à un débit de 1.5 mL/min, augmenter à 25:75 d'eau:acétonitrile suivant un gradient linéaire pendant une période de 23 min, puis à

⁵ Comme le type et l'état de la colonne peuvent varier, il est nécessaire d'optimiser les conditions pour séparer le B[a]P le mieux possible de la grande quantité de composés d'élution apolaires. L'élution devrait être analogue à celle qui est représentée à la figure 1.

⁶ Chaque flacon est utilisé une seule fois.

⁷ L'élution devrait être analogue à celle qui est représentée à la figure 2.

100% d'acétonitrile (pas de gradient) pendant 5 min. Maintenir l'équilibre dans les conditions initiales (40:60 d'eau:acétonitrile) pendant encore 10 min.

6.4.3.2 Injecter 50 µL de l'extrait final (al. 6.2.3.18) dans le système de CLHP.

6.4.3.3 Surveiller la réponse de fluorescence en utilisant une longueur d'onde d'excitation de 365 nm et une longueur d'onde d'émission de 425 nm.

6.4.3.4 Déterminer le taux de récupération de l'isotope marqué à l'aide du moniteur de radioactivité Berthold.

6.5 Calculs

6.5.1 Courbe d'étalonnage

6.5.1.1 Injecter 50 µL de chaque étalon d'étalonnage (en double) dans le système de CLHP avec chaque série de 20 échantillons (ce qui donne un passage de 26 flacons).

6.5.1.2 Enregistrer la surface sous le pic de fluorescence correspondant au B[a]P pour chacun des échantillons et des étalons d'étalonnage du passage. Porter sur la courbe la surface du pic correspondant aux étalons d'étalonnage en fonction de leur concentration.

6.5.2 Détermination du taux de récupération

6.5.2.1 Déterminer l'aire sous le pic correspondant au B[a]P marqué au ¹⁴C ainsi que la valeur moyenne pour les deux témoins.

6.5.2.2 Calculer le taux de récupération pour chaque échantillon en divisant la surface sous le pic correspondant au B[a]P marqué au ¹⁴C par la moyenne calculée à l'al. 6.5.2.1.

6.5.3 Calculer le débit du B[a]P de la façon suivante:

$$D = \frac{(1000x - tz)}{yz}$$

où:

D = débit (ng/cig)

x = B[a]P obtenu à partir de la courbe d'étalonnage (µg/mL)

y = nombre de cigarettes fumées

z = récupération du B[a]P obtenue à partir de la cigarette posée sur le moniteur

t = quantité de marqueur de B[a]P ajoutée (ng)

7. VALIDATION DE LA MÉTHODE

7.1 Étude de la récupération

7.1.1 Cinq cigarettes témoins provenant de l'industrie canadienne du tabac (moniteur 4) ont été fumées à partir de dix orifices choisis au hasard sur une machine à fumer linéaire à 20 orifices et le goudron de la fumée principale a été prélevé sur un filtre tampon Cambridge taré.

7.1.2 Pendant le nettoyage, 100 µL de solution de marqueur ont été ajoutés à six des échantillons aux stades suivants, avant l'isolement par CLHP:

a. al. 6.2.3.2

b. avant l'al. 6.2.3.8

c. avant l'al. 6.2.3.10

d. al. 6.2.3.12

e. avant l'al. 6.2.3.15

f. al. 6.2.3.18

On a ajouté 25 µL de solution de marqueur à deux des échantillons, aux stades suivants, après l'isolement par CLHP et avant la quantification par CLHP.

g. avant l'al. 6.3.3.4

h. al. 6.3.3.5

Pour déterminer le taux de récupération à 100%, deux des échantillons ont été laissés non dopés jusque juste avant l'injection (al. 6.4.3.2) dans la colonne d'analyse.

7.1.3 Le taux de récupération mesuré dans cette étude était de $100.3 \pm 8.2\%$.

7.2 Validation

7.2.1 Cinq cigarettes de référence Kentucky 2R1 ont été fumées dans dix orifices choisis au hasard sur une machine à fumer à 20 orifices et la MPT a été recueillie sur des filtres tampons Cambridge tarés.

7.2.2 Tous les filtres tampons ont été dopés avec 100 µL de la solution de marqueur. Cinq des filtres tampons ont été encore dopés avec 107.6 ng de B[a]P non marqué.

7.2.3 On passe ensuite aux opérations décrites aux al. 6.2.3.1 à 6.4.3.4.

7.2.4 Le débit mesuré de 31.9 ± 3.7 ng/cig dans le cas de la cigarette 2R1 non dopée concordait bien avec la valeur trouvée dans la documentation qui est de 28.4 ± 3.4 (remarque⁸) et 32 ng/cig (remarque⁹).

7.3 Confirmation par chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (CG/SM)

7.3.1 Appareillage et réactifs

Chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (CG/SM) — Appareil Varian 3400 de chromatographie en phase gazeuse avec détecteur spectral à piège ionique massique Saturn (remarque¹⁰) et injecteur SPI avec dispositif haute performance et autoéchantillonneur 8100, ou l'équivalent.

Colonne — Colonne J & W mesurant 30 mm de longueur $\times$ 0.25 mm de diamètre interne avec épaisseur de 1.25 µm DB-5 pour la pellicule, ou l'équivalent.

Isooctane — Distillé sous verre (DSV) ou l'équivalent.

Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) — Mélange standard Supelco HAP.

7.3.2 Conditions de fonctionnement

Programme de l'injecteur — 90°C pendant 12 s; puis augmenter à 310°C à raison de 180°C/min.

Programme du four — 105°C pendant 4 min; puis augmenter à 210°C à raison de 8°C/min.

Température du montage — 240°C.

Température des tuyaux — 300°C.

Hélium, gaz porteur — Pression de 103.4 kPa (15 lb/po²).

Saisie — De 60 à 600 amu.

7.3.3 Mode opératoire

7.3.3.1 Au cours d'une série de passages analytiques de CLHP, on a prélevé des portions de 2 min de 8 à 18 min (le temps de rétention du B[a]P était d'environ 13 min). Toutes les portions d'échantillons avec le même temps de rétention ont été réunies (c.-à-d. toutes les portions allant de 8 à 10 min, etc.) dans un ballon à fond rond, puis le solvant a été évaporé. Les portions étalons ont été réunies séparément pour être comparées aux portions d'échantillon.

⁸ Tomkins, B.A. et coll., «Liquid Chromatographic Determination of Benzo[a]Pyrene in Total Particulate Matter of Cigarette Smoke», *Journal — Association of Official Analytical Chemists*, 68 (1985): 935-940.

⁹ Appel, B.R. et coll., «Benzene, Benzo[a]Pyrene, and Lead in Smoke from Tobacco Products Other than Cigarettes», *American Journal of Public Health*, 80 (1990): 560-564.

¹⁰ Le système Varian est commandé par ordinateur au moyen d'une base de données pouvant effectuer des recherches dans les bibliothèques de spectres afin de permettre l'identification, l'intégration, l'analyse et la présentation de rapports adaptés.

7.3.3.2 Les ballons ont été rincés avec de l'acétonitrile et le contenu a été transféré dans un flacon de 2 mL d'un autoéchantillonneur et évaporé jusqu'à siccité sous un courant d'azote. On a ajouté 200 µL d'isooctane à chaque flacon et on a injecté 1 µL dans la colonne. Le mélange standard de HAP a été dilué à 1:50 avec de l'isooctane et 1 µL a été injecté dans le CG/SM pour que l'on puisse obtenir un spectre et déterminer les temps de rétention des HAP.

7.3.4 **Observations**

7.3.4.1 La présence de B[a]P a été confirmée dans la quatrième fraction de l'échantillon et de l'étalon. Aucun autre HAP n'a été décelé dans ces fractions. De nombreux autres pics ont été observés, mais ces pics étaient présents dans les spectres correspondant à toutes les fractions.

7.3.4.2 On a conclu que les contaminants étaient soit des contaminants non fluorescents, soit des artéfacts provenant du traitement des échantillons après l'analyse. D'une façon ou d'une autre, ils ne perturbaient pas la quantification du B[a]P.

8. **REMARQUES**

8.1 **Publications connexes**

8.1.1 Au moment de la publication, les documents suivants étaient des publications connexes. Une publication connexe n'est pas nécessairement équivalente ni n'a-t-elle préséance sur la présente norme.

8.1.1.1 Kaiserman, M.J. et Rickert, W.S., «Carcinogens in Tobacco Smoke: Benzo[a]pyrene from Canadian Cigarettes and Cigarette Tobacco», American Journal of Public Health, 82 (1992): 1023-1026.

8.1.1.2 Risner, C.H., «The Determination of Benzo[a]pyrene and Benzo[a]anthracene in Mainstream and Sidestream of the Kentucky Reference Cigarette IR4F and a Cigarette which Heats but Does Not Burn Tobacco: A Comparison», Beit, Zur Tabak, 15 (1991): 11-17.

8.1.1.3 Risner, C.H., «The Determination of Benzo[a]pyrene in the Total Particulate Matter of Cigarette Smoke», Journal of Chromatographic Science, 26 (1988): 113-119.

8.1.1.4 Tomkins, B.A. et coll., «Liquid Chromatographic Determination of Benzo[a]pyrene in Total Particulate Matter of Cigarette Smoke» Journal — Association of Official Analytical Chemists, 68 (1985): 935-940.

8.2 **Sources de diffusion des publications de référence**

8.2.1 La publication mentionnée à l'al. 3.1.1 est diffusée par l'American Society for Testing and Materials, 100 Barr Harbor Drive, West Conshohocken, PA 19428-2959, U.S.A., ou par le Conseil canadien des normes (al. 8.2.2).

8.2.2 Les publications mentionnées à l'al. 3.1.2 sont diffusées par le Conseil canadien des normes, Service des ventes, 45, rue O'Connor, bureau 1200, Ottawa, Canada K1P 6N7. Téléphone (613) 238-3222. Télécopieur (613) 995-4564.

Chromatogramme obtenu sur colonne préparatoire

FIGURE 1

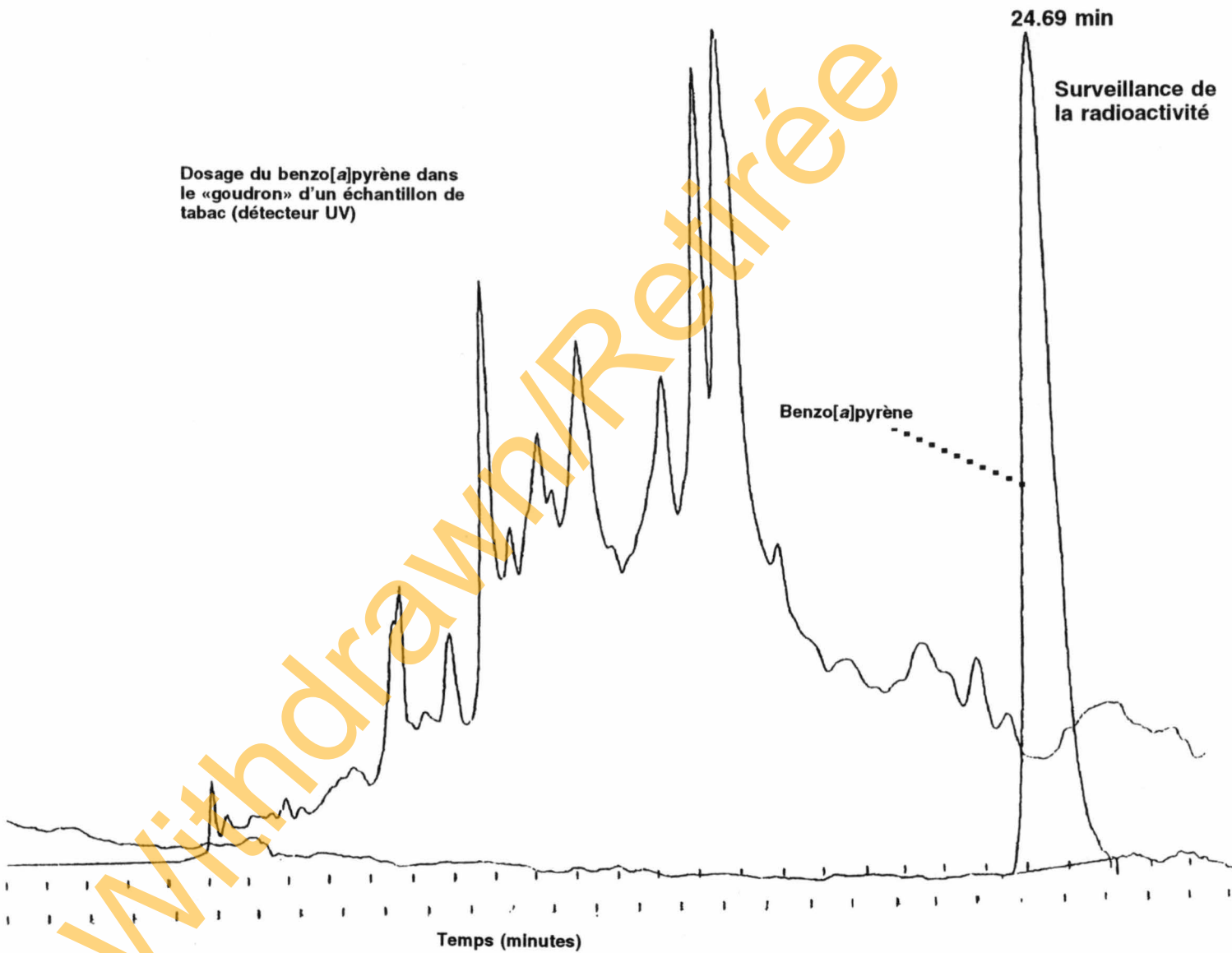


FIGURE 2
Chromatogramme sur colonne d'analyse

