



HAL
open science

Étude par spectrométrie de masse des aérosols associés à la fumée de cigarette

Adama Kamissoko

► **To cite this version:**

Adama Kamissoko. Étude par spectrométrie de masse des aérosols associés à la fumée de cigarette. Chimie analytique. Université de Lorraine, 2018. Français. NNT : 2018LORR0284 . tel-02129950

HAL Id: tel-02129950

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-02129950>

Submitted on 4 Jan 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

THÈSE

Présentée par

Adama KAMISSOKO

En vue de l'obtention du grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE LORRAINE

Spécialité Chimie Analytique

**ÉTUDE PAR SPECTROMÉTRIE DE MASSE DES AÉRO-
SOLS ASSOCIÉS A LA FUMÉE DE CIGARETTE**

Soutenue le 20 décembre 2018

Pr. Laurence CHARLES	Université de Marseille	Rapporteur
Dr. Stéphane BOUCHONNET	Ecole Polytechnique	Rapporteur
Pr. Gisèle FINQUENEISEL	Université de Lorraine	Examinateur
Dr. Essyllt LOUARN	Université de Paris Sud	Examinateur
Dr. Vincent CARRÉ	Université de Lorraine	Co-Directeur
Pr. Frédéric AUBRIET	Université de Lorraine	Co-Directeur

Préambule

Cette thèse a été réalisée au laboratoire de Chimie et Physique, Approche Multi-échelle des Milieux Complexes (LCP-A2MC), Ecole Doctorale Chimie-Mécanique-Matériaux-Physique de l'Université de Lorraine, grâce au soutien financier de la Banque Islamique de Développement (BID) au travers son programme de bourse de mérite pour les études doctorales et les recherches post-doctorales.

Je voudrais tout d'abord remercier mes directeurs de thèse, Vincent Carré et Frédéric Aubriet. J'ai été extrêmement sensible à leurs qualités scientifiques, humaines, d'écoute et de compréhension tout au long de ce travail doctoral. Grâce à leur soutien cette thèse a été réalisée. Je les remercie également pour les connaissances scientifiques ainsi que les compétences techniques qu'ils m'ont transmises durant cette thèse. Merci pour la confiance qu'il ont placée en moi et les opportunités qu'ils m'ont données d'assister à des conférences scientifiques qui m'ont permis de faire connaître mes travaux de recherche.

Je tiens à remercier Laurence Charles, Stéphane Bouchonnet, Gisèle Finqueneisel et Essyllt Louarn de l'honneur qu'ils m'ont fait de juger cette thèse en qualité de rapporteur ou d'examineur.

Mes remerciements vont également à Lionel Vernex-Loset pour son soutien technique, Gabriel Krier pour son aide administrative, Jasmine Hertzog et Sebastien Schramm pour leurs conseils et assistance technique ainsi que Patrick Chaimbault, Jean-Jacques Gaumet, Olivier Delhomme, Ali Zaiter, Hamadou Dicko, Frédéric Nana pour leurs conseils scientifiques et leurs discussions.

Je remercie également Olivier Pages, directeur du LCP-A2MC pour son aide administrative et ses conseils scientifiques et professionnels ainsi qu'Anne-Marie Morlet et Carine Nguyen pour leurs assistances administratives. Je remercie également les personnels, les doctorants, post-doctorants et stagiaires du LCP-A2MC et de l'ICPM.

Je remercie l'ensemble de mes enseignants du primaire, du collège, du lycée et de l'université, en particulier Abdoulaye Keita chef de département Chimie à l'Université Gamal Abdel Nasser (Guinée-Conakry) et Boubacar Sacko ainsi que Souad El Hajjaji responsable du Master Sciences Analytiques et Environnement et Zoubida Charrouf professeurs au département Chimie de la faculté des sciences de l'Université Mohammed V-Agdal (Maroc).

Je remercie tous les membres de la BID, en particulier Lakdhar Kadhadi pour son soutien administratif ainsi que Touré Hadja Bintou Camara à la direction des relations internationale de la banque centrale de Guinée (DRI BCRG) pour son soutien administratif et son réconfort. Je remercie également la Société Française de Spectrométrie de Masse (SFSM) pour sa bourse qui l'a permis de participer à l'EFTMS 2018 à Freising ainsi que le Club Jeune de la SFSM.

Je remercie Jasmina, Nawal et Salifou Soumah pour leur réconfort.

Enfin mes remerciements et éternelle reconnaissance à ma famille, une pensée pieuse à mon défunt père (paix à son âme) ainsi qu'à mes amis.

Table des matières

Préambule	i
Index des Figures	vii
Index des Tableaux	xi
Liste des abréviations.....	xiii
INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
CHAPITRE I CONTEXTE GÉNÉRAL DE L'ÉTUDE	7
Introduction	9
I.1. Tabac et tabagisme	9
I.2. Conséquences du tabagisme sur l'organisme	10
I.3. Les effets des composés des fumées de cigarette sur l'organisme	11
I.4. Les constituants des cigarettes.....	11
I.4.1. Composition chimique du tabac à fumer	12
I.4.2. Le papier à cigarettes	12
I.4.2.a. Constituants du papier à cigarettes	13
I.4.2.b. Rôle du papier à cigarettes.....	13
I.4.3. Le filtre à cigarettes	14
I.4.4. Les additifs du tabac (menthol, clou de girofle et autres)	15
I.4.4.a. Le Clou de girofle.....	16
I.4.4.b. Le menthol.....	16
I.5. Processus de fumage et composition des fumées de cigarette.....	17
I.5.1. Les différentes classes de fumées de cigarette	17
I.5.1.a. Le courant principal de fumée (MSS)	17
I.5.1.b. Les fumées expirées (EXS)	18
I.5.1.c. Le courant secondaire de fumée (SSS).....	18
I.5.1.d. Les fumées de tabac environnemental (ETS)	18
I.5.1.e. Le courant tertiaire de fumée (THS).....	18
I.5.2. Les différentes étapes associées au fumage d'une cigarette.....	18
I.5.2.a. Zone de combustion	19
I.5.2.b. Zone de pyrolyse	19
I.5.3. Composition chimique de la fumée de cigarette	19
I.5.4. La taille des particules du courant principal de fumée de cigarette.....	22
I.6. Revue bibliographique de l'analyse des fumées de cigarette	23
I.6.1. Echantillonnage	23
I.6.2. Méthodes et techniques d'analyse des fumées de cigarette	24
I.6.3. Les effets liés à l'échantillonnage sur les analyses des fumées de cigarette.....	26
Conclusion.....	30
CHAPITRE II MATÉRIELS ET MÉTHODES	33
Introduction	35
II.1. Le prélèvement	35
II.1.1. Introduction	35
II.1.2. Les échantillons	36
II.1.3. Le dispositif de collecte et de fumage	37
II.1.3.a. Le dispositif de prélèvement et de fumage	37
II.1.3.b. Les dispositifs de collecte des MSS	37

II.1.4.	La procédure de fumage et de prélèvement.....	38
II.1.5.	Préparation des échantillons.....	40
II.1.5.a.	Les composés associés à la phase gazeuse.....	40
II.1.5.b.	Les composés associés à la phase particulaire.....	40
II.2.	Principe de la chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS) ou à la spectrométrie de masse en tandem (GC/MS/MS).....	41
II.2.1.	Introduction.....	41
II.2.2.	Principe de la chromatographie couplé à la spectrométrie de masse.....	41
II.2.3.	Analyse des BTEX par GC/MS.....	43
II.2.4.	Analyse de la nicotine par GC/MS/MS.....	44
II.3.	La spectrométrie de masse à transformée de Fourier (FT ICR–MS).....	45
II.3.1	Introduction.....	45
II.3.2.	Origine de la FT ICR–MS et principe de la mesure.....	45
II.3.3.	Source d’ionisation interne ou externe.....	47
II.3.4.	Dispositif expérimental utilisé.....	47
II.3.5.	L’analyse FT ICR–MS.....	48
II.3.6.	Avantages, limites et domaines d’application de la FT ICR–MS.....	51
II.3.6.a.	Avantages de la FT ICR–MS.....	51
II.3.6.b.	Limites de la FT ICR–MS.....	53
II.4.	Les méthodes d’ionisation couplée à la FT ICR – MS utilisées dans le cadre de cette étude.....	53
II.4.1.	La désorption/ionisation laser (LDI).....	54
II.4.1.a.	Principe de l’analyse par LDI-FTICRMS dans le contexte de l’analyse des particules de la fumée principale de cigarette.....	54
II.4.1.b.	Paramètres utilisés pour l’acquisition de données par LDI.....	55
II.4.2.	Ionisation par électronébulisation ou l’electrospray (ESI).....	55
II.4.2.a.	Principe de la technique.....	56
II.4.2.b.	Paramètres expérimentaux utilisés pour l’analyse ESI des MSS.....	57
II.5.	Etalonnage, traitement des données et attribution.....	58
II.5.1.	Procédure de calibration et d’attribution.....	58
II.5.2.	Représentation graphiques et outils d’interprétation des données.....	60
II.5.2.a.	Equivalent double liaison.....	60
II.5.2.b.	Les Diagrammes de van Krevelen et de Venn – Cartes de Kendrick.....	60
Conclusion.....		61
CHAPITRE III	MISE EN PLACE D’UNE MÉTHODE DE COLLECTE ET D’ANALYSE NON-CIBLÉE DE FUMÉES DE CIGARETTES PAR LDI ET ESI FT–ICR MS.....	63
Introduction.....		65
III.1.	Mise en place et validation de la méthode de fumage des cigarettes et de la méthode de prélèvement des fumées du courant principal de cigarette.....	65
III.1.1.	Analyse quantitative de BTEX contenus dans la phase gazeuse des MSS par GC/MS.....	66
III.1.2.	Analyse quantitative de la nicotine dans la phase particulaire des MSS par GC/MS/MS.....	69
III.2.	Étude du courant principal de la fumée des cigarettes Françaises par LDI et ESI FT-ICR MS.....	70
III.2.1.	Analyse en mode de détection positif.....	70
III.2.2.	Analyse en mode de détection négatif.....	78

III.2.3.	Combinaison des analyses LDI-MS et ESI-MS pour l'analyse des MSS de fumée de cigarette.....	82
	Conclusion.....	83
CHAPITRE IV INFLUENCE DE LA MORPHOLOGIE, DE L'ORIGINE ET DE LA PRESENCE D'AGENTS DE SAVEUR SUR LA COMPOSITION DES AEROSOLS DU COURANT PRINCIPAL DES FUMÉES DE CIGARETTE		
	Introduction	85
IV.1.	Analyse des BTEX	87
IV.2.	Analyse de la phase particulaire des MSS à l'aide d'une approche non-ciblée associant la spectrométrie de masse de type FT-ICR MS.....	89
IV.2.1.	Introduction	89
IV.2.2.	Influence de la morphologie du filtre	91
IV.2.3.	Influence de l'origine des cigarettes.....	96
IV.2.3.a.	Les cigarettes à filtre classique.....	96
IV.2.3.b.	Les cigarettes à filtre O-ring.....	100
IV.2.4.	Influence de la présence d'un agent de saveur	104
IV.2.4.a.	Les cigarettes mentholées.....	105
IV.2.4.b.	Les cigarettes au clou de girofle	107
	Conclusion.....	111
CONCLUSION GÉNÉRALE – PERSPECTIVES		
	Références	117

Index des Figures

Figure 1	Les différents types de tabac	12
Figure 2	Clous de girofle	16
Figure 3	Le Menthol et la Feuille de Menthe dont il peut être extrait	17
Figure 4	Les différentes processus associées au fumage d'une cigarette	19
Figure 5	Photographie des différents types de cigarettes utilisées dans cette étude	36
Figure 6	Dispositif de prélèvement des fumées de cigarette	37
Figure 7	Dispositifs de prélèvement des fumées du courant principal de cigarette (MSS)	38
Figure 8	Description des différentes phases d'un prélèvement. ⁹⁶	39
Figure 9	Schéma du couplage chromatographie gazeuse - spectrométrie de masse	43
Figure 10	Principe du mouvement cyclotronique	46
Figure 11	Spectromètre de masse FT ICR-MS	47
Figure 12	Différentes étapes de traitement du signal pour l'obtention d'un spectre de masse à partir d'un interférogramme	51
Figure 13	Schéma du spectromètre ProMALDI-FTICR-MS	55
Figure 14	Schéma du principe de l'ionisation/désorption par électronébulisation dans le cas d'une expérience en mode d'ions positifs. ¹³⁸	56
Figure 15	Schéma relatif à la théorie de charge résiduelle de Dole et al (S représente une molécule de solvant). ¹⁴²	57
Figure 16	Chromatogrammes reconstitués en mode SIM d'un extrait de fumée de cigarette pour les six BTEX étudiés	67
Figure 17	Spectre de masse FT-ICR de la matière particulaire des MSS de cigarette française en mode de détection positif par LDI à 355 nm (haut) et ESI (bas). A droite, agrandissement du spectre de masse LDI FT-ICR à m/z 248.	70
Figure 18	Carte de Kendrick associée aux spectres de masse des MSS de la cigarette Française obtenus par ESI et LDI	72
Figure 19	Distribution des erreurs obtenues dans le cadre de l'attribution des ions observés sur le spectre de masse LDI des MSS de la cigarette Française.	73
Figure 20	Distribution en classe de composés des espèces $C_xH_yN_{1-3}O_{0-4}$ détectées par (+) LDI (rouge) and (+) ESI (bleu) FT-ICR MS au cours de l'analyse des MSS de cigarette Française. Les barres d'erreur sont relatives à la variance observée pour deux réplicats. A droite, diagramme de Venn associé à ces deux séries de mesures indiquant les valeurs de DBE pondérées. Pour les espèces communes, les valeurs de DBE pondérées obtenues dans les deux modes d'ionisation sont reportées. En (+) ESI, pour la classe N_2 la contribution de l'ion mono-isotopique de l'espèce protonée de la nicotine a été évaluée sur la base de sa distribution isotopique théorique et de l'intensité du signal associé à la contribution en ^{13}C à m/z 164.126.	74

Figure 21	Valeur de la DBE des ions $C_xH_yN_2^{+(\bullet)}$ communs (vert) et spécifiques (rouge et bleu) observés dans l'étude des MSS de cigarette Française par (+) ESI (bleu et vert) et (+) LDI (vert et rouge) FT-ICR MS en fonction du nombre d'atomes de carbone.....	76
Figure 22	Spectres de masse FT-ICR de la matière particulaire des MSS de cigarette française en modes de détection positif (haut) et négatif (bas) par LDI à 355 nm et ESI.	79
Figure 23	Distribution en classe de composés des espèces $C_xH_yN_{0-3}O_{0-4}$ détectées par (-) LDI (rouge) et (-) ESI (bleu) FT-ICR MS au cours de l'analyse des MSS de cigarette Française. Les barres d'erreur sont relatives à la variance observée pour deux répliquats. A droite, diagramme de Venn associé à ces deux séries de mesures indiquant les valeurs de DBE pondérées. Pour les espèces communes, les valeurs de DBE pondérées obtenues dans les deux modes d'ionisation sont reportées..	81
Figure 24	Diagramme de Venn des espèces observées au cours des analyses (+) LDI FT-ICR à 355 nm, (+) ESI FT-ICR, (-) LDI FT-ICR à 355 nm et (-) ESI FT-ICR MS de la phase particulaire des MSS de cigarette Française.	83
Figure 25	Nombre de signaux observés en mode de détection positif (haut) et négatif (bas) possédant un rapport signal/bruit supérieur à 4,5 lors de l'analyse de la phase particulaire des huit cigarettes par LDI-MS.....	90
Figure 26	Diagramme de Venn relatif aux espèces communes ou spécifiques des MSS de cigarettes Françaises dotées d'un filtre normal ou de type O-ring observées par LDI en mode de détection positif (haut) et négatif (bas).....	92
Figure 27	Diagramme de Van Krevelen des espèces communes et spécifiques aux MSS de cigarettes Françaises dotées d'un filtre normal ou de type O-ring observées par LDI en mode de détection négatif.	93
Figure 28	Distribution des espèces observées sur le spectre de masse obtenu par LDI en mode de détection négatif pour les MSS de cigarettes Françaises dotées d'un filtre normal (haut) ou de type O-ring (bas) en fonction du nombre d'atomes d'oxygène et d'azote.....	94
Figure 29	Diagrammes de Venn relatifs aux espèces communes ou spécifiques des MSS de cigarettes Françaises, Indonésienne et Egyptienne dotées d'un filtre normal observées par LDI en mode de détection positif (haut) et négatif (bas).	97
Figure 30	Distribution des espèces observées sur le spectre de masse obtenu par LDI en mode de détection négatif pour les MSS de cigarettes Françaises (haut), Indonésienne (milieu) et Egyptienne (bas) en fonction du nombre d'atomes d'oxygène et d'azote.....	99
Figure 31	Diagramme de Venn relatif aux espèces communes ou spécifiques des MSS de cigarettes Françaises, Italienne et Qatarie dotées d'un filtre de type O-ring observées par LDI en mode de détection positif (haut) et négatif (bas).	101
Figure 32	Distribution des espèces observées sur le spectre de masse obtenu par LDI en mode de détection négatif pour les MSS de cigarettes Françaises (haut), Italienne (milieu) et Qatarie (bas) en fonction du nombre d'atomes d'oxygène et d'azote.	103

Figure 33	Diagramme de Venn relatif des espèces communes ou spécifiques aux MSS de cigarettes Françaises de type O-ring avec ou sans agent de saveur (menthol) observées par LDI en mode de détection positif (haut) et négatif (bas).	105
Figure 34	Distribution des espèces observées sur le spectre de masse obtenu par LDI en mode de détection négatif pour les MSS de cigarettes de type Françaises O-ring sans (haut) et avec (bas) menthol en fonction du nombre d'atomes d'oxygène et d'azote.	106
Figure 35	Diagramme de Venn relatif aux espèces communes ou spécifiques des MSS de cigarettes Indonésiennes à filtre classique avec ou sans agent de saveur (Kretek) observées par LDI en mode de détection positif (haut) et négatif (au milieu) et par ESI en mode positif (bas).	108
Figure 36	Distribution des classes de composés des MSS des cigarettes Indonésienne (vert) et Indonésienne Kretek (violet) observés en LDI et ESI.	109
Figure 37	Distribution des classes de composés des MSS des cigarettes Indonésienne (vert) et Kretek (violet) observés en LDI (gauche) et ESI (droite) pour les composés spécifiques.	110

Index des Tableaux

Tableau 1	Composition de la fumée de tabac dans le courant principal et le courant secondaire	21
Tableau 2	Quantité de nicotine, de monoxyde de carbone et de goudron produit par cigarette, conformément aux informations fournies par le fabricant.....	36
Tableau 3	Paramètres instrumentaux utilisés lors de l'analyse GC/MS des BTEX contenus dans la phase gazeuse des MSS	43
Tableau 4	Paramètres instrumentaux utilisés lors de l'analyse GC/MS/MS de la nicotine contenue dans la phase particulaire des MSS.....	44
Tableau 5	Restrictions au sein de petites molécules du nombre d'atomes pour chaque élément chimique sur la base de l'examen des banques de données DNP et Wiley. ¹⁴⁵	59
Tableau 6	Rapports atomiques entre éléments chimiques classiquement observés sur la base des 45 000 composés référencés dans la banque de données Wiley dont la masse est comprise entre 30 et 1 500 Da. ¹⁴⁵	59
Tableau 7	Nombre maximum d'hétéroatomes présents dans des molécules de masse inférieure à 2 000 Da d'après la base de données Beilstein. ¹⁴⁵	59
Tableau 8	Temps de rétention (TR), limite de détection (LOD), limite de quantification (LOQ) et paramètres de régression linéaire obtenus dans l'analyse de BTEX par GC/MS.....	67
Tableau 9	Concentration des BTEX dans la phase gazeuse des MSS de la cigarette Française et déviations relatives standards associées à l'analyse par GC/MS (RSD _{GC/MC}) et à l'ensemble des étapes de fumage, de prélèvement, de prétraitement et d'analyse (RSD _{Tot}) des MSS. La RSD _{GC/MC} est évaluée sur la base de l'examen de six replicats et la RSD _{Tot} en considérant huit réplicats.	68
Tableau 10	Température et enthalpie de vaporisation des six BTEX étudiés, d'après la base de données NIST (webbook https://webbook.nist.gov/ [Oct 17 2018]).	69
Tableau 11	Nature et abondance des ions C ₁₅ H _y N ₁₋₃ O ₀₋₄ ^{+*} qui présente une valeur de DBE de 10 observés spécifiquement ou de manière conjointe sur les spectres de masse (+) ESI et (+) LDI FT-ICR MS des MSS de cigarette Française. Les valeurs d'abondance sont données en unités arbitraires (u.a).	77
Tableau 12	Nature et abondance des ions C _x H _y N _z O _w ^{+/-} observés à la masse nominale m/z 257 sur les spectres de masse ESI et LDI FT-ICR MS des MSS de cigarette Française en mode de détection positif et négatif. Les valeurs de DBE sont relatives à l'espèce neutre.	80
Tableau 13	Concentration des BTEX en µg/cig dans la phase gazeuse des MSS des différentes cigarettes étudiées.....	88
Tableau 14	Valeur de la DBE pondérée et de l'intensité relative des espèces communes ou spécifiques des MSS de cigarettes Françaises dotées d'un filtre normal ou de type O-ring observées par LDI en mode de détection positif et négatif.....	92

Tableau 15	Valeur de la DBE pondérée et de l'intensité relative des espèces communes ou spécifiques aux MSS de cigarettes Françaises, Indonésienne et Egyptienne dotées d'un filtre normal observées par LDI en mode de détection positif et négatif. ..	98
Tableau 16	Valeur de la DBE pondérée et de l'intensité relative des espèces communes ou spécifiques aux MSS des cigarettes Françaises, Italienne et Qatarie dotées d'un filtre de type O-ring observées par LDI en mode de détection positif et négatif.	102
Tableau 17	Valeur de la DBE pondérée et de l'intensité relative des espèces communes ou spécifiques aux MSS de cigarettes Françaises de type O-ring avec ou sans agent de saveur (menthol) observées par LDI en mode de détection positif et négatif.	106
Tableau 18	Valeur de la DBE pondérée et de l'intensité relative des espèces communes ou spécifiques aux MSS de cigarettes Indonésiennes à filtre classique avec ou sans agent de saveur (Kretek) observées par LDI en mode de détection positif et négatif et par ESI en mode positif (bas). ..	109

Liste des abréviations

A	
APPI	Atmospheric pressure photo-ionization Ionisation à pression atmosphérique
APCI	Atmospheric pressure chemical ionization Ionisation chimique à pression atmosphérique
AI	Aromaticity index Indice d'aromaticité
AASQA	Agence agréée de surveillance de la qualité de l'air
B	
BTEX	Benzène, Toluène, Ethylbenzène, Xylènes
C	
COV	Composés organiques volatils
CU	Coresta unit Unité de mesure Coresta
CE-MS	Capillary electrophoresis – mass spectrometry Spectrométrie de masse couplée à l'électrophorèse capillaire
CI	Chemical ionization Ionisation chimique
D	
DBE	Double-bond equivalent Equivalent en double liaison
DON	Dissolved organic nitrogen Azote organique dissous
DART	Direct analysis in real time Analyse directe en temps réel
E	
ETS	Environmental tobacco smoke Fumée de tabac environnementale
ESI	Electrospray ionization Ionisation par électronébulisation
EXS	Exhaled smoke Fumée exhalée
EI	Electronic impact Impact électronique
ECD	Electron captured dissociation Dissociation par capture d'électron
F	
FT-ICR MS	Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry Spectrométrie de Masse à résonance cyclotronique des ions par transformée de Fourier

FID	Flame ionization detector Ionisation de flamme
FWHM	Full width at half maximum Largueur du pic à mi-hauteur
FFT	Fast Fourier transform Transformée de Fourier rapide
G	
GC-MS	Gas chromatography–Mass Spectrometry Spectrométrie de masse couplée à la chromatographie gazeuse
CID	Collision induced dissociation Dissociation induite par collision
H	
HAP	Hydrocarbures aromatiques polycycliques
I	
ISO	International organization for standardization
IE	Impact électronique
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
IRMPD	Infrared multiphoton dissociation Dissociation par absorption multiple de photons infrarouges
IEM	Ion evaporation model Modèle de l'émission ionique
ICP-MS	Inductively coupled plasma mass spectrometry Spectrométrie de masse à plasma inductif
K	
KM	Kendrick mass Masse de Kendrick
KMD	Kendrick mass defect Défaut de masse de Kendrick
L	
LC-MS	Spectrométrie de masse couplée à la chromatographie liquide
LDI	Laser desorption-ionization Désorption/ionization laser
LOD	Limit of detection Limite de détection
LOQ	Limit of quantification Limite de quantification
M	
MSS	Mainstream Smoke Fumée de cigarette du courant principal
MS	Mass spectrometry Spectrométrie de Masse

MMAD	Mass median aerodynamic diameter Diamètre aérodynamique à la masse médiane
MALDI	Matrix assisted laser desorption ionization Désorption /ionisation laser assistée par matrice
MRM	Multiple Reaction Monitoring
N	
NO _x	Nitrogen oxides – Oxydes d’azote
NNN	N-nitrosornicotine
O	
OMS	Organisation mondiale de la santé
O-ring	Filtre évidé de type O-ring
P	
PM	Particulate matter Matière Particulaire
PA	Proton affinity Affinité protonique
R	
REMPI	Resonance enhanced multiphoton ionization Photoionisation exaltée par absorption résonante
RSD	Déviat ion relative standard
S	
SSS	Sidestream smoke Fumée de cigarette du courant secondaire
S/N	Signal to noise ratio Rapport signal / bruit
SFC	Supercritical fluid extraction Chromatographie supercritique
SIM	Single Ion Monitoring
T	
THS	Third hand smoke Fumée de cigarette de troisième main
TIC	Total ion current Courant ionique total
TOFMS	Time of flight mass spectrometry Spectrométrie de masse par temps de vol
TPM	Total particulate matter Matière particulaire totale
THF	Tétrahydrofurane

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Introduction générale

Les problèmes de santé publique liés à l'exposition à des polluants environnementaux sont aujourd'hui, au cœur des préoccupations politiques et individuelles à travers le monde, notamment en Europe. Les trois compartiments de notre écosystème (sol, eau et air) sont impactés par la présence de composés anthropogènes potentiellement néfastes pour l'environnement et pour la santé humaine. A ce titre, en France et à travers bon nombre de pays industrialisés ou en voie de développement se sont développés des réseaux de surveillance. Ils s'intéressent principalement aux milieux aquatiques (agence de bassin) mais plus encore à la qualité de l'air extérieur (agence agréée de surveillance de la qualité de l'air ou AASQA). Le compartiment aérien est plus spécifiquement visé, dans la mesure où ces agences sont à l'origine des alertes pollution qui sont régulièrement lancées sur le territoire Français tant en milieu urbain que sur les principales voies de transport. L'air constitue, en effet, le premier des éléments essentiels à la vie, un signe de vie en particulier pour les humains « *sans respiration pas de vie et sans l'air pas de respiration* ». Quotidiennement, une dizaine de kilogrammes d'air transite par nos voies respiratoires qu'il s'agisse d'air de milieu extérieur ou d'air intérieur. Une mauvaise qualité de l'air peut ainsi, notamment pour les personnes sensibles, conduire aux développements de certaines pathologies.

Les polluants présents dans l'air peuvent altérer la santé humaine principalement par inhalation ou par contact. Ils peuvent engendrer chez l'homme des maladies graves (cancers, insuffisances respiratoires et pulmonaires, maladies cardio-vasculaires) lors d'expositions chroniques ou aiguës ou encore des nuisances diverses (altération de rendement agricole, dégradation du bâti, odeurs, ...). La pollution de l'air peut aussi avoir des conséquences sur le climat (pluies acides, réchauffement climatique, ...) et dégrader les écosystèmes par dépôt sur les sols, les végétaux ou dans l'eau. Cette dégradation de l'air extérieur est généralement appelé « **pollution atmosphérique** ». Elle correspond à une modification de la composition de l'air impliquant la détérioration de sa qualité par la présence de polluants chimiques, physiques ou biologiques, ayant des conséquences nuisibles pour la santé humaine, les êtres vivants, le climat, et les biens matériels. De manière plus ciblée, les polluants chimiques de l'atmosphère peuvent avoir des origines diverses mais sont, pour l'essentiel, liées aux activités humaines telles que l'industrie et la production d'énergie (fumées, composés organiques volatils ou COV, CO, CO₂, SO_x, NO_x, Pb, particules,...), l'agriculture (aérosols associés à l'épandage d'insecticides, d'engrais azotés, de pesticides et de fongicides) les transports notamment routiers (CO, CO₂, COV, NO_x, particules,...) ou encore les bâtiments qu'ils soient résidentiels ou de travail (CO, CO₂, COV, NO_x, particules produites par les dispositifs de chauffage au bois, au fioul ou encore au gaz).

Certains polluants atmosphériques sont associées à des sources naturelles comme les plantes (pollens, COV dont l'isoprène et l' α -pinène à l'origine d'aérosols organiques

secondaires ou SOA), les éruptions volcaniques (SO_x , H_2S , HCl ,...), les incendies d'origine naturelle (particules fines, NO_x , CO , CO_2 ,...) ou encore la foudre (NO_x).

L'air respiré dans nos habitations ou sur nos lieux de travail n'est pas exempt de polluants, on parle ainsi de « **pollution de l'air intérieur** » ou de pollution indoor. Il peut s'agir de COV ou de composés semi-volatils contenus dans les produits d'entretien et de bricolage ou encore dans les matériaux agglomérés (panneaux de particules) mais aussi dans les plastiques, les parfums d'intérieur, les produits d'hygiène ou les insecticides, l'ozone produit en particulier par les photocopieurs, les particules fines et les fibres, les bio-contaminants (bactéries, virus, champignons, moisissures,...) ou encore les produits (gazeux et particulaires) issus de processus de combustion (feu en foyer ouvert ou fermé, tabagisme) ou de cuisson. De manière plus spécifique, les gaz produits par combustion sont associés aux différents oxydes d'azote, de carbone et de soufre mais aussi à des COV ou encore aux hydrocarbures aromatiques monocycliques (benzène, toluène,...) ou polycycliques (HAP). La phase particulaire quant à elle est constituée principalement de suies ou carbon black sur lesquelles peuvent être adsorbées des composés organiques volatils, semi-volatils ou non volatils.

La pollution de l'air intérieur liée au tabagisme nécessite une attention particulière pour plusieurs raisons. Elle conduit à une exposition chez les fumeurs réguliers (tabagisme actif) mais également pour les personnes de leur entourage (tabagisme passif). Elle touche une large part de la population (hommes et femmes issus de milieux sociaux variés). Selon des statistiques de 2015, le tabagisme qui constitue la première cause de mortalité prématurée évitable en France conduit à près de 79 000 morts par an. Il est en outre responsable de près de 90% des cancers du poumon dans notre pays. L'exposition aux fumées de cigarette peut être considérée comme chronique dans la mesure où, la fraction gazeuse et la fraction particulaire qui lui sont associés persistent de longues heures dans les atmosphères intérieures. Après leur formation, la phase particulaire des fumées peut venir se déposer sur les tissus intérieurs, les tapis, les rideaux, les murs et les meubles et être remise en suspension avant d'être inhalée. Les dangers liés à l'exposition des fumées de cigarette sont considérables pour les fumeurs et leur entourage et sont associés à des risques de maladies respiratoires, de cancers (poumon, gorge, système digestif,...) et de maladies cardiovasculaires. Le tabagisme actif ou passif est également un facteur aggravant pour certaines pathologies comme l'asthme ou le diabète. Ces risques sont relatifs à la présence de substances toxiques dans la phase gazeuse ou dans la phase particulaire des fumées de tabac. Le fumage d'une cigarette, conduit à la formation de milliers de composés dont le CO et le CO_2 , les NO_x , les COV, les HAP (fluoranthène, benzo(a)-pyrènes,...), les aldéhydes, les cétones, les BTEX (benzène, toluène, éthyl-benzène, xylènes, styrène,...) et les nitrosamines.¹ Une part de ces composés se trouve à l'état de traces, ce qui en rend l'étude délicate. Un nombre important de ces composés, principalement ceux relatifs à la phase particulaire, sont

encore très peu renseignés. Ils sont cependant du point de vue de la santé humaine extrêmement importants dans la mesure où les particules de taille microscopique (voire nanométrique) sur lesquelles ils sont adsorbés, pénètrent profondément dans les voies respiratoires et atteignent les alvéoles pulmonaires sièges des échanges avec le sang.

Il existe différents types de fumée de cigarette qui sont produites au cours du fumage par combustion et pyrolyse des différents ingrédients de la cigarette (tabac, papier, additifs, ...). Celles qui sont inhalées par le fumeur sont appelées fumées du courant principal ou mainstream smoke (MSS) et correspondent à l'exposition principale des fumeurs actifs. Une partie des composés inhalés reste dans l'organisme du fumeur. Il peut s'agir de certains composés gazeux, des particules elles-mêmes ou bien de certains composés qui sont adsorbés à leur surface. Les fumées de cigarette qui sont exhalées et rejetées par le fumeur en atmosphère intérieure (EXS), sont par conséquent potentiellement différentes des MSS tant en nature qu'en ce qui concerne les composés adsorbés. Entre deux bouffées, des fumées sont également produites au niveau de la braise de la cigarette, elles correspondent au courant secondaire ou sidestream smoke (SSS). Associées aux EXS, elles constituent les fumées de tabac environnementales ou ETS (environmental tobacco smoke) et sont celles qui sont inhalées par les fumeurs passifs. Les effets toxiques des fumées de cigarettes qu'il s'agisse des MSS ou des ETS sont directement liés à leur composition chimique et à leur comportement dans l'organisme, notamment au niveau du système respiratoire.^{2,3}

Si l'étude de la phase gazeuse a conduit à de nombreux travaux, celle de la phase particulaire est bien moins documentée.⁴ Une grande partie des travaux qui traitent de l'analyse de la fraction particulaire correspond à des études ciblées ne s'intéressant qu'à certains composés comme la nicotine, les HAP ou encore les amines aromatiques. Seuls deux groupes à travers le monde s'y intéressent réellement. Le premier est celui du Professeur Ralf Zimmerman à Rostock qui a mis en place une analyse on-line couplée à l'ionisation SPI ou REMPI.⁵ Si les résultats obtenus sont d'une grande importance et tout à fait pertinents, la distinction en composés associés à la fraction gazeuse et à celle des particules est rendue délicate par le dispositif employé. Le diagnostic obtenu est également limité aux espèces volatiles et semi-volatiles. Le second groupe est le nôtre. Initié dans le cadre de la thèse de Sébastien Schramm,^{1,4,6} ce travail s'est d'abord consacré à comparer les fumées de cigarettes inhalées et exhalées par le fumeur avant, d'étudier celles inhalées par tabagisme passif.

L'objectif de ce travail de thèse est d'approfondir notre connaissance de la composition chimique de la matière particulaire des fumées de cigarette inhalées (MSS). La démarche entreprise est celle d'une analyse non-ciblée assurant la mise en évidence du plus grand nombre possible de constituants de la fumée de cigarette inhalée par le fumeur. La mise en place de méthodologies sensibles et hautement résolutive est ainsi

nécessaire pour obtenir de nouveaux éléments sur la composition de cette matière particulaire qui constitue un des polluants les plus importants des atmosphères intérieures. A ce titre, la combinaison de la spectrométrie de masse à résonance cyclotronique des ions par transformée de Fourier (FT ICR–MS) et des sources d’ionisation par désorption/ionisation laser (LDI) et par électro-nébulisation (ESI) apparaissent comme un outil de choix pour, d’une part ioniser des espèces aux propriétés physico-chimiques pouvant être très différentes et pour, d’autre part assurer la détection et la distinction des centaines de composés présents dans ces milieux complexes. De manière plus spécifique, l’établissement d’une méthode analytique robuste a permis d’étudier l’influence d’un certain nombre de paramètres liés à la cigarette sur la nature des fumées associées au tabagisme actif. Ainsi, l’étude de l’influence de la morphologie du filtre, de la présence éventuelle d’additifs et de l’origine géographique de la cigarette sur la nature est la distribution des composés présents dans la matière particulaire a pu être menée.

Ce manuscrit s’articule autour de quatre chapitres, le premier sera consacré à l’établissement du contexte général de l’étude. La description générale du tabac, celle de la cigarette et des différentes fumées produites au cours du fumage sera dressée. Une revue bibliographique de l’analyse de la composition des fumées de cigarette au cours de la dernière décennie sera également réalisée.

Le second chapitre décrira les matériels et méthodes d’analyse utilisés dans cette étude. Un accent sera porté sur les protocoles opératoires mis en place, sur le traitement et la représentation des données.

Le troisième chapitre constituera le premier chapitre de résultats et portera sur la mise en place et la validation de la méthode de production et de prélèvement des MSS ainsi que sur l’établissement de la méthode non-ciblée d’étude de la fraction particulaire des fumées inhalées par tabagisme actif à l’aide des techniques LDI FT ICR–MS et ESI FT ICR–MS.

Dans le dernier chapitre, l’application de la méthodologie mise en place permettra de déterminer l’influence de (i) la nature du filtre (plein ou de type O-ring), (ii) l’origine géographique et (iii) la présence d’agents de saveur sur la distribution et la nature des espèces contenues dans les MSS.

CHAPITRE I CONTEXTE GÉNÉRAL DE L'ÉTUDE

Introduction

L'objectif de ce premier chapitre est de définir quelques termes et d'introduire certaines notions de base sur l'histoire du tabac, sa culture et sa composition chimique ainsi que de donner les éléments les plus pertinents associés à la cigarette pour cette étude.

Tout d'abord, la description de la composition chimique du tabac sera donnée en détaillant pour certains de ses constituants leur impact sur l'organisme. Celle-ci sera étendue à certains additifs couramment employés notamment certains agents de saveurs comme le menthol ou le clou de girofle.

Dans une seconde partie, les différents éléments contribuant à la fabrication d'une cigarette seront détaillés avant que soit abordée la description des différents types de fumées de cigarette. L'accent sera ensuite porté sur les différentes étapes qui se déroulent au cours du processus de fumage et sur la nature et les effets potentiellement toxiques sur l'organisme des substances contenues dans ces fumées. Enfin, la granulométrie des particules des fumées de cigarette en particulier celles inhalées par le fumeur (tabagisme actif) sera abordée.

Nous terminerons ce chapitre par une revue bibliographique concernant les études publiées au cours de la dernière décennie qui portent sur l'analyse des fumées de cigarette. Dans cette dernière partie, nous présenterons ainsi, les modes d'échantillonnage employé ainsi que les méthodes et les techniques utilisées pour l'analyse des fumées de cigarette.

I.1. Tabac et tabagisme

Le tabac est un produit issu du monde végétal dont la culture est soumise aux aléas météorologiques, il est produit à partir de feuilles séchées de plantes appartenant au genre botanique *Nicotiana* dans la famille des Solanacées. Dans l'Antiquité, le tabac était utilisé comme un produit médicinal et sacré par les indiens d'Amérique (fumer était moyen de purification lors de différentes cérémonies). Originaire d'Amérique, le tabac a été introduit en Europe après la découverte de ce continent par Christophe Colomb, Luis de Torrès et Rodrigo de Jerez en 1492. L'usage du tabac s'est alors progressivement répandu dans le reste du monde.⁷

Le tabac est utilisé sous plusieurs formes, il peut s'agir de tabac à fumer ou de tabac non fumé.

- Le tabac non fumé

Le tabac non fumé est utilisé sous forme de tabac à chiquer (feuille de tabac roulée et mastiquée), de tabac à priser (tabac émietté et introduit dans le nez) ou de tabac à sucer.

- Le tabac à fumer

Le tabac peut être fumé de différentes manières. Les plus répandues sont l'emploi de pipe ou celle de narguilé également appelé chicha ou alors conditionné sous forme de cigarette ou de cigare. Le mode le plus répandu pour la consommation du tabac est la cigarette. Sous toutes ses formes, la consommation représente un risque accru et un danger pour la santé humaine mais également de manière plus générale pour l'environnement.⁸ Nous nous sommes intéressés à l'étude des fumées de cigarette car il s'agit du mode de consommation du tabac le plus répandu.

I.2. Conséquences du tabagisme sur l'organisme

Le tabagisme est un problème de santé publique majeur. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a classé le tabac parmi les principales causes de morbidité et de mortalité dans le monde notamment dans les grands centres urbains dans les pays développés et dans la plupart des pays en voie de développement. Elle considère la lutte contre le tabagisme essentiel du point de vue de la santé publique mais également pour veiller à la prévention et la protection de l'environnement.⁸

Les risques sanitaires liés au tabagisme concernent un accroissement des risques de développer des pathologies délétères pour la santé des fumeurs à travers le tabagisme actif. Ils concernent également les non-fumeurs et les animaux (surtout les animaux de compagnie) au travers du tabagisme passif par une détérioration de la qualité de l'atmosphère intérieure. De manière plus précise, le tabagisme passif est à l'origine du développement ou de l'aggravation de pathologies chez les non-fumeurs et en premier lieu chez les enfants. On peut ainsi évoquer, des problèmes de toux et de sifflement respiratoire, de bronchite, d'asthme, de pneumonie, d'infections des voies respiratoires inférieures, de troubles ophtalmiques et auditifs, de maladies cardio-vasculaires, de cancers voire une augmentation des risques de contagion de certaines maladies infectieuses comme la tuberculose.⁹

S'ajoutent à ces risques sanitaires, pour les femmes enceintes, des problèmes d'hypoxie fœtale (réduction de l'apport en oxygène du fœtus).¹⁰ Les fumeurs réguliers s'exposent également à des maladies pulmonaires importantes comme le cancer du poumon¹¹ ou à des complications spécifiques après une intervention chirurgicale.¹² Cet

accroissement des risques sanitaires et directement lié à la composition des fumées inhalées par le fumeur actif qui contiennent des milliers de composés. Certains sont reconnus comme toxiques, mutagènes, reprotoxiques (avortement spontané, malformation des fœtus chez les fumeuses...), irritants, cancérogènes mais l'essentiel des constituants de la phase particulaire de la fumée de cigarette n'a ni encore été renseigné ni clairement documenté.^{4,9}

I.3. Les effets des composés des fumées de cigarette sur l'organisme

Les effets du tabagisme sont nombreux et variés. Le tabagisme cause des maladies souvent très graves et de longue durée. Ils peuvent également conduire à l'aggravation d'affections sérieuses dont le fumeur est déjà atteint. Certains d'entre eux peuvent être associés aux effets connus de composés identifiés dans les fumées de cigarettes.

Les risques auxquels s'expose un fumeur sont généralement en relation directe avec un composé, une classe de composés ou un cocktail de composés contenus dans les fumées de cigarette. Ainsi certains peuvent être :

- ✓ Cancérogènes et/ou mutagènes comme les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), les amines aromatiques, les nitrosamines, les métaux, les métalloïdes et les radioéléments, les aldéhydes, les phénols mais également les composés condensés (liquides ou solides) regroupés sous le terme « goudron » qui se dépose en particulier dans les bronches et les poumons ;
- ✓ toxiques comme le benzène, le toluène, le CO et les NOx ;
- ✓ irritants comme les produits de combustion de la cellulose par exemple.

D'autres composés des fumées de cigarette peuvent également être à l'origine de la dépendance au tabac, et rendent le sevrage tabagique difficile. Il s'agit en particulier de la nicotine et de ses dérivés.¹³

I.4. Les constituants des cigarettes

Les cigarettes sont des produits emblématiques de la consommation du tabac. Une cigarette est formée d'un papier fin et poreux roulé en forme de cylindre. Il contient un mélange de tabac (Virginie, Maryland, Kentucky, Burley, Oriental, principalement) et d'additifs (menthol, vanille, cacao, clou de girofle, ...). Ce cylindre comporte à l'un de ses extrémités un filtre qui peut être de morphologie classique ou de type O-ring. Dans ce cas le filtre est constitué de deux parties, l'un est un filtre plein, l'autre un filtre creux. Une cigarette contient, selon la marque, entre 0,5 et 1 g de tabac.^{14,15}

I.4.1. Composition chimique du tabac à fumer

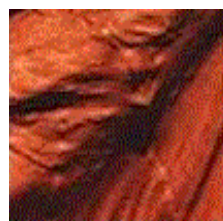
La composition du tabac à fumer dépend principalement des conditions de culture (période de cultures, sols), de la variété du tabac et des conditions de séchage des feuilles. Cinq variétés de tabac peuvent être assemblées pour la confection d'une cigarette : le Virginie (tabac blond), le Burley, le Maryland, le Kentucky (tabac brun), et l'Oriental (Figure 1).^{16,17} Avant de pouvoir les employer comme tabac à fumer, les feuilles de tabac doivent être séchées. Différents procédés sont employés. Le Virginie est séché à l'air chaud ou dans les fours artificiels alors que le Maryland et le Kentucky sont séchés à l'air libre et le Burley sous des hangars à tabac traditionnels. La quantité de sucre et de nicotine est fortement dépendante des variétés de tabac et des conditions de séchage. Ainsi, le Virginie est très sucré avec une teneur en nicotine élevée alors que l'Oriental contient moins de nicotine. Le tabac Burley renferme quant à lui des teneurs en sucre plus faibles mais il contient aussi une quantité très importante en nicotine.^{17,18} Par ailleurs, le tabac contient également des additifs utilisés au cours du séchage pour faciliter le processus de dessiccation mais également pour limiter le développement de micro-organismes (moisissures, champignons et bactéries).



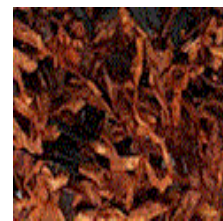
Tabac Virginie



Tabac Burley



Tabac Brun



Tabac Oriental

Figure 1 Les différents types de tabac

I.4.2. Le papier à cigarettes

Dans la production de cigarettes, le papier à cigarettes est utilisé comme matériau d'emballage.

Dans une cigarette il existe trois différentes couches de papier :

- ✓ le papier cigarette : visible de l'extérieur il est directement en contact avec le tabac et forme le "boudin de tabac" ;
- ✓ le papier de grainage: non visible de l'extérieur, il est en contact avec la matière de filtration et forme le bâtonnet filtre ;
- ✓ le papier manchette : généralement imprimé, il sert à l'assemblage des deux papiers précédent.¹⁹

Les bandes circonférentielles de papier à cigarettes sont placées périodiquement le long de la tige et comprennent généralement des substances réductrices de perméabilité telles que l'alginate, l'amidon, le tapioca, le carraghénane, la gomme de guar, la pectine ou encore la cellulose.²⁰

Dans l'industrie du papier à cigarettes, la mesure de la perméabilité du papier à cigarettes est définie comme le débit ($\text{cm}^3 \text{min}^{-1}$) passant à travers un échantillon de 1 cm^2 de matériau d'essai à une pression appliquée de $1,00 \text{ kPa}$.^{21,22} L'unité de mesure est appelée Coresta (CU).

I.4.2.a. Constituants du papier à cigarettes

Le papier à cigarettes est composé essentiellement de 60-70% de cellulose, 30-40% de carbonate de calcium et de 1 à 5% d'additif comme des sels de potassium ou de sodium, ainsi que des modificateurs de la vitesse de combustion (spécifiquement le citrate de sodium).²³ A noter que, le carbonate de calcium est un matériau inorganique non toxique, et par conséquent, il peut être ajouté en toute sécurité dans le papier à cigarettes, il contribue largement à la formation de la cendre.²⁴ Il a une influence directe sur la porosité du papier et sur la combustion de la cigarette.

De même que le tabac, de nombreux composants sont couramment utilisés comme additifs dans l'industrie du papier à cigarettes afin de donner une odeur agréable et d'accélérer la combustion lors du fumage de la cigarette comme par exemple le citrate de sodium qui conduit à réduire le nombre de bouffées par cigarette.²⁵ L'augmentation du dosage des additifs de combustion peut entraîner une réduction du taux de monoxyde de carbone.²⁵ En revanche, le goût de la cigarette peut être influencé par l'utilisation accrue d'additifs de combustion.²⁶

Il est intéressant de noter que, pendant le fumage la proportion de monoxyde de carbone, de goudron et d'autres composés, peut dépendre également des caractéristiques du papier à cigarettes comme par exemple, la porosité, le grammage, la concentration en carbonate de calcium.²³

I.4.2.b. Rôle du papier à cigarettes

Le papier à cigarettes a un rôle esthétique sur l'apparence d'une cigarette en modifiant certaines caractéristiques telles que l'opacité et la brillance du filtre de la cigarette.

D'autre part, il joue un rôle très important sur la nature des réactions associées à la combustion de tabac, et à celles entre les produits de combustion et l'oxygène ou l'humidité avant l'inhalation par le fumeur.²⁷

I.4.3. Le filtre à cigarettes

Les filtres à cigarettes sont des matériaux fibreux constitués essentiellement d'acétate de cellulose. Ils ont pour rôle principal, de réduire dans les fumées la proportion de certaines substances en particulier la teneur en goudron, et de retenir les particules les plus lourdes avant l'inhalation de la fumée de cigarette par le fumeur. Par contre, les composés gazeux et les fines particules traversent librement le filtre. Ils peuvent être photodégradables sous l'exposition du rayonnement UV. Par contre, ils sont non biodégradables. Différentes études ont montré comme celle de Gaworski et al²⁸ ont effet démontré la faible biodégradabilité de l'acétate de cellulose.

La présence de micropores sur les filtres à cigarettes a une importance capitale lors du fumage d'une cigarette :

- ✓ ils facilitent l'aspiration de l'air et la dilution des fumées (permet à l'air ambiant de diluer la fumée et de réduire la proportion de certains composés aspirés par le fumeur, principalement la proportion de goudrons et de nicotine).²⁹
- ✓ les trous présents à la périphérie des filtres de certaines cigarettes permettent au fumeur d'abaisser la quantité fumée de tabac inhalé en diluant la fumée de cigarette.³⁰

En outre, la ventilation réduit le flux d'air à travers le charbon en combustion également appelé braise, la tige de tabac et le filtre, modifiant ainsi la composition chimique de la fumée tout en permettant la diffusion vers l'extérieur des composés gazeux.²⁴

De nombreux matériaux sont utilisés comme additifs dans les filtres à cigarettes classiques afin d'améliorer l'efficacité de l'élimination de certains produits toxiques. Parmi eux, les nano-cages de carbone sont utiles pour l'adsorption de composés toxiques,³¹ l'oxyde de titane nano-structuré pour éliminer sélectivement les nitrosamines,²⁵ des composites à base de nanotubes de carbone sont efficaces pour l'élimination du benzo[a]pyrène ou des composés phénoliques.³²

Le charbon actif peut être utilisé dans la filtration de la fumée du courant principal.³³ En effet, le charbon actif se caractérise par une surface spécifique et une porosité élevées, ce qui facilite l'adsorption des composés volatils et semi-volatils des MSS, en

particulier les aldéhydes, les amines aliphatiques et les composés aromatiques monocycliques.³⁴

Les filtres à cigarettes en cellulose offrent un avantage important par rapport aux filtres synthétiques. Après usage, ceux-ci nécessitent de 7,5 à 14 ans avant de disparaître. En revanche, les filtres en cellulose se dégradent plus rapidement.³³ Au niveau de l'image, les cigarettes dotées d'un filtre rassurent à tort, les consommateurs quant au risque sanitaire des produits contenus dans les filtres.³⁵ Il est bon de noter que pour les particules les plus fines, les filtres diluent les fumées sans changer la taille des particules ni les retenir.³⁶ Les filtres usagés constituent un risque pour l'environnement puisqu'une lixiviation des composants toxiques des filtres et du tabac fumé issus des mégots de cigarettes jetés dans la nature peut conduire à la libération de substances nuisibles notamment pour l'environnement aquatique. Il s'agit ici, principalement d'une libération de métaux lourds, mais aussi d'éthylphénol ou encore de résidus de pesticides.³⁷

I.4.4. Les additifs du tabac (menthol, clou de girofle et autres)

Les additifs sont utilisés dans l'industrie du tabac principalement pour modifier le goût et atténuer l'âcreté des fumées de cigarette. En outre, certains comme l'ammونيак, constituent un moyen de rendre plus addictive la consommation du tabac. Cela conduit à créer une dépendance importante pour les fumeurs, en particulier pour les nouveaux fumeurs.³⁸

De manière plus générale, les additifs sont employés pour

- ✓ rendre aisée la combustion du tabac ou permettre l'oxydation rapide du tabac ;
- ✓ permettre l'humidification du tabac afin d'augmenter la durée de conservation en évitant le séchage de la cigarette. Il s'agit du propylène glycol, du glycol ou encore du glycérol ;³⁹
- ✓ modifier l'odeur des fumées et développer une odeur agréable en employant par exemple le menthol, le clou de girofle ou la vanille.^{40,41}
- ✓ réduire l'irritation des voies respiratoires.¹⁷

La plupart des ingrédients sont ajoutés aux cigarettes à des concentrations très faibles.^{40,42} Par exemple, le cacao et les produits à base de cacao à 0,060% (0,5 mg/cig) et à 0,003% (0,026 mg/cig) pour les arômes naturels et artificiels dans les cigarettes commercialisées par la firme Marlboro.⁴³

Nous allons développer de manière plus importante deux additifs employés dans les cigarettes sur lesquelles porte cette étude : le clou de girofle et le menthol.

I.4.4.a. Le Clou de girofle

Le giroflier est un arbre originaire d'Asie qui produit une épice très aromatique, le clou de girofle (Figure 2). Le clou de girofle est utilisé pour ses vertus médicinales (analgésique) et culinaires. Il est également employé comme un additif dans l'industrie de la cigarette, en particulier dans les cigarettes aux clous de girofle, appelées Kretek. Les quantités de produits issus du clou de girofle dans les cigarettes Kretek peuvent constituer jusqu'à 30% de la masse d'une cigarette.^{44,45}

La plupart des cigarettes Kretek viennent d'Asie notamment d'Inde mais aussi de Java, Sumatra, Bali et Lombok. Plus récemment, il est entré dans la composition de certaines cigarettes en Amérique du Nord.^{45,46} Elles sont fabriquées essentiellement à partir de tabac et de clous de girofle mais contiennent également d'autres agents de saveurs appelés globalement sauce qui correspond à un mélange de clous de girofle, d'huile de clou de girofle et d'essence de clous de girofle.⁴⁷



Figure 2 Clous de girofle

I.4.4.b. Le menthol

Le menthol est une substance naturellement présente dans les plantes à la menthe de type menthe poivrée et la menthe verte (Figure 3). Il peut être également obtenu à travers des procédés de synthèse.⁴⁸ Il est utilisé depuis l'Antiquité dans l'alimentation et dans les produits pharmaceutiques.⁴⁹

Le menthol est un additif aromatisant couramment utilisé dans les cigarettes à cause de sa saveur, de son arôme et de ses effets sur le fumeur.^{50,51} Il a notamment, un effet d'anesthésie local, d'agent anti-irritant et de refroidissement des voies aériennes et concourt à augmenter la sensation agréable des fumées de cigarette,^{52,53,54} Le menthol est utilisé généralement dans l'industrie de la cigarette à des doses faibles dans la majorité des cigarettes "non-mentholées" et à des doses variables dans les cigarettes dites "au menthol".⁵⁵ Le menthol même à une faible quantité dans la cigarette peut provoquer des sensations agréables. Il peut masquer l'âpreté des fumées en atténuant ou adoucissant l'irritation de certains composés des fumées de cigarette.^{56,57} La plupart des fumeurs

de cigarettes au menthol sont jeunes et appartiennent à une tranche d'âge comprise entre 12-40 ans.⁵⁸

La présence de menthol peut entraîner un risque accru de pénétration plus profonde des particules des fumées de cigarette dans l'organisme des fumeurs.⁵⁹

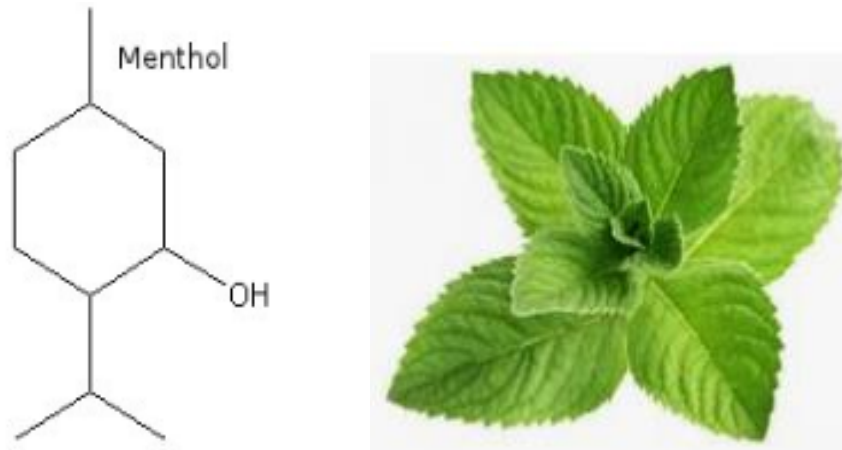


Figure 3 Le Menthol et la Feuille de Menthe dont il peut être extrait

I.5. Processus de fumage et composition des fumées de cigarette

I.5.1. Les différentes classes de fumées de cigarette

Les fumées de cigarette sont produites par des processus de combustion/pyrolyse lors du fumage d'une cigarette. Il s'agit d'un terme générique qui correspond à différents types de fumées. Il peut s'agir des fumées de cigarette du courant principal ou Mainstream Smoke (MSS), des fumées expirées ou Exhaled Smoke (EXS), des fumées du courant secondaire ou Sidestream Smoke (SSS) ainsi que des fumées de tabac environnemental ou environnemental Tobacco Smoke (ETS) et des fumées du courant tertiaire ou Third Hand Smoke (THS).⁶

I.5.1.a. Le courant principal de fumée (MSS)

Le courant principal de fumée (MSS) correspond aux fumées qui traversent le filtre et sont inhalées par le fumeur actif. Il est constitué d'une phase vapeur et d'une phase particulaire. Dans l'ensemble de la fumée, la phase vapeur et l'air représente 95,5%, tandis que la phase particulaire ne correspond qu'à 4,5%. Si la contribution de l'eau est retirée de la masse de matière particulaire, la matière particulaire sèche ne représente que 3,6% de la masse de l'ensemble de la fumée.⁶⁰⁻⁶⁴

Après inhalation du courant principal de fumée par le fumeur,

- ✓ une partie reste dans son organisme, en particulier les microparticules qui sont piégées dans les voies respiratoires (bouche, trachée artère, et alvéoles pulmonaires) avant d'entrer dans la circulation sanguine.⁶⁰
- ✓ l'autre partie est expirée dans l'atmosphère et constitue les fumées expirées ou EXS.

I.5.1.b. Les fumées expirées (EXS)

Comme son nom l'indique, elles correspondent aux fumées expirées par les fumeurs actifs dans l'atmosphère entre deux bouffées.⁶ Sa composition chimique est différente de la fumée inhalée par le fumeur du fait notamment de processus de transfert entre les MSS et l'organisme.⁶⁵ Ces fumées sont susceptibles d'être inhalées par les fumeurs passifs.

I.5.1.c. Le courant secondaire de fumée (SSS)

Le courant secondaire de fumée représente les fumées qui se dégagent lorsque la cigarette se consume entre deux bouffées.⁶ Il est principalement issu de la pyrolyse du tabac et des autres ingrédients de la cigarette. Les composés qui le constituent sont eux aussi susceptibles d'être inhalés par les fumeurs passifs.

I.5.1.d. Les fumées de tabac environnemental (ETS)

Les fumées du tabac environnemental correspondent à l'ensemble des fumées expirées par les fumeurs actifs et des fumées du courant secondaire.⁶ Elles englobent l'ensemble des fumées de cigarette émises dans l'environnement.

I.5.1.e. Le courant tertiaire de fumée (THS)

Les ETS peuvent se combiner avec les poussières et se déposer sur différentes surfaces telles que les meubles, les textiles, la peau ou les cheveux. Leur remise en suspension après d'éventuelles transformation chimique (oxydation principalement) conduit aux THS.⁶⁶

I.5.2. Les différentes étapes associées au fumage d'une cigarette

Au cours du fumage d'une cigarette, plusieurs milliers de réactions se déroulent en parallèle ou de manière successive. En raison de la complexité de la fumée de cigarette, il est impossible de déterminer précisément les mécanismes par lesquels chaque

composant de fumée est généré. Une description schématique de ces processus est donnée sur la Figure 4.

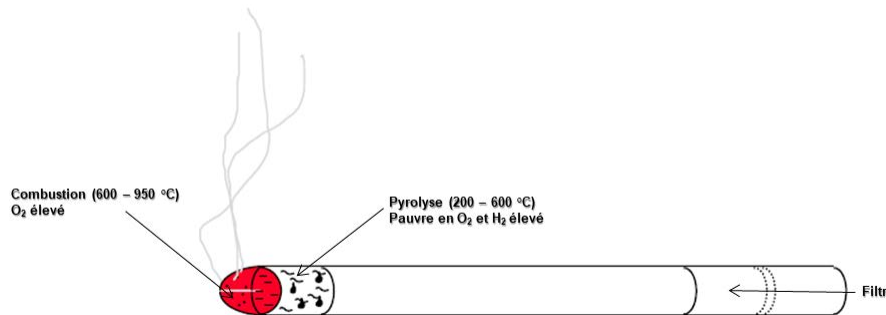


Figure 4 Les différents processus associés au fumage d'une cigarette

I.5.2.a. Zone de combustion

De nombreux mécanismes se produisent dans la zone de combustion et contribuent à la génération d'un certain nombre de composés inhalés par le fumeur. A ceux-ci s'ajoutent, les produits issus de la pyrolyse du tabac, de la distillation des composés volatils du tabac sous l'effet des gaz chauds des fumées de cigarette lorsqu'ils traversent la partie de la cigarette encore imbrulée.

La zone de combustion est riche en oxygène. Elle peut être divisée en deux régions. Une zone de combustion exothermique et une zone de pyrolyse/distillation endothermique. Les températures dans la zone de combustion varient entre 600 et 950°C lorsque la cigarette est dans une phase de combustion lente et stable.⁶⁷

I.5.2.b. Zone de pyrolyse

La zone de pyrolyse est riche en hydrogène et pauvre en oxygène, elle se situe directement derrière la zone de combustion (dans la direction du filtre de cigarette), et les températures sont comprises entre 200 et 600°C. Dans cette région, la formation de la matière particulaire des fumées de cigarette est très importante⁶ et implique des réactions principalement endothermiques.⁶⁸

I.5.3. Composition chimique de la fumée de cigarette

La composition de la fumée de cigarette est très complexe. Elle dépend de plusieurs facteurs comme le type de mélange de tabac, le type de cigarette, la présence d'additifs,⁶⁹ la nature du filtre de cigarette et du papier (filtre classique ou de type O-ring) et de l'origine géographique de la cigarette. Elle dépend également de l'intensité d'inspiration de la fumée et d'un point de vue général, du comportement du fumeur

comme la manière de tirer une bouffée, d'inhaler plus ou moins profondément la fumée, ou encore de fumer ou pas la cigarette jusqu'à la consommation totale du tabac.⁶⁵

La fumée de cigarette est un aérosol constitué d'un mélange de gaz (phase gazeuse) et de particules (phase particulaire). Elle contient au moins deux fois plus de composés que le tabac et plus de 5 000 composés ont déjà identifiés.^{1,29,60-62,68,70-73} Certains auteurs rapportent que le nombre de constituants pourrait atteindre le nombre de 100 000 substances.

De manière plus précise, la phase vapeur est arbitrairement définie comme étant la partie de l'aérosol de fumée qui passe à travers un filtre en fibre de verre de porosité de l'ordre du micron. Elle est constituée d'environ 4 000 à 5 000 composés, et la plupart d'entre eux sont présents à l'état de traces. La phase particulaire quant à elle, est la partie piégée sur le filtre en fibre de verre. La taille de ces particules varie d'une centaine de nanomètres à quelques micromètres de diamètre. Cette définition ne reflète pas pleinement les conditions qui prévalent dans la fumée de cigarette fraîchement générée. Certains composés semi-volatils, tels que le phénol, apparaissent dans une certaine mesure dans la phase vapeur. Certains des phénols substitués, les N-nitrosamines semi-volatils et les composés volatils, tels que le cyanure d'hydrogène et les aldéhydes à point d'ébullition bas sont partiellement piégés ou adsorbés dans la matière particulaire. Les composés de la phase vapeur représentent entre 90 à 96% du poids de la fumée principale d'une cigarette sans filtre. Les composés principaux sont l'azote ~ 60%, l'oxygène ~13%, le dioxyde de carbone ~13%, le monoxyde de carbone 3,5%, l'eau 2 %, l'argon 1%, l'hydrogène 0,1-0,2%, l'acétone ~1%, les oxydes d'azote (NO, NO₂, N₂O) <0,1%, et les composés soufrés volatils <0,1%. La phase vapeur contient aussi de nombreux composés organiques volatils (COV) et semi-volatils (COSV) associés aux gouttelettes de liquide/solide qui constituent les particules et aérosols. Les principaux composants de la phase particulaire sont la nicotine (0,2 à 0,6% du poids de la fumée totale), d'autres alcaloïdes (~0.02%), et des composés spécifiques tels que les nitrosamines (le 4-(méthylnitrosoamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone ou NNK), des solanacées, en particulier, le n-hentriacontane (C₃₁H₆₄) et le solanésol C₄₅H₇₄O (0,1-0,2%). En outre, la phase particulaire contient différents catéchols (~1%), des hydrocarbures à 3 et 4 noyaux aromatiques ~0.0003-0.007% soit (3 à 70 ppm) et des HAPs carcinogènes (0,3 à 0,7 ppm comme le benzo[a]pyrène). Ces proportions relatives de composants de la fumée varient d'un type de cigarette à l'autre mais, offrent un ordre de grandeur assez juste de leur répartition. Certaines substances sont très réactives et conduisent à considérer que ce mélange est en constante évolution.^{1,29,60-62,70,74}

En général, les constituants chimiques présents dans les courants principal et secondaire sont qualitativement les mêmes, mais leur concentration varient.^{67,68} Il faut également noter que leur concentration est également fonction de la température,

du pH et du degré de dilution avec l'air des fumées. L'ensemble des composés présents dans les MSS et les SSS sont associés aux différents phénomènes qui prennent place au cours du fumage d'une cigarette comme nous l'avons vu dans le paragraphe précédent. Lorsque l'air est aspiré dans la cigarette par le fumeur durant une bouffée, l'oxygène est d'abord consommé au cours de la combustion de la matière organique du tabac et conduit à la formation de CO, de CO₂ et d'eau et permet la libération de chaleur qui maintient l'incandescence du charbon au bout de la cigarette. Par contre, la zone intérieure du charbon est pauvre en oxygène, la matière organique du tabac subit alors des processus de décomposition de type pyrolytique.^{67,68}

Les particules contiennent également de nombreux sels mais aussi des métaux comme le nickel, le cadmium, le plomb, le mercure ou encore le chrome.^{3,17,63}

Tableau 1 Composition de la fumée de tabac dans le courant principal et le courant secondaire

Phase	Composés	Type de toxicité	Quantité dans le courant principal par cigarette	Ratio courant secondaire/courant principal
Gazeuse	Monoxyde de carbone	Toxique	26,8-61 mg	2,5-14,9
	Benzène	Cancérogène	400-500 µg	8-10
	Formaldéhyde	Cancérogène	1 500 µg	50
	3-vinylpyridine	Suspect cancérogène	300-450 µg	24-34
	Cyanure d'hydrogène	Toxique	14-110 ng	0,06-0,4
	Hydrazine	Suspect cancérogène	90 ng	3
	Oxyde d'azote (NOx)	Toxique	500-2 000 µg	3,7-12,8
	N-nitrosodiméthylamine	Suspect cancérogène	200-1 040 ng	20-130
	N-nitrosopyrrolidine	Suspect cancérogène	30-390 ng	6-120
	Particulaire	Goudrons	Cancérogène	14-30 mg
Nicotine		Toxique	2,1-46 mg	1,3-21
Phénol		Promoteur	70-250 µg	1,3-3,0
Catéchol		Suspect cancérogène	58-290 µg	58-290 µg
O-toluidine		Cancérogène	3 µg	18,7
2-naphtylamine		Cancérogène	70 ng	39
4-aminobiphényl		Cancérogène	140 ng	3,1
Benz(a)anthracène		Cancérogène	40-200 ng	2-4
Benz(a)pyrène		Cancérogène	40-70 ng	2,5-20
Quinoléine		Cancérogène	15-20 µg	8-11
N-nitrosornicotine		Suspect cancérogène	0,15-1,7 µg	0,5-5,0
Nor nitrosornicotine		Suspect cancérogène	0,2-1,4 µg	1,0-22
N-nitrosodiéthanolamine		Cancérogène	43 ng	1,2
Cadmium		Cancérogène	0,72 µg	7,2

Source « Composition et nocivité du tabac »¹⁷

Le Tableau 1 permet d'avoir un aperçu de quelques composés les plus fréquemment observés dans les fumées du courant principal (MSS) et du courant secondaire (SSS) de la cigarette.¹⁷

La présence d'additifs au tabac a une influence sur la composition chimique des fumées de cigarette. C'est, en particulier le cas de l'addition du menthol ou du clou de girofle.^{75,76} D'une manière générale, les cigarettes aux clous de girofle (Kretek) contiennent 60 à 70% de tabac et 30 à 40% de clous de girofle moulus, d'huile de clou de girofle et d'autres agents de saveur. Les clous de girofle séchés peuvent contenir jusqu'à 20% de composés aromatisants volatils. La fraction volatile est composée principalement (~85%) d'eugénol (2-méthoxy-4-(2-propényl) phénol) alors que le tabac et les additifs employés ne présentent que 7% d'eugénol. D'autres composés volatils, en particulier l'acétate d'eugénol, le caryophyllène, l' α -humulène et le méthyleugénol présents dans les fumées de cigarette sont également directement liés à la présence de la sauce et des clous de girofle. Ceux-ci peuvent contenir jusqu'à 20% de composés volatils.⁷⁷

Ces quelques données sur la composition chimique des fumées de cigarette montrent que les composés présents peuvent être extrêmement variés en terme de nature, de propriétés chimiques et de réactivité. Par conséquent, pouvoir les prélever, les identifier voire les quantifier lors d'un processus de fumage nécessite la mise en place de méthodes d'analyse adaptées. Dans la partie suivante, les modes d'échantillonnage des fumées de cigarette, les méthodes et techniques d'analyse de la composition de sa phase gazeuse et de sa phase particulaire seront décrites. Les avantages, contraintes et limitations associées à ces approches seront également énoncées.

I.5.4. La taille des particules du courant principal de fumée de cigarette

La taille des particules est un facteur très important dans l'étude de la pollution atmosphérique, en particulier pour les fumées de cigarette. Dans la mesure où la pénétration des particules des fumées de cigarette dans l'organisme est fonction de leur taille, il est bon de détailler ce paramètre de taille. En effet, plus la taille des particules est petite, plus la probabilité de pénétration dans l'organisme est élevée, notamment dans les voies respiratoires, pulmonaires et sanguines.⁷⁸

Les particules en suspension sont caractérisées par leur granulométrie⁷⁹ :

- ✓ PM₁₀ : particules de diamètre aérodynamique moyen est inférieur à 10 μm ;
- ✓ PM_{2.5} : particules de diamètre aérodynamique moyen est inférieur à 2,5 μm ;
- ✓ PM_{1.0} : particules de diamètre aérodynamique moyen est inférieur à 1 μm ;
- ✓ Ultrafines : particules de diamètre aérodynamique moyen est inférieur à 0,1 μm ;

- ✓ Nanoparticules : particules de diamètre aérodynamique moyen inférieur à 0,05 ou 0,03 μm .

Il est important de noter qu'un aérosol est considéré comme inhalable, lorsque le diamètre médian aérodynamique massique (mass median aerodynamic diameter ou MMAD) calculé à partir de la distribution de taille mesurée est inférieure à 2,5 μm .⁸⁰

Au cours des dernières décennies, différents instruments ont été utilisés dans les études des fumées de cigarette afin de déterminer la taille des particules du courant principal de fumée de cigarette. Ces techniques présentent à la fois des avantages et des inconvénients suivant les paramètres physiques des aérosols qui sont mesurés. En particulier, les techniques d'impaction sont souvent utilisées pour la caractérisation des aérosols. L'impacteur en cascade à plusieurs étages est bien approprié pour la caractérisation physique d'un aérosol et pour la détermination du diamètre médian aérodynamique massique.⁸¹

En général, la taille des particules du courant principal de fumée varie entre 0,1 et $0,27 \pm 0,03 \mu\text{m}$.^{6,36} Des études ont révélé que d'autres méthodologies de mesure conduisent à des distributions de tailles allant de (0,2 à 0,9 μm) pour la fumée du courant principal.⁸²

I.6. Revue bibliographique de l'analyse des fumées de cigarette

Au cours de la dernière décennie, plusieurs auteurs ont fourni des informations importantes sur la nature et les effets des composés des fumées de cigarette ainsi que sur les possibilités ou méthodes employées pour les caractériser. Il s'agit en particulier de la spectrométrie de masse (MS) et de ses différents couplages avec chromatographie gazeuse (GC-MS) ou la chromatographie liquide (LC-MS).

I.6.1. Echantillonnage

En raison de la nature complexe de la fumée de cigarette, la conception d'un système de collecte parfait est difficilement envisageable. Les critères importants d'un système de collecte de fumée idéale sont reportés dans la revue de Dube et Vert.⁸³ Il doit permettre une collecte efficace de la fumée, être simple, facile à nettoyer, assurer une bonne reproductibilité tant qualitative que quantitative, fiable, n'induire tout au plus que de faibles chutes de pression et de faibles variations de volume tout en éliminant la formation d'artefacts. Il n'existe pas de système de prélèvement de fumée qui remplisse toutes ces exigences pour la collecte totale de la fumée. Plusieurs dispositifs de collecte de composés de la fumée de cigarette sont disponibles. On peut en effet utiliser la pré-

cipitation électrostatique,⁸⁴ des adsorbants comme les charbons actifs, les tamis moléculaires ou le Tenax, des barboteurs ou encore un filtre en quartz. Ainsi, les MSS sortant du filtre de la cigarette peuvent être aspirés à travers un filtre Cambridge CM-113 en fibre de verre stabilisé par un liant organique. Avec ce filtre, il est possible de capter les particules présentes dans l'aérosol de la fumée de cigarette avec une efficacité de près de 99,9% pour les particules de diamètre aérodynamique supérieur à 0,1 μm de diamètre.⁸⁵ Classiquement, lorsque les études ne portent que sur l'étude des composés de la fumée de cigarette de la phase particulaire, les filtres en fibres de verre sont privilégiés. On les place habituellement dans des cassettes de prélèvement situés entre la cigarette et un dispositif de pompage permettant d'assurer le fumage selon les conditions normalisées. Après collecte, les filtres à quartz sont retirés des cassettes et stockés à température et pression ambiantes pendant 30 min avant leur passage pendant 1h dans une étuve à l'air ventilé à 30°C. Cette procédure permet la collecte des composés non ou peu volatils qu'il s'agisse des MSS ou des SSS.⁴

La collecte de la fumée du courant secondaire (SSS) est effectuée dans des jarres où la cigarette est placée pour être fumée. On collecte ainsi l'ensemble des fumées du courant secondaire. Il est important de noter ici que pour mener à bien la collecte des SSS, les cigarettes doivent être fumées horizontalement.²¹ Il faut noter que l'efficacité de collecte de ces différents dispositifs peut varier quelquefois sensiblement, qu'il s'agisse de la phase gazeuse ou de la phase particulaire.⁶⁴

Afin d'obtenir des prélèvements répétables et reproductibles, il est essentiel que les conditions de fumage des échantillons étudiés soient normalisées. Ainsi, plusieurs conditions de fumage ont été proposées notamment la procédure de fumage ISO 4387. Cette norme internationale précise les conditions de fumage : un volume de bouffée de 35mL, une durée d'aspiration de 2 s et une bouffée toutes les 58 s. Avant l'analyse, les cigarettes doivent être stockées à $22 \pm 1^\circ\text{C}$ avec une humidité relative de $60 \pm 3\%$ pendant plusieurs jours.^{3,29,53,60,61,63,70,72,73,86-97}

I.6.2. Méthodes et techniques d'analyse des fumées de cigarette

L'analyse de la fumée de cigarette est le plus souvent réalisée en utilisant les techniques de chimie analytique en mode différé (off-line), plus rarement en employant des méthodes en ligne (on-line).

D'après la littérature, la plupart des auteurs se sont intéressés spécifiquement à l'analyse ciblée d'un ou plusieurs composés. Différentes techniques ont été employées.

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS), est une méthode couramment employées pour l'analyse des composés volatils des fumées de cigarette, en particulier les COV,^{53,61,90} les HAP,^{80,96} et les composés carbonylés.⁹⁸ Alors que la plupart de ces analyses comprennent un piégeage de ces composés sur un support solide suivi d'une extraction par un solvant organique, des méthodes alternatives limitant ces étapes ont été développées. C'est le cas par exemple, de la micro-extraction en phase solide (SPME)^{99,100} qui après exposition de la fibre aux fumées a permis par désorption dans l'insert de l'injecteur d'un GC-MS d'identifier et de quantifier des constituents des MSS et SSS.⁶¹ Cette technique a une reproductibilité similaire à celle des méthodes classique par piégeage à froid et par impacteur, avec un débit d'échantillons nettement supérieur et une utilisation de faible volume de solvant. Cette méthode a permis de quantifier de manière routinière certains COVs dans les MSS.

La chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS) est également une technique utilisée pour étudier les composés polaires et/ou moins volatils. En particulier, la LC-MS / MS a permis la détection ciblée et la quantification de composés comme, la pyridine, la picoline et la quinolone,⁹⁴ ainsi que des composés spécifiques du tabac tel que la nicotine et les nitrosamines.¹⁰¹ Cette technique nécessite, une étape d'extraction liquide-liquide et/ou sur phase solide (SPE). La séparation chromatographique est couramment réalisée en phase inverse sur des colonnes C₁₈ avec un gradient d'acétonitrile (ou méthanol)/tampon acétate d'ammonium pour permettre l'élution. L'identification de chaque analyte est établie par le temps de rétention chromatographique, les profils de fragmentation spécifiques (ion précurseur/ion fils) et la quantification est réalisée par intégration de la surface des pics chromatographiques.

La chromatographie liquide est également couplée à d'autres modes de détection dans le cadre de l'analyse des MSS. En particulier, la fluorescence UV pour la la quantification des HAP dans la fumée principale de cigarettes.⁶³ L'extraction est alors réalisée avec du cyclohexane et un fractionnement sur colonne de silice est employé avant une étape de purification et de concentration sur colonne possédant des greffons aminopropyle. Bien que peu sélectif, les détecteurs UV sont également utilisés en couplage à la LC. Ce couplage a permis la détermination de l'acroléine et d'autres composés carbonylés dans la fumée principale de cigarette.¹⁰² Dans cette étude deux cartouches sont utilisées pour la collecte. La première cartouche contient de l'hydroquinone (HQ) pour inhiber la polymérisation de l'acroléine et la seconde de la 2,4-dinitrophénylhydrazine (DNPH) pour la dérivation des composés carbonylés. Les hydrazines formées ont pu être complètement séparées par LC et détectées par UV.

La torche à plasma couplée à la spectrométrie de masse ou à la spectrométrie d'émission atomique (ICP-MS, ICP-AES) est la technique qui permet de quantifier un

grand nombre composés inorganiques présents dans les fumées après une étape de minéralisation des particules collectées.¹⁰³ L'ICP-MS a également pu être utilisée en ligne.⁸⁷ Cette méthode a permis d'identifier de nombreux éléments (As, B, Ba, Br, Cd, Cl, Cs, Cu, Hg, I, K, Li, Mn, Na, Pb, Rb, Sb, Sn, Tl et Zn) dans les MSS, , la majeure partie (B, Ba, Cs, Cu, K, Li, Mn, Na, Pb, Rb, Sn, Tl et Zn) dans la phase particulaire. D'autres éléments comme As, Br, Cd, Cl, I et Sb se distribuent entre la phase gazeuse et la phase particulaire alors que le mercure ne se trouve qu'en phase gazeuse.

Ces méthodes développées sur ces techniques pour rechercher spécifiquement des composés dans la phase gazeuse et particulaire des fumées de cigarette sont particulièrement performantes. Elles permettent leur identification et leur quantification. Cependant, les analyses ne s'intéressant qu'à un nombre limité de composés cibles ne permettent qu'une description partielle de la composition des fumées de cigarette. Ainsi, afin de mettre en évidence des composés ou des classes de composés non encore identifiés, l'étude des fumées de cigarette sans *a priori* est une approche nécessaire. Celle-ci consiste à limiter les risques de discrimination de composés lors de l'analyse. Dans cette optique, les étapes de préparation d'échantillon avant analyse sont réduites et des techniques d'analyse sur des appareils extrêmement résolutive sont employées. Pourtant, peu de travaux ont été réalisés sur l'analyse non-ciblée des fumées de cigarette. Peuvent être cités, les travaux réalisés par l'analyse on-line couplée à l'ionisation SPI ou REMPI des espèces volatiles et semi-volatiles.⁵ En ce qui concerne les études des composés plus lourds présents en phase particulaire des fumées de cigarette, des analyses ont été réalisées par désorption/ionisation laser de ces particules, la mesure en masse étant conduite par spectrométrie de masse à très haute résolution (FTICRMS).^{1,4,6} Ces derniers travaux ont été réalisés au laboratoire et la démarche analytique est adaptée de la « pétroliométrie ». Cette approche a permis la mise en évidence de plusieurs milliers de composés dont une partie est spécifique à chaque fumée MSS, SSS et EXS. L'étude menée durant ma thèse étant la continuité de cette approche pour différents types de cigarette, la démarche entreprise et l'ensemble des résultats obtenus seront décrits dans les chapitres suivants.

I.6.3. Les effets liés à l'échantillonnage sur les analyses des fumées de cigarette

L'ensemble des méthodes classiques de prélèvement peuvent conduire à l'introduction de biais en modifiant ou en ne sélectionnant qu'une fraction de la fumée étudiée.^{60,104,105} Pour remédier à ces possibles artefacts, les méthodes off-line peuvent être employées. Elles permettent une analyse spécifique de chaque bouffée par introduction directe dans le dispositif analytique.⁴ Nous avons néanmoins choisi d'employer dans ce travail les méthodes d'analyse off-line seules capables de réaliser une analyse globale.

Dans le cadre de l'étude menée dans cette thèse, les risques de non-représentativité d'un échantillon doivent impérativement être pris en compte et contrôlés. Un examen de ceux-ci est nécessaire tout comme un référencement des facteurs influençant la composition des fumées de cigarettes au cours du fumage.

Lors du fumage d'une cigarette, la concentration des composants volatils peut être modifiée par un certain nombre de facteurs lorsqu'ils traversent la tige de tabac imbrulé. Ils peuvent s'échapper de la cigarette par diffusion à travers l'enveloppe de papier perméable ou être dilué par diffusion d'air dans la tige. L'ampleur de la perte ou de la dilution dépend du débit d'écoulement du composant de la fumée à travers la tige et la longueur restante de la tige. Dans certains cas, un composant en phase gazeuse issu d'une bouffée précédente peut se condenser sur le tabac ou sur le filtre de la cigarette et être désorbé et entraîné par les bouffées suivantes ou encore être engagé dans les processus de combustion/pyrolyse.¹⁰⁶ De nombreuses études assurant une analyse bouffée par bouffées ont montré que la concentration de certains composés organiques volatils (COVs) dans la fumée principale (MSS) augmente avec le nombre de bouffées. L'effet peut être attribué à une diminution de la filtration des composés présents dans la phase particulaire par le tabac présent dans la partie non brûlée de la cigarette qui diminue au fur et à mesure que la cigarette est consommée. D'autre part, certains composés peuvent s'accumuler au cours de la procédure de fumage dans le filtre de la cigarette. Ceux-ci peuvent ensuite être libérés à mesure que la braise de la cigarette se rapproche du filtre et que la chaleur induite conduit à la vaporisation de ces COVs.⁷³

D'autres méthodes sont aussi utilisées pour la filtration sélective de la fumée du courant principal, elles ont été réalisées avec différents degrés d'efficacité par différents matériaux comme des charbons actifs,^{107,108} des polymères synthétiques,¹⁰⁹ des résines échangeuses d'ions³⁴ et des adsorbants à base polymériques.^{110,111} Les facteurs qui peuvent influencer la filtration sélective de la fumée du courant principal correspondent aux propriétés du matériau filtrant, à la volatilité et aux propriétés chimiques des constituants de la fumée.^{112,113}

De manière générale, la nature des espèces présentes dans les fumées de cigarette peut être affectée par différents paramètres comme la marque des cigarettes étudiées, la nature de fumée (courant principale ou secondaire) mais, également pour les THS d'autres éléments extérieurs comme d'autres sources de pollution de l'air intérieur.²⁹

En outre, la nature du filtre de la cigarette a également une influence sur la quantité des espèces produites. Pour les cigarettes lights, l'emploi de filtres plus ventilés modifie les conditions de pyrolyse en augmentant le temps de séjour des gaz de la fumée dans la colonne de tabac et en changeant l'écoulement de la fumée dans le filtre de la

cigarette.¹¹⁴ Une diminution de la perméabilité du filtre entraîne une augmentation significative des teneurs en hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs).^{72,74,115}

L'étape de collecte peut être conditionnée par la nature de la technique analytique employée. C'est le cas dans l'étude proposée récemment pour l'analyse quantitative de la nicotine dans les MSS bouffée par bouffées à l'aide de la technique MALDI-FTI-CRMS. Pour obtenir des signaux répétables, l'homogénéité du dépôt MALDI doit être optimale. Pour cela, l'emploi de glycérol en plus de la matrice MALDI employée est nécessaire, il est introduit dès l'étape de collecte.⁷⁰ Minimiser l'influence de ces variations améliore la précision et la sensibilité.⁸⁸

La grande variété des composés présents dans la fumée de cigarette à pousser certains auteurs à proposer l'utilisation de traceurs comme une alternative à une analyse exhaustive. Plus précisément, la matière particulaire (PM_{2,5}) peut être utilisée comme traceur des particules alors que le CO, la nicotine²⁹ ou le 2,5-diméthylfuran¹¹⁶ sont employés comme traceurs des composés organiques volatils (COVs).¹

Globalement, pour un même type de fumées (MSS ou SSS), la variabilité de la composition chimique des fumées peut être reliée à la nature des mélanges de tabac employés (Burley, Virginia, Oriental et Maryland), la perméabilité ou la porosité du papier de la cigarette (cigarettes normales ou légères)⁶⁸ ou encore la nature du filtre. D'autres facteurs peuvent également être invoqués comme la ventilation des fumées au travers du filtre ou du papier de la cigarette.⁶¹ Ce paramètre influence la composition de la fumée principale (MSS) en hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs), mais n'a aucun effet sur la teneur et la nature des HAPs dans la fumée secondaire (SSS), qui détermine l'exposition globale (ETS) aux HAPs de la fumée de tabac ambiant pour les fumeurs passifs.¹¹⁷ Par ailleurs, le rendement de production de la fumée de cigarette et les composés qui sont associés dépendent aussi des paramètres physiques propres à la nature de la cigarette comme sa longueur et sa circonférence mais aussi de la finesse de découpe du tabac et de la quantité de tabac utilisé.

Certaines études ont montré que l'augmentation de la longueur de la cigarette de 50 à 130 mm conduit à une augmentation de la quantité d'oxygène dans la fumée du courant principal (MSS) et à une diminution des niveaux d'hydrogène, de CO, de CO₂, de méthane, de l'éthane, et d'éthylène. La principale raison de ce phénomène réside dans la diffusion de l'oxygène au travers le papier dans la fumée du courant principal.¹ Par ailleurs, ce phénomène est confirmé par l'augmentation de la teneur en CO des MSS au fur à mesure que le nombre de bouffées augmente, tandis que la surface du papier encore intact diminue. Cette augmentation de la longueur de cigarette entraîne également l'augmentation des rendements globaux de production de goudron, de nicotine, de HAPs

et d'autres composants particuliers.^{3,62,118} Certains auteurs rapportent que les émissions des MSS sont sensibles à la vitesse de combustion (fréquence et débit d'aspiration du fumeur) et à la nature du filtre de la cigarette. Ces facteurs n'ont que peu d'effets sur les émissions des SSS. La fumée secondaire (SSS) produite entre les bouffées à l'extrémité de la cigarette est, d'après ces mêmes auteurs, constituée d'une plus grande variété de composés que la fumée principale (MSS) inhalée par le fumeur à travers la cigarette.^{90,119}

L'accroissement du taux de ventilation n'a pas qu'un effet de dilution des fumées mais affecte aussi la composition de la fumée par des changements de processus chimiques ou physico-chimiques prenant place lors de la combustion de la cigarette comme par exemple l'accroissement des processus de désorption des composants de la phase particulaire.⁶³ Les cigarettes présentant des taux de ventilation élevés conduisent à une combustion plus incomplète, mais également à une baisse des rendements de production des constituants de la fumée en raison de la dilution par l'air ambiant.²⁹

L'emploi d'une machine à fumer, lorsque le débit ne varie pas, conduit à ce que les bouffées restent constantes tout au long de la procédure de fumage.¹¹⁷ Les méthodes de fumage à la machine ne reproduisent pas exactement l'exposition des fumeurs. Certains auteurs ont suggéré que les fumeurs bloquent les trous de ventilation (les micropores sur les filtres)¹²⁰⁻¹²² ce qui a pour conséquence d'augmenter le taux de nicotine des fumées.^{123,124} En revanche, d'autres auteurs ont rapporté des corrélations significatives entre les constituants des fumées de cigarette chez les fumeurs actifs et ceux obtenus avec une machine à fumer.^{120,123,124}

La température atteinte lors de la combustion de la cigarette a une influence sur la production d'ammoniac qui augmente lorsque la température est plus faible (entre les bouffées).⁹¹ A l'inverse, les températures élevées atteintes au cours de la combustion d'une cigarette sont plus favorables à des réactions de pyrolyse et à la formation d'espèces radicalaires. Certains de ces radicaux peuvent réagir avec différents composés présents dans la fumée de cigarette, ce qui conduit à la formation de nouveaux composés.¹ Lorsque les processus de pyrolyse ont lieu à des températures plus faibles (conditions douces de pyrolyse), une plus grande variété de composés est produite avec des rendements plus élevés qu'à plus haute température pour lesquelles des processus de dégradation thermique ont lieu.⁹⁶ Si les processus de pyrolyse ont lieu en présence de quantités limitées d'oxygène et à basse température (conditions rencontrées dans la périphérie de la braise entre les bouffées), une diminution importante des dihydroxy-benzènes est observée.^{89,125} D'autre part, le pH de la fumée et la quantité d'ammoniac formé affectent la formation d'aérosols organiques secondaire dans l'atmosphère à partir des SSS.¹²⁶

De manière générale, lors de l'analyse de la fumée de cigarette, la première bouffée n'est pas prise en considération de par la variabilité de sa composition en fonction de la nature du dispositif d'allumage employé (briquet, allumette, ...). De la même manière, on ne considère pas non plus la dernière bouffée à cause de la proximité du filtre de la cigarette avec la braise et de la possibilité d'endommagement de celui-ci par dégradation thermique ou de la possibilité qu'ait lieu des processus de désorption des composés semi-volatils condensés sur le filtre de la cigarette.⁸⁹ D'autre part, la teneur des MSS en PAH, qu'il s'agisse de leur nature ou de leur concentration, est grandement affectée par le type de flammes utilisée pour allumer la cigarette, en raison notamment de la « contamination » par les produits de combustion associés à la production de cette flamme.¹³²

Les facteurs limitants de nombreuses techniques dédiées à l'étude des fumées de cigarettes tant du point de vue prélèvement qu'analytique sont la faible résolution temporelle, le risque d'artefacts (emploi de composés chimiques pour le prélèvement et l'analyse) ou le fait que seul un petit nombre de substances est généralement analysé (méthodes ciblées) mais également le vieillissement de la fumée en cours de prélèvement ou avant l'analyse dans le cadre de l'emploi de méthodes off-line.

Pour pallier au moins en partie à ces limitations, des méthodes en ligne non-ciblées ont été mises en place. Elles utilisent la spectrométrie de masse à temps de vol (TOFMS) couplées à l'ionisation SPI (single photon ionisation : photoionisation à l'aide d'un seul photon dans le domaine des UV lointains) ou à l'ionisation REMPI (resonance enhanced multiphoton ionisation : ionisation multiphotonique à l'aide de rayonnement UV-C et UV-B). Le spectre de masse obtenu permet d'obtenir une analyse exhaustive des composés gazeux, volatils et semi-volatils produits lors de la combustion d'une cigarette.^{60,118,133}

Pour analyser un plus grand nombre de substances des particules de fumées de cigarettes, les méthodes d'analyses non-ciblées sont extrêmement peu développées. Seules les études réalisées au LCP A2MC ont montré l'apport de cette approche.⁶

Conclusion

Ce premier chapitre a eu pour objet de donner une description générale des fumées de cigarette en rappelant notamment leurs effets sur la santé des fumeurs actifs et passifs et sur l'environnement. Les caractéristiques des cigarettes et de leurs fumées ont été détaillées. Nous avons ainsi pu montrer que la composition chimique des fumées de cigarettes est particulièrement complexe et dépendante de nombreux facteurs. Ces fu-

Contexte général de l'étude

mées sont constituées d'un mélange de composés gazeux et particulaires et le conditionnement de cigarettes, la composition du tabac, la présence d'additifs et les paramètres de fumage ont un effet reconnu sur la teneur en certains composés de ces fumées.

Différentes méthodes d'analyse sont couramment employées pour rechercher certains composés dans les fumées de cigarette. L'objectif de cette étude étant une recherche sans à priori, l'approche non-ciblée a été privilégiée. Nous avons également relevé l'importance du contrôle de l'échantillonnage des fumées de cigarette sur la comparaison des fumées de cigarette réalisée par différentes méthodes d'analyse.

Dans le chapitre suivant, nous allons nous attacher à décrire l'approche que nous avons adoptée, en intégrant les étapes clés : la production et l'échantillonnage contrôlés des fumées de cigarette et les techniques d'analyse résolutive par spectrométrie de masse à très haute résolution.

CHAPITRE II MATERIELS ET METHODES

Introduction

L'objectif de ce chapitre est de décrire les matériels, les techniques analytiques ainsi que les méthodes d'exploitation et de traitement des spectres de masse des fumées de cigarettes utilisées dans ce travail.

Dans un premier temps, nous aborderons les moyens mis en œuvre pour la collecte de la fraction gazeuse et particulaire des fumées de cigarette ainsi que le dispositif mis en place pour le fumage des cigarettes. Dans cette partie, nous allons décrire également les échantillons utilisés, notamment les différents types de cigarettes étudiées.

Le principe des techniques analytiques employées dans ce travail sera ensuite décrit. Nous allons détailler le principe de la chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS) et la spectrométrie de masse en tandem (GC/MS/MS), méthodes utilisées pour l'analyse des marqueurs de la phase gazeuse des fumées du courant principal de cigarette (MSS) comme les BTEX (benzène, toluène, éthylbenzène et xylènes) ou de la phase particulaire comme la nicotine. Le principe de la spectrométrie de masse à transformée de Fourier (FTICRMS) sera précisé dans un second temps. Nous détaillerons les avantages de cette approche, ses limites ainsi que certains de ses domaines d'application. Le principe des différentes sources d'ionisation couplées à la FTICRMS sera donné dans une troisième partie. Il s'agit de la désorption/ionisation laser (LDI) et de l'électro-nébulisation ou electrospray (ESI). Les paramètres utilisés pour l'acquisition de données par ces sources d'ionisation ainsi que les différents dopants usuellement employés par ESI et notamment dans cette étude seront décrits.

La dernière partie de ce chapitre est consacrée à l'exploitation et au traitement des spectres de masse des fumées de cigarettes par FTICRMS. Nous allons décrire les procédures de calibration des spectres obtenus et les outils de représentation permettant l'interprétation et la comparaison plus aisées des spectres de masse. Les notions de DBE (équivalent double liaison), d'indice d'aromaticité ainsi que les diagrammes de Van Krevelen et de Venn, et les Cartes de Kendrick seront introduites.

II.1. Le prélèvement

II.1.1. Introduction

Dans le domaine de la chimie analytique la procédure de prélèvement et de préparation de l'échantillon est une étape cruciale. Elle conditionne la qualité des informations obtenues par la technique analytique employée, ici la spectrométrie de masse. Il est donc important qu'elle puisse être validée.

II.1.2. Les échantillons

Les cigarettes d'une même marque (Lucky Strike – British American Tobacco) distribuées dans cinq pays différents (France, Italie, Egypte, Qatar et Indonésie) ont été sélectionnées. Dans certains cas, plusieurs types de cigarette ont été étudiées, elles présentent alors des différences au niveau du filtre (normaux ou de type O-ring) ou contiennent différents agents de saveur (menthol ou clou de girofle). Ainsi, huit types différents de cigarettes ont été considérés : trois viennent de France, deux d'Indonésie et un d'Egypte, d'Italie et du Qatar. Une photographie des différentes cigarettes étudiées dans ce travail est donnée sur la Figure 5.



Figure 5 Photographie des différents types de cigarettes utilisées dans cette étude

Les informations concernant la quantité de nicotine, de goudron et de monoxyde de carbone sont données dans le Tableau 2.

Tableau 2 Quantité de nicotine, de monoxyde de carbone et de goudron produit par cigarette, conformément aux informations fournies par le fabricant.

Cigarette	Nicotine (mg/cig)	CO (mg/cig)	Goudron (mg/cig)
Française	0,7	8	7
Indonésienne	0,6	n.d.	8
Kretek Indonésienne	1,1	n.d.	16
Egyptienne	0,6	8	7
Italienne	0,7	8	8
Qatarie	0,6	8	6

n.d : donnée non disponible

II.1.3. Le dispositif de collecte et de fumage

Afin de prélever la fraction particulaire et la fraction gazeuse des MSS de manière reproductible, un dispositif spécifique a été mis en place au sein de la machine à fumer que nous avons utilisée. La fraction particulaire est collectée sur un filtre de quartz et la fraction gazeuse sur du charbon activé.

II.1.3.a. Le dispositif de prélèvement et de fumage

Une machine à fumer a été conçue de manière à prélever manuellement la fumée du courant principal. Un schéma est donné sur la Figure 6. Outre les dispositifs de prélèvement qui seront décrits dans la section suivante, la machine à fumer utilisée est constituée d'un porte-cigarette, de deux vannes trois voies et d'un système de pompage associé à une pompe à membrane KNF Neuberger N 740,3 FT.18 (Freiburg Munzingen, Allemagne) permettant de générer un vide de 15 mbar. Le débit nécessaire à l'application de la procédure de fumage ISO 4387, soit 63L/h est contrôlé et mesuré en continu en amont du système de pompage par un débitmètre EM-Technik 4L100G (EM-Technik, Maxdorf, Allemagne).

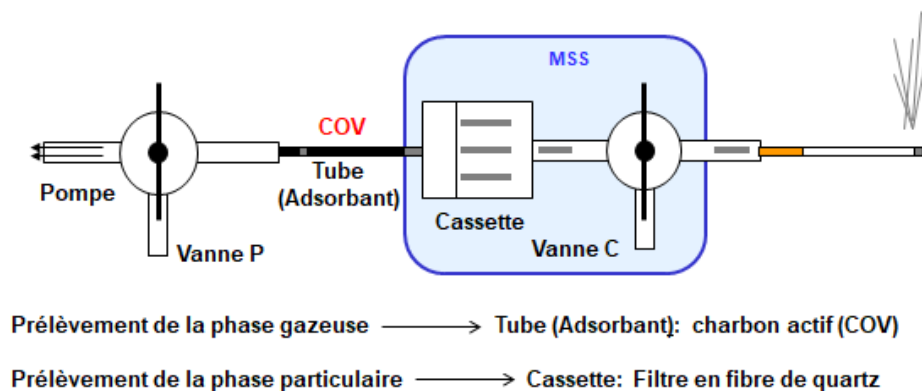


Figure 6 Dispositif de prélèvement des fumées de cigarette

II.1.3.b. Les dispositifs de collecte des MSS

La fumée du courant principal de cigarette est collectée à l'aide de deux dispositifs différents, l'un pour la phase particulaire et l'autre pour la phase gazeuse :

- ✓ un filtre en quartz R-100 d'un diamètre de 37 mm et de porosité 1,2 μm (Figure 6) placé dans une cassette SureSeal™ de 37 mm de diamètre pour collecter les particules. Ces deux dispositifs sont distribués par SKC Inc. (Eighty Four, PA, USA) ;

- ✓ un tube d'adsorbant Anasorb CSC (SKC Inc. Eighty Four, PA, USA) contenant du charbon actif pour piéger les composés organiques volatils (COV) en particulier les BTEX (benzène, toluène, éthyl-benzène et xylènes). Ce tube d'une longueur de 110 mm par 8 mm de diamètre est divisé en deux sections d'adsorbant séparées par de la laine de verre (Figure 7). La première section appelée zone d'analyse est remplie avec 400 mg d'adsorbant. La seconde contient 200 mg de charbon activé. Elle est appelée zone de contrôle et ne trouve son utilité que dans la mesure où les capacités d'adsorption du charbon actif ont été dépassées. Elle permet de s'assurer, si elle ne contient pas de COV à l'issue du prélèvement, que le volume de perçage (saturation de l'ensemble des sites d'adsorption) de la zone d'analyse n'a pas été atteint.

La Figure 7 présente les dispositifs de collecte (tube et filtre) des MSS avant et après prélèvement.



Figure 7 Dispositifs de prélèvement des fumées du courant principal de cigarette (MSS)

II.1.4. La procédure de fumage et de prélèvement

Les cigarettes sont fumées selon la procédure de fumage de la norme ISO 4387 (Organisation Internationale de Normalisation).

Le volume d'une bouffée est fixé à 35 mL et a une durée de 2 s. Le temps entre chaque bouffée est de 58 s ce qui conduit à avoir finalement une bouffée par minute. Le nombre total pour une cigarette s'établit quel que soit le type de cigarette fumée à 7.^{3,16} Cette procédure de fumage est réalisée manuellement en actionnant les vannes trois-voies. Comme cela a été proposé par certains auteurs, la première bouffée n'est pas échantillonnée afin de s'affranchir de la variabilité de cette première bouffée au cours de l'étape d'allumage.^{89,106} Elle est dirigée directement vers le dispositif de pompage en by-passant les dispositifs de collecte par le biais d'une connexion directe des deux vannes trois voies (voir la Figure 8; phase 1). La simulation des bouffées de cigarette

consiste en la succession de trois phases (voir la Figure 8; phases 2, 3 et 4). Après déconnexion des vannes C et P, maintenues en position fermée, la Phase 2 débute. Cette étape simule la combustion naturelle de la cigarette entre deux bouffées. Au cours de la phase suivante (simulation d'une bouffée), les vannes C et P sont ouvertes pendant 2 s. A l'issue de cette étape, la vanne C est fermée alors que la vanne P est maintenue ouverte (phase 4) jusqu'à l'évacuation totale des fumées résiduelles (typiquement une dizaine de secondes) avant que la vanne P ne soit refermée et que l'on se trouve à nouveau dans une situation correspondant à la phase 2. Le temps cumulé des trois phases est de une minutes.⁶

Avant chaque nouveau prélèvement, et pour chaque type de cigarette, un blanc de cette même cigarette est effectué avec la procédure décrite dans le paragraphe précédent sans toutefois allumer la cigarette. Afin d'éviter toute contamination croisée des échantillons, l'ensemble des éléments de la machine à fumer est nettoyée avant chaque prélèvement avec la séquence de solvants suivante (acétone, méthanol et dichlorométhane).

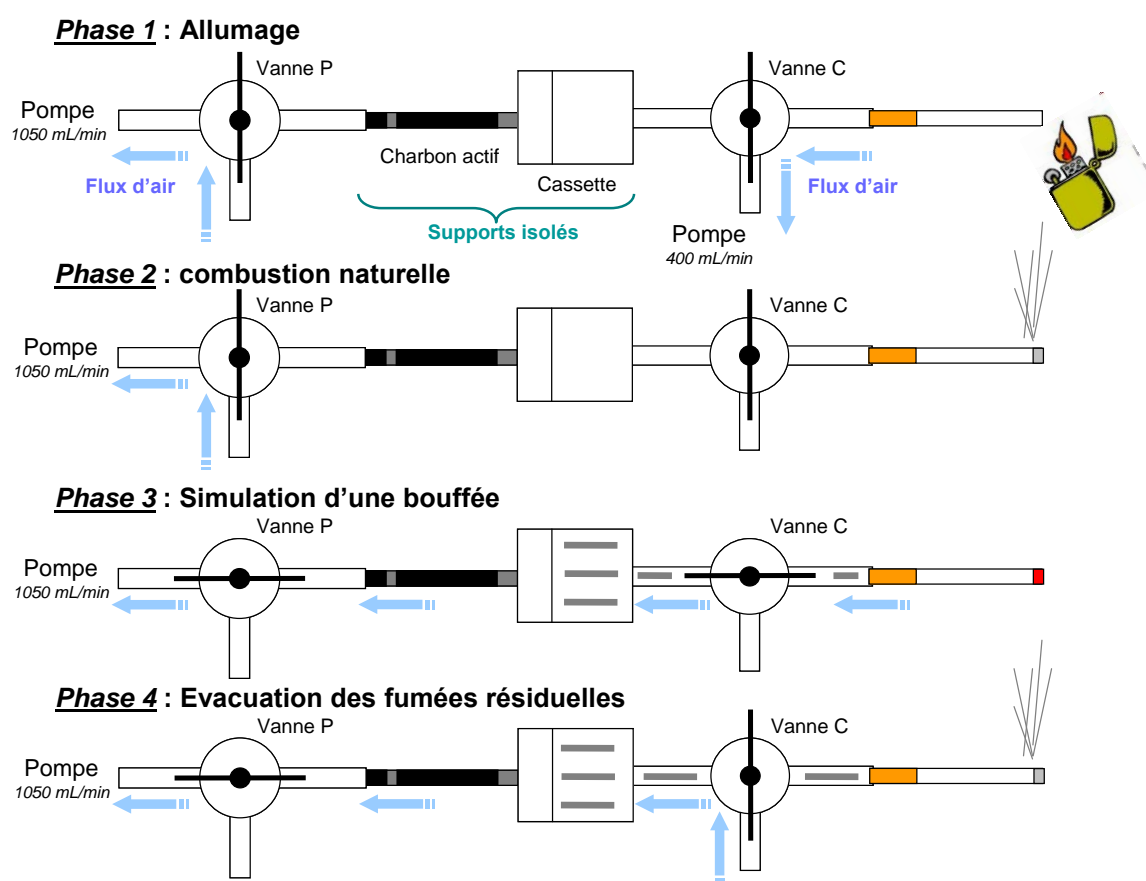


Figure 8 Description des différentes phases d'un prélèvement.⁹⁶

II.1.5. Préparation des échantillons

II.1.5.a. Les composés associés à la phase gazeuse

Immédiatement après le prélèvement, pour éviter toute perte de composés volatils, ^{60,121} le charbon actif de la partie analyse du tube d'adsorbant est extrait avec 25 mL de dichlorométhane sous ultrasons à température ambiante pendant 20 minutes. La solution est ensuite filtrée. Une seconde extraction du charbon actif selon la même procédure a conduit à ne pas détecter de BTEX dans le second extrait. On peut ainsi considérer qu'une seule extraction par 25 mL de dichlorométhane est nécessaire pour désorber la totalité des BTEX adsorbés sur le charbon actif. L'application de ce même protocole au charbon actif présent dans la zone de contrôle n'a pas permis la détection des BTEX et de conclure que le volume de perçage de la zone d'analyse n'a pas été atteint.

A un volume de 1 900 µL de filtrat est ajouté 100 µL d'une solution de n-décane à 20 µg.mL⁻¹ dans le dichlorométhane. Le n-décane à la concentration de 1 µg.mL⁻¹ est utilisé comme standard pour de l'analyse GC/MS de ces extraits.

II.1.5.b. Les composés associés à la phase particulaire

Le filtre de quartz est pesé avant et après prélèvement afin de déterminer la quantité de particules collectées. Ces pesées sont systématiquement précédées d'un séjour pendant une journée dans un dessiccateur pour s'affranchir de la contribution de l'humidité. Avant l'analyse par LDI ou ESI FT ICR-MS, le filtre est conservé à température ambiante dans un dessiccateur pour une période d'au moins 24 h.

Pour l'analyse de la nicotine par GC/MS/MS, le filtre subit deux extractions aux ultrasons (deux fois 20 min) à l'aide de dichlorométhane (deux fois 50 mL). L'ensemble est ensuite regroupé dans un flacon adapté à une évaporation par le dispositif Turbovap (Biotage, Uppsala, Suède) puis placé dans l'enceinte associée à un bain thermostaté à 28°C. Un courant d'azote est ensuite envoyé à la surface de l'échantillon pour accélérer l'évaporation. Celle-ci est stoppée lorsqu'il ne reste environ plus que 10 mL de solvant dans le tube. Ce volume est ensuite filtré sur 0,2µm pour évacuer toutes les fibres de quartz en suspension, ajusté à 20 mL puis transféré dans un flacon adapté au passeur d'échantillon du chromatographe. Le naphthalène deutéré est utilisé comme standard interne.

L'analyse par LDI FT ICR-MS est réalisée sans aucune autre étape de préparation. Une portion du filtre est découpée et collée sur le porte-échantillon à l'aide d'un adhésif conducteur en aluminium. Pour l'analyse ESI FT ICR-MS, un filtre complet est

soumis à une extraction avec 25 mL de dichlorométhane sous ultrasons pendant 20 minutes à température ambiante. Après filtration de la solution, une évaporation à sec de l'échantillon est réalisée à température et pression ambiante. L'échantillon sec obtenu est alors repris dans 2,5 mL d'une solution de méthanol acidifié avec 0,1% en volume d'acide formique.

II.2. Principe de la chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS) ou à la spectrométrie de masse en tandem (GC/MS/MS)

II.2.1. Introduction

Les techniques de chimie analytique ont pour but principal de caractériser la composition chimique de l'échantillon et de doser les éléments qui le constituent. Ainsi, la chromatographie est une méthode d'analyse physico-chimique qui assure la séparation, l'identification et le dosage des constituants chimiques d'un mélange complexe en fonction de différentes caractéristiques (chimiques et physico-chimiques).

De manière idéale, les techniques chromatographiques ont vocation à séparer chacun des constituants d'un mélange pour faciliter l'identification à l'aide d'un descripteur qui est le temps de rétention. En réalité, pour des mélanges complexes des co-élution (composés possédant des temps de rétention identiques) ont fréquemment lieu. L'ajout d'un second descripteur est alors nécessaire pour accroître la sélectivité de l'analyse. Le couplage de la chromatographie à la spectrométrie de masse voire à la spectrométrie de masse en tandem, est ainsi devenu une technique extrêmement puissante dans le domaine de la chimie analytique en combinant deux descripteurs : le temps de rétention et le spectre de masse de chacun des constituants du mélange étudié. De manière ultime, il est possible, si ceux-ci ne sont pas suffisants d'en ajouter d'autres au travers de la spectrométrie de masse en tandem MS/MS voire MSⁿ. C'est par conséquent cette approche qui a été retenue pour l'analyse qualitative et quantitative des BTEX contenus dans la phase gazeuse des MSS et la nicotine dans la fraction particulière.

II.2.2. Principe de la chromatographie couplé à la spectrométrie de masse

La chromatographie repose sur le partage des solutés entre une phase mobile et une phase stationnaire. La phase stationnaire est généralement une phase solide alors que la phase mobile peut être gazeuse, liquide voire constituée d'un solvant en phase super critique. Les techniques associées sont respectivement, la chromatographie en phase gazeuse (GC), liquide (LC) et supercritique (SFC). Une dernière technique chromatographique appelée exclusion stérique repose sur la perméation de macromolécules

dans un gel comportant des pores. Dans la mesure où seule la chromatographie gazeuse a été employée dans cette étude, nous nous limiterons à sa description. La séparation a lieu dans des colonnes chromatographiques de faible diamètre interne (de l'ordre du micron) et de grande longueur (quelques dizaines de mètres). Ces colonnes sont remplies typiquement par de la silice poreuse sur laquelle ont été greffées des fonctions chimiques telles que des groupements méthyles ou phényles par imprégnation. Il constitue ainsi la phase stationnaire de la colonne. Cette phase stationnaire est balayée par un courant gazeux typiquement de l'hélium qui constitue la phase mobile. L'échantillon à analyser doit être vaporisé lors de son introduction dans la colonne et maintenu en phase gazeuse. Pour cela l'injecteur est porté à une température supérieure à la température de vaporisation des composés présents dans l'échantillon et la colonne est placée dans un four pour maintenir l'ensemble des analytes en phase vapeur. La température de ce four est par ailleurs programmable. En fonction de leur affinité avec les greffons de la phase stationnaire, les molécules d'analyte se partagent entre phase mobile et phase stationnaire. Si l'affinité est faible, le coefficient de partage entre les deux phases conduit à un fort déplacement vers la phase mobile et le composé traverse rapidement la colonne chromatographie pour attendre le détecteur. Son temps de rétention est faible. Si au contraire, l'affinité est importante pour la phase stationnaire, sa rétention est plus importante et il est moins facilement entraîné par la phase mobile ce qui accroît son temps de rétention. Afin de réduire le temps de l'analyse, un programme de montée en température est généralement appliqué. L'accroissement de la température déplace en effet la constante de partage entre phase mobile et phase stationnaire vers la phase gazeuse.

Après élution, les composés peuvent être détectés à l'aide de dispositifs variés. On peut en particulier citer l'ionisation de flamme (FID) et la spectrométrie de masse, voire la spectrométrie de masse en tandem. Ils assurent l'obtention d'informations quantitatives, dans le cas des deux détecteurs cités précédemment, sous la forme d'un courant électrique d'intensité proportionnelle à la quantité de molécules. La spectrométrie de masse permet également l'obtention d'information moléculaire voire structurale. Les deux modes d'ionisation les plus utilisés en GC/MS étant l'impact électronique (IE) et l'ionisation chimique (CI), il est possible avec la seconde d'observer des ions pseudo-moléculaires et d'obtenir une information structurale avec la seconde par analyse des ions fragments et interrogation de banques de données. Une dernière possibilité permettant l'analyse structurale est relative, en mode MS/MS à l'examen des ions fragments. Le schéma général du couplage entre chromatographie et spectrométrie de masse est donné sur la Figure 9.

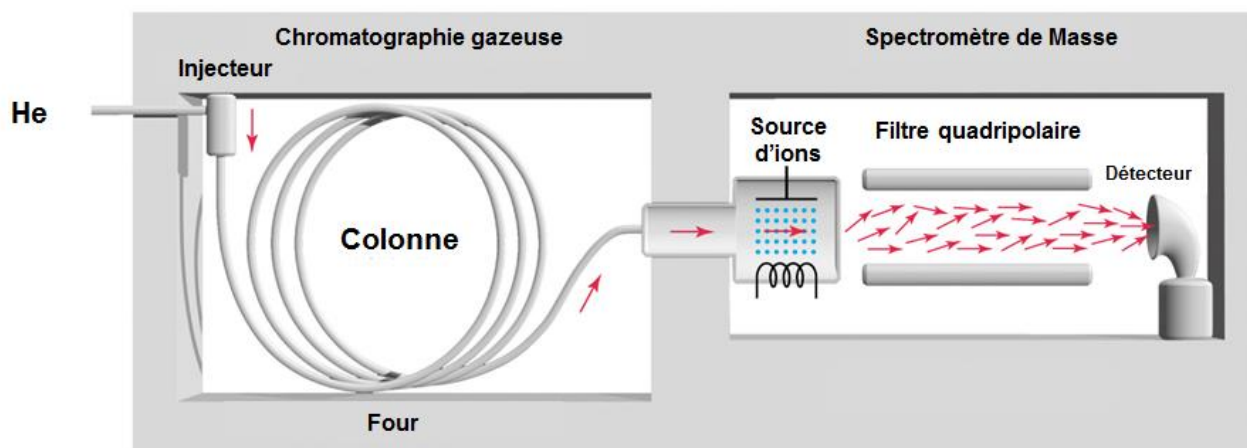


Figure 9 Schéma du couplage chromatographie gazeuse - spectrométrie de masse

II.2.3. Analyse des BTEX par GC/MS

La quantification des BTEX contenus dans la phase gazeuse des MSS après leur extraction a été réalisée par GC/MS en mode SIM (single ion monitoring). Un GC quadripôle Bruker Scion 456 TQ (Bruker, Bremen, Allemagne) a été employé. Les paramètres instrumentaux utilisés pour la chromatographie gazeuse et la spectrométrie de masse sont donnés dans le Tableau 3.

Tableau 3 Paramètres instrumentaux utilisés lors de l'analyse GC/MS des BTEX contenus dans la phase gazeuse des MSS

Conditions chromatographiques	
Colonne	Bruker Br-5ms (30m x 0.25mm x 0.25µm)
Phase stationnaire	5% phenyl, 95% dimethylarylene siloxane
Température de l'injecteur	250°C
Mode d'injection	Split – rapport du split (50:1)
Volume injecté	1 µL
Débit du split	10 mL/min
Nature et débit du gaz vecteur	Hélium, 1mL/min
Température du four	30°C, 1min; 10°C/min from 30 to 265°C and; 265°C, 10min
Température de la ligne de transfert	250°C
Paramètres employés pour la spectrométrie de masse	
Ionisation	EI: 70eV
Température et courant du filament	280°C, 50 µA
Mode d'acquisition	SIM
Fréquence d'acquisition	5 Hz

Six BTEX sont étudiés : le benzène, le toluène, l'éthyl-benzène ainsi que l'ortho, le méta et le paraxylène. Pour le benzène, l'ion moléculaire radicalaire $C_6H_6^{+\bullet}$ à m/z 78 est suivi. Pour tous les autres composés, il s'agit du cation tropyllium $C_7H_7^+$ à m/z 91. L'ion phényle à m/z 77 pour le benzène et les ions moléculaires pour le toluène à m/z

92, pour l'éthyl benzène à m/z 106 et pour les xylènes à m/z 106 sont utilisés comme ions de confirmation.

Les solutions étalons à des concentrations de 0,05; 0,10; 0,25; 0,50; 0,75; 1,00; 1,25 et 1,50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ pour chacun des BTEX étudiés sont préparés par dilution dans du dichlorométhane d'une solution étalon à 200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ en benzène, toluène, éthyl-benzène ainsi qu'en ortho, méta et paraxylène dans le méthanol (Restek Corporation, Bellefonte, PA). Le n-décane à une concentration de 1 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ est systématiquement employé comme standard interne. Le rapport du pic chromatographique des BTEX est ainsi normalisé par rapport à celui du n-décane afin de s'affranchir, tout au moins en partie, des fluctuations instrumentales ou d'injection.

Les analyses des BTEX sont reproduites huit fois afin d'évaluer la variabilité de la procédure de fumage, de prélèvement et de préparation d'échantillon ainsi que celle relative à l'analyse par GC/MS. Afin de préciser cette dernière source de variation, un même extrait est analysé six fois. Pour les extraits, les concentrations en BTEX sont systématiquement reportées en $\mu\text{g/cig}$.

II.2.4. Analyse de la nicotine par GC/MS/MS

La quantification de la nicotine extraite des particules de MSS est réalisée à l'aide d'un GC/MS-MS Varian 240MS (Varian, Walnut Creek, CA) en mode MRM (Multiple Reaction Monitoring) en employant un ion pour réaliser la quantification et un ion de confirmation. Les paramètres instrumentaux utilisés pour la chromatographie gazeuse et la spectrométrie de masse en tandem sont données dans le Tableau 4.

Tableau 4 Paramètres instrumentaux utilisés lors de l'analyse GC/MS/MS de la nicotine contenue dans la phase particulaire des MSS.

Conditions chromatographiques	
Colonne	Rxi-5Sil MS (30m x 0.25mm x 0.25 μm)
Phase stationnaire	100 % 1,4-bis (diméthylsiloxo)phénylène diméthyl polysiloxane
Température de l'injecteur	300°C
Mode d'injection	Split
Volume injecté	2 μL
Débit du split	10 mL/min (2:1 ratio)
Nature et débit du gaz vecteur	Helium, 2 mL/min
Température du four	70°C, 0.5 min; 25°C/min from 70 to 245°C
Température de la ligne de transfert	250°C
Paramètres employés pour la spectrométrie de masse	
Ionisation - Activation	EI: 70eV – CID
Température et courant du filament	280°C, 50 μA
Mode d'acquisition	Transition MRM m/z 161 $[\text{M} - \text{H}]^+ \rightarrow \text{m/z} 159 [\text{M} - \text{H}_2 - \text{H}]^+$
Fréquence d'acquisition	5 Hz

Pour l'étape de quantification, des solutions standard possédant des concentrations en nicotine comprises entre 0,5 et 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ sont également analysées. L'aire du pic de la nicotine est normalisée par rapport à celle du naphthalène-d8 qui est systématiquement ajouté aux échantillons analysés à une concentration de 2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. La concentration en nicotine est donnée en $\mu\text{g}/\text{cig}$.

II.3. La spectrométrie de masse à transformée de Fourier (FT ICR–MS)

II.3.1 Introduction

La spectrométrie de masse par résonance cyclotronique à transformée de Fourier (FT ICR–MS) assure la mesure précise de la fréquence de giration des ions dans un champ magnétique intense produit typiquement par un aimant solénoïde supraconducteur. Elle combine l'analyse simultanée en mode haute résolution FWHM (full width at half maximum) de 100 000 à plus d'un million et, haute précision sur la mesure de masse (rapport pour un ion entre la différence des valeurs mesurées et théoriques du rapport m/z et la valeur de m/z théorique exprimée en partie par million ou ppm) typiquement inférieure à 1 ppm. L'association de cette technique à une grande variété de techniques d'ionisation en fait un outil puissant dans le domaine de la spectrométrie de masse.¹³⁴ Ses caractéristiques en font un outil indispensable à l'analyse directe de mélange complexe en mode non ciblé dans les domaines de la pétrologie, de l'environnement et de la métabolomique, notamment.

II.3.2. Origine de la FT ICR–MS et principe de la mesure

En 1929, aux États-Unis, Lawrence (prix Nobel en 1939) découvre le principe du cyclotron.¹³⁵ En 1949, l'équipe de Hipple détermine la fréquence de résonance cyclotronique du proton à l'aide d'un instrument appelé Omégaatron.¹³⁶ Ces deux travaux sont à la base de la technique de spectrométrie de masse par résonance cyclotronique des ions (ICR–MS). C'est en 1974 que Comisarow et Marshall¹³⁴ associent le traitement par transformée de Fourier rapide (FFT) à l'analyse des ions par ICR–MS. Le premier instrument doté d'un aimant supraconducteur est commercialisé en 1983. Jusqu'alors, des électroaimants de 1 à 1,6 Teslas étaient employés. Actuellement, la force du champ magnétique des appareils commerciaux est comprise entre 7 et 15 Teslas. Deux instruments dotés d'un aimant de 21 Teslas ont récemment été développés au laboratoire des hauts champs magnétiques (MagLAB) à Tallahassee en Floride sous la direction d'Alan Marshall et au Pacific Northwest National Laboratory (PNNL) à Richland sous la direction de Richard Smith.

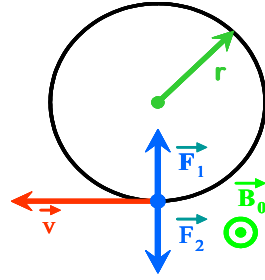


Figure 10 Principe du mouvement cyclotronique

L'étude du mouvement cyclotronique est à l'origine de la mesure du rapport m/z d'un ion par la technique FT ICR–MS. Un ion de masse m et de charge q possédant une vitesse v , adopte lorsqu'il est plongé dans un champ magnétique B_0 une trajectoire circulaire uniforme de rayon r , résultant de l'action de la force de Lorentz \vec{F}_1 et de la force centrifuge \vec{F}_2 . Ces deux forces agissent simultanément et en sens opposé. Elles conduisent à l'établissement d'un mouvement stable si leur module est égal (Figure 10).

Expression de la force de Lorentz :

$$\vec{F}_1 = q \times \vec{v} \wedge \vec{B}_0 = qvB_0\vec{k}$$

Expression de la force centrifuge :

$$\begin{aligned} \vec{F}_2 &= -\frac{mv^2}{r}\vec{k} \\ |\vec{F}_1| &= |\vec{F}_2| \\ qvB_0 &= \frac{mv^2}{r} \\ \frac{qB_0}{m} &= \frac{v}{r} = \omega_c \end{aligned}$$

Avec $q = ze$

$$\begin{aligned} \omega_c &= \frac{eB_0}{m/z} \\ v_c &= \frac{\omega_c}{2\pi} = \frac{1}{2\pi} \times \frac{eB_0}{m/z} \end{aligned}$$

v_c est appelée fréquence cyclotronique, elle est exprimée en Hertz. La fréquence cyclotronique dépend du champ magnétique B_0 , appliqué. Elle est inversement proportionnelle au rapport m/z et indépendante de la vitesse initiale des ions présents dans la cellule d'analyse. La précision de la mesure du rapport m/z va dépendre de la qualité de la mesure de la fréquence cyclotronique. Il est nécessaire que le champ magnétique soit

intense ($> 4,7$ Teslas) et très homogène, principale raison de l'utilisation d'aimants solénoïdes supraconducteurs.

II.3.3. Source d'ionisation interne ou externe

Avant de réaliser une analyse de spectrométrie de masse par FT-ICR, il est nécessaire de produire des ions à l'aide d'une technique d'ionisation comme par exemple l'interaction laser-matière ou l'électro-nébulisation. Dans le cas, de la désorption/ionisation laser, deux géométries peuvent être envisagées. La production des ions peut avoir lieu au sein de la cellule FT-ICR, on parle alors d'instruments à source interne. De façon alternative, les ions peuvent être produits en dehors de la cellule ICR et être acheminés ensuite par des dispositifs de guidage d'ions, il s'agit alors d'instruments à source externe. Actuellement, la plus grande partie des instruments disponibles dans les laboratoires sont dotés d'une source externe pour limiter les contraintes de pompage, principalement lors de l'introduction de l'échantillon. Dans ce cas, la pression au sein de la cellule FT-ICR est bien plus basse ($\sim 10^{-10}$ mbar) que celle des dispositifs à source interne, ce qui assure un temps de vie plus long des ions et des conditions plus favorables pour atteindre des résolutions FWHM proches de 1 000 000.

II.3.4. Dispositif expérimental utilisé

Les études décrites dans la suite de ce manuscrit ont été conduites à l'aide d'un spectromètre de masse FT-ICR doté d'un champ magnétique de 9,4 T.



Figure 11 Spectromètre de masse FT ICR-MS

Ce spectromètre de masse « Explorer QFT-9 » installé en novembre 2005 au laboratoire a été conçu par la société Ion Spec (IonSpec, Palo Alto, Ca, USA). Il est doté d'une cellule FTICR cylindrique et d'une source d'ionisation externe « ProMALDI » (IonSpec, California, Lake Forest, USA) équipée d'un laser Nd:YAG Orion (New wave research, Fremont, USA), triplé en fréquence, délivrant une énergie maximale de 8 mJ/impulsion à la longueur d'onde de 355 nm. Un autre module est installé sur ce spectromètre de masse, il correspond à une source d'ionisation externe par électrobulbation de type « Z-Spray™ » développée par Micromass/Waters. La Figure 11 présente le spectromètre de masse FT-ICR, avec l'aimant supraconducteur au centre et les deux modules d'ionisation Electrospray à droite et « ProMALDI » à gauche.

II.3.5. L'analyse FT ICR-MS

Pour les instruments disposant de sources externes, l'analyse FT ICR-MS requiert la succession de trois étapes : 1) la production des ions suivie de leur stockage dans un hexapôle ; 2) le transfert des ions de la source vers la cellule FT ICR ; 3) leur détection et analyse. L'enchaînement de ces différents événements est piloté par le logiciel Oméga. Une interface graphique permet de suivre et de modifier les paramètres instrumentaux.

Les paragraphes suivants vont permettre de décrire de façon détaillée les différentes étapes associées à l'obtention d'un spectre de masse.

L'ionisation

Deux modes d'ionisation sont employés dans cette étude (leur principe sera détaillé dans les sections suivantes).

En désorption/ionisation laser, l'échantillon analysé est fixé sur un porte échantillon en acier inoxydable à l'aide d'un adhésif en aluminium. Celui-ci est introduit dans la source d'ionisation par un sas permettant de ne pas mettre l'ensemble de l'enceinte associée à la source d'ionisation à la pression atmosphérique. La pression dans cette partie de l'instrument est maintenue à une pression de 10^{-4} Torr. Le porte échantillon est placé sur une table de déplacement équipée de deux moteurs pas-à-pas selon les axes x et y. Au cours d'une analyse, le laser Nd:YAG triplé en fréquence ($\lambda = 355$ nm) délivre 8 tirs d'une durée d'impulsion de 5 ns sur l'échantillon. Après chaque impulsion laser, les ions produits sont collectés dans un hexapôle de stockage dont le potentiel sur la plaque d'entrée est momentanément mis à la terre au moment de l'impulsion laser. L'hexapôle fonctionne en mode RF-only. Tous les ions possédant un domaine de stabilité compatible avec les paramètres instrumentaux appliqués ou associés à cet hexapôle (amplitude et fréquence de la RF, distance entre les barreaux) adoptent une trajectoire

stable. Ils sont maintenus à l'intérieur de l'hexapôle par l'application de potentiels continus identiques et adéquats (fonction de la polarité des ions piégés) sur les plaques d'entrée et de sortie. Afin de diminuer l'énergie cinétique et l'énergie interne des ions produits au cours de l'interaction laser-matière, ils sont thermalisés par l'introduction d'azote. L'énergie du faisceau laser est maintenue à une valeur proche du seuil de désorption/ionisation pour limiter les processus de fragmentation ou de recombinaison.

En analyse par électronébulisation, l'échantillon est introduit dans la source à l'aide d'un dispositif pousse-seringue à un débit de 2 $\mu\text{L}/\text{min}$. Le potentiel du capillaire est porté à une valeur de $\pm 3500\text{ V}$. Afin d'éviter l'activation des ions dans la source, les potentiels de cône et d'extraction sont pris égaux à 10 et 40 V, respectivement. L'azote est utilisé comme gaz de nébulisation. La température de la source et du capillaire est maintenue à 80 °C.

Le transfert des ions

Les ions piégés dans l'hexapôle de stockage sont acheminés vers la cellule d'analyse à l'aide d'un guide d'ions. De type hexapolaire, il fonctionne de manière identique à l'hexapôle de stockage. L'ajustement de l'amplitude et de la fréquence de la radiofréquence permet de sélectionner la gamme de rapport m/z pour laquelle le transfert des ions se fait de manière optimale. Le transfert des ions débute par l'abaissement du potentiel continu à la sortie de l'hexapôle de stockage et l'ouverture de la séparation physique entre la partie source ($\sim 10^{-4}$ Torr) et la partie très basse pression de l'instrument ($\sim 10^{-10}$ Torr) associée à la cellule FT ICR. Sous l'effet de la différence de potentiel entre les deux extrémités de l'hexapôle de stockage, les ions sont accélérés dans l'optique de transfert électrostatique. Le potentiel de la plaque de piégeage de la cellule FT ICR du côté "guide d'ions" est mis à la terre pendant une durée variable pour permettre l'introduction des ions dans la cellule. Une bouffée d'azote est alors introduite à ce niveau pour thermaliser les ions au sein de la cellule FT ICR.

La détection des ions au sein de la cellule

Le mouvement cyclotronique des ions, induit par l'interaction de ces derniers avec le champ magnétique, prend place au sein de la cellule FT ICR (piège de Penning). La pression dans cette partie de l'instrument est de l'ordre de 10^{-10} Torr. A ces pressions, le libre parcours moyen d'un ion est important (plusieurs centaines de mètres) ce qui accroît leur durée de vie. Un piège de Penning peut adopter plusieurs géométries (cubique, parallélépipédique, cylindrique). Il est systématiquement constitué par trois jeux (au moins) de deux plaques appariées. Ces trois paires de plaques permettent la succession des trois étapes nécessaires à la production d'un spectre de masse FT ICR : le piégeage, l'excitation et la détection des ions.

Le piégeage

Le champ magnétique B_0 assure le confinement des ions dans le plan perpendiculaire au champ magnétique. Pour les piéger dans la dernière direction, un puit de potentiel est créé par application d'un potentiel sur une première paire de plaques dites de piégeage.

Le signe du potentiel appliqué sur les plaques de piégeage est adapté à la polarité des ions analysés. Il doit être le plus faible possible pour limiter les oscillations de piégeage afin de limiter la perturbation du mouvement cyclotronique. A cette fin, l'instrument employé dans cette étude assure la création de deux puits de potentiel emboîtés. Le premier permet un piégeage efficace des ions à des potentiels de l'ordre ± 15 V. Après thermalisation des ions, ce potentiel est abaissé typiquement à ± 1 V. Les espèces ioniques sont alors piégées par un second jeu de plaques de piégeage portées à un potentiel de $\pm 0,2$ V.

L'emploi d'une source d'ions externe et l'utilisation d'une ligne de transfert imposent que le puits de potentiel s'ouvre pour laisser entrer les ions au cœur de la cellule FT ICR. Cette étape est critique. Elle peut conduire à des discriminations au sein de la population d'ions.

L'excitation

Après leur introduction au sein de la cellule, les ions se trouvent sur une orbite basse. Leur rayon de giration est de l'ordre de quelques dixièmes de millimètre. Leur mouvement, de type brownien, n'est pas cohérent. L'application sur la seconde paire (plaques d'excitation) d'une radiofréquence permet, par un phénomène de résonance, un transfert d'énergie aux différentes populations d'ions présentes dans la cellule. Le rayon de la trajectoire augmente jusqu'à être porté sur une orbite haute. Cette étape a également pour effet d'augmenter la cohérence des ions possédant un même rapport m/z . Le rayon de l'orbite ne dépend que de la tension d'excitation et de la durée d'excitation. Il faut alors contrôler deux paramètres importants pour l'acquisition du spectre de masse : l'intensité d'excitation et la durée d'irradiation (quelques millisecondes).

La détection et l'obtention d'un spectre de masse

Proches du troisième jeu de plaques, les ions induisent par leur mouvement circulaire un courant alternatif (Figure 12) détecté par une électronique adaptée. La superposition des signaux associés à des ions de rapport m/z différents conduits à l'observa-

tion d'un signal composite appelé interférogramme (transient en anglais) où les sinusoïdes amorties de l'ensemble des ions présents dans la cellule se superposent et se combinent.

Pour extraire de ce signal complexe toutes les fréquences fondamentales qui le composent, une opération de transformée de Fourier est utilisée (FFT, Fast Fourier Transform). On obtient alors un spectre en fréquence (représentation de l'intensité du signal mesuré aux différentes fréquences). Avant le traitement par FFT, le signal détecté subit une opération d'apodisation par la fonction Blackman-Harris et un remplissage de zéro pour augmenter le nombre de points. Ces opérations améliorent la qualité du spectre obtenu. Par ailleurs, l'accumulation de plusieurs interférogrammes ou de plusieurs spectres de masse pour constituer un spectre de masse augmente le rapport S/N proportionnellement à la racine carrée du nombre de transients considérés.

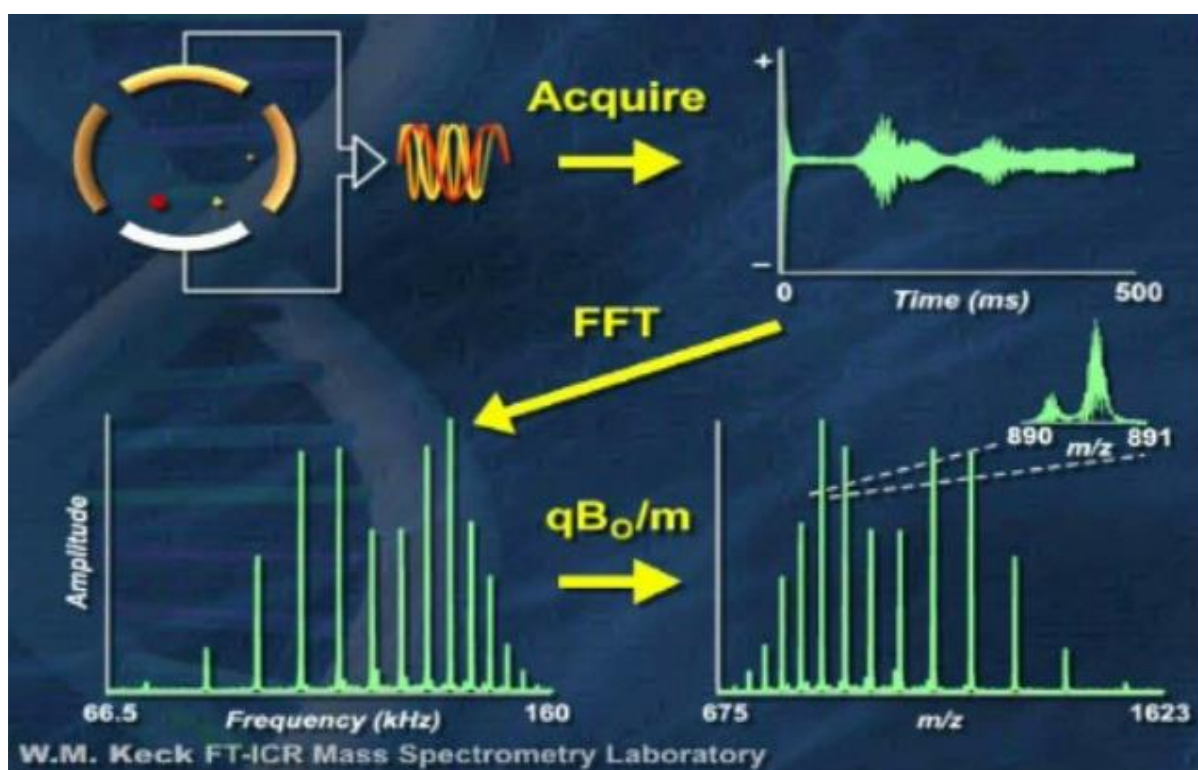


Figure 12 Différentes étapes de traitement du signal pour l'obtention d'un spectre de masse à partir d'un interférogramme

II.3.6. Avantages, limites et domaines d'application de la FT ICR-MS

II.3.6.a. Avantages de la FT ICR-MS

Le spectromètre de masse à transformée de Fourier est un outil performant, sensible et polyvalent. Il est utilisé dans de nombreux domaines d'application notamment

dans les approches non-ciblées et d'analyse directe, au regard de ses capacités en termes de très haute résolution (permet d'éviter les interférences entre les composés de même masse nominale) et de son extrême précision sur la mesure de rapport m/z (inférieur au ppm). Il peut également être utilisé sur une gamme de m/z étendue (de 80 à près de 20 000 pour notre instrument). La possibilité de pouvoir réaliser la mesure de la fréquence cyclotronique des ions sur des temps longs (pouvant atteindre plusieurs dizaines de secondes), dans la mesure où ceux-ci sont piégés dans la cellule FT ICR permet d'accroître significativement la résolution. Il existe, en effet, une relation de proportionnalité directe entre pouvoir de résolution et temps de mesure de l'interférogramme.

Il offre également la possibilité de réaliser des études de réactivité des ions en phase gazeuse en permettant le stockage et la sélection d'ions spécifiques dans la cellule FT ICR avant d'y introduire un gaz. La détection des espèces produites par ces réactions en fonction du temps entre l'introduction du gaz réactif et l'obtention du spectre de masse permet l'étude cinétique des processus mis en jeu.¹³⁴ Par ailleurs, il est possible de mener des expériences de spectrométrie de masse en tandem pour obtenir des informations structurales avec des moyens variés d'activation. On peut citer la dissociation par collision (CID : *collision induced dissociation*), par interaction avec des photons infra-rouge (IRMPD : *infra red multiphoton dissociation*) ou des électrons (ECD : *electron captured dissociation*).

La flexibilité de cet instrument est aussi associée à sa capacité à être couplée à de nombreuses méthodes d'ionisation et aux techniques séparatives comme la chromatographie gazeuse ou liquide voire l'électrophorèse capillaire. Outre, les méthodes d'ionisation employées dans cette étude que sont la désorption ionisation laser LDI et l'électronebulisation ESI, il est possible d'utiliser des sources d'ionisation par impact électronique (IE), photoionisation à pression atmosphérique (APPI), ionisation chimique à pression atmosphérique ou encore et sans que cela ne soit exhaustif par analyse directe en temps réel (DART).

Il est également possible, au travers d'expériences de 2D FTMS qui sont depuis quelques années implémentées sur les dispositifs les plus récents,¹³⁷ d'étudier de manière simultanée la structure de l'ensemble des ions d'un spectre de masse en réalisant la dissociation. L'obtention de carte 2D permet ainsi d'obtenir et de visualiser en une seule expérience l'ensemble des spectres de dissociation de toutes les espèces présentes sur le spectre de masse pour des temps d'acquisition de seulement quelques dizaines de minutes. Il faut cependant noter que le temps de traitement des données pour obtenir la carte 2D est bien plus important, de l'ordre classiquement de plusieurs heures.

II.3.6.b. Limites de la FT ICR–MS

L'utilisation de la FT ICR–MS présente néanmoins quelques inconvénients et limitations. Il s'agit en premier lieu de son prix, de l'ordre au moins du million d'euros et de son coût de fonctionnement. L'obligation de disposer d'un champ magnétique extrêmement stable nécessite l'emploi d'aimants solénoïdes supraconducteurs qui se révèlent coûteux à l'achat mais aussi à l'entretien. Il est en effet nécessaire de remplir périodiquement les dewars en azote liquide (chaque semaine) et hélium liquide (toutes les six semaines) afin de maintenir le matériau supraconducteur en dessous de sa température de Curie. De manière empirique, le coût d'un aimant solénoïde supraconducteur varie de manière quadratique avec la valeur du champ. La nécessité d'acquérir l'interfogramme pendant des temps longs pour obtenir une très haute résolution rend difficilement possible l'obtention de spectres de très haute résolution ($> 250\,000$) lorsque l'instrument FT ICR – MS est couplé avec les techniques chromatographiques. Il a alors incompatibilité entre temps chromatographique et échantillonnage long du transient. Cette limitation vient d'être récemment dépassée par les deux équipes du PNNL et du MagLAB aux Etats-Unis avec des instruments dotés d'un aimant de 21 T en mesurant la quatrième ou la troisième harmonique de la fréquence cyclotronique. Il est alors possible d'obtenir avec des temps d'acquisition de l'ordre de 250 ms des résolutions de l'ordre de 200 000. Un autre paramètre influant sur la résolution est plus encore la précision sur la mesure de masse est la quantité d'ions qui est introduite dans la cellule FT ICR. Dans la mesure où les ions piégés dans la cellule ICR sont de même polarité, un nombre d'ions trop important dans la cellule conduit au travers de répulsion coulombienne à des effets de charge d'espace. Cela provoque une perte rapide de la cohérence du mouvement des ions après excitation (diminution de la résolution) et une modification de la fréquence des ions de l'ordre de quelques Hertz, notamment pour les ions peu abondants (diminution de la précision sur la mesure de leur rapport m/z).

II.4. Les méthodes d'ionisation couplée à la FT ICR – MS utilisées dans le cadre de cette étude

Pendant le fumage d'une cigarette des milliers de composés sont produits tant dans la phase gazeuse et que dans la phase particulaire. L'analyse de ces composés est très complexe, en particulier ceux de la phase particulaire, et nécessite pour en avoir une description la plus exhaustive possible, l'utilisation de différentes méthodes d'ionisation. Ainsi la combinaison de désorption/ionisation laser (LDI) et l'ionisation par électro-nébulisation apparaît comme une combinaison de choix pour la description de la composition de la phase particulaire des fumées de cigarette.

Le contrôle fin des paramètres relatifs à ces deux méthodes d'ionisation est à même de pouvoir générer des ions indicatifs des composés présents dans et à la surface des particules dans la mesure où des conditions d'ionisation douce sont respectées. Nous allons décrire dans les paragraphes suivants les principes de ces méthodes d'ionisation ainsi que les paramètres qui permettent d'assurer l'ionisation douce des espèces.

II.4.1. La désorption/ionisation laser (LDI)

La désorption/ionisation laser (LDI) est une méthode d'ionisation qui peut être appliquée directement sur un matériau ou sur un dépôt sans aucune préparation d'échantillon. Elle assure ainsi l'analyse sans avoir recours à une étape de solubilisation préalable, ce qui pour certains matériaux ou échantillons peut se révéler délicat à réaliser.

II.4.1.a. Principe de l'analyse par LDI-FTICRMS dans le contexte de l'analyse des particules de la fumée principale de cigarette

De manière simple, l'échantillon, ici un filtre sur lequel se sont impactés des particules de MSS est introduit dans la zone source. Un faisceau laser de longueur d'onde 355 nm est focalisé sur cet échantillon pour induire le phénomène de désorption/ionisation. Une attention particulière est attachée à l'énergie du faisceau laser employé. Celle-ci doit être suffisante pour induire la désorption et l'ionisation des espèces présentes dans et à la surface des particules de fumées de cigarette et suffisamment faible pour tout au moins limiter, s'il n'est pas possible de les éviter, les processus de dissociation. Sous l'effet de l'irradiation laser, les photons apportent de l'énergie aux molécules présentes pour produire leur désorption. Dans la mesure où l'énergie d'un photon à 355 nm est relativement faible ($\sim 3,5$ eV), les processus d'ionisation directe par absorption bi- voire triphotonique sont peu favorisés ce qui explique en mode d'ionisation positif la présence faible d'espèces radicalaires qui ne représentent que quelque pourcent du courant d'ions total. A l'inverse, les espèces désorbées souvent dans leur état excité peuvent conduire à des processus de transfert de protons comme cela est classiquement observé dans les expériences MALDI. Les espèces les plus acides, vont conduire à la libération de protons et à la formation d'espèces déprotonées observables en mode de détection négatif sous la forme d'ions $[M - H]^-$. A l'inverse, les espèces les plus basiques vont être en mesure de capter ces protons et conduire à l'observation d'ions protonés $[M + H]^+$.

II.4.1.b. Paramètres utilisés pour l'acquisition de données par LDI

La troisième harmonique d'un laser Nd:YAG ORION (Fremont, CA, USA) refroidi par air (longueur d'onde 355 nm, durée d'impulsion 5 ns, énergie de sortie maximale 4 mJ) est employée pour réaliser l'étape de désorption/ionisation. La densité de puissance du laser a été ajustée au seuil de désorption/ionisation des particules de fumée de cigarette qui est proche de $2 \times 10^7 \text{ W.cm}^{-2}$. La zone irradiée est d'environ $0,2 \text{ mm}^2$. Après chaque impulsion laser, l'échantillon est déplacé de telle sorte que les ions sont générés à partir d'une zone cible fraîche (non préalablement irradiée). Les ions résultant de 8 interactions laser successives sont stockés dans un hexapôle avant d'être transférés dans la cellule FT-ICR et d'y être analysés (Figure 13).

Les spectres de masse présentés sont la somme de 45 spectres de masse individuels obtenus par désorption/ionisation de près de 20% de la surface du filtre de quartz.

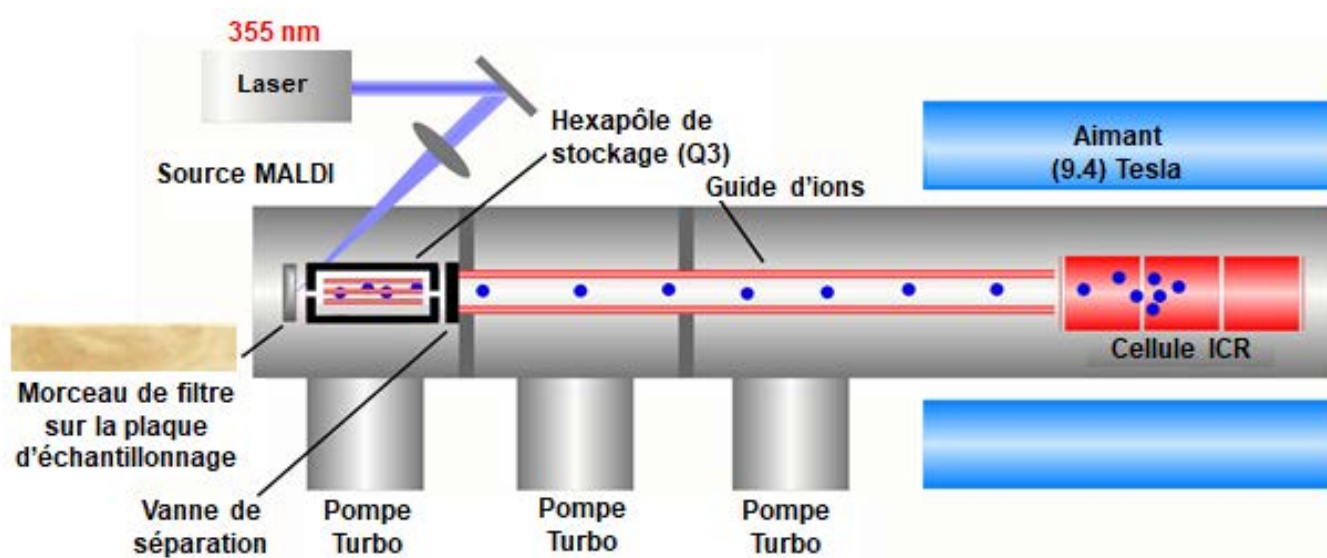


Figure 13 Schéma du spectromètre ProMALDI-FTICR-MS

II.4.2. Ionisation par électronébulisation ou l'electrospray (ESI)

L'électronébulisation ou l'electrospray (ESI) est une technique d'ionisation douce. Elle assure l'ionisation des molécules de manière d'autant plus efficace, qu'il s'agit de molécules polaires. Cette technique d'ionisation a également la faculté de réduire la gamme de rapport m/z en assurant le développement de plusieurs charges pour les composés de masse importante (production d'ions multichargés).

II.4.2.a. Principe de la technique

L'ionisation ESI a lieu à la pression atmosphérique et à des températures proches de l'ambiante dans le cadre de cette étude sous l'action d'un champ électrique de plusieurs kV. Cela conduit à différents processus qui assurent de manière concomitante la désolvatation et l'ionisation des molécules dissoutes dans un solvant.

De manière pratique, à l'aide d'un pousse-seringue, la solution d'échantillon est directement injectée dans la source d'ionisation au travers d'un capillaire en acier inoxydable. Généralement avec un débit de l'ordre de quelques $\mu\text{L}/\text{min}$ (dans notre cas $2 \mu\text{L}/\text{min}$) dans une source chauffée à 80°C (température légèrement supérieure à celle de vaporisation du méthanol, solvant utilisé dans cette étude). Un flux d'azote, guidé à contre-courant du trajet des ions est employé pour assister la désolvatation (Figure 14).

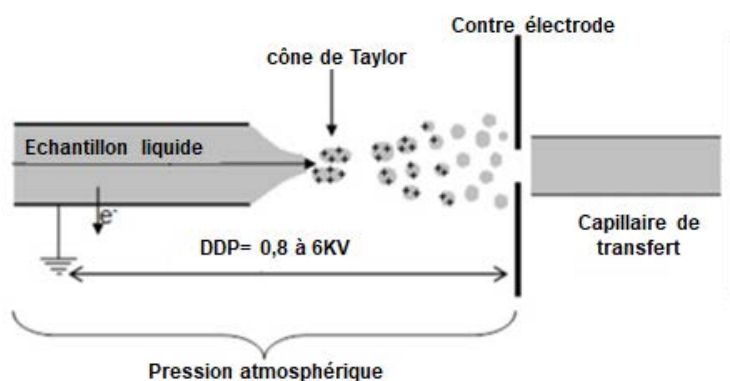


Figure 14 Schéma du principe de l'ionisation/désorption par électronébulisation dans le cas d'une expérience en mode d'ions positifs. ¹³⁸

Le champ électrique entre le capillaire d'infusion et la contre-électrode est de quelques kV. Ce champ a pour rôle de produire une accumulation de charges à la surface du liquide, située au bout du capillaire qui va se déformer pour former un cône dit de « Taylor ». ¹³⁹ Il va ensuite « se couper » pour produire des gouttelettes chargées en surface. Sous l'effet de la température de la source et de la différence de pression entre la pression atmosphérique et l'entrée du spectromètre de masse, le solvant présent dans les gouttelettes va peu à peu s'évaporer. La taille des gouttelettes diminue. Les forces de cohésion de la gouttelette diminuent alors que les répulsions coulombiennes augmentent en accord avec la diminution de la distance entre les charges de même signe qui se trouvent en surface des gouttelettes. De manière ultime, celles-ci l'emportent et provoquent l'explosion dite coulombienne de la gouttelette. Ces processus se reproduisent et conduisent à une succession d'explosions coulombiennes. Chaque explosion est conditionnée par l'atteinte de la limite de Rayleigh qui gouverne le nombre moyen de charges q_{Rayleigh} dans une gouttelette de rayon r_{max} en fonction de la tension de surface γ du solvant et de la permittivité du vide ϵ_0 :

$$q_{Rayleigh} = 8 \pi r_{max}^{3/2} \sqrt{\gamma \varepsilon_0}$$

De manière ultime, la production des ions peut avoir lieu en accord avec l'un des deux processus proposés par différents auteurs :

- ✓ l'éjection des ions à partir des gouttelettes (modèle IEM ou modèle de l'émission d'ions) qui sous l'effet du champs électrique se déforment pour former de minuscules cônes de Taylor à leur surface.^{140,141}
- ✓ le modèle du résidu chargé. Après de multiples explosions coulombiennes, ne demeure plus qu'une espèce chargée dans la gouttelette qui est libérée par évaporation des dernières molécules de solvant.¹³⁸

Ces modèles sont complémentaires. Le modèle de production des ions en phase gazeuse le plus cité est celui du modèle de la charge résiduelle.^{142,143} Il s'applique principalement aux macromolécules qui conduisent à la formation d'ions polychargés de type $[M+nH]^{n+}$ (Figure 15). Pour les molécules de petite taille, principalement mono-chargé, c'est le modèle IEM qui semble être le principal responsable de leur ionisation.

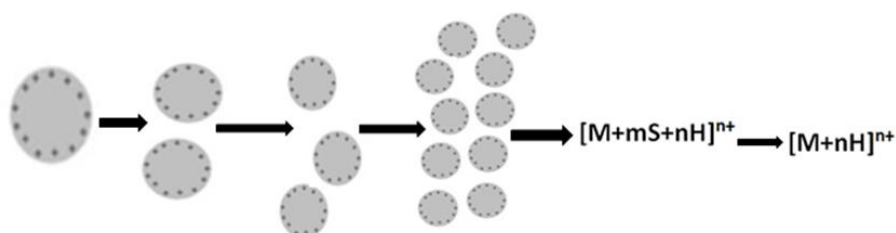


Figure 15 Schéma relatif à la théorie de charge résiduelle de Dole et al (S représente une molécule de solvant).¹⁴²

II.4.2.b. Paramètres expérimentaux utilisés pour l'analyse ESI des MSS

L'extraction des constituants des MSS est réalisée avec le dichlorométhane, un solvant qui présente une constante diélectrique faible, ce qui n'est pas favorable à une ionisation efficace par ESI des molécules contenues dans l'extrait. C'est la raison pour laquelle, une évaporation à sec est réalisée suivie d'une reprise dans 2,5 ml de solution de méthanol, solvant plus polaire que CH_2Cl_2 . Afin d'accroître l'efficacité de l'ionisation des espèces basiques en mode de détection positif, le méthanol est supplémenté à hauteur de 0,1% (v/v) en acide formique.

Les mesures ESI FT ICR – MS sont réalisées selon la procédure définie précédemment, en ce qui concerne les paramètres d'infusion, de transfert des ions, d'analyse

dans la cellule FT ICR ou d'accumulation de spectres. Il est important de noter qu'avant leur transfert vers la cellule FT ICR, les ions produits par infusion de l'extrait dans la source d'ionisation pendant 10 secondes sont accumulés dans un hexapole de stockage.

II.5. Etalonnage, traitement des données et attribution

II.5.1. Procédure de calibration et d'attribution

Avant l'acquisition, le spectromètre de masse est calibré de manière externe en infusant une solution de composés standard relatifs à des agrégats d'or en ESI FT ICR – MS ou en utilisant des agrégats carbonés en LDI FT ICR – MS. Après acquisition du spectre de masse, une calibration interne est effectuée en utilisant des séries d'ions $C_xH_yN_2^{+/-}$ parfaitement identifiés dans des échantillons des MSS. Une liste de pics pour les signaux possédant un rapport signal sur bruit (S/B) supérieur à 4.5 est généré. Cette liste est ensuite traitée à l'aide du logiciel Composer (Sierra Analytics, Modesto, CA) pour réaliser l'attribution des ions. Les critères de recherche utilisés sont une formule générale $C_{1-100}H_{1-100}N_{0-7}S_{0-1}O_{0-10}^{+/-}$, avec une tolérance à ± 3 ppm et un équivalent double liaison (DBE) compris entre -0,5 et 40 (une valeur de DBE de -0,5 correspond à un composé saturé cationisé par NH_4^+). Sur la base de ces signaux attribués avec une erreur inférieure à 1 ppm, le spectre est recalibré en considérant l'équation suivante :

$$\frac{m}{z} = \frac{A}{f} + \frac{B}{f^2}$$

Pour les signaux non affectés où les signaux assignés avec une erreur supérieure à 1 ppm, une attribution manuelle est effectuée à l'aide du logiciel Omega 8 Elemental Composition (Varian-IonSpec Inc.) avec les critères de recherche précédemment indiqués. Périodiquement, le spectre de masse est recalibré en prenant en compte tous les ions attribués. La qualité de l'étalonnage est systématiquement vérifiée en considérant la somme des erreurs, qui doit être de l'ordre de quelques ppm.

En dépit de l'attribution d'une formule brute aux différents signaux observés par FT ICR – MS, il convient de vérifier la réalité chimique de ces espèces. Pour cela, les règles d'attribution sont complétées par les « six règles d'or »¹⁴⁴ de l'attribution :

1. La limitation du nombre d'atomes d'un élément donné en fonction de la masse du composé considéré sur la base des banques de données DNP et Wiley de composés chimiques (Tableau 5) ;
2. L'application des règles de Lewis portant sur la valence des éléments, la notion de paires liantes et non liantes, la valence des différents atomes, règle de l'octet et extension ;

3. L'utilisation de la distribution isotopique notamment des contributions isotopiques à M+1 et M+2 qui permet d'identifier les composés contenant du soufre, du chlore ou du brome et d'obtenir une indication sur le nombre d'atomes de carbone ;
4. Le rapport hydrogène/carbone est compris généralement entre 0 (carbone pur) et 3 en relation avec la valence du carbone ;
5. La distribution relative des éléments. Cela constitue une extension de la règle précédente à l'ensemble des atomes contenus dans l'espèce analysée (Tableau 6) ;
6. Le nombre maximum d'hétéroatomes (N, O, P et S) en fonction de la masse du composé sur la base de la banque de données Beilstein (Tableau 7).

Tableau 5 Restrictions au sein de petites molécules du nombre d'atomes pour chaque élément chimique sur la base de l'examen des banques de données DNP et Wiley.¹⁴⁵

Mass Range [Da]	Library	C max	H max	N max	O max	P max	S max	F max	Cl max	Br max	Si max
<500	DNP	29	72	10	18	4	7	15	8	5	
	Wiley	39	72	20	20	9	10	16	10	4	8
<1000	DNP	66	126	25	27	6	8	16	11	8	
	Wiley	78	126	20	27	9	14	34	12	8	14
<2000	DNP	115	236	32	63	6	8	16	11	8	
	Wiley	156	180	20	40	9	14	48	12	10	15
<3000	DNP	162	208	48	78	6	9	16	11	8	

Tableau 6 Rapports atomiques entre éléments chimiques classiquement observés sur la base des 45 000 composés référencés dans la banque de données Wiley dont la masse est comprise entre 30 et 1 500 Da.¹⁴⁵

Element ratios	Common range (covering 99.7%)	Extended range (covering 99.99%)	Extended range (beyond 99.99%)
H/C	0.2-3.1	0.1-6	<0.1 and 6-9
F/C	0-1.5	0-6	>1.5
Cl/C	0-0.8	0-2	>0.8
Br/C	0-0.8	0-2	>0.8
N/C	0-1.3	0-4	>1.3
O/C	0-1.2	0-3	>1.2
P/C	0-0.3	0-2	>0.3
S/C	0-0.8	0-3	>0.8
Si/C	0-0.5	0-1	>0.5

Tableau 7 Nombre maximum d'hétéroatomes présents dans des molécules de masse inférieure à 2 000 Da d'après la base de données Beilstein.¹⁴⁵

Element counts	Heuristic Rule	DB examples for maximum values
NOPS all > 1	$N < 10.O < 20.P < 4.S < 3$	$C_{15}H_{34}N_9O_8PS$, $C_{22}H_{44}N_4O_{14}P_2S_2$, $C_{24}H_{34}N_7O_{19}P_3S$
NOP all > 3	$N < 11.O < 22.P < 6$	$C_{20}H_{28}N_{10}O_{21}P_4$, $C_{10}H_{18}N_5O_{20}P_5$
OPS all > 1	$O < 14.P < 3.S < 3$	$C_{22}H_{44}N_4O_{14}P_2S_2$, $C_{16}H_{36}N_4O_4P_2S_2$
PSN all > 1	$P < 3.S < 3.N < 4$	$C_{22}H_{44}N_4O_{14}P_2S_2$, $C_{16}H_{36}N_4O_4P_2S_2$
NOS all > 6	$N < 19.O < 14.S < 8$	$C_{59}H_{64}N_{18}O_{14}S_7$

II.5.2. Représentation graphiques et outils d'interprétation des données

L'analyse par FT ICR – MS nécessite d'avoir recours à des représentations spécifiques en raison de la forte complexité des spectres de masse obtenus. Ces outils doivent être en mesure de fournir des points de comparaison pertinents. Il s'agit en particulier du calcul de l'équivalent double liaison pondéré ou brut (DBE). Les représentations graphiques utilisées sont quant à elles, les diagrammes de Van Krevelen et de Venn ainsi que les cartes de Kendrick.

II.5.2.a. Equivalent double liaison

L'analyse par FTICRMS produit des ions radicalaires, protonés et déprotonés. Afin d'obtenir facilement cette information l'utilisation de l'équivalent de double liaison (DBE) peut être réalisée. Outre la détermination du nombre d'insaturation, une valeur de DBE entière est obtenue pour tout ion radicalaire et une valeur de DBE demi-entière est associée à un ion protoné (en mode de détection positif) ou déprotoné (en mode de détection négatif). Le calcul de la DBE est obtenu à l'aide de la formule suivante :

$$DBE = n_c + \frac{n_N}{2} + \frac{n_H}{2} + 1$$

Les valeurs n_C , n_H et n_N sont respectivement, le nombre d'atomes de carbone d'hydrogène et d'azote contenus dans la molécule.

II.5.2.b. Les Diagrammes de van Krevelen et de Venn – Cartes de Kendrick

Les diagrammes de van Krevelen et de Venn ainsi que les cartes de Kendrick sont des outils complémentaires, ils sont largement utilisés dans le domaine de l'étude des milieux complexes. Ils permettent de caractériser et comparer les différentes espèces issues de l'analyse d'un échantillon complexe par FT ICR – MS.

La formule des composés étant établi au cours de l'étape d'attribution, les composés observés se distribuent sur un graphique qui reporte le rapport H/C d'un composé (dépendant de son degré d'insaturation) en fonction du rapport O/C ou N/C. De telles représentations sont appelées diagrammes de Van Krevelen.^{144,146}

Une autre représentation utilisée dans cette étude est l'établissement de diagramme de Venn¹ qui reporte les signaux communs ou spécifiques obtenus par FT ICR – MS lorsque le mode d'ionisation utilisé varie ou lorsque des échantillons de fumées

de cigarette différentes sont examinées. Un point de comparaison supplémentaire peut être associé au calcul de la valeur de DBE pondérée par l'intensité relative des différents composés.

Les cartes de Kendrick sont obtenues en calculant en base CH_2 les masses de Kendrick (KM) et les défauts de masse de Kendricks (KMD)¹ selon les formules suivantes :

$$\text{KM} = \text{masse exacte mesurée} \times \frac{14,00000}{14,01565}$$

$$\text{KMD} = \text{masse nominale} - \text{KM}$$

Ce calcul permet de changer de référence, ainsi la masse de référence n'est plus la masse du carbone 12 mais la masse d'un groupement méthylène (CH_2). Dans ces conditions, la représentation de la valeur de KMD en fonction de la masse nominale de Kendrick permet aux composés correspondants à des degrés différents d'alkylation de s'aligner selon des lignes parallèles à l'axe des abscisses. Un autre alignement est également observé selon des lignes obliques pour des composés renfermant un même nombre d'atomes de carbone mais présentant un degré d'insaturation plus ou moins important.

Conclusion

Ce second chapitre a permis d'avoir une idée générale sur les différents matériels utilisés dans ce travail de thèse en définissant les différents échantillons étudiés, les dispositifs de collecte et de fumage des cigarettes. Il a permis de décrire les différentes méthodes employées pour l'échantillonnage des fumées de cigarette et la préparation des échantillons. De plus, ce chapitre a rappelé les principes des techniques analytiques mises en œuvre. Il s'agit notamment du principe de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS et GC/MS/MS) et de celui de la spectrométrie de masse à résonance cyclotronique des ions à transformée de Fourier couplée à la désorption/ionisation laser (LDI-FTICRMS) et à l'électrospray (ESI-FTICRMS). Ce second chapitre a permis également de préciser les modes d'exploitations et traitements des spectres de masse des fumées de cigarette par FTICRMS utilisés dans les deux chapitres suivants.

**CHAPITRE III MISE EN PLACE D'UNE
MÉTHODE DE COLLECTE
ET D'ANALYSE NON-CI-
BLÉE DE FUMÉES DE CI-
GARETTES PAR LDI ET ESI
FT-ICR MS**

Introduction

L'objectif de ce chapitre est de mettre en place une méthodologie d'analyse non-ciblée des composés présents dans les fumées de cigarette du courant principal (MSS) et ainsi d'établir la nature des espèces auxquelles un fumeur actif est exposé. Le dernier chapitre verra l'application de cette méthodologie à l'examen et à la comparaison des MSS produites par fumage de cigarettes d'un même fabricant mais de morphologie ou d'origine différente.

Avant d'engager l'analyse de la phase particulaire des MSS, il convient d'établir une méthode répétable de fumage et de collecte des échantillons qui seront à l'étude. Pour cela, la première partie de ce chapitre sera consacrée à la mise en place et à la validation d'une méthode de prélèvement. Il est également important que ces échantillons soient représentatifs. Pour cela plusieurs descripteurs seront employés : la masse des particules collectées et la concentration de différents marqueurs. Nous avons retenu les BTEX pour la phase gazeuse et la nicotine pour la phase particulaire. Le prélèvement et l'analyse des BTEX sont réalisés à l'aide de la méthodologie décrite dans le chapitre précédent en employant la GC/MS en mode SIM. La concentration de la nicotine dans les particules de MSS est quant à elle déterminée à l'aide de la technique GC/MS/MS décrite par Sébastien Schramm dans le cadre de sa thèse.⁶

L'examen direct des MSS par LDI FT-ICR MS et après extraction par ESI FT-ICR MS dans les modes de détection positif et négatif conduira à révéler la diversité moléculaire des constituants de la phase condensée des MSS. Il a également pour vocation à démontrer la complémentarité des modes d'ionisation et des modes de détection (positif et négatif). Pour cela, la description des résultats obtenus sera effectuée en fonction du nombre d'ions détectés, des classes de composés observées et de la valeur de DBE pondérée.

III.1. Mise en place et validation de la méthode de fumage des cigarettes et de la méthode de prélèvement des fumées du courant principal de cigarette

Afin d'atteindre cet objectif, une machine à fumer a été mise en œuvre. Elle est, comme cela a été décrit dans le chapitre précédent, dotée de deux dispositifs de prélèvement. L'un permet la collecte de la phase particulaire (filtre quartz) et l'autre celle des composés organiques volatils (COV) (charbon actif) pendant une simulation de fumage.

Afin de valider la méthode de collecte des MSS et la procédure de fumage de la cigarette, la répétabilité de la procédure de fumage est d'abord évaluée en étudiant pour

Étude des MSS de cigarette Française par LDI et ESI FT-ICR MS

huit réplicats la masse des particules collectées. La valeur trouvée est de $5,6 \pm 0,3$ mg/cig. Cette valeur est proche de celle fournie par le fabricant sur le paquet de cigarette dans la mesure où il indique une quantité de goudrons de 7 mg/cig. Il faut noter que dans nos conditions de collecte, la première des huit bouffées n'est pas échantillonnée dans la mesure où des travaux antérieurs ont montré la forte dépendance de sa composition aux conditions d'allumage de la cigarette. Dans ce cadre, on peut estimer que seuls 87,5 % (sept huitième) de la quantité de particules produite par combustion de la cigarette sont collectés sur le filtre. L'accord entre la valeur fournie par le fabricant et celle corrigée ($6,4 \pm 0,3$ mg/cig) est donc très bon. On peut ainsi considérer que l'échantillonnage et la collecte de la matière particulaire à l'aide du dispositif mis en place fournit des informations comparables à celles obtenues par les fabricants de cigarettes ou les organismes de contrôle qui emploient des dispositifs standardisés et automatisés. Il est cependant également important d'évaluer, à l'échelle de la composition moléculaire, la répétabilité de la méthode de prélèvement de la phase gazeuse et de la phase particulaire. Parmi les COV, les BTEX (benzène, toluène, éthyl-benzène, ortho- méta- et para-xylène) ont été choisis comme traceurs de la phase gazeuse. La nicotine a été retenue comme traceur de la phase particulaire. L'analyse des BTEX est menée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS), celle de la nicotine par couplage de la chromatographie gazeuse avec la spectrométrie de masse en tandem (GC/MS/MS). La variation de la concentration obtenue pour ces différents traceurs sur différents réplicats permettra de définir le degré de répétabilité des méthodes de fumage et de prélèvement des MSS.

III.1.1. Analyse quantitative de BTEX contenus dans la phase gazeuse des MSS par GC/MS

Après extraction dans le dichlorométhane, l'analyse des BTEX est réalisée en mode SIM par GC/MS en impact électronique (EI) en mode SIM en considérant le rapport m/z 78 pour le benzène (radical cation moléculaire) et en prenant comme ion de confirmation l'ion phényle à m/z 77. Pour le toluène, l'éthylbenzène et l'ortho-méta ou para-xylène, le cation tropylium à m/z 91 a été retenu pour réaliser la quantification et les ions moléculaires (m/z 92 pour le toluène et 102 pour l'éthylbenzène et les xylènes) sont employés comme ions de confirmation.

La durée de la séparation chromatographique est inférieure à 10 minutes. Un exemple de chromatogramme reconstitué en mode SIM est reporté sur la Figure 16. Dans les conditions chromatographiques employées, la séparation du méta- et de l'ortho-xylène n'est pas réalisée. En fait, la séparation de ces deux composés est généralement difficile à obtenir sans une augmentation importante de la durée du chromato-

Étude des MSS de cigarette Française par LDI et ESI FT-ICR MS

gramme dans la mesure où, ces deux composés présentent des températures de vaporisation extrêmement proches ($412,3 \pm 0,3$ K et $411,4 \pm 0,5$ pour le m-xylène et le p-xylène, respectivement). Il a été préféré de privilégier la rapidité de la séparation (moins de 10 minutes). De plus, une grande partie des études portant sur la quantification des BTEX combinent généralement la concentration du m-xylène et du p-xylène.

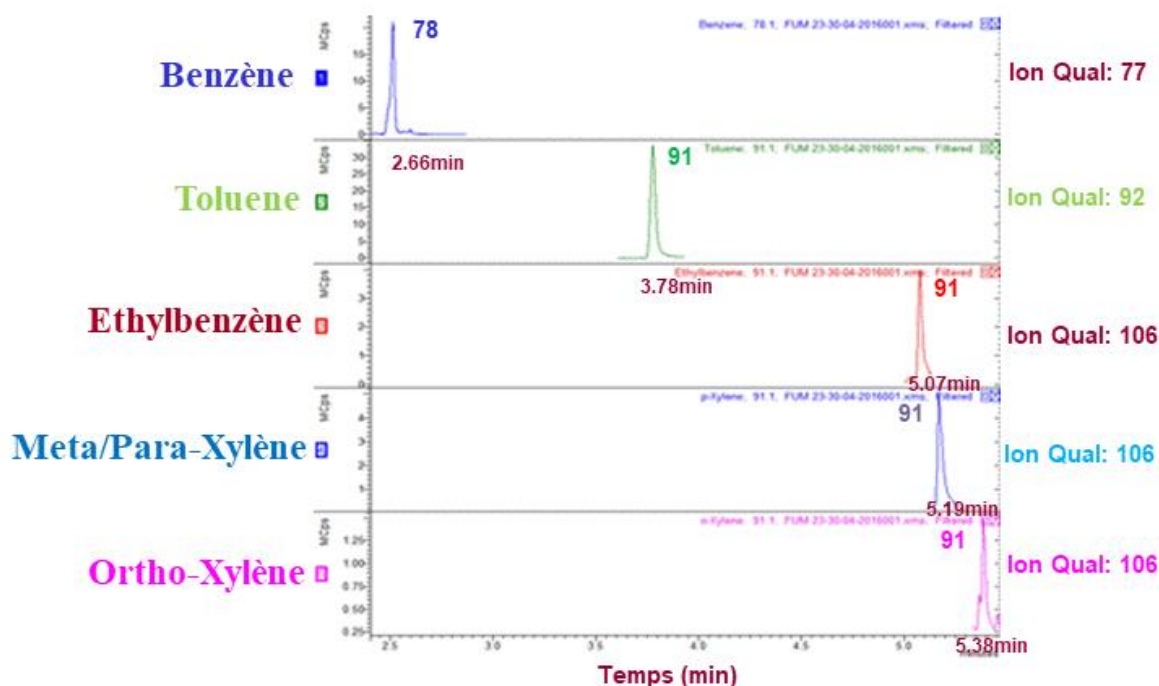


Figure 16 Chromatogrammes reconstitués en mode SIM d'un extrait de fumée de cigarette pour les six BTEX étudiés

Le Tableau 8 présente les résultats de l'étude des solutions standards des BTEX à des concentrations comprises entre $0,04$ et $0,25 \mu\text{g}\cdot\text{cig}^{-1}$. Les aires des pics chromatographiques BTEX sont normalisées par rapport à l'aire de n-décane (étalon interne). On obtient pour la gamme étudiée, une relation linéaire entre aire normalisée et concentration.

Tableau 8 Temps de rétention (TR), limite de détection (LOD), limite de quantification (LOQ) et paramètres de régression linéaire obtenus dans l'analyse de BTEX par GC/MS.

BTEX	RT (min)	LOD ($\mu\text{g}/\text{cig}$)	LOQ ($\mu\text{g}/\text{cig}$)	Ion de quantification (m/z)	Régression linéaire	R ²
Benzène	2,89	0,25	0,84	78	$Y = 7,615x - 0,007$	0,996
Toluène	4,22	0,21	0,69	91	$Y = 8,249x + 0,068$	0,995
Ethyl-benzène	5,35	0,06	0,20	91	$Y = 5,217x - 0,138$	0,995
m/p-xylène	5,46	0,19	0,64	91	$Y = 16,821x - 0,499$	0,994
o-xylène	5,66	0,04	0,13	91	$Y = 5,441x - 0,134$	0,995

Étude des MSS de cigarette Française par LDI et ESI FT-ICR MS

Les limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) sont évaluées en considérant, respectivement, trois et dix fois l'écart type du signal obtenu lorsque le CH_2Cl_2 seul est injecté. La LOD et la LOQ sont exprimées en $\mu\text{g}/\text{cig}$ en accord avec les différentes étapes de préparation de l'échantillon décrites dans le chapitre II. Les limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) pour ces BTEX sont comprises entre 0,06 et 0,25 $\mu\text{g}/\text{cig}$ et entre 0,19 et 0,83 $\mu\text{g}/\text{cig}$, respectivement pour le LOD et la LOQ. Dans la mesure où les valeurs reportées dans la littérature pour les BTEX présents dans les MSS sont au moins d'un ordre de grandeur supérieur aux LOD, la limite de quantification pour les différents BTEX est considérée suffisamment faible pour garantir, dans cette étude, la détermination de leur concentration dans les MSS collectées après leur extraction.

Les quantités de BTEX dans la phase gazeuse des MSS d'une cigarette Française sont regroupées dans le Tableau 9.

Tableau 9 Concentration des BTEX dans la phase gazeuse des MSS de la cigarette Française et déviations relatives standards associées à l'analyse par GC/MS ($\text{RSD}_{\text{GC/MS}}$) et à l'ensemble des étapes de fumage, de prélèvement, de prétraitement et d'analyse (RSD_{Tot}) des MSS. La $\text{RSD}_{\text{GC/MS}}$ est évaluée sur la base de l'examen de six réplicats et la RSD_{Tot} en considérant huit réplicats.

BTEX	Concentration ($\mu\text{g}/\text{cig}$)	$\text{RSD}_{\text{GC/MS}}$ (%)	RSD_{Tot} (%)
Benzène	14.91 \pm 0.02	5	19
Toluène	34.15 \pm 0.06	3	21
Ethyl-benzène	6.13 \pm 0.01	2	19
m/p-xylène	3.27 \pm 0.01	2	16
o-xylène	2.15 \pm 0.01	4	18

Pour évaluer la répétabilité de la méthodologie employée, deux valeurs de déviation standard (RSD) sont calculées. La première, notée $\text{RSD}_{\text{GC/MS}}$, correspond à la déviation obtenue lorsque l'analyse d'un même extrait est reproduites six fois. La valeur RSD_{Tot} est associée à la déviation standard obtenue lorsque huit procédures de fumage, d'échantillonnage, de préparation d'échantillon et d'analyse GC/MS sont réalisées. Les concentrations en BTEX obtenues dans cette étude sont comparables à celles qui sont couramment décrites dans la littérature,⁹² notamment lorsque des MSS de cigarettes de référence sont étudiées. Ainsi, pour les cigarettes de type 1R5F et 2R4F, les concentrations en benzène et en toluène reportées dans la littérature sont comprises entre 11.2 et 41.4 $\mu\text{g}/\text{cig}$ pour le premier et, entre 14.6 et 62.1 $\mu\text{g}/\text{cig}$ pour le second. La concentration de l'éthyl-benzène et des différents xylènes est généralement comprise entre 1.7 et 10 $\mu\text{g}/\text{cig}$. En conséquence, la teneur en BTEX de la phase gazeuse des MSS de cette cigarette commerciale Française est en parfaite adéquation avec les émissions observées classiquement avec une concentration en éthyl-benzène et en xylènes d'un ordre de

Étude des MSS de cigarette Française par LDI et ESI FT-ICR MS

grandeur inférieur à la somme des concentrations de benzène et de toluène. Cet aspect valide une nouvelle fois l'emploi de la machine à fumée qui a été mise en place et sa capacité à générer des échantillons de MSS comparables à ceux obtenus avec les machines à fumer automatiques.

D'un point de vue analytique, les valeurs de $RSD_{GC/MS}$ et RSD_{Tot} varient entre 2 et 5 % et entre 16 et 21 %, respectivement. De plus fortes valeurs sont observées pour le benzène, le toluène et l'éthyl-benzène. Cela peut être expliqué par des valeurs plus faibles de température et d'enthalpie de vaporisation pour ces trois BTEX (Tableau 10).

Tableau 10 Température et enthalpie de vaporisation des six BTEX étudiés, d'après la base de données NIST (webbook <https://webbook.nist.gov/> [Oct 17 2018]).

BTEX	T_{vap} (K)	$\Delta_{vap}H^\circ$ (kJ/mol)
Benzène	$353,3 \pm 0.1$	$33,9 \pm 0.1$
Toluène	$383,8 \pm 0.2$	37 ± 3
Ethyl-Benzène	$409,3 \pm 0.3$	41 ± 4
o-xylène	417 ± 2	42 ± 5
m-xylène	$412,3 \pm 0.3$	41 ± 5
p-xylène	$411,4 \pm 0.5$	42 ± 4

La valeur RSD_{Tot} , au plus de l'ordre de 20 %, est jugée suffisamment basse pour considérer que la collection de la phase gazeuse est répétable. Ces conclusions confirment celles précédemment obtenues par Schramm et al.⁶ dans le cadre strict de l'analyse du benzène et du toluène.

Une extrapolation concernant la répétabilité de la formation et de la collecte sur les filtres de quartz des particules de MSS peut être réalisée. Afin de la vérifier et de la valider, la quantification de la nicotine contenue dans la phase particulaire des MSS a été réalisée.

III.1.2. Analyse quantitative de la nicotine dans la phase particulaire des MSS par GC/MS/MS

L'analyse de la nicotine dans les extraits de particules de MSS est réalisée par couplage de chromatographie en phase gazeuse avec la spectrométrie de masse en tandem en mode MRM (Multiple Reaction Monitoring). Par impact électronique, la molécule de nicotine de formule $C_{10}H_{14}N_2$ conduit à la formation de l'ion $[M - H]^+$ par formation d'un ammonium quaternaire sur le cycle pyrrolidinyl observé à m/z 161. L'ion de quantification employé à m/z 159 correspond à l'élimination d'une molécule de dihydrogène $[M - H_2 - H]^+$ et à l'extension du domaine de conjugaison à l'ensemble de la molécule. L'ion de confirmation à m/z 119 est quant à lui associé à la perte de propène

Étude des MSS de cigarette Française par LDI et ESI FT-ICR MS

par ouverture du cycle pyrrolidinyl. Le mécanisme de formation impliquant un important réarrangement n'est pas encore totalement élucidé.

Les limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) sont respectivement égales à 0,004 et 0,013 mg/cig. La valeur moyenne obtenue est de $0,68 \pm 0,05$ mg/cig avec une valeur de RSD globale de l'ordre de 7,5 % pour un total de huit répliqués. La valeur de RSD plus faible pour la nicotine est directement associée à une volatilité plus faible de cette molécule si on la compare à celle des BTEX mais également à une plus grande spécificité du mode de détection MRM. La concentration en nicotine très voisine de la valeur qui est reportée par le fabricant sur le paquet de cigarettes (0,7 mg/cig) et la valeur faible de RSD conduisent à valider définitivement la procédure de fumage et de collecte de la matière particulaire dans le cadre de l'obtention d'échantillons répétables et représentatifs de la matière particulaire des MSS.

III.2. Étude du courant principal de la fumée des cigarettes Françaises par LDI et ESI FT-ICR MS

III.2.1. Analyse en mode de détection positif

Les spectres de masse obtenus par analyse des particules de MSS de la cigarette Française par (+) LDI FT-ICR MS à 355 nm et (+) ESI FT-ICR MS sont regroupés sur la Figure 17.

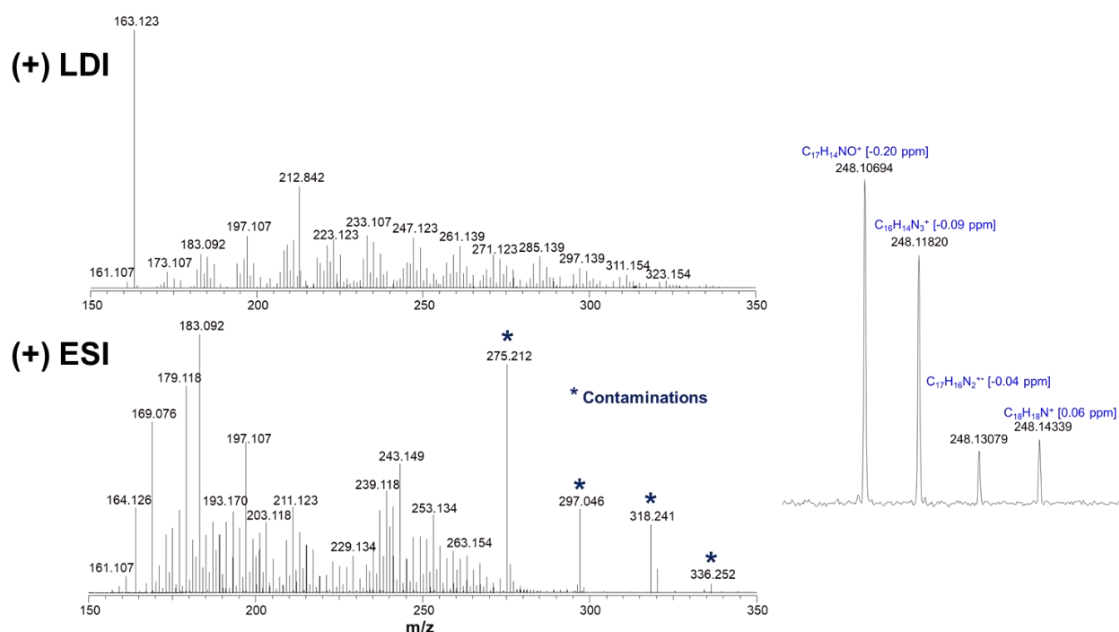


Figure 17 Spectre de masse FT-ICR de la matière particulaire des MSS de cigarette française en mode de détection positif par LDI à 355 nm (haut) et ESI (bas). A droite, agrandissement du spectre de masse LDI FT-ICR à m/z 248.

Étude des MSS de cigarette Française par LDI et ESI FT-ICR MS

En dépit de la capacité des paramètres instrumentaux employés à pouvoir observer des ions jusqu'à des valeurs m/z 700, aucun signal intense n'est détecté pour des valeurs m/z supérieures à 350.

Lorsque l'analyse est réalisée en mode ESI-MS, il a été choisi d'éjecter l'ion protoné de la nicotine à m/z 163.123 qui présente une abondance très importante. Une fenêtre d'éjection de ± 0.005 Da centrée sur le rapport m/z 163.123 a été retenue. Cette éjection n'affecte pas la détection des ions voisins dans la mesure où l'espèce possédant le rapport m/z le plus proche (contribution en ^{13}C de l'ion protoné de la nicotine) a une différence de fréquence cyclotronique de $\sim 5\,000$ Hz. La présence très importante de l'ion $[\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2 + \text{H}]^+$ sur le spectre ESI-MS, s'explique par la capacité qu'à la molécule de nicotine à se protoner facilement au regard de sa basicité. Par ailleurs, la présence d'une quantité d'ions importante dans la cellule FT-ICR conduit aux développements de phénomènes de charges d'espace qui perturbent notablement l'observation des espèces de faible abondance. La procédure d'éjection de cet ion ultra-majoritaire a été préférée à la réduction globale de la population ionique dans la cellule FT-ICR par adaptation des conditions de transfert et augmentation du nombre de spectres accumulés. Cette seconde approche est en effet plus coûteuse en temps de manipulation et nécessite une stabilité de l'instrument sur une longue durée, condition qui n'est assurée actuellement avec le spectromètre employé que pour des temps d'analyse n'excédant pas la demi-heure. Finalement, l'intensité de l'ion observé à m/z 164,126 qui correspond à la contribution ^{13}C de l'ion $[\text{M}+\text{H}]^+$ de la nicotine est utilisée pour évaluer l'intensité relative de l'ion mono-isotopique $[\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2 + \text{H}]^+$ dans la mesure où il possède une intensité relative égal à 10,8% de ce dernier.

Les études par (+) LDI ont été menées avec une fluence laser proche du seuil de désorption/ionisation. Une augmentation de l'énergie du faisceau laser conduit globalement à une diminution du nombre de signaux détectés et à l'apparition d'espèces C_xH_y purement hydrocarbonés avec $y = 0, 2$ ou 4 . Ce type d'ions est produit par des processus de recombinaison en phase gazeuse comme cela a été démontré récemment dans le cadre de l'étude de matériaux issus de la biomasse par LDI.¹⁴⁷ Il s'agit par ailleurs d'espèces mises en évidence de longue date dans l'étude par LDI-MS de matériaux organiques et en particulier de polymères.

Quelle que soit la méthode d'ionisation employée, l'ion protoné de la nicotine est le plus intense. A l'exception de l'ion observé à m/z 212,842, qui est attribué à l'agrégat ionisé K_3SO_4^+ , sur le spectre de masse (+) LDI, les signaux détectés sont relatifs à des composés de type $\text{C}_x\text{H}_y\text{N}_z\text{O}_w$. Ils sont principalement associés à des espèces cationiques et correspondent donc à des ions protonés des espèces contenues dans les MSS. Lorsque l'analyse est réalisée en employant la LDI, une partie des espèces est également observée sous la forme de radicaux cations. Ces signaux sont généralement

Étude des MSS de cigarette Française par LDI et ESI FT-ICR MS

de faible intensité comme cela peut être constaté sur l'agrandissement du spectre (+) LDI MS donné sur la Figure 17. Ce comportement spécifique de l'ionisation par désorption laser est en accord avec les processus impliqués en LDI. En effet, l'ionisation d'un composé par LDI peut être relatif à des processus de photoionisation ou d'attachement de proton en accord respectivement, avec son énergie d'ionisation ou son affinité protonique.

De manière générale, les ions observés sur le spectre de masse se rassemblent en groupe d'ions séparés par des incréments de masse qui correspondent à des atomes de carbone (12,000 Da) ou à des motifs CH (13,009 Da) ou CH₂ (14,017 Da). Dans le domaine des faibles rapports m/z (en dessous de m/z 220), les contributions principales aux spectres de masse ESI et LDI sont globalement identiques. Les ions à m/z 163,123/164,126 associés à l'ion protoné de la nicotine [C₁₀H₁₄N₂ + H]⁺, 183,092 [C₁₂H₁₀N₂ + H]⁺ ou m/z 197,107 [C₁₃H₁₂N₂ + H]⁺ sont conjointement détectés dans les deux modes d'ionisation employés. Dans le domaine des plus grands rapports m/z, les signaux obtenus par ESI sont relatifs à des espèces possédant un plus grand défaut de masse (différence entre la valeur m/z de l'ion et sa masse nominale) que ce qui est obtenu par LDI. Ce comportement est typique de composés plus faiblement insaturés. La carte de Kendrick reportant le défaut de masse de Kendrick (KMD) en fonction de la masse nominale des ions observés par (+) LDI et (+) ESI sur la Figure 18 confirme cette observation. Les valeurs élevées de KMD caractéristiques de composés insaturés sont principalement associées aux ions observés en LDI.

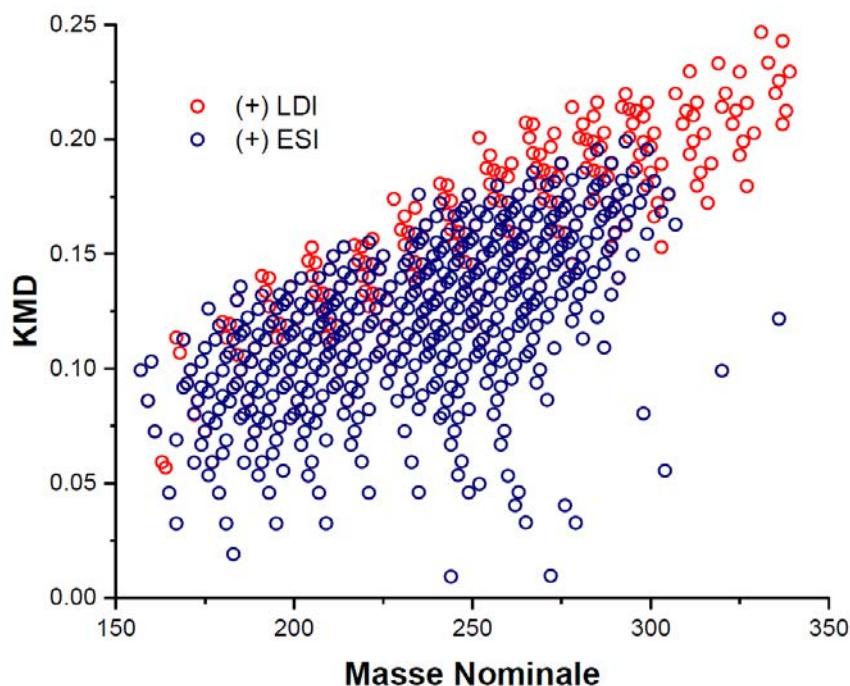


Figure 18 Carte de Kendrick associée aux spectres de masse des MSS de la cigarette Française obtenus par ESI et LDI.

Étude des MSS de cigarette Française par LDI et ESI FT-ICR MS

La précision sur la mesure du rapport m/z des ions observés dans les conditions d'analyse employées est pour la plus grande part des ions détectés inférieur au ppm. Les erreurs sont également réparties entre valeurs positives et négatives comme cela est indiqué sur la Figure 19 pour le spectre (+) LDI. Ces indicateurs sont révélateurs de la qualité de l'attribution et de la calibration réalisée. On peut les considérer comme les cartes de contrôle de la procédure d'attribution.

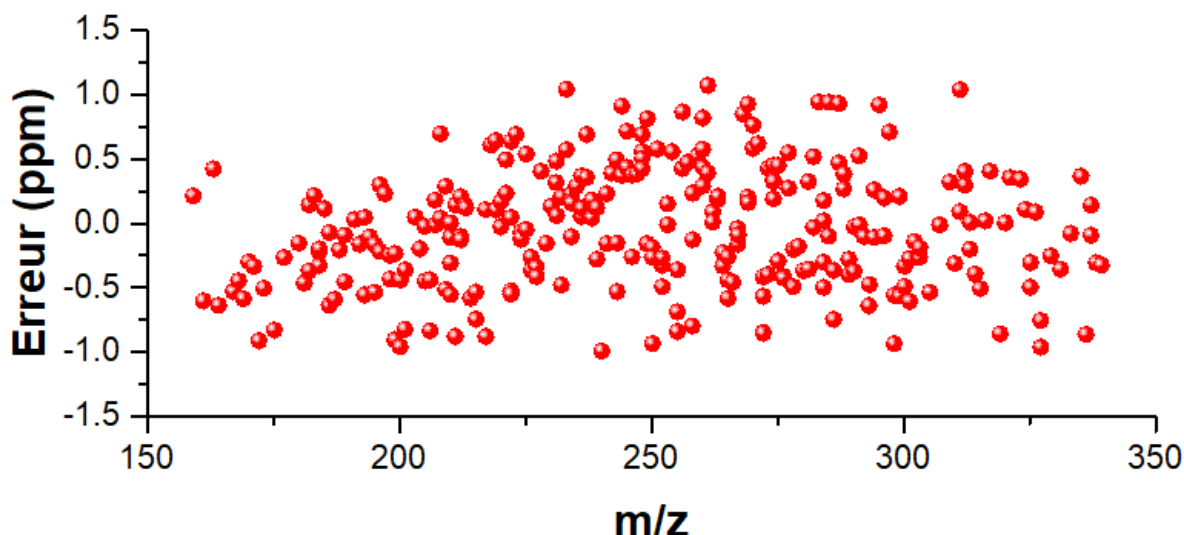


Figure 19 Distribution des erreurs obtenues dans le cadre de l'attribution des ions observés sur le spectre de masse LDI des MSS de la cigarette Française.

Globalement, plus de 280 pics sont observés sur le spectre de masse (+) LDI-MS et près de 470 en (+) ESI-MS. Par ailleurs, la nature des composés des MSS mis en évidence par ces deux modes d'ionisation est également significativement différente. Pour s'en convaincre, la distribution relative des ions en fonction de la nature et du nombre d'hétéroatome(s) azote et/ou oxygène est un bon indicateur comme cela est reporté sur la Figure 20. L'analyse LDI-MS conduit principalement à l'observation d'espèces ne contenant pas d'atomes d'oxygène mais, elles incluent systématiquement de un à trois atomes d'azote. En effet, seules les espèces NO et N₂O sont présentes sur le spectre de masse LDI. Leur abondance cumulée ne représente que 15 % du courant ionique total (TIC). A l'inverse, les composés détectés par (+) ESI-MS appartiennent à un nombre de classes de composés plus important et peuvent contenir jusqu'à quatre atomes d'oxygène. L'ensemble des espèces N_zO_w constitue près de 50 % des espèces détectés en ESI-MS. Au-delà de cette différence, l'analyse (+) LDI-MS assure l'observation d'espèces présentant un nombre d'insaturations plus élevé. Déjà mis en évidence au travers de l'examen des défauts de masse, il est possible d'obtenir un indicateur plus précis en considérant la valeur de DBE (équivalent double liaison) pondérée. Ainsi, le

Étude des MSS de cigarette Française par LDI et ESI FT-ICR MS

diagramme de Venn de la Figure 20 présente les valeurs de DBE pondérées par l'intensité relative des espèces observées. La valeur de DBE pondérée notée \overline{DBE} est calculée à l'aide de la formule suivante :

$$\overline{DBE} = \frac{\sum_i DBE_i \times I_i}{\sum_i I_i}$$

avec DBE_i , la DBE du $i^{\text{ème}}$ ion, dont l'abondance est I_i et $\sum_i I_i$ la valeur du TIC (courant ionique total).

La valeur de \overline{DBE} des espèces observées par LDI-MS est significativement supérieure à celle des espèces détectées par ESI-MS. Cela est particulièrement vrai pour les espèces qui sont spécifiques. En effet, la \overline{DBE} des espèces uniquement observées par ESI-MS est égale à moins de la moitié des espèces spécifiques obtenues en LDI-MS. Cela est également vrai lorsque ce sont les 141 espèces communes qui sont examinées ($\overline{DBE}_{ESI} = 9,0$ et $\overline{DBE}_{LDI} = 10,7$). Ainsi, les espèces communes présentant les valeurs de DBE les plus importantes sont les plus intensément détectées par LDI-MS.

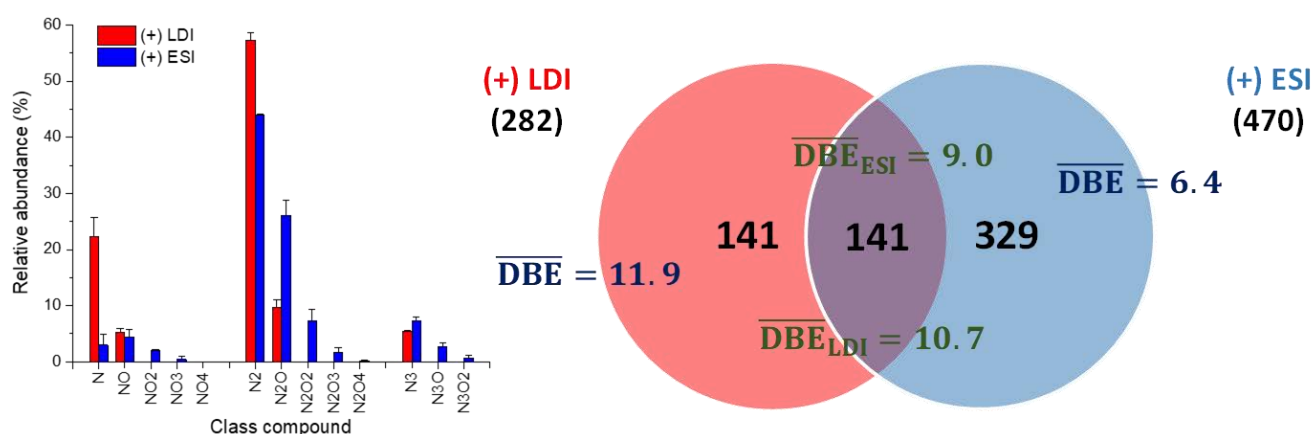


Figure 20 Distribution en classe de composés des espèces $C_xH_yN_{1-3}O_{0-4}$ détectées par (+) LDI (rouge) and (+) ESI (bleu) FT-ICR MS au cours de l'analyse des MSS de cigarette Française. Les barres d'erreur sont relatives à la variance observée pour deux réplicats. A droite, diagramme de Venn associé à ces deux séries de mesures indiquant les valeurs de DBE pondérées. Pour les espèces communes, les valeurs de DBE pondérées obtenues dans les deux modes d'ionisation sont reportées. En (+) ESI, pour la classe N_2 la contribution de l'ion mono-isotopique de l'espèce protonée de la nicotine a été évaluée sur la base de sa distribution isotopique théorique et de l'intensité du signal associé à la contribution en ^{13}C à m/z 164.126.

Le comportement mis en évidence peut aisément être expliqué sur la base des processus impliqués dans chacun des modes d'ionisation employés. En LDI-MS, les

Étude des MSS de cigarette Française par LDI et ESI FT-ICR MS

constituants des MSS qui présentent une forte absorption à 355 nm sont plus facilement désorbés et ionisés que les autres constituants des MSS. Lorsque l'ionisation ESI est employée, la force motrice qui gouverne les processus d'ionisation est la basicité des espèces et leur propension à fixer un proton. Sans être totalement antagonistes, ces deux propriétés ne sont rencontrées simultanément que pour un nombre limité de composés des MSS. Les espèces qui absorbent à la longueur d'onde de 355 nm doivent posséder un système π -conjugué étendu, comme par exemple les composés poly-aromatiques. L'absorbance dans le domaine des UV-A est par ailleurs renforcée par la présence d'hétéro-atomes dans le système π -conjugué. En conséquence, les constituants des MSS hétéro-aromatiques qui présentent une forte valeur de DBE et un, deux voire trois atomes d'azote, sont en mesure d'être efficacement ionisés par LDI-MS. Une partie de ces espèces est faiblement ou peu ionisée par ESI-MS. Le fait par exemple que le doublet non-liant de l'azote soit impliqué dans le système aromatique des dérivés pyrrolidinyl limite leurs capacités à capter un proton. A l'inverse, les constituants des MSS qui portent un groupe pyridine peuvent être aisément protonés et présenter une forte absorption à 355 nm. Ils sont donc plus susceptibles d'appartenir à la classe des espèces conjointement détectées par LDI-MS et ESI-MS.

Les constituants des MSS détectés par ESI-MS doivent posséder une forte basicité. Il est à noter que cette technique d'ionisation est fortement associée à des phénomènes de suppression de signal et que seules, les espèces possédant les valeurs de basicité les plus importantes, constituent l'essentiel de la population des ions observés sur le spectre de masse. Ces concepts étant posés, il est évident que seules les espèces possédant un ou des hétéroatomes (azote ou oxygène) présentant un doublet non-liant disponible dans leur structure peuvent être efficacement ionisées. C'est le cas des composés possédant un groupement pyridine, comme cela a été évoqué plus haut, mais aussi de ceux présentant un groupement pyrrolidinyl comme la nicotine, une fonction carbonyle, acide carboxylique ou encore une chaîne aliphatique aminée. Ces dernières espèces présentent une valeur de DBE plus faible et un nombre pouvant être important d'atomes d'oxygène et/ou d'azote. Par ailleurs, pour ces espèces possédant un ou plusieurs hétéroatomes, la limitation des domaines π -conjugués est en mesure d'accroître leur polarité et donc leur capacité à être protonés lorsque l'analyse est conduite par ESI-MS.

Cette explication permet de rationaliser le comportement des espèces $C_xH_yN_2^{+(\bullet)}$ observées par LDI-MS et ESI-MS lorsqu'elles sont repérées, comme cela a été fait sur la Figure 21, en fonction du nombre d'atomes de carbone noté #C d'une part et, de la valeur de leur DBE d'autre part. Les composés détectés par LDI-MS possèdent ainsi un rapport #C/DBE qui est proche de 1,5 et qui est révélateur de structures polyconden-

Étude des MSS de cigarette Française par LDI et ESI FT-ICR MS

sées alors que les espèces observées par l'analyse ESI-MS des MSS montrent des valeurs #C/DBE plus importantes. Les fortes valeurs de ce rapport sont associées à des composés des MSS présentant de longues chaînes aliphatiques voire des cycles non-aromatiques. Les composés détectés par ESI-MS présentant les valeurs #C/DBE les plus faibles comportent en toute vraisemblance dans leur structure au moins un noyau pyridine.

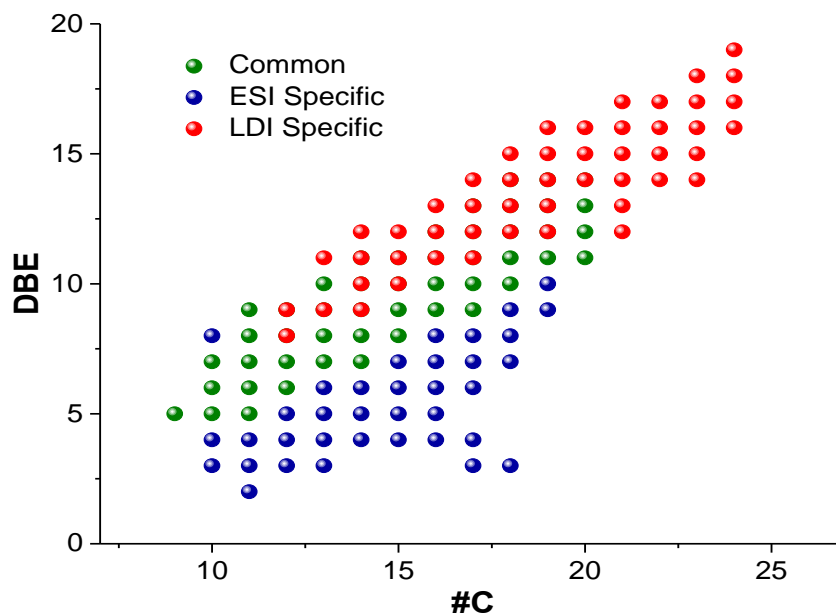


Figure 21 Valeur de la DBE des ions $C_xH_yN_2^{+(\bullet)}$ communs (vert) et spécifiques (rouge et bleu) observés dans l'étude des MSS de cigarette Française par (+) ESI (bleu et vert) et (+) LDI (vert et rouge) FT-ICR MS en fonction du nombre d'atomes de carbone.

En conséquence, pour un nombre de carbone donné, les espèces spécifiquement détectées par ESI-MS présentent systématiquement une valeur de DBE inférieure à celles obtenues par LDI-MS. Cette observation réalisée pour la famille N_2 est également valable pour l'ensemble des espèces $C_xH_yN_zO_w^{+(\bullet)}$ et mérite d'être plus spécifiquement examinée lorsque l'on considère l'ensemble des espèces présentant le même nombre d'atomes de carbone et la même valeur de DBE mais des nombres variables d'hétéroatomes. Le Tableau 11 recense les neuf ions $C_xH_yN_zO_w^{+(\bullet)}$ observés qui possèdent 15 atomes de carbone et une valeur de DBE de 10 et qui sont observés sur l'un, l'autre ou les deux spectres de masse des MSS des cigarettes Françaises en mode LDI ou ESI FT-ICR. Afin d'affiner l'analyse, l'intensité des signaux observés pour chacune des conditions d'analyse est reportée en unité arbitraire. Seuls cinq signaux sont conjointement observés sur les deux spectres de masse. Ils présentent néanmoins des intensités très variables.

Les ions spécifiques de l'analyse LDI-MS sont systématiquement des radicaux cations qui ne peuvent être dans des conditions classiques formées par ESI. Les espèces

Étude des MSS de cigarette Française par LDI et ESI FT-ICR MS

spécifiques au spectre de masse ESI appartiennent quant à eux aux familles NO₂ et N₃O qui ne sont pas observées en LDI-MS (Figure 20). Les signaux observés sur les deux spectres de masse peuvent apporter si l'on y associe la comparaison de leur abondance des éléments portant sur leur structure. L'ion [C₁₅H₁₄N₂ + H]⁺ est intensément détecté à l'aide des deux modes d'ionisation employés. Le composé (ou les composés) C₁₅H₁₄N₂ présente(nt) donc à la fois une forte absorbance à 355 nm pour permettre la désorption lorsque l'analyse est conduite par LDI et une importante basicité pour en assurer la protonation en LDI et ESI. Il est ainsi raisonnable de penser qu'une structure conjuguée ou polycondensée autour d'un noyau pyridine soit présente dans la structure. A l'inverse, les espèces [C₁₅H₁₃N + H]⁺ et [C₁₅H₁₃NO + H]⁺ sont plus intensément détectées par LDI-MS que par ESI-MS. Il est donc probable que leur structure contienne un groupement pyrrolidinyl conjugué qui ne peut être facilement protoné en ESI mais qui subit de manière efficace le processus de désorption/ionisation au regard de son absorption à 355 nm. L'étape d'ionisation correspondant à la protonation est gouvernée par l'affinité protonique de ces espèces en phase gazeuse. Le dernier cas à examiner est celui des ions [C₁₅H₁₅N₃ + H]⁺ et [C₁₅H₁₄N₂O + H]⁺ qui possèdent une intensité plus importante en ESI-MS. En dépit d'un nombre important d'insaturations, leur structure ne doit pas présenter de système π-conjugué étendu mais doit plus sûrement être associée à plusieurs noyaux aromatiques reliés les uns aux autres par des chaînes saturées pouvant inclure des hétéroatomes. Les systèmes π se trouvent donc isoler les uns des autres comme le sont les îles d'un archipel par des bras de mer. En conséquence, l'absorption de ce type de composé est faible à 355 nm et l'efficacité de leur désorption limitée. Au contraire, la présence d'hétéroatomes sur des chaînes hydrocarbonées saturées est en accord avec une polarité significative de la molécule et une facilité à se protoner.

Tableau 11 Nature et abondance des ions C₁₅H_yN₁₋₃O₀₋₄^{+(*)} qui présente une valeur de DBE de 10 observés spécifiquement ou de manière conjointe sur les spectres de masse (+) ESI et (+) LDI FT-ICR MS des MSS de cigarette Française. Les valeurs d'abondance sont données en unités arbitraires (u.a).

Ion	m/z	ESI-MS (u.a)	LDI-MS (u.a)
C ₁₅ H ₁₃ N ⁺	207.104	–	1.5
[C ₁₅ H ₁₃ N + H] ⁺	208.112	8.0	41.9
C ₁₅ H ₁₄ N ₂ ⁺	222.115	–	1.2
[C ₁₅ H ₁₄ N ₂ + H] ⁺	223.123	29.2	53.4
[C ₁₅ H ₁₃ NO + H] ⁺	224.107	2.8	14.7
[C ₁₅ H ₁₅ N ₃ + H] ⁺	238.134	34.0	4.9
[C ₁₅ H ₁₄ N ₂ O + H] ⁺	239.118	94.0	16.7
[C ₁₅ H ₁₃ NO ₂ + H] ⁺	240.102	4.1	–
[C ₁₅ H ₁₅ N ₃ O + H] ⁺	254.129	6.2	–

Étude des MSS de cigarette Française par LDI et ESI FT-ICR MS

Si ces explications semblent raisonnables, il ne faut néanmoins pas perdre à l'esprit qu'un signal obtenu sur un spectre de masse peut être associé à différents isomères dont les structures peuvent différer de manière très significative. En conséquence, les comportements observés peuvent également être attribués à des isomères différents plus efficacement ionisés par l'une ou l'autre des méthodes d'ionisation employées. Il n'en demeure pas moins que les concepts décrits dans le paragraphe précédent demeurent.

Finalement, il est bon de retenir que les espèces observées par LDI-MS nécessitent de présenter une absorbance importante à 355 nm et une forte affinité protonique en phase gazeuse (ces composés ne sont pas forcément des bases en phase condensée) lorsqu'elles sont observées sous la forme d'ions $[M + H]^+$ ou une faible énergie d'ionisation pour être photoionisé et détecté sous la forme de radicaux cations M^+ . En ESI-MS, l'efficacité de l'étape d'ionisation est gouvernée par la basicité en solution et la capacité de la molécule à être engagée dans une réaction acide/base de Lewis avec H^+ .

III.2.2. Analyse en mode de détection négatif

La Figure 22 présente les spectres de masse de la matière particulaire des MSS de cigarette Française obtenus en mode de détection négatif par LDI et ESI FT-ICR MS.

Afin de pouvoir mieux mettre en relation les signaux observés dans les deux modes d'ionisation et dans les deux polarités, il a été choisi également de reproduire sur cette figure les spectres de masse obtenus en mode de détection positif afin d'observer de manière globale l'ensemble des jeux de données.

En analyse (-) ESI et (-) LDI, l'essentiel des espèces observées correspond à une forme déprotonée des composés des MSS d'une cigarette Française. A l'exception de quelques radicaux anions $M^{\bullet-}$ détectés en LDI-MS, les ions associés aux spectres de masse pour les deux modes d'ionisation sont en effet des ions $[M - H]^-$. Le nombre de formules uniques obtenues en mode de détection négatif est significativement plus élevé (~1 400) que ce qui a été observé en ions positifs où seuls ~620 signaux différents ont pu être mis en évidence. Cela est principalement associé à une augmentation considérable du nombre des espèces présentes sur le spectre de masse LDI lorsque l'on passe du mode de détection positif au mode de détection négatif avec un quintuplement du nombre de signaux détectés. Ce type d'évolution n'est pas rencontré en ionisation ESI. On peut pour s'en convaincre examiner les quatre spectres de masse de la Figure 22 ou encore regarder les diagrammes de Venn de la Figure 20 et de la Figure 23 qui regroupent les espèces observées en ESI et LDI, respectivement en mode de détection positif et négatif.

Étude des MSS de cigarette Française par LDI et ESI FT-ICR MS

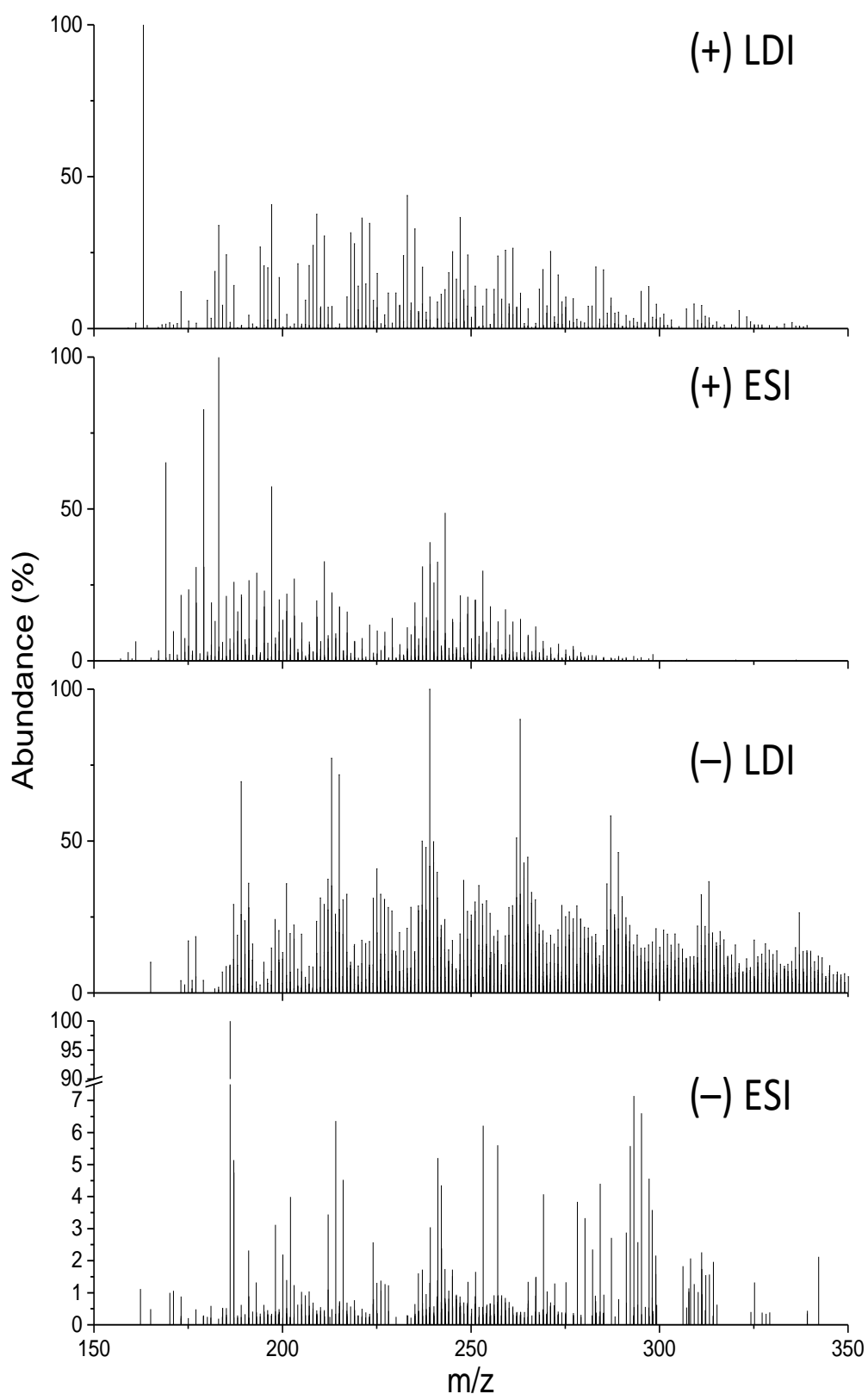


Figure 22 Spectres de masse FT-ICR de la matière particulaire des MSS de cigarette française en modes de détection positif (haut) et négatif (bas) par LDI à 355 nm et ESI.

Étude des MSS de cigarette Française par LDI et ESI FT-ICR MS

La distribution des ions observés à m/z 257 en fonction du mode d'ionisation (ESI ou LDI) et du mode de détection (+ ou -) est une nouvelle preuve de ce comportement comme le reporte le Tableau 12. Ainsi, le nombre de signaux observés par (+) ESI et (-) ESI est sensiblement identique. Il est bon de remarquer que les signaux observés en (-) ESI sont généralement de faible intensité pour l'essentiel des ions détectés. Une compétition à l'ionisation encore plus importante que ce qui a déjà été évoqué en (+) ESI a lieu en mode de détection négatif. A l'inverse, l'ionisation par désorption laser alors qu'elle ne conduisait qu'à peu de contributions différentes par masse nominale en mode positif voit une augmentation importante d'ions pour chaque masse nominale. A la différence de l'ionisation ESI, il n'existe pas plus d'un ordre de grandeur de différence entre chacune des contributions observées en (-) LDI.

Tableau 12 Nature et abondance des ions $C_xH_yN_zO_w^{+/-}$ observés à la masse nominale m/z 257 sur les spectres de masse ESI et LDI FT-ICR MS des MSS de cigarette Française en mode de détection positif et négatif. Les valeurs de DBE sont relatives à l'espèce neutre.

		m/z mesuré	DBE	Abondance (%)	m/z calculé	Erreur (ppm)
(+) LDI	$[C_{18}H_{12}N_2 + H]^+$	257,107203	14	23,95	257,107325	0,47
(+) ESI	$[C_{18}H_{12}N_2 + H]^+$	257,107343	14	0,10	257,107325	-0,07
	$[C_{15}H_{16}N_2O_2 + H]^+$	257,128483	9	7,09	257,128454	-0,11
	$[C_{16}H_{20}N_2O + H]^+$	257,164892	8	12,99	257,164830	-0,20
	$[C_{17}H_{24}N_2 + H]^+$	257,200997	7	3,13	257,201225	0,89
(-) LDI	$[C_{14}H_{10}O_5 - H]^-$	257,045498	10	16,86	257,045547	0,19
	$[C_{13}H_{10}N_2O_4 - H]^-$	257,056774	10	3,50	257,056780	0,02
	$[C_{17}H_{10}N_2O - H]^-$	257,071978	14	20,56	257,072037	0,23
	$[C_{15}H_{14}O_4 - H]^-$	257,081899	9	13,94	257,081932	0,13
	$[C_{16}H_{10}N_4 - H]^-$	257,083212	14	2,58	257,083270	0,22
	$[C_{14}H_{14}N_2O_3 - H]^-$	257,093144	9	7,36	257,093166	0,09
	$[C_{18}H_{14}N_2 - H]^-$	257,108431	13	2,57	257,108422	-0,03
(-) ESI	$[C_{11}H_{14}O_7 - H]^-$	257,066605	5	8,05	257,066676	0,28
	$[C_{15}H_{14}O_4 - H]^-$	257,081900	9	0,26	257,081932	0,12
	$[C_{14}H_{14}N_2O_3 - H]^-$	257,093164	9	0,14	257,093166	0,01
	$[C_{16}H_{18}O_3 - H]^-$	257,118343	8	0,2	257,118318	-0,10
	$[C_{15}H_{18}N_2O_2 - H]^-$	257,129597	8	0,16	257,129551	-0,18
	$[C_{17}H_{22}O_2 - H]^-$	257,154810	7	0,05	257,154703	-0,42
	$[C_{14}H_{26}O_4 - H]^-$	257,175794	2	0,41	257,175833	0,15
	$[C_{15}H_{30}O_3 - H]^-$	257,212247	1	1,25	257,212218	-0,11

Étude des MSS de cigarette Française par LDI et ESI FT-ICR MS

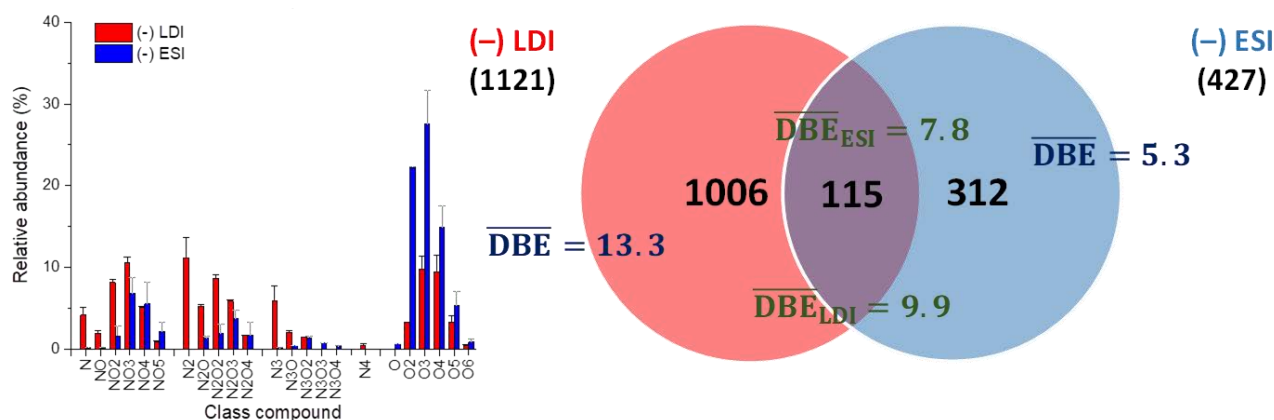


Figure 23 Distribution en classe de composés des espèces $C_xH_yN_{0-3}O_{0-4}$ détectées par (-) LDI (rouge) et (-) ESI (bleu) FT-ICR MS au cours de l'analyse des MSS de cigarette Française. Les barres d'erreur sont relatives à la variance observée pour deux répliquats. A droite, diagramme de Venn associé à ces deux séries de mesures indiquant les valeurs de DBE pondérées. Pour les espèces communes, les valeurs de DBE pondérées obtenues dans les deux modes d'ionisation sont reportées.

Deux classes d'ions sont observées sur les spectres d'ions négatifs en mode LDI et ESI (Figure 23). La première est associée à des espèces de type $C_xH_yN_zO_w$ qui contiennent des atomes d'azote et jusqu'à quatre ou cinq atomes oxygène. La seconde est révélatrice d'espèces ne contenant que de l'oxygène comme hétéroatome. Elles obéissent à la formule générale $C_xH_yO_w$. Si des espèces hydrocarbonées combinant des atomes d'azote et d'oxygène ont pu être mises en évidence en mode de détection positif comme le montre la Figure 20, les espèces azotées sont ici beaucoup plus oxygénées. Cela est particulièrement vrai sur les spectres ESI où seules les espèces contenant de un à cinq atomes d'oxygène pour un nombre de un à trois atomes d'azote sont réellement observés avec une intensité significative.

Les espèces $C_xH_yO_w$ sont associées au processus de combustion/pyrolyse de la partie ligno-cellulosique qui représente près de 25 % du tabac. Elles ont été mises en évidence dans les produits de la pyrolyse de la biomasse ligno-cellulosique et notamment dans les biohuiles issus de la pyrolyse du bois de chêne et du *Miscanthus* par Hertzog et al.¹⁴⁷ Quelle que soit la technique d'ionisation employée, l'observation des ions $C_xH_yO_w^-$ et $C_xH_yN_zO_w^-$ est favorisée par la présence de groupements hydroxyls relatifs à des fonctions acides carboxyliques ou à des phénols dont la déprotonation est favorisée par l'établissement de phénomènes de résonance du carboxylate ou de l'énolate s'il se conjugue avec un système aromatique ou polyaromatique. Ce dernier aspect constitue une explication raisonnable de l'augmentation significative du nombre de signaux sur les spectres (-) LDI. En effet, la présence dans un certain nombre de composés des MSS d'un domaine π -conjugué étendu garant d'une efficacité importante

Étude des MSS de cigarette Française par LDI et ESI FT-ICR MS

de l'absorption de photons à 355 nm substitués par au moins une fonction oxygénée à hydrogène labile (phenol ou dérivé d'acide benzoïque) est en faveur de l'observation d'espèces déprotonées en (-) LDI-MS. Cette conclusion est supportée par la valeur de DBE pondérée reporté sur la Figure 23 pour les composés spécifiquement observés à l'aide de ce mode d'ionisation qui est de l'ordre de 13,3.

La valeur de $\overline{\text{DBE}}$ des ions observés sur le spectre de masse (-) ESI est beaucoup plus faible. Egale à 3,4 pour les composés spécifiques, elle est de 5,7 pour les espèces observées à l'aide des deux modes d'ionisation. Les composés associés à ces ions sont donc beaucoup plus saturés et l'on peut considérer qu'ils ne sont pas aromatiques ou qu'ils ne contiennent dans leur structure qu'un groupement de type phényle ou pyridine substitué par des fonctions hydroxyles ou acide carboxyliques. Ces mêmes fonctions peuvent également être des substituants de chaînes hydrocarbonées ou de cycles non aromatiques.

III.2.3. Combinaison des analyses LDI-MS et ESI-MS pour l'analyse des MSS de fumée de cigarette

Afin d'évaluer plus encore la complémentarité des différents modes de détection et d'ionisation dans le cadre de cette étude, un diagramme de Venn global a été dessiné, il est reporté sur la Figure 24. Au total, plus de 1 800 ions différents sont observés alors qu'au mieux, l'emploi d'une méthode d'ionisation associée à un mode de détection ne permet que d'en observer tout au plus 1121. Il est donc particulièrement important, de combiner les modes d'ionisation LDI et ESI et les modes de détection positif et négatif afin d'accroître l'exhaustivité de la description des composés qui constituent la phase particulière des MSS de la fumée de cigarette. Au-delà d'une augmentation du nombre d'espèces détectées, cette combinaison assure l'obtention d'information sur des molécules présentant des fonctions chimiques différentes qui conduisent à des propriétés chimiques (basicité par exemple) ou physico-chimiques (absorption dans le domaine UV) qui leur permettent d'être plus ou moins efficacement ionisées en LDI et/ou ESI.

Le diagramme de Venn de la Figure 24 est à ce titre particulièrement pertinent. Il démontre en effet que le taux de redondance de l'information est, en première analyse, relativement faible. Il n'est par ailleurs pas certain que les signaux observés conjointement par deux ou trois des méthodologies employées dans cette étude, ne soient associés au même composé chimique.

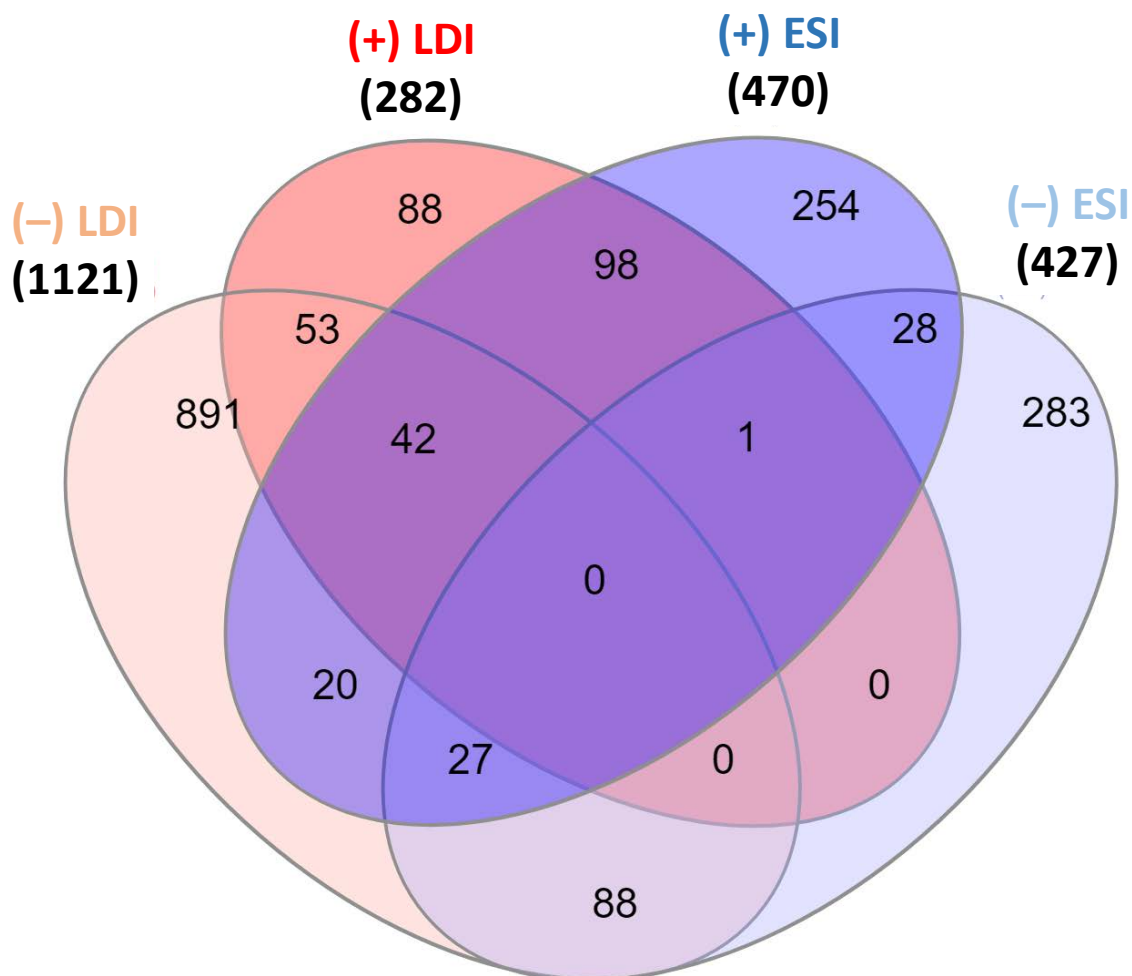


Figure 24 Diagramme de Venn des espèces observées au cours des analyses (+) LDI FT-ICR à 355 nm, (+) ESI FT-ICR, (-) LDI FT-ICR à 355 nm et (-) ESI FT-ICR MS de la phase particulaire des MSS de cigarette Française.

Conclusion

L'étude de la matière particulaire des MSS d'un type de cigarette commerciale en mode de détection positif et négatif en employant les modes d'ionisation ESI et LDI a permis de mettre en évidence une grande diversité de compositions chimiques puisque plus de 1 800 signaux différents ont pu être observés. Dans la mesure où les approches non-ciblées employant l'analyse FT-ICR MS ne sont pas en mesure de mettre en évidence ni de distinguer les isomères, il est raisonnable de penser qu'un nombre bien plus important de composés chimiques ont pu être mis en évidence. Seules des investigations plus poussées engageant d'autres moyens analytiques seront en mesure de pouvoir lever ces questionnements. Par exemple, l'application de la mobilité ionique qui dans de nombreux cas permet la distinction d'isomères sur la base de différence de section efficace de collision des ions produits dans la source d'ionisation ou encore la 2D FTMS qui

Étude des MSS de cigarette Française par LDI et ESI FT-ICR MS

permet l'analyse MS/MS simultanée des constituants d'un mélange pourrait être avantageusement utilisées dans ce cadre. Ce chapitre a cependant pu mettre en exergue l'extrême complexité et la diversité moléculaire des espèces associées aux MSS en terme de composés hétéro-aromatiques ou d'espèces hydrocarbonées comportant des hétéroatomes azote et/ou oxygène. Il ne s'agit que d'une fraction des composés présents dans les MSS, les composés purement hydrocarbonés trop peu polaires ou n'absorbant que très peu le rayonnement à 355 nm n'ont pu être mis en évidence. Une approche complémentaire pourrait être l'utilisation de la photo-ionisation à pression atmosphérique (APPI) beaucoup plus sensible aux composés apolaires ou peu polaires que les techniques d'ionisation ESI ou LDI.

Il apparaît néanmoins que les informations obtenues en combinant les résultats des différentes méthodologies appliquées dans ce chapitre peuvent être considérées comme les véritables cartes d'identité des MSS produites lors du fumage d'un type donné de cigarette. Le chapitre suivant va appliquer ces approches à l'analyse de MSS de cigarettes vendues par un même fabricant mais présentant des différences au niveau de la morphologie du filtre, de la présence d'agents de saveur ou encore du pays où elles sont commercialisées.

**CHAPITRE IV INFLUENCE DE LA MOR-
PHOLOGIE, DE L'ORIGINE
ET DE LA PRESENCE
D'AGENTS DE SAVEUR SUR
LA COMPOSITION DES AE-
ROSOLS DU COURANT
PRINCIPAL DES FUMÉES
DE CIGARETTE**

Influence de la morphologie, de l'origine et de la présence d'agents de saveur sur la composition des aérosols des MSS

Introduction

Le chapitre précédent a permis de démontrer la forte diversité des molécules présentes dans la phase particulaire des fumées en combinant deux modes d'ionisation et deux modes de détection. Ce chapitre verra l'application de tout ou partie de la méthodologie développée pour comparer la nature des MSS produites lors du fumage de cigarettes de même marque commercialisée dans différents pays ou présentant des différences significatives. A ce titre, l'influence de la nature du filtre de type classique ou de type O-ring sur la nature et la distribution des espèces sera étudiée. Ce chapitre traitera également de l'influence de la présence d'agents de saveur sur la distribution des composés présents dans les aérosols de MSS. Deux agents de saveur seront évalués. Le premier est le menthol qui est un composé fortement volatil et le second est le clou de girofle dont la poudre est intimement mélangée avec le tabac dans les cigarettes de type Kretek.

Dans un premier temps, l'influence de la nature de la cigarette sur la distribution des BTEX sera examinée en employant la méthode GC/MS développée. Il a été choisi de ne pas déterminer la concentration en nicotine dans la mesure où celle-ci est donnée systématiquement sur les paquets de cigarettes et qu'elle n'apparaît pas être un critère discriminant. Par ailleurs, la détermination de sa concentration et de la variance de la mesure au chapitre précédent a été employée pour valider notre méthodologie de fumage et d'échantillonnage plutôt que pour des fins purement analytiques.

Dans la mesure où la désorption/ionisation laser conduit lorsque l'on combine les signaux observés en mode de détection positif et négatif aux plus grands nombres de composés observés, l'analyse non-ciblée de la matière particulaire des MSS sera menée par LDI-MS. Dans certains cas, les résultats concernant les analyses réalisées par ESI-MS seront également présentés. Cette partie débutera par l'étude de l'influence de la nature du filtre. La comparaison des MSS issus de cigarettes commercialisées dans différents pays sera ensuite réalisée pour les deux groupes de cigarettes dotées soit d'un filtre normal soit d'un filtre de type O-ring. Ce chapitre sera ensuite dédié à l'examen de l'influence des deux agents de saveurs.

IV.1. Analyse des BTEX

Le Tableau 13 regroupe l'ensemble des analyses réalisées dans le cadre de l'étude de la phase gazeuse des MSS portant sur la détermination des concentrations de benzène, toluène, éthyl-benzène et xylènes. Ces études n'ont malheureusement pu être

Influence de la morphologie, de l'origine et de la présence d'agents de saveur sur la composition des aérosols des MSS

menées sur les MSS des cigarettes de type O-ring Françaises ni sur les cigarettes mentholées dans la mesure où une contamination importante du système d'injection du système chromatographique en toluène notamment, a été mise en évidence.

De manière globale, le toluène est systématiquement le BTEX le plus abondant, il présente des concentrations de l'ordre de 32 à 36 µg/cig. Une exception est néanmoins relative à la cigarette Italienne pour laquelle la concentration en toluène est deux fois plus faible que celle observée pour les autres cigarettes. La nature O-ring du filtre n'est pas à même de rendre compte de ce comportement atypique. La cigarette Qatarie également dotée d'un filtre O-ring conduit en effet à des concentrations en toluène comparable à celle obtenue dans la phase gazeuse des MSS des autres cigarettes.

Tableau 13 Concentration des BTEX en µg/cig dans la phase gazeuse des MSS des différentes cigarettes étudiées.

	Benzène	Toluène	Ethyl-benzène	m/p-xylène	o-xylène
Française	14,910 ± 0,023	34,150 ± 0,058	6,130 ± 0,010	3,270 ± 0,004	2,150 ± 0,003
Egyptienne	12,940 ± 0,060	35,600 ± 0,122	15,620 ± 0,065	1,680 ± 0,010	1,080 ± 0,004
Indonésienne	9,085 ± 0,041	36,094 ± 0,148	4,091 ± 0,026	2,566 ± 0,011	1,436 ± 0,004
Italienne (O-ring)	8,880 ± 0,021	18,860 ± 0,046	3,560 ± 0,007	2,150 ± 0,003	1,350 ± 0,001
Qatarie (O-ring)	10,151 ± 0,038	32,437 ± 0,125	3,309 ± 0,021	2,242 ± 0,009	1,350 ± 0,004
Indonésienne Kretek	5,812 ± 0,024	34,824 ± 0,158	2,079 ± 0,006	1,456 ± 0,003	0,936 ± 0,001

La concentration des autres BTEX apparaît plus sensible à la modification de la nature de la cigarette étudiée. Les cigarettes disposant d'un filtre normal (Française, Egyptienne et Indonésienne) présentent les concentrations en benzène les plus importantes et la cigarette Kretek la plus faible. Dans la mesure où la composition de la cigarette Kretek comporte jusqu'à 30% en masse de composés qui ne sont pas associés au tabac, il est raisonnable de penser que seule la combustion/pyrolyse du tabac est à l'origine de la production du benzène. La concentration en éthyl-benzène et en xylènes des MSS des cigarettes Kretek est également sensiblement inférieure à ce qui est observé pour les autres cigarettes. Une part significative de ces quatre BTEX est donc, comme le benzène, uniquement issue de la combustion/pyrolyse du tabac. A contrario, le toluène dont la concentration n'est pas sensiblement altérée par la présence de la poudre de clous de girofle et de ces dérivés, peut-être semble-t-il également produit par combustion pyrolyse de ces produits. La production plus faible de BTEX par fumage de la cigarette Indonésienne peut être relié à la nature différente de l'assemblage du tabac dans ces cigarettes. Adams et al. ont en effet démontré une grande variabilité de la pro-

Influence de la morphologie, de l'origine et de la présence d'agents de saveur sur la composition des aérosols des MSS

duction de butadiène, acétaldéhyde, NO et NH₃ en fonction de la variété de tabac (Virginia, Oriental, Burley, et Maryland).¹⁴⁸ Dans la mesure où le tabac des cigarettes Indonésiennes de type normal ou Kretek est en toute vraisemblance identique, cette explication peut également permettre de rendre compte, si l'on compare la concentration en BTEX pour les cigarettes à filtre normal, de la plus faible concentration en benzène et éthyl-benzène observée par rapport à ce qui est obtenu pour la cigarette Française et Egyptienne. Pour ce dernier type de cigarette, une spécificité importante est la quantité d'éthyl-benzène qui est près de deux à cinq fois supérieure à ce qui est communément rencontré pour les autres types de cigarettes. Peu de modifications sont à noter si l'on considère le comportement des autres cigarettes dans la production de benzène et de toluène, à l'inverse la quantité de xylènes apparaît sensiblement plus faible. Dans la mesure où la composition de la cigarette égyptienne est plus riche en tabac oriental (principal type de tabac cultivé au Moyen-Orient), les conditions de culture dans des milieux généralement pauvres en nutriments et où l'ensoleillement est important conduisent à une plus forte concentration de composés aromatiques dans les feuilles.¹⁴⁹ De manière ultime, ces espèces ainsi que les produits de combustion et de pyrolyse de ces espèces se retrouvent dans la phase gazeuse des MSS.

A l'exception de rares modifications comme la forte présence d'éthyl-benzène dans les MSS de cigarettes Egyptiennes, la relative faible quantité de toluène pour les MSS de cigarettes O-ring Italienne ou encore les quantités faibles de BTEX hors toluène dans les MSS de cigarette Kretek, les différences de concentration observées des différents BTEX pour les cigarettes étudiées sont subtiles et ne permettent pas réellement de dégager des tendances nettes en fonction de la morphologie du filtre ou de l'origine des cigarettes étudiées.

IV.2. Analyse de la phase particulaire des MSS à l'aide d'une approche non-ciblée associant la spectrométrie de masse de type FT-ICR MS

IV.2.1. Introduction

De part la plus forte diversité moléculaire de la fraction particulaire des MSS, déjà été observée dans l'étude des cigarettes Françaises, un examen des particules de MSS des différentes cigarettes pourrait permettre la mise en évidence de comportements différents plus tranchés que ce qui a été observé dans la section consacrée à l'étude des BTEX.

Influence de la morphologie, de l'origine et de la présence d'agents de saveur sur la composition des aérosols des MSS

Avant de décrire de manière aussi exhaustive que possible le comportement de chaque cigarette, il convient de faire un bilan des signaux observés tant en mode de détection positif que négatif par LDI-MS. La Figure 25 reporte ainsi le nombre de pics détectés pour les huit types de cigarette à l'étude.

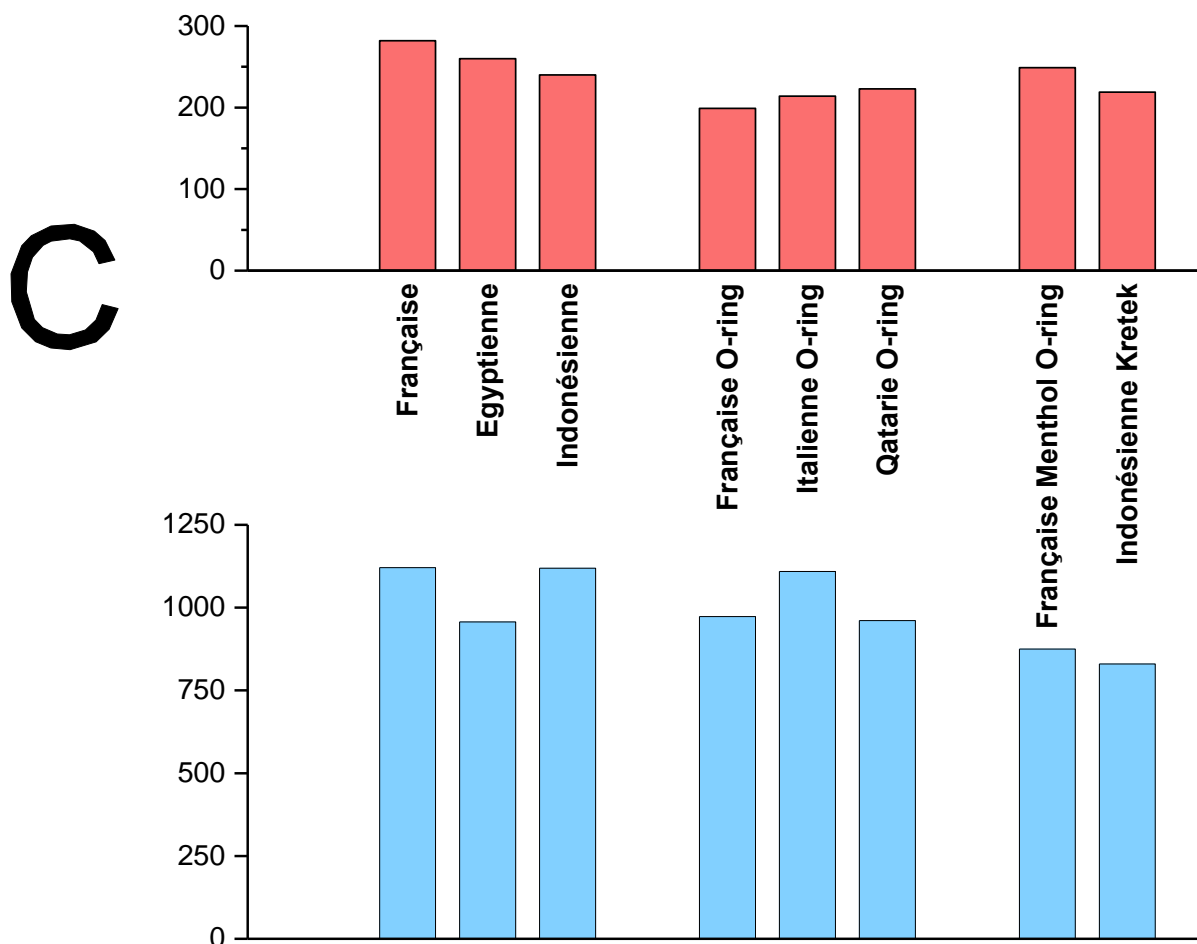


Figure 25 Nombre de signaux observés en mode de détection positif (haut) et négatif (bas) possédant un rapport signal/bruit supérieur à 4,5 lors de l'analyse de la phase particulaire des huit cigarettes par LDI-MS.

De 200 à 300 signaux sont observés par (+) LDI-MS pour les huit types de cigarette. Le nombre de pics obtenus sur le spectre de masse en mode négatif est sensiblement plus élevée puisqu'habituellement compris entre 950 et plus de 1 100. Si le nombre d'espèces radicalaires est de l'ordre de 10 à 15 % des espèces observées, leur part dans le courant d'ions total est limité à moins de 5 %. Ces espèces ont cependant la particularité de présenter une valeur de DBE pondérée de 1,5 à 2,5 points supérieurs à celle des espèces non-radicales. Cette constatation n'est pas surprenante dans la mesure où, si l'on considère plus spécifiquement la formation de radicaux cations, les espèces présentant un système π -conjugué étendu possèdent une énergie de première

Influence de la morphologie, de l'origine et de la présence d'agents de saveur sur la composition des aérosols des MSS

ionisation plus faible que celles n'en disposant pas. Des photons à la longueur d'onde de 355 nm transportant une énergie de l'ordre de 3,5 eV conduisent à des processus de photoionisation à deux photons sur un nombre finalement limité de composés des MSS. Ainsi la majorité des espèces observées correspondent à des espèces protonées ou déprotonées. Les valeurs moyennes de DBE pondérées de l'ordre de 12 à 13 semblent indiquer que les processus de déprotonation sont plus favorables dans la mesure où la stabilisation de la charge négative pour des systèmes aromatiques ou polyaromatiques peut être appréhendée au travers des différentes formes mésomères de l'ion.

De manière globale, il n'y a que peu de corrélations entre le nombre de signaux observés et les particularités morphologiques ou compositionnelles de la cigarette. L'évolution observée dans les deux modes d'ionisation est par ailleurs peu corrélée. On peut à ce titre examiner le comportement des cigarettes possédant un filtre de type O-ring. Si en mode de détection positif, le nombre de pics augmente lorsqu'on considère la cigarette Française, puis l'Italienne et enfin la Qatarie, l'évolution observée en mode de détection négatifs est plus chaotique. En conclusion, il est nécessaire d'affiner au niveau moléculaire l'analyse afin de mettre en évidence d'éventuelles variations de la composition de la phase particulaire de la fumée de cigarette.

IV.2.2. Influence de la morphologie du filtre

Afin de s'affranchir de toute variabilité liée à la nature du tabac ou du papier de la feuille de cigarette utilisée, l'étude de l'influence de la morphologie du filtre sur la nature et la distribution des composés de la phase particulaire des fumées de cigarette est réalisée en comparant les résultats obtenus pour deux cigarettes commercialisées en France. La première dispose d'un filtre normal et la seconde d'un filtre de type O-ring.

Plusieurs points de comparaison seront exploités au-delà du simple référencement du nombre de signaux observés de manière conjointe ou spécifique pour chacun des deux types de cigarettes. Il est à noter que la démarche mise en place dans cette section sera systématiquement adoptée dans les sections suivantes.

La Figure 26 reporte sous la forme d'un diagramme de Venn les signaux qui sont communs ou spécifiques aux spectres de masse des MSS des cigarettes Françaises en fonction de la nature du filtre. Pour aller plus avant dans la comparaison, le Tableau 14 fournit la valeur de \overline{DBE} et la part du TIC relatives aux espèces communes et spécifiques.

Influence de la morphologie, de l'origine et de la présence d'agents de saveur sur la composition des aérosols des MSS

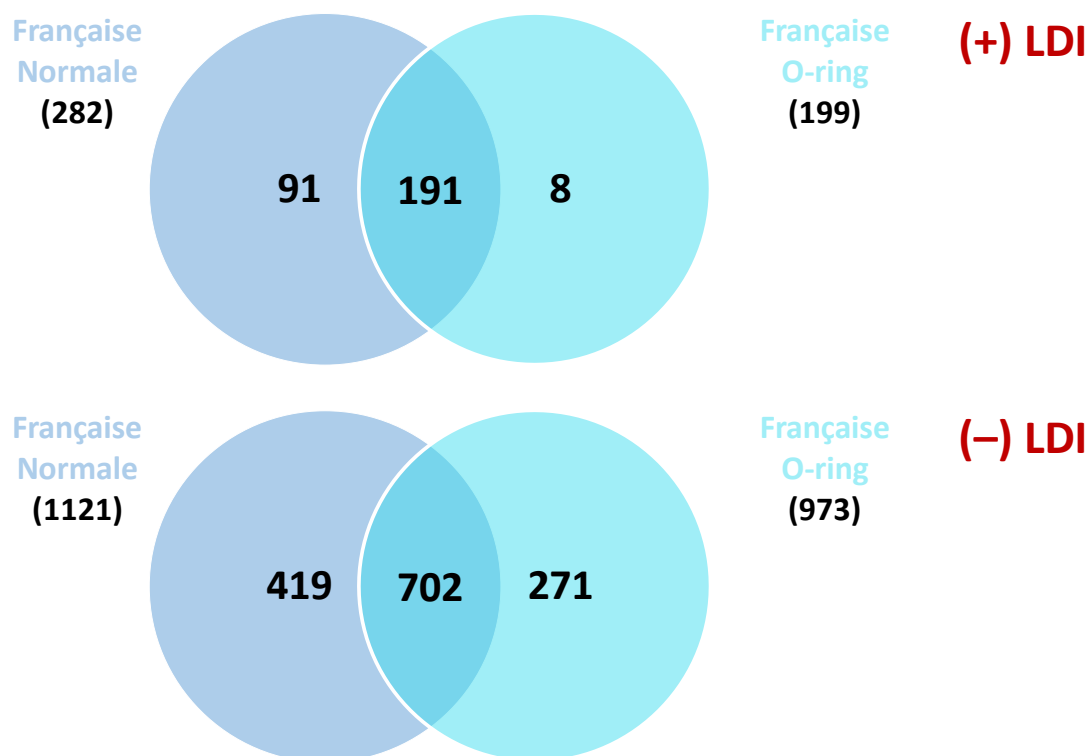


Figure 26 Diagramme de Venn relatif aux espèces communes ou spécifiques des MSS de cigarettes Françaises dotées d'un filtre normal ou de type O-ring observées par LDI en mode de détection positif (haut) et négatif (bas).

Tableau 14 Valeur de la DBE pondérée et de l'intensité relative des espèces communes ou spécifiques des MSS de cigarettes Françaises dotées d'un filtre normal ou de type O-ring observées par LDI en mode de détection positif et négatif.

		DBE – (% TIC)	
		(+) LDI	(-) LDI
Cigarette avec filtre normal	Espèces spécifiques	12,0 – (4,9%)	13,2 – (18,1%)
	Espèces communes	11,1 – (95,1%)	12,7 – (81,9%)
Cigarette avec filtre O-ring	Espèces spécifiques	16,9 – (1,0%)	16,5 – (21,2%)
	Espèces communes	11,1 – (99,0%)	14,7 – (78,8%)

Le nombre et la contribution au TIC des signaux communs aux deux types de cigarette sont beaucoup plus importants que ce qui est observé pour les signaux spécifiques à la cigarette possédant un filtre normal ou de type O-ring. Ce constat est plus marqué encore lorsque l'analyse est réalisée en mode de détection positif. Dans ce cas, la part des espèces spécifiques à la cigarette O-ring est marginale puisqu'associée à seulement huit signaux. La situation est quelque peu différente pour la cigarette avec

Influence de la morphologie, de l'origine et de la présence d'agents de sa- veur sur la composition des aérosols des MSS

filtre normal, un peu plus du tiers des pics détectés sont en effet uniquement observés sur le spectre de masse des MSS de la cigarette à filtre classique. Il s'agit néanmoins de signaux ne contribuant que faiblement au TIC puisque ne représentant que moins de 5% de celui-ci. En mode de détection négatif, un comportement plus tranché est observé. La part des espèces spécifiques à l'une ou à l'autre des MSS est de l'ordre de 20 % du TIC et représente une fraction importante des espèces observées tant au niveau de la cigarette avec un filtre classique que celle qui est associée à un filtre de type O-ring. Une différence significative entre les deux types des MSS est relative aux valeurs de DBE pondérées obtenues en (-) LDI. A la différence des résultats obtenus en (+) LDI pour lesquels la valeur de DBE pondérée pour les espèces conjointement observées pour les deux types de MSS est rigoureusement identique, elle diffère de deux points lorsque les spectres de masse obtenus en mode de détection négatif sont examinés. Ce comportement est encore renforcé si l'on s'attache à considérer les espèces spécifiques. La valeur de \overline{DBE} est de plus de trois points supérieure pour les espèces spécifiques à la cigarette O-ring par rapport à la cigarette avec un filtre classique. Il apparaît par conséquent que les espèces relatives à la fraction particulaire des MSS pour les cigarettes de type O-ring sont plus insaturées que celles des MSS des cigarettes à filtre normal. L'établissement d'un diagramme de Van Krevelen reportant le rapport H/C en fonction du rapport O/C (Figure 27) confirme cette analyse.

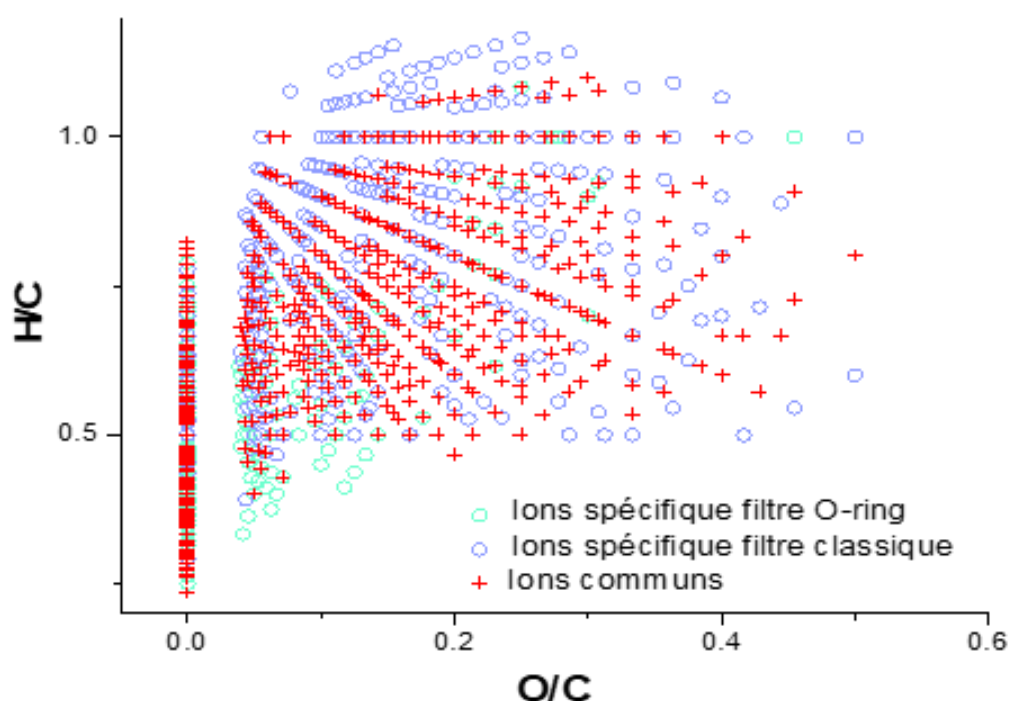


Figure 27 Diagramme de Van Krevelen des espèces communes et spécifiques aux MSS de cigarettes Françaises dotées d'un filtre normal ou de type O-ring observées par LDI en mode de détection négatif.

Influence de la morphologie, de l'origine et de la présence d'agents de saveur sur la composition des aérosols des MSS

Les espèces communes et celles spécifiques à la cigarette possédant un filtre classique se répartissent de manière homogène sur l'ensemble de carte correspondant à des rapports H/C compris entre 0,5 et 1 et des rapports O/C inférieurs à 0,6. Les rapports H/C et O/C des espèces spécifiques aux MSS de la cigarette de type O-ring sont quant à eux significativement plus faibles puisqu'elles se répartissent globalement dans le cadran inférieur gauche de la carte de Van Krevelen. Les espèces spécifiques aux MSS de la cigarette avec filtre classique sont donc globalement plus oxygénées et plus saturées que celles des MSS de la cigarette O-ring. Un examen de la distribution des espèces en termes de classes de composés pour ces deux types de cigarette permet encore de préciser ces éléments comme le montre la Figure 28.

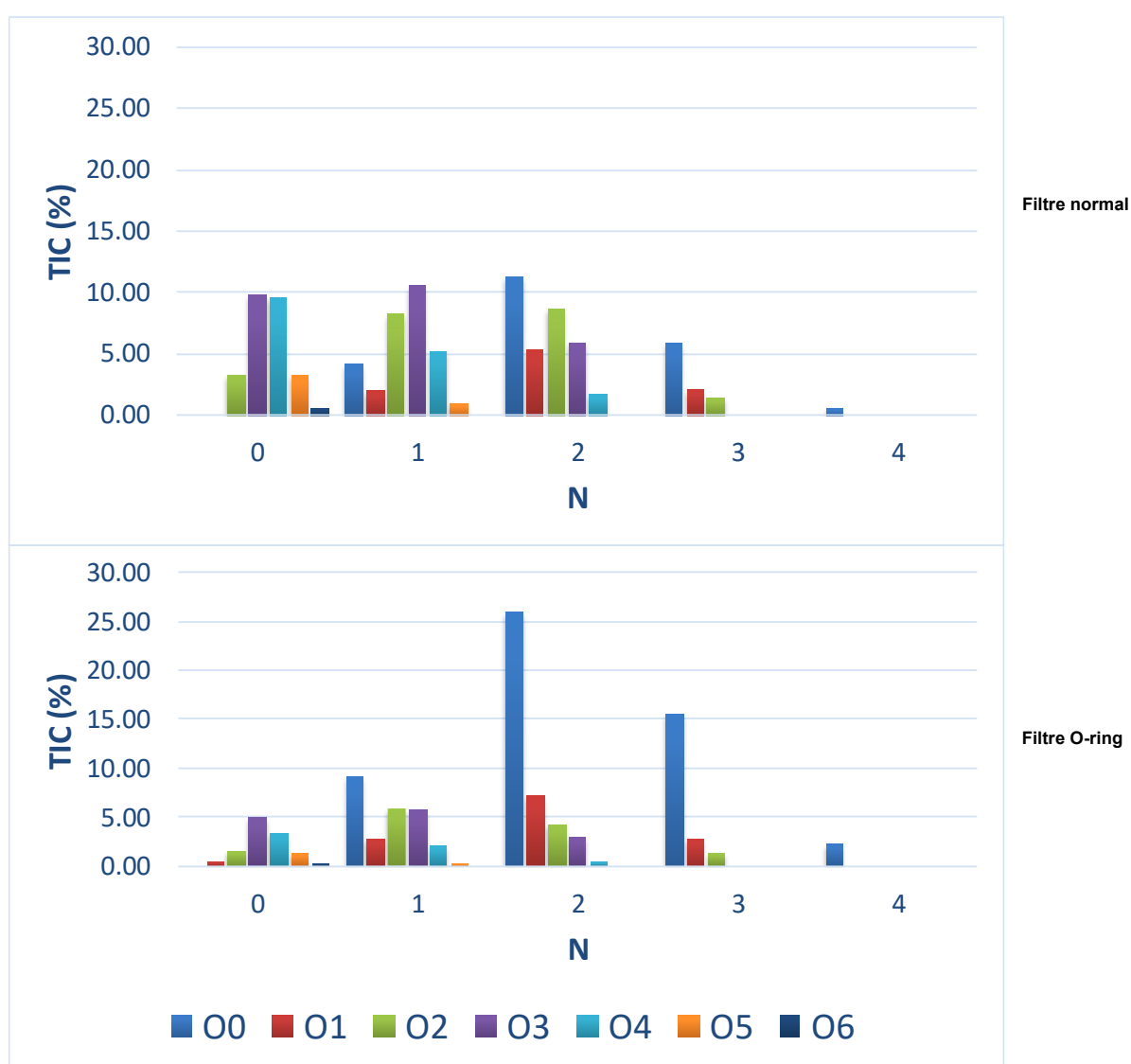


Figure 28 Distribution des espèces observées sur le spectre de masse obtenu par LDI en mode de détection négatif pour les MSS de cigarettes Françaises dotées d'un filtre normal (haut) ou de type O-ring (bas) en fonction du nombre d'atomes d'oxygène et d'azote.

Influence de la morphologie, de l'origine et de la présence d'agents de saveur sur la composition des aérosols des MSS

L'étude de la distribution des espèces en terme de classes de composés est révélatrice de fortes différences entre les deux types de MSS. Si pour la cigarette dotée d'un filtre classique le courant d'ions total est largement distribué sur les espèces présentant de 0 à 4 atomes d'azote et de 0 à 6 atomes d'oxygène, les espèces purement azotées dominent largement le spectre de masse des MSS de la cigarette O-ring. Cela se traduit par une faible contribution des espèces de type $C_xH_yO_w^-$ et une abondance relative cumulée des espèces de type $C_xH_yN_z^-$ supérieure à 50 % du TIC. Il apparaît ainsi que la modification de la nature du filtre a une influence notable sur l'importance des espèces oxygénées.

La nature du tabac et des autres ingrédients ainsi que les processus de pyrolyse et de combustion de la cigarette étant sensiblement équivalents pour les deux cigarettes, la nature du filtre est en toute vraisemblance la seule responsable des différences observées. Les composés des MSS sont relatifs à différents processus prenant place au cours du fumage d'une cigarette. En premier lieu, la combustion des différents constituants de la cigarette (tabac, papier et additifs) sous l'effet de la température et de l'apport en oxygène sous l'effet de l'aspiration du fumeur. Les gaz chauds relatifs au MSS traversent également la partie non consommée de la cigarette. Sous l'effet de la température du courant chaud de ces fumées, certains composés peuvent se vaporiser et être entraînés avec les composés des MSS produits dans la braise lors de la combustion. Dans la mesure où ces processus ont lieu loin de la zone de haute température que constituent la braise, les espèces entraînées par ce courant gazeux chaud sont donc principalement liées aux composés les plus volatils du tabac. A proximité de la zone relative à la braise, la température atteinte est bien supérieure à la température ambiante, il s'agit également d'une région pauvre en oxygène dans la mesure où l'oxygène contenu dans l'air inspiré par le fumeur lors d'une bouffée est très fortement consommé au cours de la combustion du tabac qui prend place dans la braise. Cette zone est donc propice à la production de composés issus de processus de pyrolyse. Finalement, les espèces qui atteignent le filtre sont le mélange des produits de combustion et des produits de pyrolyse des différents ingrédients de la cigarette auxquelles s'ajoutent les espèces volatiles du tabac comme la nicotine qui sont entraînées par le courant de gaz chauds. Les produits de pyrolyse et de combustion peuvent contenir une part très importante d'espèces radicalaires qui sont fortement réactives notamment vis-à-vis de l'oxygène de l'air et des molécules d'eau présentes naturellement dans l'atmosphère. Le filtre est une zone particulière de la cigarette, il permet en fonction de sa perméabilité une dilution plus ou moins importante des MSS par un apport plus ou moins important de gaz atmosphérique. L'addition sur les espèces radicalaires d'oxygène ou de fonctions hydroxyles conduit à un accroissement de la quantité d'oxygène présent dans les espèces relatives aux constituants des MSS. Un degré d'oxygénation important des composés des MSS pour les cigarettes

Influence de la morphologie, de l'origine et de la présence d'agents de saveur sur la composition des aérosols des MSS

avec filtre classique indique une capacité de dilution des fumées de cigarettes plus importantes de ce type de filtre. A l'inverse, l'apport d'oxygène et de vapeur d'eau est plus limité avec le filtre de type O-ring, la stabilisation des espèces radicalaires peut avoir lieu au travers du processus d'élimination et à la formation de double liaison. L'observation de composés possédant une DBE pondérée plus importante pour les composés des MSS est à même de confirmer cette interprétation.

IV.2.3. Influence de l'origine des cigarettes

La section précédente a montré la forte influence de la nature du filtre sur la distribution des espèces de la phase particulaire des MSS notamment dans le cadre de l'étude des ions obtenus par LDI en mode de détection négatif. Il convient par conséquent de traiter de manière distincte les cigarettes possédant un filtre classique et celles dotées d'un filtre de type O-ring afin de ne pas superposer les variations liées à l'origine de la cigarette et celles relatives à la morphologie du filtre.

IV.2.3.a. Les cigarettes à filtre classique

Trois cigarettes à filtre classique ont été examinées dans cette étude. La première est la cigarette Française dont la description exhaustive a été réalisée au chapitre III et qui a permis d'établir la méthodologie d'analyse non-ciblée. Les deux suivantes sont des cigarettes commercialisées par le même fabricant en Egypte et en Indonésie. Seule l'analyse en mode de détection positif et négatif par LDI-MS sera présentée dans cette section.

La Figure 29 reporte sous la forme de deux diagrammes de Venn les résultats des analyses (+) LDI et (-) LDI en présentant pour les deux modes de détection employés les signaux communs aux trois types de MSS, communes à deux types de MSS ou spécifiques à chacun des échantillons de MSS étudiés. Le Tableau 15 reporte quant à lui pour chacune de ces classes de signaux la valeur de DBE pondérée et la part du courant d'ion total associée.

En mode de détection positif, l'essentiel des signaux observés est identique quel que soit l'échantillon de MSS étudié puisque plus de 200 pics sont communs aux trois spectres de masse. La part du TIC à laquelle ils se rapportent est extrêmement importante puisqu'elle varie de plus de 96% pour les MSS de la cigarette Française à plus de 98% pour les MSS de la cigarette Egyptienne. La DBE pondérée à ces espèces communes est très peu dépendante de l'origine de la cigarette qui a permis de produire ces particules de MSS puisqu'elle est de l'ordre de 11. Une valeur équivalente est par ail-

Influence de la morphologie, de l'origine et de la présence d'agents de sa- veur sur la composition des aérosols des MSS

leurs obtenue pour les espèces spécifiques aux MSS de cigarettes Françaises (31 si-
gnaux) où qui ne sont communes qu'aux cigarettes Françaises et Egyptiennes (43 si-
gnaux). Un examen plus détaillé des spectres de masse obtenus montre qu'une part si-
gnificative de ces espèces sont également présentes sur le spectre de masse de cigarette
Egyptienne et Indonésienne mais avec un rapport signal/bruit inférieur au seuil qui a
arbitrairement été fixé à 4,5. On ne peut en conséquence définir sur la base de la distri-
bution des ions obtenus sur les spectres de masse en (+) de différences significatives
entre les trois échantillons de MSS étudiées.

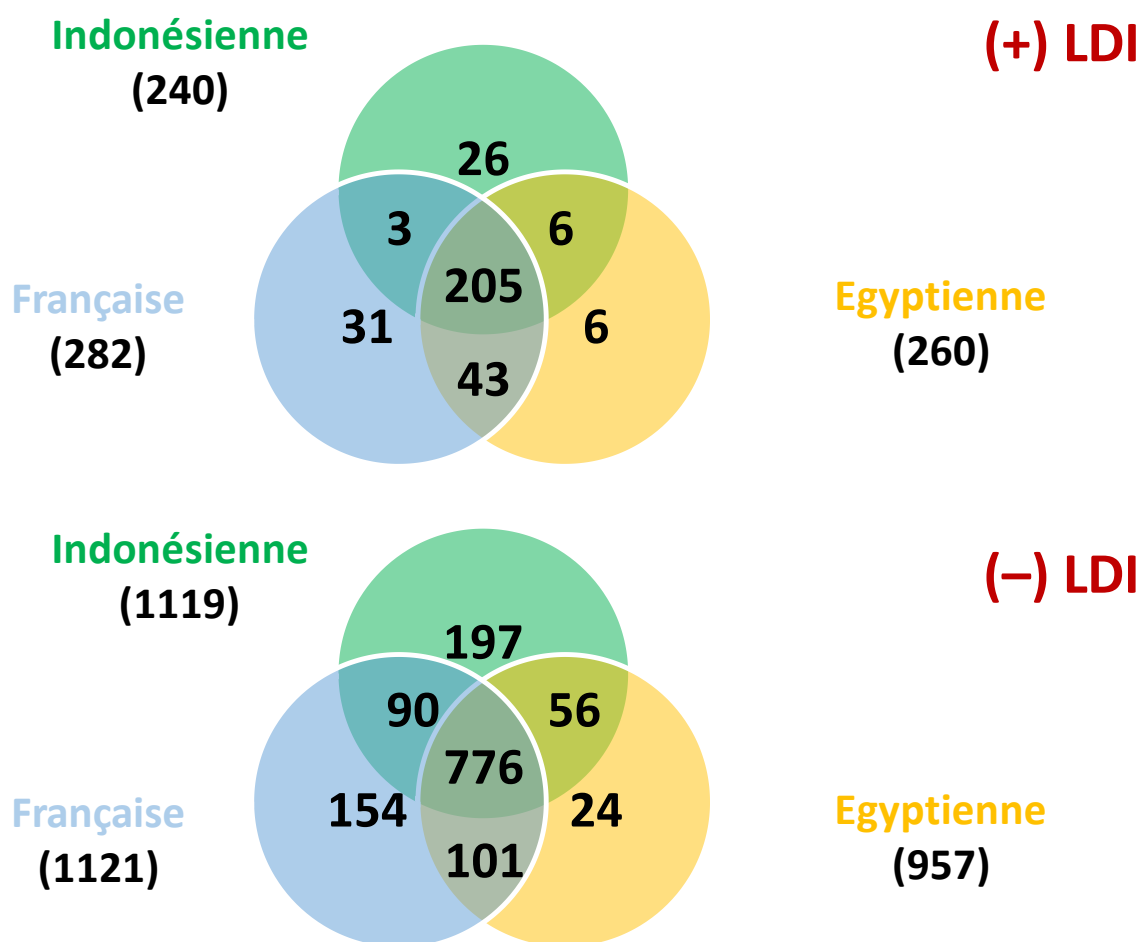


Figure 29 Diagrammes de Venn relatifs aux espèces communes ou spécifiques des MSS de cigarettes Françaises, Indonésienne et Egyptienne dotées d'un filtre normal observées par LDI en mode de détection positif (haut) et négatif (bas).

En mode de détection négatif, les différences apparaissent plus marquées dans la mesure où plus d'un sixième du TIC obtenu sur le spectre de masse des trois types de MSS est, soit associé à des composés spécifiques, soit uniquement communs à deux des échantillons étudiés. Les espèces communes qui représentent de 83 à 86% du TIC et une écrasante proportion des signaux observés (près de 800 pics) ont, quelle que soit la

Influence de la morphologie, de l'origine et de la présence d'agents de sa- veur sur la composition des aérosols des MSS

nature de la cigarette examinée, une valeur de DBE pondérée proche de 13. Cela indique qu'au-delà d'observer des signaux identiques pour les trois types de MSS, la distribution de ceux-ci est globalement identique. A la différence de ce qui a pu être observé en (+) LDI, le nombre de signaux spécifiques à chaque type de MSS ou communes à deux d'entre eux peut se révéler important. Ainsi, pour les MSS de cigarettes Indonésiennes près de 200 signaux ne sont pas observés, avec un rapport signal/bruit supérieur à 4,5. Cela concourt globalement, comme noté plus haut, à une diminution de la part du TIC relative aux espèces communes.

Tableau 15 Valeur de la DBE pondérée et de l'intensité relative des espèces communes ou spécifiques aux MSS de cigarettes Françaises, Indonésienne et Egyptienne dotées d'un filtre normal observées par LDI en mode de détection positif et négatif.

		DBE – (% TIC)	
		(+) LDI	(-) LDI
Cigarette Française	Espèces spécifiques	11,3 – (0,6%)	13,7 – (3,4%)
	Espèces communes avec la cigarette Indonésienne	16,9 – (0,1%)	14,2 – (3,1%)
	Espèces communes avec la cigarette Egyptienne	10,7 – (2,7%)	13,3 – (10,3%)
	Espèces communes	11,1 – (96,6%)	12,7 – (83,2%)
Cigarette Indonésienne	Espèces spécifiques	16,7 – (1,6%)	13,0 – (12,8%)
	Espèces communes avec la cigarette Française	16,6 – (0,2%)	14,3 – (2,3%)
	Espèces communes avec la cigarette Egyptienne	16,7 – (0,4%)	11,5 – (1,4%)
	Espèces communes	11,6 – (97,8%)	12,8 – (83,5%)
Cigarette Egyptienne	Espèces spécifiques	14,0 – (0,1%)	12,5 – (0,9%)
	Espèces communes avec la cigarette Française	10,6 – (1,6%)	13,6 – (12,3%)
	Espèces communes avec la cigarette Indonésienne	16,4 – (0,2%)	12,5 – (1,1%)
	Espèces communes	10,9 – (98,1%)	13,1 – (85,7%)

Si les signaux communs à deux types de MSS sont plus spécifiquement examinés en terme de valeur de DBE pondérée, les conclusions énoncées pour les espèces communes aux trois échantillons sont également valables. Dans la mesure où les valeurs de DBE pondérée sont soit identiques soit très proches, la distribution de ces espèces au

Influence de la morphologie, de l'origine et de la présence d'agents de saveur sur la composition des aérosols des MSS

sein de la classe de ces composés est très similaire d'un type de MSS à l'autre. Il est également intéressant de noter que cette classe de composés possède pour les deux MSS une intensité relative comparable. Ainsi, les espèces communes aux MSS des cigarettes Françaises et Égyptiennes possèdent respectivement, une valeur de \overline{DBE} de 13,3 et 13,6 et représentent 10,3% et 12,3% du TIC.

Un examen détaillé des ~200 composés spécifiques aux MSS de la cigarette Indonésienne, représentant 12,8% du TIC, indique qu'il s'agit d'espèces globalement moins oxygénées que les espèces qui sont communes à au moins un autre type de MSS. Parmi ces composés spécifiques, ceux contenant au plus un atome oxygène, de type $C_xH_yN_{1-3}O_{0-1}$ représentent près de la moitié du courant d'ion total alors qu'ils ne représentent que 37% de l'intensité globale des espèces communes aux trois échantillons de MSS. Afin d'aller plus loin dans l'analyse la Figure 30 reporte l'intensité des différentes familles de composés en fonction du nombre d'atomes d'oxygène et d'azote.

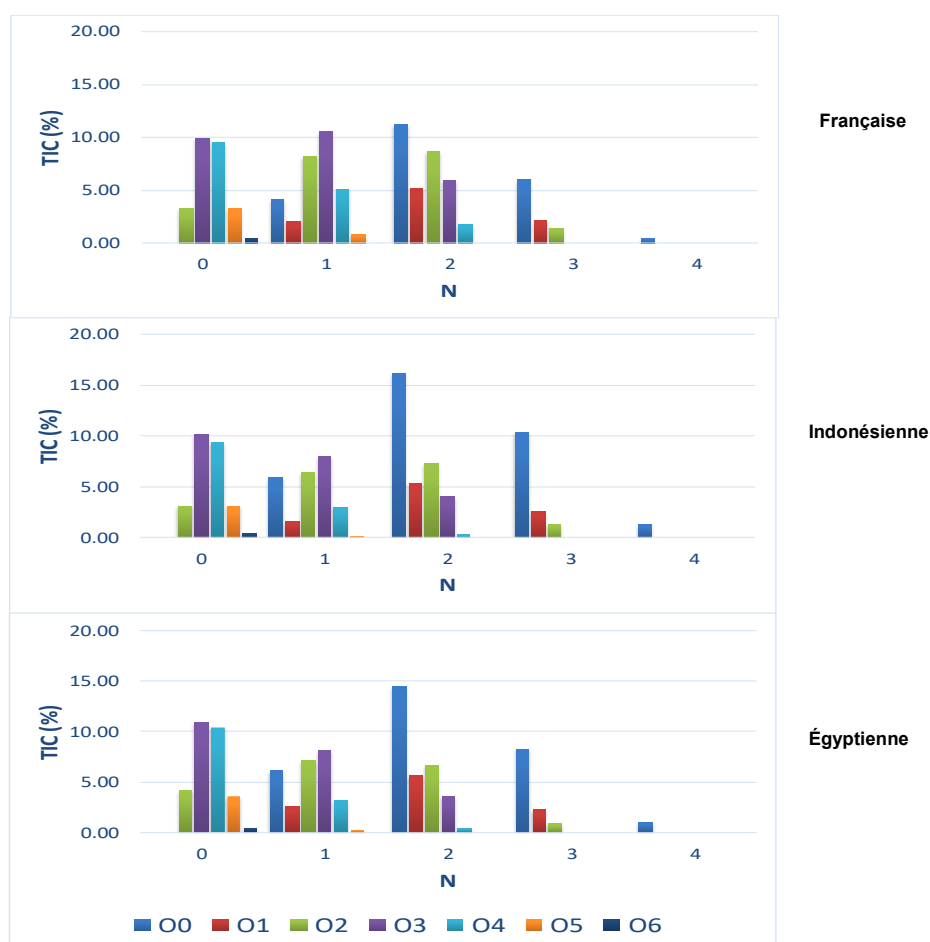


Figure 30 Distribution des espèces observées sur le spectre de masse obtenu par LDI en mode de détection négatif pour les MSS de cigarettes Françaises (haut), Indonésienne (milieu) et Égyptienne (bas) en fonction du nombre d'atomes d'oxygène et d'azote.

Influence de la morphologie, de l'origine et de la présence d'agents de saveur sur la composition des aérosols des MSS

Alors que l'importance des espèces de type $C_xH_yO_{2-6}$ est sensiblement identique pour les échantillons de MSS étudiés dans cette section, des différences notables sont observées pour les composés contenant à la fois des atomes d'oxygène et d'azote. Les fumées de cigarette Française se démarquent nettement des deux autres dans la mesure où, pour les signaux associés à des composés possédant un nombre d'atomes d'azote donné, le pourcentage du TIC des espèces contenant de 2 à 5 atomes est significativement plus élevé que ce qui est observé pour les MSS des cigarettes Indonésiennes et Egyptiennes. Pour ces dernières, la contribution des espèces $C_xH_yN_{1-3}O_{2-6}$ est plus faible sans pour autant atteindre les niveaux observés dans le cadre de l'étude de la cigarette Française de type O-ring. Les différences entre les MSS des cigarettes Indonésiennes et Egyptiennes sont plus subtiles. Elles concernent principalement une plus grande importance des espèces $C_xH_yN_{2-4}O_{0-1}$ pour les premières que l'on peut mettre en relation directe avec la contribution de 50% des espèces $C_xH_yN_{1-3}O_{0-1}$ au courant d'ions spécifiques aux MSS de cigarette Indonésienne. Même si les filtres classiques utilisés dans la fabrication des cigarettes Françaises, Indonésienne et Egyptienne ne sont pas rigoureusement identiques, leur morphologie et leur composition sont très similaires. Ce n'est donc pas ce paramètre qui est le plus pertinent pour expliquer les différences observées. La composition du mélange de tabac est plus sûrement impliquée. Des différences de mélange mais également de culture des plants de tabac ou de maturation et de séchage des feuilles de tabac peuvent conduire à une modification de la nature mais aussi de la distribution des espèces contenues dans la cigarette et *in fine* présentes dans les MSS. A ce titre, les procédés de séchage et de maturation du tabac employés en Egypte et en Indonésie semblent moins contrôlés qu'en France. Une dégradation plus avancée des protéines et peptides du tabac Indonésien et Egyptien associée à un séchage à l'air libre pourrait conduire globalement à une diminution de la quantité d'espèces azotées fortement oxygénées.

IV.2.3.b. Les cigarettes à filtre O-ring

Trois cigarettes à filtre de type O-ring d'une même marque ont été soumises à l'étude. Deux sont d'origine Européenne et sont commercialisées en France et en Italie, la dernière est commercialisée au Qatar. Dans la mesure où ce pays désertique, ne pratique pas la culture du tabac, la fabrication des cigarettes qui y sont vendues implique l'emploi de tabac cultivé dans d'autres pays. Il n'a malheureusement pas été possible d'obtenir d'information concernant l'origine des tabacs employés pour la confection des cigarettes Qataries.

La Figure 31 présente les diagrammes de Venn des signaux communs et spécifiques obtenus par LDI-MS des MSS des cigarettes Françaises, Italiennes et Qatarie et

Influence de la morphologie, de l'origine et de la présence d'agents de saveur sur la composition des aérosols des MSS

Figure 32, la distribution relative des espèces observées en (-) LDI en fonction du nombre d'atomes d'oxygène et d'azote qu'elles contiennent. Le Tableau 16 reporte quant à lui la valeur de DBE pondérée et le pourcentage du TIC associés aux espèces spécifiques à chacune des MSS et aux signaux qui sont communs à deux ou à trois échantillons de MSS.

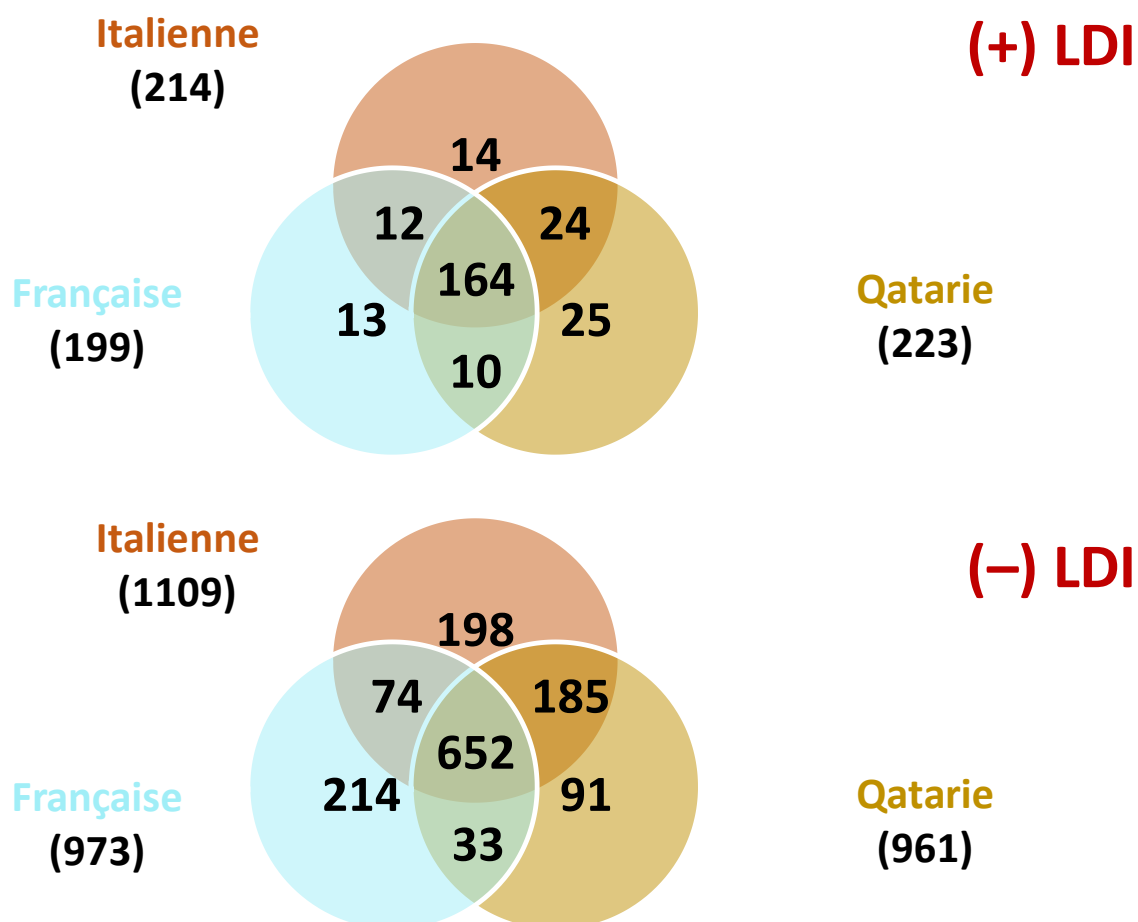


Figure 31 Diagramme de Venn relatif aux espèces communes ou spécifiques des MSS de cigarettes Françaises, Italienne et Qatarie dotées d'un filtre de type O-ring observées par LDI en mode de détection positif (haut) et négatif (bas).

De manière identique à ce qui a pu être mis en évidence dans les deux sections précédentes, l'analyse par (+) LDI conduit à un nombre très important de composés identiques contribuant à la plus grande part du courant d'ions. La valeur pondérée de la DBE est également sensiblement égale pour ces trois échantillons ce qui témoigne d'un comportement quasi identique pour les trois échantillons examinés. Le nombre limité de composés spécifiques ou de composés qui sont communs à deux des MSS confirme cette première analyse.

Influence de la morphologie, de l'origine et de la présence d'agents de sa- veur sur la composition des aérosols des MSS

L'examen du comportement des signaux détectés par LDI lorsque l'analyse est réalisée en mode de détection négatif permet la mise en évidence d'un certain nombre de spécificités des trois échantillons de MSS. Celles-ci sont déjà identifiées par le nombre important de signaux spécifiquement observés pour les MSS de cigarettes Françaises, Italiennes et Qatarie, de l'ordre de 100 à 200, ceux-ci contribuant jusqu'à 20% du TIC comme cela est observé pour la cigarette Française.

Tableau 16 Valeur de la DBE pondérée et de l'intensité relative des espèces communes ou spécifiques aux MSS des cigarettes Françaises, Italienne et Qatarie dotées d'un filtre de type O-ring observées par LDI en mode de détection positif et négatif.

		DBE - (% TIC)	
		(+ LDI	(-) LDI
Cigarette Française	Espèces spécifiques	13,6 – (1,3%)	15,8 – (18,2%)
	Espèces communes avec la cigarette Italienne	10,0 – (1,2%)	13,4 – (1,9%)
	Espèces communes avec la cigarette Qatarie	16,2 – (1,2%)	18,4 – (1,8%)
	Espèces communes	11,1 – (96,3%)	14,9 – (78,1%)
Cigarette Italienne	Espèces spécifiques	9,9 – (0,8%)	12,2 – (2,5%)
	Espèces communes avec la cigarette Française	9,6 – (1,0%)	13,4 – (1,8%)
	Espèces communes avec la cigarette Qatarie	11,7 – (3,5%)	14,4 – (13,4%)
	Espèces communes	10,7 – (94,7%)	13,4 – (82,3%)
Cigarette Qatarie	Espèces spécifiques	15,5 – (1,0%)	14,2 – (1,8%)
	Espèces communes avec la cigarette Française	15,4 – (0,9%)	17,6 – (1,1%)
	Espèces communes avec la cigarette Italienne	12,0 – (1,6%)	14,6 – (14,9%)
	Espèces communes	10,9 – (96,5%)	13,9 – (82,2%)

Ces composés spécifiques présentent une valeur de DBE pondérée bien supérieure à celle des composés observés pour les autres types de MSS. L'examen de la valeur de DBE pondérée des composés communs aux trois MSS est, pour la cigarette Française, sensiblement supérieure à celle des deux autres échantillons de MSS. Dans la mesure où les composés mis en évidence par (-) LDI ne contiennent au plus qu'une trentaine d'atomes de carbone, il convient de considérer que l'essentiel de ces composés

Influence de la morphologie, de l'origine et de la présence d'agents de saveur sur la composition des aérosols des MSS

fortement insaturés possèdent une structure polycondensée. La distribution relative des espèces en fonction de leur nombre d'atomes d'oxygène et d'azote reportée sur la Figure 32 indique la forte proportion pour les MSS de la cigarette française de composés faiblement oxygénés présentant de un à quatre atomes d'azote. Il est donc raisonnable de considérer qu'une part essentielle des espèces observées sur le spectre de masse en (-) LDI correspondent à des composés polyaromatiques hétéroatomiques.

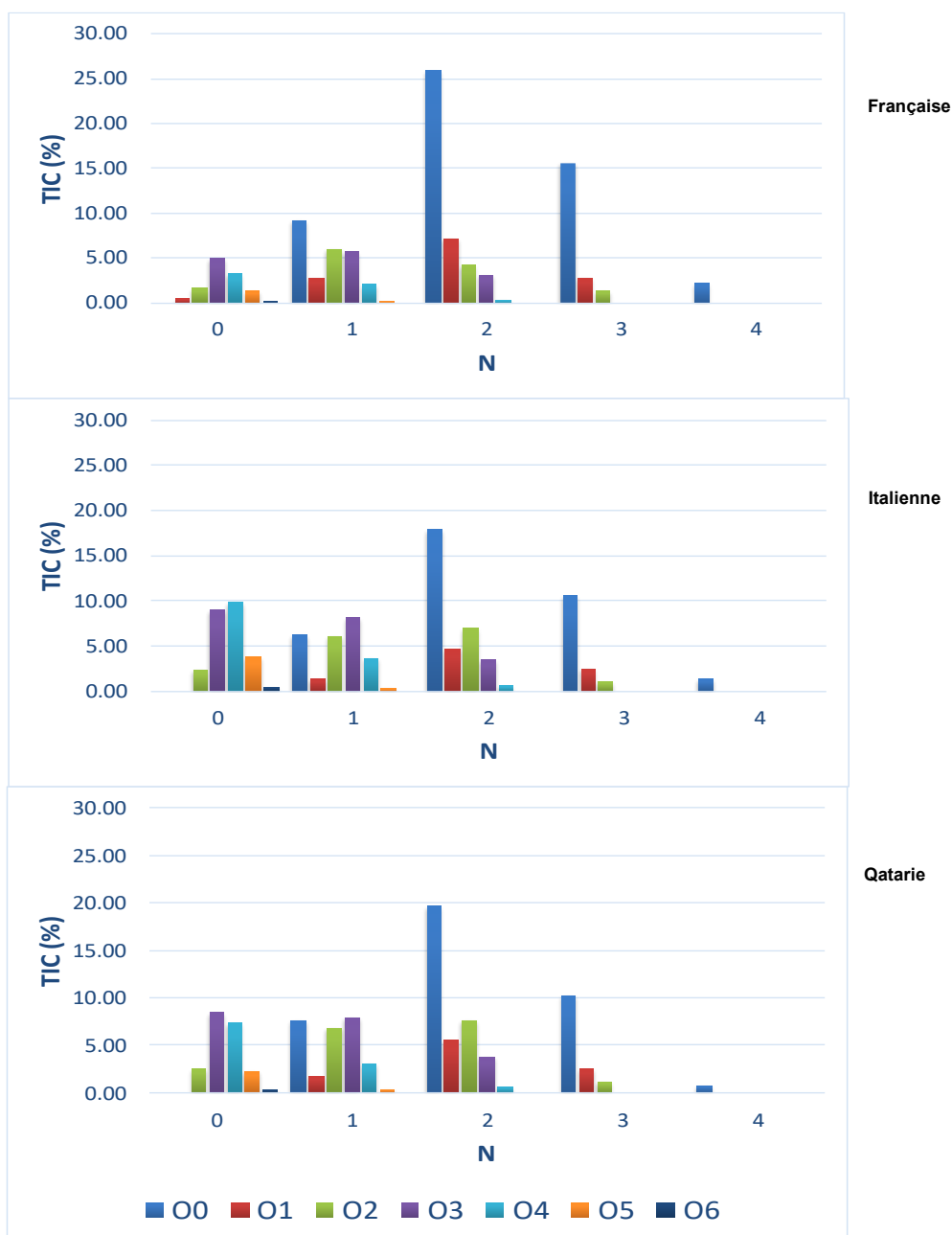


Figure 32 Distribution des espèces observées sur le spectre de masse obtenu par LDI en mode de détection négatif pour les MSS de cigarettes Françaises (haut), Italienne (milieu) et Qatarie (bas) en fonction du nombre d'atomes d'oxygène et d'azote.

Influence de la morphologie, de l'origine et de la présence d'agents de saveur sur la composition des aérosols des MSS

La faible quantité d'atomes d'oxygène dans les espèces des MSS des cigarettes Françaises de type O-ring est également à mettre en relation avec une distribution des espèces purement oxygénées nettement plus faible pour ce type de MSS que pour les MSS des cigarettes Italiennes et Qataries. A ce titre les MSS des cigarettes Françaises se démarquent nettement de celles des autres cigarettes possédant un filtre de type O-ring.

La composition moléculaire des MSS des cigarettes Italiennes et Qataries est beaucoup plus proche même si un nombre important de signaux sont spécifiques à chacune de ces MSS, leur contribution au TIC n'est qu'au plus de quelques pourcents. Cette proximité est également mise en évidence lorsque sont considérés les ~840 signaux communs à ces deux types de MSS. Ils représentent en effet plus de 95% du courant d'ions total et présentent des valeurs de DBE pondérées proches comprises globalement entre 13,4 et 13,9 pour les espèces communes aux trois MSS et entre 14,4 et 14,6 pour celles uniquement communes aux MSS des cigarettes Italiennes et Qataries. La distribution relative de l'ensemble des espèces associées aux MSS des cigarettes O-ring Italiennes et Qataries en fonction du nombre d'atomes d'azote et d'oxygène est elle aussi très similaire. Il est en conséquence raisonnable de penser que la composition des mélanges de tabacs des cigarettes Italiennes et Qataries est très similaire, voire identique. Il semble en être de même des conditions de culture, de séchage et de maturation des feuilles de tabac après la récolte. Les importantes différences de compositions de ces deux types de MSS avec des MSS des cigarettes Françaises indiquent à l'inverse que les tabacs employés dans la production de ces dernières sont significativement différents.

IV.2.4. Influence de la présence d'un agent de saveur

Comme cela a été précisé dans le premier chapitre, le tabac et le papier sont les ingrédients qui entrent naturellement dans la composition d'une cigarette. D'autres ingrédients sont également présents dans une cigarette, il s'agit de composés organiques ou inorganiques tels que des colles pour la mise en forme de la cigarette, du glycérol comme agent humidifiant ou encore des sels inorganiques pour un meilleur contrôle de la combustion du tabac entre deux bouffées.

A ces ingrédients principaux, peuvent être ajoutés des modificateurs de la saveur des fumées de cigarette. Le plus utilisé est le menthol mais d'autres agents de saveur sont utilisés à travers le monde comme par exemple les clous de girofle en Asie et notamment en Indonésie. Cette section s'intéressera donc à l'influence que peut avoir la présence de ces deux types d'agents de saveur sur la composition des MSS.

Influence de la morphologie, de l'origine et de la présence d'agents de saveur sur la composition des aérosols des MSS

IV.2.4.a. Les cigarettes mentholées

L'arôme de menthe de certaines cigarettes est associé à l'ajout au tabac de la cigarette de molécules de menthol synthétique. Le menthol est une molécule volatile ce qui lui permet à de faibles teneurs de modifier significativement la saveur et la senteur des fumées inhalées par le fumeur.

Le filtre des cigarettes mentholées étudiées étant de type O-ring, la comparaison sera donc réalisée avec la cigarette Française de type O-ring pour limiter le nombre de facteurs qui varient.

Les diagrammes de Venn des signaux communs et spécifiques aux MSS des deux cigarettes examinées dans cette section sont reportés sur la Figure 33. Les valeurs de DBE pondérées et de contribution au TIC sont quant à elles données dans le Tableau 17. La Figure 34 reporte la distribution relative des espèces en classes de composés en fonction du nombre d'atomes d'azote et d'oxygène.

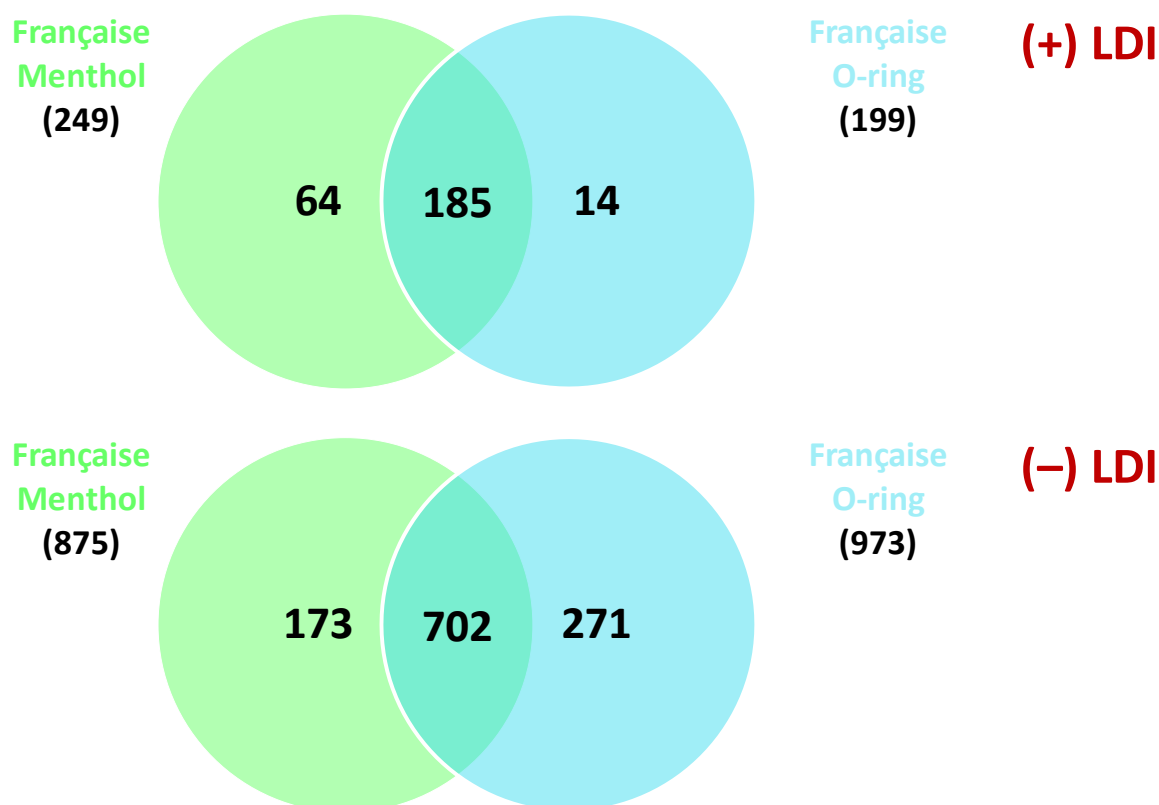


Figure 33 Diagramme de Venn relatif des espèces communes ou spécifiques aux MSS de cigarettes Françaises de type O-ring avec ou sans agent de saveur (menthol) observées par LDI en mode de détection positif (haut) et négatif (bas).

Influence de la morphologie, de l'origine et de la présence d'agents de saveur sur la composition des aérosols des MSS

Tableau 17 Valeur de la DBE pondérée et de l'intensité relative des espèces communes ou spécifiques aux MSS de cigarettes Françaises de type O-ring avec ou sans agent de saveur (menthol) observées par LDI en mode de détection positif et négatif.

		\overline{DBE} - (% TIC)	
		(+) LDI	(-) LDI
Cigarette O-ring	Espèces spécifiques	13,2 – (1,1%)	15,7 – (19,2%)
	Espèces communes	11,2 – (98,9%)	15,0 – (80,8%)
Cigarette O-ring mentholée	Espèces spécifiques	14,6 – (4,5%)	15,0 – (12,2%)
	Espèces communes	12,1 – (95,5%)	14,5 – (87,8%)

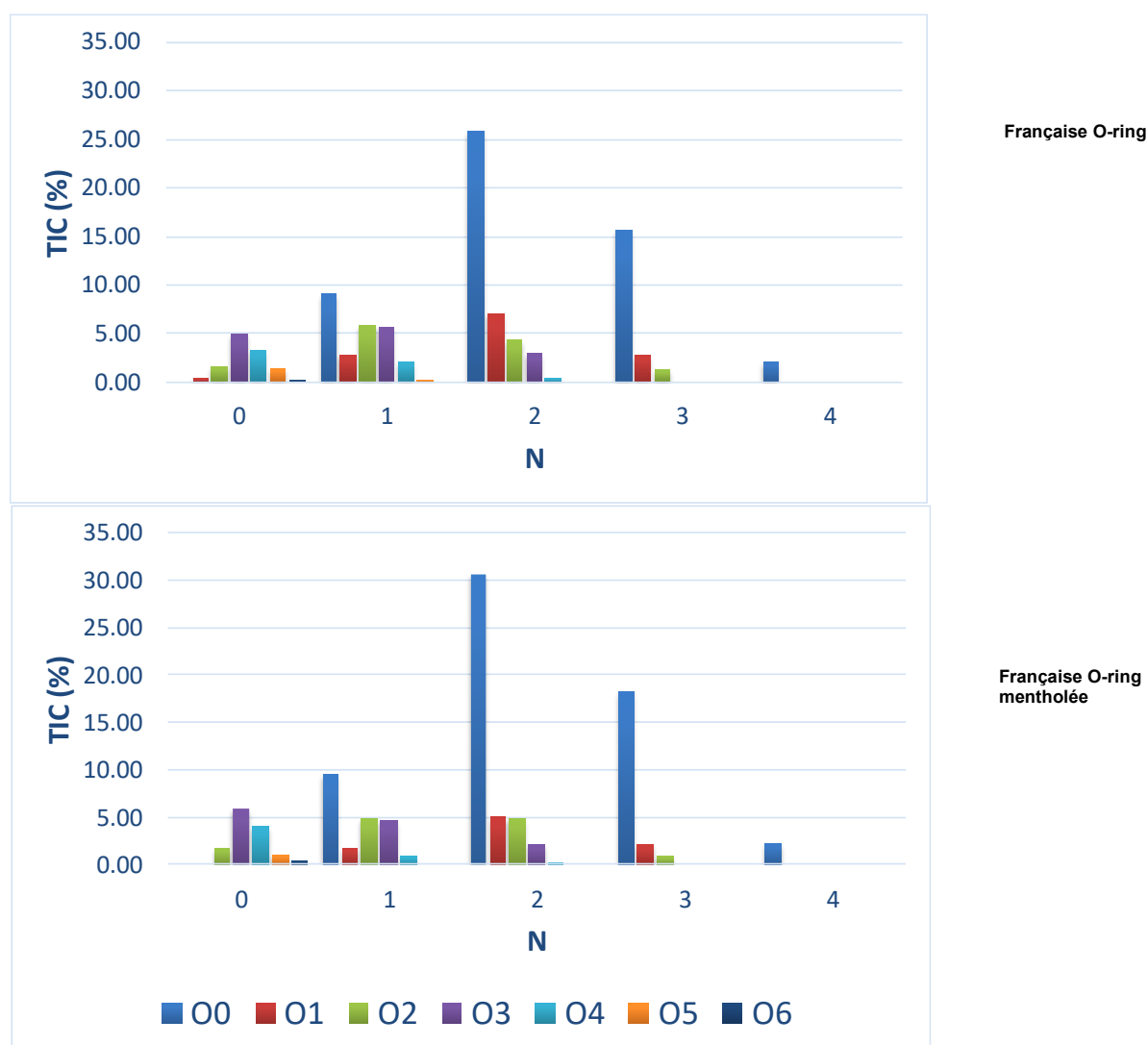


Figure 34 Distribution des espèces observées sur le spectre de masse obtenu par LDI en mode de détection négatif pour les MSS de cigarettes de type Françaises O-ring sans (haut) et avec (bas) menthol en fonction du nombre d'atomes d'oxygène et d'azote.

Influence de la morphologie, de l'origine et de la présence d'agents de saveur sur la composition des aérosols des MSS

Qu'il s'agisse de l'analyse en mode de détection positif ou négatif, les spectres de masse par LDI des MSS des cigarettes mentholées ou classiques, présentent un degré de similitude important. Il est cependant plus prononcé en (+) LDI dans la mesure où plus de 95% du TIC est associé aux 185 signaux communs. Une légère différence de DBE pondérée indique cependant que les espèces observées en mode de détection positif sont légèrement plus insaturées pour les composés relatifs aux MSS des cigarettes mentholées. En mode de détection négatif, les composés spécifiques à chacune de ces MSS sont à la fois plus nombreux et contribuent de manière plus importante au TIC, ils présentent néanmoins un degré d'insaturation comparable. L'examen de la distribution des classes de composés mis en évidence en mode de détection négatif (Figure 34) montre peu de différences. Les espèces observées pour les MSS de la cigarette mentholée sont en effet légèrement moins oxygénées que les composés mis en évidence dans l'étude d'une cigarette O-ring classique. Cette observation semble surprenante dans la mesure où, à l'exception de la présence de molécules de menthol, la composition et la morphologie des deux cigarettes sont identiques. La présence de menthol semble être à l'origine de modifications des processus de combustion et de pyrolyse du tabac. Ces modifications sont cependant subtiles.

IV.2.4.b. Les cigarettes au clou de girofle

Dans la mesure où les fumées de cigarette présentent une certaine variabilité en fonction de leur pays d'origine, il est nécessaire que la composition des fumées de cigarette Indonésienne de type Kretek contenant des agents de saveur associés au clou de girofle soit comparée à des cigarettes produites et commercialisées par le même fabricant en Indonésie.

Ainsi, la composition des MSS des cigarettes Kretek qui contiennent jusqu'à 30% en masse de composés issus du clou de girofle est comparée à celle des MSS produites lorsqu'une cigarette classique Indonésienne est fumée.

La Figure 35 regroupe la distribution des ions observés en ionisation par ESI et LDI en mode de détection positif et par LDI en mode de détection négatif. L'analyse ESI en mode de détection négatif ne conduit qu'à l'observation de signaux relativement peu intenses dont le rapport signal/bruit varie entre 5 et 10. La comparaison de la fraction particulaire des MSS de ces deux types de fumées ne portera donc pas sur les spectres de masse obtenus par analyse ESI en mode de détection négatif. Le Tableau 18 regroupe les valeurs de DBE pondérées et de TIC des signaux communs et spécifiques obtenus dans les différentes conditions expérimentales employées dans l'étude des MSS des cigarettes Kretek et Indonésiennes. La Figure 36 indique quant à elle la distribution de l'intensité relative des différentes classes de composés en fonction du nombre d'atomes d'azote et d'oxygène pour les deux types de cigarettes Indonésiennes.

Influence de la morphologie, de l'origine et de la présence d'agents de saveur sur la composition des aérosols des MSS

Sur cette figure, la variance observée dans le cadre de l'examen de deux répliquats est reportée sous la forme de barres d'erreur. Il est important de préciser que cette variance est beaucoup plus marquée pour les cigarettes Indonésiennes de type classique ou Kretek que pour toute autre cigarette étudiée jusqu'alors.

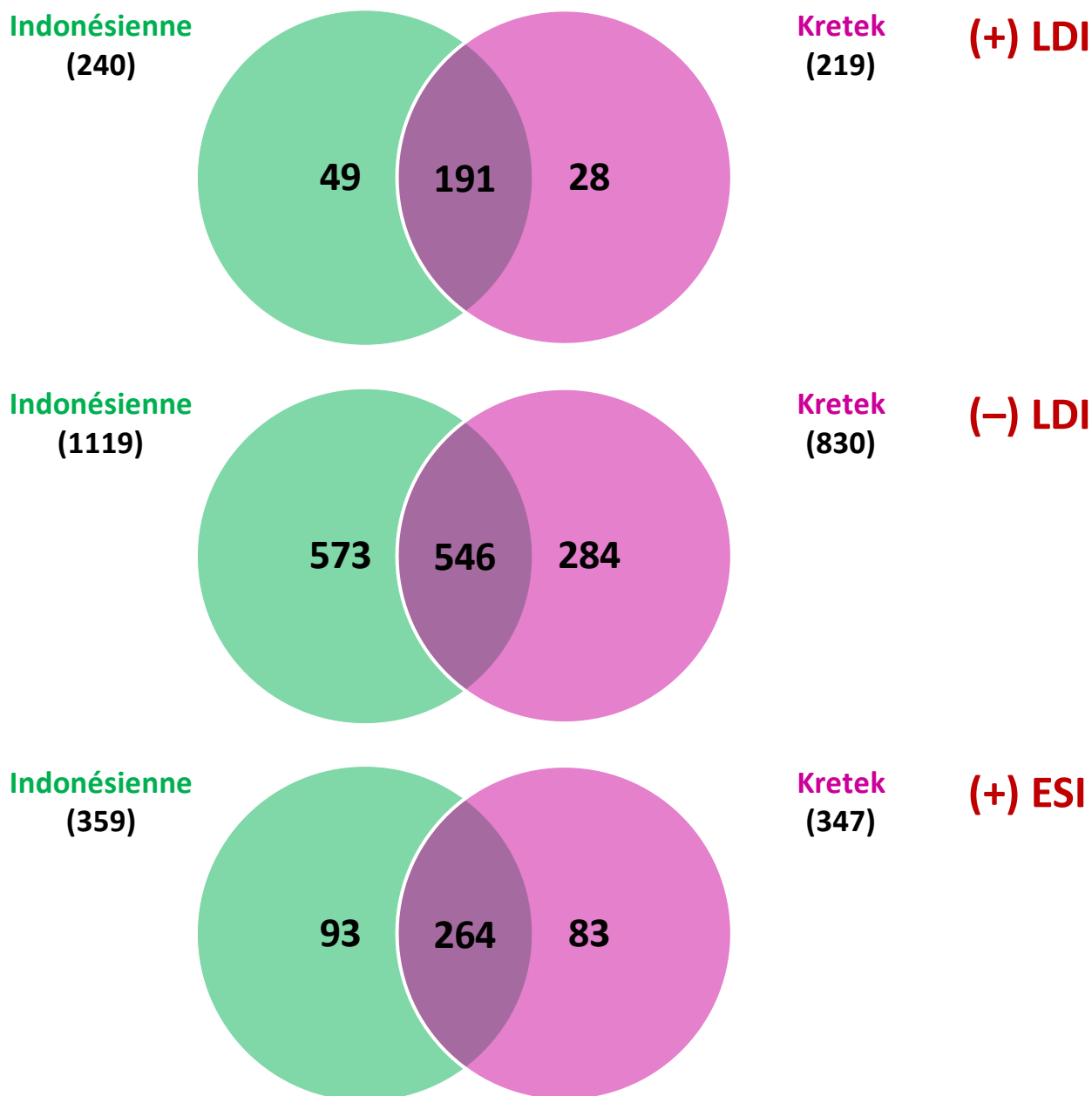


Figure 35 Diagramme de Venn relatif aux espèces communes ou spécifiques des MSS de cigarettes Indonésiennes à filtre classique avec ou sans agent de saveur (Kretek) observées par LDI en mode de détection positif (haut) et négatif (au milieu) et par ESI en mode positif (bas).

Influence de la morphologie, de l'origine et de la présence d'agents de saveur sur la composition des aérosols des MSS

Tableau 18 Valeur de la DBE pondérée et de l'intensité relative des espèces communes ou spécifiques aux MSS de cigarettes Indonésiennes à filtre classique avec ou sans agent de saveur (Kretek) observées par LDI en mode de détection positif et négatif et par ESI en mode positif (bas).

		DBE - (% TIC)		
		(+) ESI	(+) LDI	(-) LDI
Cigarette normale	Espèces spécifiques	9,2 – (7,4%)	15,0 – (3,0%)	13,5 – (29,7%)
	Espèces communes	7,7 – (92,6%)	11,6 – (97,0%)	12,5 – (70,3%)
Cigarette Kretek	Espèces spécifiques	8,3 – (3,2%)	13,2 – (1,0%)	11,5 – (34,3%)
	Espèces communes	7,6 – (96,8%)	10,5 – (99,0%)	11,3 – (65,7%)

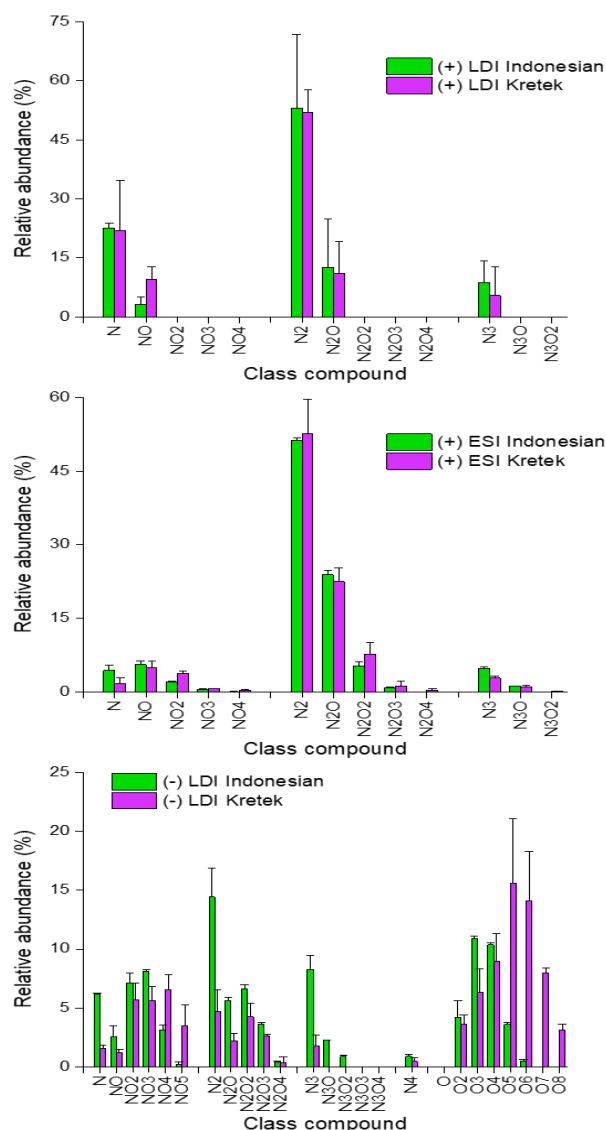


Figure 36 Distribution des classes de composés des MSS des cigarettes Indonésienne (vert) et Indonésienne Kretek (violet) observés en LDI et ESI.

Influence de la morphologie, de l'origine et de la présence d'agents de saveur sur la composition des aérosols des MSS

L'augmentation de la variance entre deux réplicats pour ces deux types de cigarette peut être due à une hétérogénéité importante du mélange de tabac qui constitue les cigarettes Indonésiennes. Ce comportement est plus prononcé pour les cigarettes Kretek.

Malgré une différence de composition significative, la distribution générale des composés observés en mode de détection positif, quelle que soit la technique d'ionisation utilisée, est globalement identique pour les cigarettes Indonésienne et Kretek. Les ions communs représentent la partie principale des signaux attribués, ainsi que la contribution principale du TIC. Les ions spécifiques ne représentent que de 1 à 2% du TIC en (+) LDI et moins de 5% en (+) ESI. Néanmoins, ces ions correspondent à une partie importante du nombre de composés détectés. Cela signifie donc que des espèces spécifiques contribuent peu à l'intensité totale. Il est intéressant de noter que la valeur de DBE pondérée des ions spécifiques est plus élevée que celle des espèces qui sont communes aux deux types de MSS comme l'indique le tableau 18. De manière plus détaillée, des différences significatives en terme de classes de composés sont observées en (+) ESI. Les MSS des cigarettes Kretek contiennent de plus grandes quantités de composés fortement oxygénés comme le montre la distribution relative des composés NO_2^- et N_2O_2^- . Cette spécificité des cigarettes Kretek est également confirmée lorsque les résultats obtenus sont comparés aux résultats (+) ESI obtenus dans l'étude des MSS de cigarettes Françaises qui ont été détaillés dans le chapitre III.

Afin d'accroître le niveau de détail concernant les espèces spécifiques aux deux types de MSS, la Figure 37 reporte, pour les deux modes d'ionisation LDI et ESI, la distribution en terme de classes de composés des espèces spécifiques à chacune des MSS étudiés.

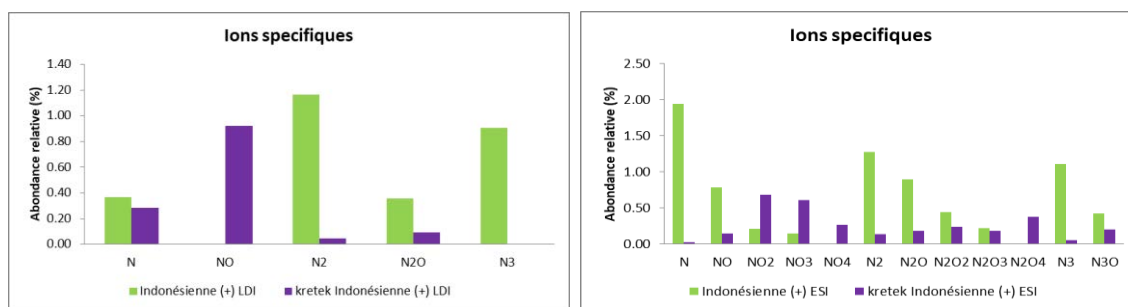


Figure 37 Distribution des classes de composés des MSS des cigarettes Indonésienne (vert) et Kretek (violet) observés en LDI (gauche) et ESI (droite) pour les composés spécifiques.

Quelle que soit la technique d'ionisation utilisée, les composés $\text{C}_x\text{H}_y\text{N}_{1-3}$ et $\text{C}_x\text{H}_y\text{N}_{1-3}\text{O}$ constituent l'essentiel des ions spécifiques des MSS des cigarettes Indonésiennes, alors que les composés spécifiques des MSS des Kretek sont plus oxygénés

Influence de la morphologie, de l'origine et de la présence d'agents de saveur sur la composition des aérosols des MSS

($C_xH_yNO_{2-4}$ et $C_xH_yN_3O_4$). La présence de clous de girofle dans la cigarette Kretek modifie la quantité d'oxygène disponible pendant la combustion du tabac. Les principaux composants du clou de girofle sont la cellulose, l'hémicellulose et la lignine. Ces deux premiers composés sont des molécules fortement oxygénées. En effet, le rapport O/C dans la cellulose et l'hémicellulose est proche de un. La pyrolyse des clous de girofle peut conduire à la formation de gaz oxygénés. Ces derniers peuvent interagir avec le tabac lors de la pyrolyse et/ou de la combustion avec les produits de la pyrolyse/combustion du tabac. La quantité d'oxygène dans les produits finaux présents dans les MSS de la cigarette Kretek est par conséquent supérieure à celle observée avec la cigarette Indonésienne classique.

L'examen (-) LDI des MSS des cigarettes Indonésiennes et Kretek fournit des informations supplémentaires sur la contribution des clous de girofle aux produits finaux observés dans les phases particulières de MSS des cigarettes Kretek. De manière générale, différentes classes de composés sont observées quelles que soient les particules de MSS étudiées. Elles contiennent jusqu'à quatre atomes d'azote et huit atomes d'oxygène ($N \leq 4$ et $O \leq 8$) comme le montre la Figure 36. Comme en (+) LDI et (+) ESI, les composés les plus oxygénés sont détectés de manière plus importante dans l'étude des MSS des cigarettes Kretek.

Le comportement des composés $C_xH_yO_w$ mérite d'être discuté de manière plus approfondie. Dans l'étude des MSS Indonésiennes, une distribution gaussienne centrée sur les composés O3 - O4 est observée. Ce comportement est identique à celui observé dans l'étude des MSS des cigarettes examinées dans les sections précédentes. Ces espèces sont produites par pyrolyse des constituants ligno-cellulosiques du tabac et, dans une moindre mesure, par pyrolyse du papier à cigarettes. La distribution des espèces $C_xH_yO_w$ est significativement différente pour les MSS des Kretek. Des composés contenant jusqu'à huit atomes d'oxygène sont observés et le centre de la distribution gaussienne est déplacé vers les espèces O5 - O6. De telles distributions ont été mises en évidence dans l'étude de bio-huiles produites par pyrolyse de la lignine ou de la biomasse.¹⁴⁷ En conséquence, les espèces $C_xH_yO_w$ observées dans l'étude des MSS de Kretek correspondent à la superposition des produits de la pyrolyse du tabac (O2 à O5), qui contient typiquement 10% de cellulose, 12,5% de sucres et 3,5% de lignine et de celle des clous de girofle (O4 à O8), qui est un matériau ligno-cellulosique et contient près de 60% de cellulose et de sucre.

Conclusion

La méthodologie d'analyse non ciblée des constituants de la phase particulière des MSS mise en place dans le chapitre III, même restreinte au seul emploi de la désorption/ionisation laser a permis de mettre en évidence un certain nombre de critères de différenciation. Ils portent principalement sur des modifications de distributions de composés des MSS contenant des quantités plus ou moins importantes d'oxygène et

Influence de la morphologie, de l'origine et de la présence d'agents de saveur sur la composition des aérosols des MSS

d'azote et sur le degré d'insaturation des espèces. Ces différences de composition peuvent être en fonction du type de cigarette associées à la présence d'ingrédients particulier comme les clous de girofle, à des mélanges différents de tabac, à l'emploi de tabac donc les conditions de culture et de séchage sont différentes ou bien encore à la modification des processus de pyrolyse/combustion par l'introduction de composés comme le menthol. La modification de la morphologie du filtre conduisant à de fortes différences de dilution des fumées avant qu'elles ne soient inhalées par le fumeur actif contribue à une modification très importante des constituants de la phase particulaire des fumées de cigarette de type MSS.

CONCLUSION GÉNÉRALE – PERSPECTIVES

Conclusion générale et perspectives

La fumée de cigarette inhalée par le fumeur est un mélange très complexe de gaz et de particules. L'étude de la composition des particules nécessite des techniques analytiques avancées avec une approche non ciblée au regard du nombre considérable de constituants encore inconnus présents dans la phase particulaire des MSS. Cette problématique a fait l'objet de ce travail de thèse.

Afin de pouvoir établir cette méthodologie d'analyse non-ciblée, il a d'abord été nécessaire de mettre en place un dispositif répétable de production des fumées de cigarette et un dispositif de prélèvement des aérosols formés. La machine à fumer qui a été conçue assure ces deux fonctions. Contrôlée de manière manuelle, il lui a été adjoint un dispositif de collecte de la phase gazeuse des MSS (tube de charbon actif) et un dispositif d'échantillonnage de la phase particulaire (filtre en quartz). La répétabilité du fonctionnement de ce dispositif a été évaluée en considérant la variance sur la détermination d'une grandeur macroscopique, la masse des particules collectées et de grandeurs moléculaires associées à la concentration de marqueurs. Pour cela, des analyses ciblées ont été réalisées afin d'établir la variance de la concentration de BTEX (marqueurs de la phase gazeuse) et de la nicotine (marqueur de la phase particulaire) lorsque plusieurs réplicats de simulation de fumage et de collecte de MSS sont réalisés. Une variance comprise entre 5 et 20% pour ces différents marqueurs a permis de considérer que la méthodologie de production et de prélèvement des MSS et notamment de la phase particulaire était répétable.

Sur la base de ces éléments, il a été possible d'établir une méthode d'analyse non-ciblée par FT-ICR MS en combinant les méthodes d'analyse LDI et ESI dans les deux modes de détection positif et négatif. Cette étude démontre la capacité de cette approche, à fournir une description aussi complète que possible de la composition des particules de MSS. En considérant la spécificité de l'ionisation ESI et l'ionisation LDI, et en comparant les résultats obtenus avec les deux techniques d'ionisation, il est possible de mettre en évidence certaines informations structurales des constituants du MSS, telles que la présence d'une pyridine ou d'un groupe chimique pyrrolidinyl. L'étude de la phase particulaire d'une cigarette inhalée par un fumeur actif par ESI et LDI dans le mode de détection positif et négatif a permis d'avoir accès à près de 1 900 formules chimiques différentes. Cela ne signifie pas 1 900 composés différents présents dans la fraction particulaire des MSS, mais en réalité bien davantage du fait que les isomères ne peuvent pas être distingués par une approche non ciblée.

Pour aller plus loin dans la description de l'extrême complexité et diversité de la composition des MSS, des études complémentaires sont nécessaires telles que la spectrométrie de masse couplée à la mobilité ionique ou encore la spectrométrie de masse 2D FTMS. La première repose sur la séparation des ions en phase gazeuse après leur formation dans la source d'ionisation. Les ions dirigés dans un dispositif de dérive, historiquement un tube de dérive, subissent l'action combinée d'un champ électrique et de collision avec des molécules de gaz. Dans la mesure où des isomères obéissant à une certaine formule brute peuvent posséder des sections efficaces de collision sensiblement

Conclusion générale et perspectives

différentes, leur temps de parcours peut être significativement différents et permettre leur séparation. La spectrométrie de masse en tandem de type 2D FTMS assure quant à elle, l'obtention de cartes où l'une des dimensions est associée aux ions moléculaires et/ou pseudo-moléculaire et l'autre aux ions fragmentations produits après leur activation généralement par absorption multiphotonique de photons infra-rouge ou par capture ou transfert d'électrons. Cette technique récente a la particularité de ne pas devoir recourir en préalable à l'activation à une sélection de l'ion parent. Il est ainsi possible de réaliser dans des temps raisonnables de l'ordre de quelques dizaines de minutes à quelques heures l'ensemble des spectres de fragmentation des ions produits par analyse de milieux complexes. Un traitement lourd, long et coûteux en temps de calcul est cependant nécessaire pour la réalisation des cartes.

La plus grande part des composants associés à la fraction particulaire des MSS décrits dans cette étude sont des espèces hétéroaromatiques, qui ne représentent qu'une fraction de la composition des MSS. En effet, les méthodologies utilisées dans ce travail ne mettent pas en évidence les hydrocarbures et les hydrocarbures aromatiques, ainsi que les composants inorganiques. Pour être sensible aux composants du MSS faiblement polaires, la photoionisation à la pression atmosphérique peut présenter un intérêt considérable.

L'application de la méthodologie proposée à l'étude de MSS de cigarette présentant des différences de morphologie (filtre de nature différente), de composition (présence d'agents de saveur) où d'origine à démontrer qu'il est possible d'obtenir par ce biais des informations pertinentes sur les paramètres qui sont en mesure d'affecter significativement la composition des MSS. La nature et l'origine du tabac sont bien évidemment des paramètres importants mais il a pu être démontré que la morphologie du filtre tout comme la présence d'agents de saveur solide comme les clous de girofle affectent d'une façon plus importante encore la nature et la distribution des composés inhalés par un fumeur actif.

Au-delà de la description de la diversité moléculaire de la phase particulaire des fumées de cigarette, il conviendrait d'en évaluer la toxicité au regard de ces informations moléculaires. A ce titre des tests de toxicité chronique ou de toxicité aiguë pourraient être entrepris. Il sera cependant nécessaire dans ce cadre de mettre en place et de valider des méthodes d'extraction et de fractionnement efficaces ne modifiant pas la nature des composés extraits pour mener à bien cette recherche.

Références

- (1) Gori, G. B.; Mantel, N. Mainstream and Environmental Tobacco Smoke. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **1991**, 14 (1), 88–105.
- (2) Jiang, C.-Y.; Sun, S.-H.; Zhang, Q.-D.; Ma, Y.-P.; Wang, H.; Zhang, J.-X.; Zong, Y.-L.; Xie, J.-P. Application of Direct Atmospheric Pressure Chemical Ionization Tandem Mass Spectrometry for On-Line Analysis of Gas Phase of Cigarette Mainstream Smoke. *International Journal of Mass Spectrometry* **2013**, 353, 42–48.
- (3) Schramm, S.; Carré, V.; Scheffler, J.-L.; Aubriet, F. Active and Passive Smoking – New Insights on the Molecular Composition of Different Cigarette Smoke Aerosols by LDI–FTICRMS. *Atmospheric Environment* **2014**, 92, 411–420.
- (4) Zimmerman, R. Fast On-Line Tobacco Smoke Analysis With Photo Ionisation-Time-Of-Flight-Mass Spectrometry. 2008 TSRC. https://www.coresta.org/sites/default/files/abstracts/2008_TSRC10_Zimmermann.pdf. (accessed Jul 27, 2018).
- (5) Schramm, S. Étude de La Composition de Différentes Fumées de Cigarette Associées Aux Tabagismes Actif et Passif. dissertation, University of Lorraine, 2012.
- (6) Sébastien Schramm, V. C. Analysis of Mainstream and Sidestream Cigarette Smoke Particulate Matter by Laser Desorption Mass Spectrometry. *Analytical chemistry* **2011**, 83 (1), 133–142.
- (7) Historique du tabagisme. <http://www.tabac-humain.com/wp-content/uploads/2010/04/Historique-du-tabagisme1>. Consulté le 28/07/2018.
- (8) Le tabac : mortel sous toutes ses formes, journée mondiale sans tabac, 2006, OMS - Bing (accessed Jul 27, 2018).
- (9) Rapport des comités d'experts et groupe d'étude sur les réglementations des produits du tabac, EB 124/32, 20 novembre 2008 - Bing (accessed Jul 27, 2018).
- (10) Smoking-Attributable Mortality, Years of Potential Life Lost, and Productivity Losses --- United States, 2000--2004. November 14, 2008 / 57(45);1226-1228 (accessed Jul 27, 2018).
- (11) Sockrider, M. M. Addressing Tobacco Smoke Exposure: Passive and Active. *Pediatr Pulmonol Suppl* **2004**, 26, 183–187.
- (12) Beugnies, A.; Duquesne, D.; Fontaine, B. Grossesse et Tabac: Le Point de Vue Du Médecin Du Travail. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction* **2005**, 34, 292–297.
- (13) DiFranza, J. R.; Aligne, C. A.; Weitzman, M. Prenatal and Postnatal Environmental Tobacco Smoke Exposure and Children's Health 2004;113:1007-15. 11.
- (14) Guignard, R. Le tabagisme en France. Analyse de l'enquête Baromètre santé 2010. **2010**, 56.
- (15) Lebargy, F. Influence du tabagisme sur les maladies respiratoires : idées reçues et réalité – Smoking-affected pulmonary diseases: true and false. *La Lettre du Cancerologue* • Vol. XVII - n° 4 - avril 2008. 9.
- (16) Gao, W.; Chen, K.; Xiang, Z.; Yang, F.; Zeng, J.; Li, J.; Yang, R.; Rao, G.; Tao, H. Kinetic Study on Pyrolysis of Tobacco Residues from the Cigarette Industry. *Industrial Crops and Products* **2013**, 44, 152–157.
- (17) Reddy, T. V.; Dwivedi, S.; Sharma, N. K. Development of Tilling by Sequencing Platform towards Enhanced Leaf Yield in Tobacco. *Industrial Crops and Products* **2012**, 40, 324–335.
- (18) Abdullah, A.; G Husten, C. Promotion of Smoking Cessation in Developing Countries: A Framework for Urgent Public Health Interventions; 2004; Vol. 59.

- (19) Le Houezec, J.; Benowitz, N. L. Basic and Clinical Psychopharmacology of Nicotine. *Clin. Chest Med.* **1991**, 12 (4), 681–699.
- (20) Chevalier, C.; Nguyen, A. Composition et Nocivité Du Tabac. *Actualités Pharmaceutiques* **2016**, 55 (560), 22–25.
- (21) Papier, fibres de renfort, plantes annuelles, cigarette, fiduciaire. <http://cerig.pagora.grenoble-inp.fr/memoire/2006/fibres-renfort-papier.htm> (accessed Jul 29, 2018).
- (22) Sherwood, T. S.; Rasouli, F.; Li, P.; Miser, D. E.; Mohajer, J. Y.; Waymack, B. E.; Phan, T. A.; Madison, T. L.; Tilley, J. R.; Pithawalla, Y. B. Gravure-Printed, Branded Cigarette Paper. 20070102017, May 10, 2007.
- (23) Zhou, S.; Wang, X.; He, Q.; Zhang, Y.; Wen, P.; Tian, Z.; Xu, Y.; Zhu, D.; Wang, H.; She, S.; et al. Thermal Degradation and Flammability of Low Ignition Propensity Cigarette Paper. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* **2014**, 110, 24–33.
- (24) Puls, J.; Wilson, S. A.; Hölter, D. Degradation of Cellulose Acetate-Based Materials: A Review. *J Polym Environ* **2011**, 19 (1), 152–165.
- (25) Morris, P. Basic Principles of Cigarette Design. 49. http://lsro.org/presentation_files/air/m_011029/podraza_102901.pdf. (accessed Jul 29, 2018).
- (26) Browne, C. L. The Design of Cigarettes (3rd Ed.): Filter Products Division, Celanese Corp.(1990). <https://www.fda.gov/downloads/tobacco-products/news-events/UCM527758.pdf>.
- (27) Deng, Q.; Huang, C.; Zhang, J.; Xie, W.; Xu, H.; Wei, M. Selectively Reduction of Tobacco Specific Nitrosamines in Cigarette Smoke by Use of Nanostructural Titanates. *Nanoscale* **2013**, 5 (12), 5519–5523.
- (28) Schneider, W.; Pangritz, D.; Riedesser, W. Cigarette Paper. 4548677, October 22, 1985.
- (29) Mattina, C.F., Selke, W.A. Recent Advances in the Chemical Composition of Tobacco, in: Tobacco Smoke Symposium, R.J. Reynolds Tobacco Company, Winston-Salem, NC, 1977, p. 533.
- (30) Owens, W.F. Effect of Cigarette Paper on Smoke Yield and Composition, *Recent Adv. Tob. Sci.* 4 (1978) 3–24.
- (31) Branton, P.; Lu, A.-H.; Schüth, F. The Effect of Carbon Pore Structure on the Adsorption of Cigarette Smoke Vapour Phase Compounds. *Carbon* **2009**, 47 (47), 1005–1011.
- (32) Gaworski, C. L.; Schramke, H.; Diekmann, J.; Meisgen, T. J.; Tewes, F. J.; Veltel, D. J.; Vanscheeuwijck, P. M.; Rajendran, N.; Muzzio, M.; Haussmann, H.-J. Effect of Filtration by Activated Charcoal on the Toxicological Activity of Cigarette Mainstream Smoke from Experimental Cigarettes. *Inhal Toxicol* **2009**, 21 (8), 688–704.
- (33) Xie, J.; Wang, X.; Sheng, G.; Bi, X.; Fu, J. Determination of Tobacco Smoking Influence on Volatile Organic Compounds Constituent by Indoor Tobacco Smoking Simulation Experiment. *Atmospheric Environment* **2003**, 37 (24), 3365–3374.
- (34) Talhout, R.; Schulz, T.; Florek, E.; van Benthem, J.; Wester, P.; Opperhuizen, A. Hazardous Compounds in Tobacco Smoke. *Int J Environ Res Public Health* **2011**, 8 (2), 613–628.
- (35) Li, G.; Yu, H.; Xu, L.; Ma, Q.; Chen, C.; Hao, Q.; Qian, Y. General Synthesis of Carbon Nanocages and Their Adsorption of Toxic Compounds from Cigarette Smoke. *Nanoscale* **2011**, 3 (8), 3251–3257.
- (36) Zhou, S.; Ning, M.; Zhang, Y.; He, Q.; Wang, X.; Zhu, D.; Guo, S.; Hong, N.; Hu, Y. Significant Removal of Harmful Compounds in Mainstream Cigarette Smoke Using Carbon Nanotubes Mixture Prepared by Catalytic Pyrolysis. *Adsorption Science & Technology* **2014**, 32 (6), 453–464.
- (37) Morabito, J. A.; Holman, M. R.; Ding, Y. S.; Yan, X.; Chan, M.; Chafin, D.; Perez, J.; Mendez, M. I.; Cardenas, R. B.; Watson, C. The Use of Charcoal in Modified Cigarette

- Filters for Mainstream Smoke Carbonyl Reduction. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **2017**, 86, 117–127.
- (38) Branton, P. J.; McAdam, K. G.; Winter, D. B.; Liu, C.; Duke, M. G.; Proctor, C. J. Reduction of Aldehydes and Hydrogen Cyanide Yields in Mainstream Cigarette Smoke Using an Amine Functionalised Ion Exchange Resin. *Chem Cent J* **2011**, 5, 15.
- (39) Pollay, R.; Dewhirst, T. Marketing cigarettes with low machine measured yields. In: Shopland DR, Burns DM, Benowitz NL, Amacher RH, eds. *Smoking and Tobacco Control Monograph 13: Risks Associated With Smoking Cigarettes With Low Machine-Measured Yields of Tar and Nicotine*. Bethesda: United States (US) Department of Health and Human Services https://cancercontrol.cancer.gov/brp/tcrb/monographs/13/m13_7.pdf (accessed Sep 13, 2018).
- (40) Becquemin, M. H.; Bertholon, J. F.; Attoui, M.; Roy, F.; Roy, M.; Dautzenberg, B. Tailles Particulaires de La Fumée Produite Par Six Différents Types de Cigarettes. *Revue des Maladies Respiratoires* **2007**, 24 (7), 845–852.
- (41) Novotny, E.T., Hardin, S.N., Hovda, L.R., Novotny, D.J., McLean, M.K., Shan, S. Tobacco and Cigarette Butt Consumption in Humans and Animals, *Tobacco Control* 20 (Suppl. 1) (2011) I17–I20.
- (42) Rabinoff, M.; Caskey, N.; Rissling, A.; Park, C. Pharmacological and Chemical Effects of Cigarette Additives. *Am J Public Health* **2007**, 97 (11), 1981–1991.
- (43) National Institute for Public Health and the Environment, (RIVM). *Tobacco Additives Information for Professionals*. Bilthoven, the Netherlands (2012).
- (44) Dempsey, R.; Coggins, C. R. E.; Roemer, E. Toxicological Assessment of Cigarette Ingredients. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **2011**, 61 (1), 119–128.
- (45) Rodgman, A. Some Studies of the Effects of Additives on Cigarette Mainstream Smoke Properties. III. Ingredients Reportedly Used in Various Commercial Cigarette Products in the USA and Elsewhere*. *Beitr. Tabakforsch. Int* **2014**, 21.
- (46) Baker, R. R.; Massey, E. D.; Smith, G. An Overview of the Effects of Tobacco Ingredients on Smoke Chemistry and Toxicity. *Food and Chemical Toxicology* **2004**, 42, 53–83.
- (47) Cigarettes manufacturées : Pourcentage d’additifs et taux de nicotine, goudrons, monoxyde de carbone (CO). Les additifs du tabac et du papier à cigarette <http://additifstabc.free.fr/index.php/cigarettes-pourcentages-additifs-taux-nicotine-goudrons-monoxyde-carbone-co/> (accessed Nov 13, 2018).
- (48) Roemer, E.; Dempsey, R.; Schorp, M. K. Toxicological Assessment of Kretek Cigarettes: Part 1: Background, Assessment Approach, and Summary of Findings. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **2014**, 70, S2–S14.
- (49) Guidotti, T. L. Critique of Available Studies on the Toxicology of Kretek Smoke and Its Constituents by Routes of Entry Involving the Respiratory Tract. *Arch Toxicol* **1989**, 63 (1), 7–12.
- (50) Clark, G. C. Comparison of the Inhalation Toxicity of Kretek (Clove Cigarette) Smoke with That of American Cigarette Smoke. II. Fourteen Days, Exposure. *Arch Toxicol* **1990**, 64 (7), 515–521.
- (51) Roemer, E.; Dempsey, R.; Hirter, J.; Deger Evans, A.; Weber, S.; Ode, A.; Wittke, S.; Schorp, M. K. Toxicological Assessment of Kretek Cigarettes Part 6: The Impact of Ingredients Added to Kretek Cigarettes on Smoke Chemistry and in Vitro Toxicity. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **2014**, 70, S66–S80.
- (52) Galeotti, N.; Di Cesare Mannelli, L.; Mazzanti, G.; Bartolini, A.; Ghelardini, C. Menthol: A Natural Analgesic Compound. *Neuroscience Letters* **2002**, 322 (3), 145–148.

- (53) Villanti, A. C.; Collins, L. K.; Niaura, R. S.; Gagosian, S. Y.; Abrams, D. B. Menthol Cigarettes and the Public Health Standard: A Systematic Review. *BMC Public Health* **2017**, 17 (1), 983.
- (54) Eccles, R. Menthol and Related Cooling Compounds. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **46** (8), 618–630.
- (55) Sterling, K.; Berg, C. J.; Thomas, A. N.; Glantz, S. A.; Ahluwalia, J. S. Factors Associated with Small Cigar Use among College Students., Factors Associated With Small Cigar Use Among College Students. *Am J Health Behav* **2013**, 37, 37 (3, 3), 325, 325–333.
- (56) Gonseth, S.; Cornuz, J. La Dépendance et l'addiction Aux Cigarettes Sont-Elles Favorisées Par l'ajout de Substances Chimiques ? [Are Dependence and Addiction to Cigarettes Enhanced by Adding Chemical Substances?]. *Réalités Cardiologiques* **2008**, 239, 17–20.
- (57) Polzin, G. M.; Kosa-Maines, R. E.; Ashley, D. L.; Watson, C. H. Analysis of Volatile Organic Compounds in Mainstream Cigarette Smoke. *Environ. Sci. Technol.* **2007**, 41 (4), 1297–1302.
- (58) Fagan, P.; Pohkrel, P.; Herzog, T.; Pagano, I.; Vallone, D.; Trinidad, D. R.; Sakuma, K.-L.; Sterling, K.; Fryer, C. S.; Moolchan, E. Comparisons of Three Nicotine Dependence Scales in a Multiethnic Sample of Young Adult Menthol and Non-Menthol Smokers. *Drug and Alcohol Dependence* **2015**, 149, 203–211.
- (59) Wickham, R. How Menthol Alters Tobacco-Smoking Behavior: A Biological Perspective. *The Yale journal of biology and medicine* **2015**, 88, 279–287.
- (60) Yerger, V. B. Menthol's Potential Effects on Nicotine Dependence: A Tobacco Industry Perspective. *Tobacco Control* **2011**, 20.
- (61) Meruva, N.; Smith, M.; Plunkett, S. Quantitative Determination of Menthol in a Single Puff of Mainstream Cigarette Smoke. *Beiträge zur Tabakforschung International/Contributions to Tobacco Research* **2013**, 25 (5), 528–534.
- (62) Giovino, G. A.; Villanti, A. C.; Mowery, P. D.; Sevilimedu, V.; Niaura, R. S.; Vallone, D. M.; Abrams, D. B. Differential Trends in Cigarette Smoking in the USA: Is Menthol Slowing Progress? *Tobacco Control* **2015**, 24 (1), 28–37.
- (63) Kreslake, J.; B Yerger, V. Tobacco Industry Knowledge of the Role of Menthol in Chemosensory Perception of Tobacco Smoke. *Nicotine & tobacco research : official journal of the Society for Research on Nicotine and Tobacco* **2010**, 12 Suppl 2, S98–101.
- (64) Adam, T.; Baker, R. R. Characterization of Puff-by-Puff Resolved Cigarette Mainstream Smoke by Single Photon Ionization–Time-of-Flight Mass Spectrometry and Principal Component Analysis. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, 55 (6), 2055–2061.
- (65) Pieraccini, G.; Furlanetto, S.; Orlandini, S.; Bartolucci, G.; Giannini, I.; Pinzauti, S.; Moneti, G. Identification and Determination of Mainstream and Sidestream Smoke Components in Different Brands and Types of Cigarettes by Means of Solid-Phase Microextraction–Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A* **2008**, 1180 (1–2), 138–150.
- (66) Hoffmann, D.; Hoffmann, I.; El-Bayoumy, K. The Less Harmful Cigarette: A Controversial Issue. a Tribute to Ernst L. Wynder. *Chem. Res. Toxicol.* **2001**, 14 (7), 767–790.
- (67) Kalaitzoglou, M.; Samara, C. Gas/Particle Partitioning and Yield Levels of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and n-Alkanes in the Mainstream Cigarette Smoke of Commercial Cigarette Brands. *Food and Chemical Toxicology* **2006**, 44 (8), 1432–1442.

- (68) Smith, C. J.; Perfetti, T. A.; Garg, R.; Hansch, C. IARC Carcinogens Reported in Cigarette Mainstream Smoke and Their Calculated Log P Values. *Food and Chemical Toxicology* **2003**, 41 (6), 807–817.
- (69) Anthony, J. C.; Warner, L. A.; Kessler, R. C. Comparative Epidemiology of Dependence on Tobacco, Alcohol, Controlled Substances, and Inhalants: Basic Findings From the National Comorbidity Survey. *Experimental and clinical psychopharmacology* **1994**, 2 (3), 244–268.
- (70) Dangers de la fumée tertiaire <https://arreter-de-fumer.ooreka.fr/as-tuce/voir/302764/dangers-de-la-fumee-tertiaire> (accessed Sep 29, 2018).
- (71) Baker, R. R. A Review of Pyrolysis Studies to Unravel Reaction Steps in Burning Tobacco. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* **1987**, 11, 555–573.
- (72) Hertz, R.; Streibel, T.; Liu, C.; McAdam, K.; Zimmermann, R. Microprobe Sampling—Photo Ionization-Time-of-Flight Mass Spectrometry for in Situ Chemical Analysis of Pyrolysis and Combustion Gases: Examination of the Thermo-Chemical Processes within a Burning Cigarette. *Analytica Chimica Acta* **2012**, 714, 104–113.
- (73) Amering, M.; Bankier, B.; Berger, P.; Griengi, H.; Windhaber, J.; Katschnig, H. Panic Disorder and Cigarette Smoking Behavior. *Comprehensive Psychiatry* **1999**, 40 (1), 35–38.
- (74) Xie, J.-P.; Sun, S.-H.; Wang, H.-Y.; Zong, Y.-L.; Nie, C.; Guo, Y.-L. Determination of Nicotine in Mainstream Smoke on the Single Puff Level by Liquid-Phase Microextraction Coupled to Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Fourier Transform Mass Spectrometry. *Rapid communications in mass spectrometry* **2006**, 20 (17), 2573–2578.
- (75) Carré, V.; Aubriet, F.; Muller, J.-F. Analysis of Cigarette Smoke by Laser Desorption Mass Spectrometry. *Analytica Chimica Acta* **2005**, 540 (2), 257–268.
- (76) Ding, Y. S.; Trommel, J. S.; Yan, X. J.; Ashley, D.; Watson, C. H. Determination of 14 Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Mainstream Smoke from Domestic Cigarettes. *Environ. Sci. Technol.* **2005**, 39 (2), 471–478.
- (77) Gordon, S. M.; Brinkman, M. C.; Meng, R. Q.; Anderson, G. M.; Chuang, J. C.; Kroeger, R. R.; Reyes, I. L.; Clark, P. I. Effect of Cigarette Menthol Content on Mainstream Smoke Emissions. *Chem. Res. Toxicol.* **2011**, 24 (10), 1744–1753.
- (78) Liu, C.; Feng, S.; Heemst, J. van; McAdam, K. G. New Insights into the Formation of Volatile Compounds in Mainstream Cigarette Smoke. *Anal Bioanal Chem* **2010**, 396 (5), 1817–1830.
- (79) Roemer, E.; Dempsey, R.; Van Overveld, F. J.; Berges, A.; Pype, J.; Weiler, H.; Vanscheeuwijck, P.; Schorp, M. K. Toxicological Assessment of Kretek Cigarettes Part 5: Mechanistic Investigations, Inhalation Toxicity. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **2014**, 70, S54–S65.
- (80) Piadé, J.-J.; Roemer, E.; Dempsey, R.; Hornig, G.; Deger Evans, A.; Völkel, H.; Schramke, H.; Trelles-Sticken, E.; Wittke, S.; Weber, S.; et al. Toxicological Assessment of Kretek Cigarettes: Part 2: Kretek and American-Blended Cigarettes, Smoke Chemistry and in Vitro Toxicity. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **2014**, 70, S15–S25.
- (81) Hemaiswarya, S.; Doble, M. Synergistic Interaction of Eugenol with Antibiotics against Gram Negative Bacteria. *Phytomedicine* **2009**, 16 (11), 997–1005.
- (82) Robinson, R. J.; Yu, C. P. Deposition of Cigarette Smoke Particles in the Human Respiratory Tract. *Aerosol Science and Technology* **2001**, 34 (2), 202–215.
- (83) Cours de pollution atmosphérique - PDF <http://docplayer.fr/8799719-Cours-de-pollution-atmospherique.html> (accessed Jun 4, 2018).

- (84) Ivey, J. W.; Lewis, D.; Church, T.; Finlay, W. H.; Vehring, R. A Correlation Equation for the Mass Median Aerodynamic Diameter of the Aerosol Emitted by Solution Metered Dose Inhalers. *Int J Pharm* **2014**, 465 (1–2), 18–24.
- (85) Schaller, J.-P.; Keller, D.; Poget, L.; Pratte, P.; Kaelin, E.; McHugh, D.; Cudazzo, G.; Smart, D.; Tricker, A. R.; Gautier, L.; et al. Evaluation of the Tobacco Heating System 2.2. Part 2: Chemical Composition, Genotoxicity, Cytotoxicity, and Physical Properties of the Aerosol. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **2016**, 81, S27–S47.
- (86) Ishizu, Y.; Ohta, K.; Okada, T. Changes in the Particle Size and the Concentration of Cigarette Smoke through the Column of a Cigarette. *Journal of Aerosol Science* **1978**, 9 (1), 25–29.
- (87) Dube, M. f.; Green, C. Method of Collection of Smoke for Analytical Purposes. *Recent Adv. Tob. Sci.* 8 (1982) 42-102.
- (88) CORESTA Standard Smoking Methods <https://www.coresta.org/standard-smoking-methods-coresta-perspective> (accessed Sep 13, 2018).
- (89) Wartman, W. B.; Cogbill, E. C.; Harlow, E. S. Determination of Particulate Matter in Concentrated Aerosols. Application to Analysis of Cigarette Smoke. *Analytical Chemistry* **1959**, 31 (10), 1705–1709.
- (90) Lauterbach, J. H. Comment on Gas/Particle Partitioning of Two Acid-Base Active Compounds in Mainstream Tobacco Smoke: Nicotine and Ammonia. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, 58 (16), 9287–9288; author reply 9289.
- (91) Chang, M. J.; Naworal, J. D.; Walker, K.; Connell, C. T. Investigations on the Direct Introduction of Cigarette Smoke for Trace Elements Analysis by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* **2003**, 58 (11), 1979–1996.
- (92) Bao, M.; Joza, P.; Rickert, W. S.; Lauterbach, J. H. An Improved Headspace Solid-Phase Microextraction Method for the Analysis of Free-Base Nicotine in Particulate Phase of Mainstream Cigarette Smoke. *Analytica Chimica Acta* **2010**, 663 (1), 49–54.
- (93) Busch, C.; Streibel, T.; Liu, C.; McAdam, K. G.; Zimmermann, R. Pyrolysis and Combustion of Tobacco in a Cigarette Smoking Simulator under Air and Nitrogen Atmosphere. *Anal Bioanal Chem* **2012**, 403 (2), 419–430.
- (94) Charles, S. M.; Batterman, S. A.; Jia, C. Composition and Emissions of VOCs in Main- and Side-Stream Smoke of Research Cigarettes. *Atmospheric Environment* **2007**, 41 (26), 5371–5384.
- (95) Moir, D.; Rickert, W. S.; Levasseur, G.; Larose, Y.; Maertens, R.; White, P.; Desjardins, S. A Comparison of Mainstream and Sidestream Marijuana and Tobacco Cigarette Smoke Produced under Two Machine Smoking Conditions. *Chem. Res. Toxicol.* **2008**, 21 (2), 494–502.
- (96) Serban C Moldoveanu, W. C. I. Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons In Exhaled Cigarette Smoke*. *Beitrage zur Tabakforschung International/ Contributions to Tobacco Research* **2008**, 23 (2), 85–97.
- (97) Mühlberger, F.; Streibel, T.; Wieser, J.; Ulrich, A.; Zimmermann, R. Single Photon Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry with a Pulsed Electron Beam Pumped Excimer VUV Lamp for On-Line Gas Analysis: Setup and First Results on Cigarette Smoke and Human Breath. *Anal. Chem.* **2005**, 77 (22), 7408–7414.
- (98) Saha, S.; Mistri, R.; Ray, B. C. Determination of Pyridine, 2-Picoline, 4-Picoline and Quinoline from Mainstream Cigarette Smoke by Solid-Phase Extraction Liquid Chromatography/Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A* **2010**, 1217 (3), 307–311.

- (99) Zhao, G.; Wang, S.; Fu, Y.; Yu, J.; Wang, B.; Xie, F.; Xie, J. Analysis of the Heterocyclic Aromatic Amines in Cigarette Smoke by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *Chromatographia* **2014**, *77* (11–12), 813–820.
- (100) Adam, T.; Mitschke, S.; Baker, R. R. Investigation of Tobacco Pyrolysis Gases and Puff-by-Puff Resolved Cigarette Smoke by Single Photon Ionisation (SPI) - Time-of-Flight Mass Spectrometry (TOFMS). *Beiträge zur Tabakforschung / Contributions to Tobacco Research* **2014**, *23* (4), 203–226.
- (101) Havey, C. D.; Dane, A. J.; Abbas-Hawks, C.; Voorhees, K. J. Detection of Nitro-Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Mainstream and Sidestream Tobacco Smoke Using Electron Monochromator-Mass Spectrometry. *Environ Chem Lett* **2008**, *7* (4), 331–336.
- (102) Pang, X.; Lewis, A. C. Carbonyl Compounds in Gas and Particle Phases of Mainstream Cigarette Smoke. *Sci Total Environ* **2011**, *409* (23), 5000–5009.
- (103) Arthur, C. L.; Pawliszyn, J. Solid Phase Microextraction with Thermal Desorption Using Fused Silica Optical Fibers. *Anal. Chem.* **1990**, *62* (19), 2145–2148.
- (104) Zini, C. A.; Augusto, F.; Christensen, E.; Smith, B. P.; Caramão, E. B.; Pawliszyn, J. Monitoring Biogenic Volatile Compounds Emitted by *Eucalyptus Citriodora* Using SPME. *Anal. Chem.* **2001**, *73* (19), 4729–4735.
- (105) Wu, W.; Ashley, D. L.; Watson, C. H. Simultaneous Determination of Five Tobacco-Specific Nitrosamines in Mainstream Cigarette Smoke by Isotope Dilution Liquid Chromatography/Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* **2003**, *75* (18), 4827–4832.
- (106) Uchiyama, S.; Inaba, Y.; Kunugita, N. Determination of Acrolein and Other Carbonyls in Cigarette Smoke Using Coupled Silica Cartridges Impregnated with Hydroquinone and 2,4-Dinitrophenylhydrazine. *J Chromatogr A* **2010**, *1217* (26), 4383–4388.
- (107) Swami, K.; Judd, C. D.; Orsini, J. Trace Metals Analysis of Legal and Counterfeit Cigarette Tobacco Samples Using Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry and Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry. *Spectroscopy Letters* **2009**, *42* (8), 479–490.
- (108) Holtzclaw, J. R.; Rose, S. L.; Wyatt, J. R.; Rounbehler, D. P.; Fine, D. H. Simultaneous Determination of Hydrazine, Methylhydrazine, and 1,1-Dimethylhydrazine in Air by Derivatization/Gas Chromatography. *Analytical Chemistry* **1984**, *56* (14), 2952–2956.
- (109) Baren, R. E.; Parrish, M. E.; Shafer, K. H.; Harward, C. N.; Shi, Q.; Nelson, D. D.; McManus, J. B.; Zahniser, M. S. Quad Quantum Cascade Laser Spectrometer with Dual Gas Cells for the Simultaneous Analysis of Mainstream and Sidestream Cigarette Smoke. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **2004**, *60* (14), 3437–3447.
- (110) Li, S.; Banyasz, J. L.; Parrish, M. E.; Lyons-Hart, J.; Shafer, K. H. Formaldehyde in the Gas Phase of Mainstream Cigarette Smoke. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* **2002**, *65* (2), 137–145.
- (111) Coggins, C. R. E.; Gaworski, C. L. Could Charcoal Filtration of Cigarette Smoke Reduce Smoking-Induced Disease? A Review of the Literature. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **2008**, *50* (3), 359–365.
- (112) Polzin, G. M.; Zhang, L.; Hearn, B. A.; Tavakoli, A. D.; Vaughan, C.; Ding, Y. S.; Ashley, D. L.; Watson, C. H. Effect of Charcoal-Containing Cigarette Filters on Gas Phase Volatile Organic Compounds in Mainstream Cigarette Smoke. *Tobacco Control* **2008**, *17* (Suppl 1), i10–i16.

- (113) Nother, K.; Ashley, M. S.; Clayton, P. M. Influence of Type and Amount of Carbon in Cigarette Filters on Smokers' Mouth Level Exposure to "Tar", Nicotine, 1,3-Butadiene, Benzene, Toluene, Isoprene, and Acrylonitrile. *Beiträge zur Tabakforschung International/Contributions to Tobacco Research* **2016**, 27 (2), 40–53.
- (114) Dittrich, D. J.; Fieblekorn, R. T.; Bevan, M. J.; Rushforth, D.; Murphy, J. J.; Ashley, M.; McAdam, K. G.; Liu, C.; Proctor, C. J. Approaches for the Design of Reduced Toxicant Emission Cigarettes. *Springerplus* **2014**, 3, 374.
- (115) McAdam, K. G.; Gregg, E. O.; Bevan, M.; Dittrich, D. J.; Hemsley, S.; Liu, C.; Proctor, C. J. Design and Chemical Evaluation of Reduced Machine-Yield Cigarettes. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **2012**, 62 (1), 138–150.
- (116) George, T. W. Selective Removal of Components of Tobacco Smoke by Filtration. *Natl Cancer Inst Monogr* **1968**, 28, 237–248.
- (117) Williamson, J. T.; Graham, J. F.; Allman, D. R. The Modification of Cigarette Smoke by Filter Tips. *Beiträge zur Tabakforschung International/Contributions to Tobacco Research* **1965**, 3 (3), 233–242.
- (118) Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks. Addictiveness and Attractiveness of Tobacco Additives, 2010. https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/emerging/docs/scenih_r_o_029.pdf (accessed Jul 28, 2018).
- (119) Kozlowski, L. T.; O'Connor, R. J. Cigarette Filter Ventilation Is a Defective Design Because of Misleading Taste, Bigger Puffs, and Blocked Vents. *Tob Control* **2002**, 11 (suppl 1), i40–i50.
- (120) Charles, S. M.; Jia, C.; Batterman, S. A.; Godwin, C. VOC and Particulate Emissions from Commercial Cigarettes: Analysis of 2,5-DMF as an ETS Tracer. *Environ. Sci. Technol.* **2008**, 42 (4), 1324–1331.
- (121) Lodovici, M.; Akpan, V.; Evangelisti, C.; Dolara, P. Sidestream Tobacco Smoke as the Main Predictor of Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *J. Appl. Toxicol.* **2004**, 24 (4), 277–281.
- (122) Adam, T.; McAughey, J.; McGrath, C.; Mocker, C.; Zimmermann, R. Simultaneous On-Line Size and Chemical Analysis of Gas Phase and Particulate Phase of Cigarette Mainstream Smoke. *Anal Bioanal Chem* **2009**, 394 (4), 1193–1203.
- (123) Johnson, K. C. Accumulating Evidence on Passive and Active Smoking and Breast Cancer Risk. *Int. J. Cancer* **2005**, 117 (4), 619–628.
- (124) Tobacco Disclosure Act: Cigarette and Smokeless Tobacco Products: Reports of Added Constituents and Nicotine Ratings; General Laws of Massachusetts (Chapter 94), Section 307B 105 CMR 660.000. Commonwealth of Massachusetts, 1997.
- (125) Jarvis, M., Boreham, P.P., Feyerabend, C., Bryant, A., 2001. Nicotine Yield from Machinesmoked Cigarettes and Nicotine Intake from Smokers: Evidence from a Representative Population Survey. *J. Natl. Cancer Inst.* 93, 134–138.
- (126) Nelson, P., Chen, P., Dixon, M., Steichen, T., 2011. A Survey of Mouth Level Exposure to Cigarette Smoke in the United States. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 61 (3 Suppl), S25–S38.
- (127) Scherer, G. Smoking Behaviour and Compensation: A Review of the Literature. *Psychopharmacology (Berl.)* **1999**, 145 (1), 1–20.
- (128) Ashley, M.; Saunders, P.; Mullard, G.; Prasad, K.; Mariner, D.; Williamson, J.; Richter, A. Smoking Intensity before and after Introduction of the Public Place Smoking Ban in Scotland. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **2011**, 61 (3, Supplement), S60–S65.
- (129) McGrath, T. E.; Brown, A. P.; Meruva, N. K.; Chan, W. G. Phenolic Compound Formation from the Low Temperature Pyrolysis of Tobacco. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* **2009**, 84 (2), 170–178.

- (130) Na, K.; Song, C.; Cocker, D. R. Formation of Secondary Organic Aerosol from the Reaction of Styrene with Ozone in the Presence and Absence of Ammonia and Water. *Atmospheric Environment* **2006**, 40 (10), 1889–1900.
- (131) Shen, J.; Li, J.; Qian, X.; Ren, W.; Fatehi, P. A Review on Engineering of Cellulosic Cigarette Paper to Reduce Carbon Monoxide Delivery of Cigarettes. *Carbohydrate Polymers* **2014**, 101, 769–775.
- (132) E Stephens, W. Dependence of Tar, Nicotine and Carbon Monoxide Yields on Physical Parameters: Implications for Exposure, Emissions Control and Monitoring; 2007; Vol. 16.
- (133) Hoffmann, D.; Adams, J. D.; Wynder, E. L. Formation and Analysis of Carbon Monoxide in Cigarette Mainstream and Sidestream Smoke. *Preventive Medicine* **1979**, 8 (3), 344–350.
- (134) Baker, R. R.; Crellin, R. A. The Diffusion of Carbon Monoxide out of Cigarettes. *Beiträge zur Tabakforschung International/Contributions to Tobacco Research* **1977**, 9 (3), 131–140.
- (135) Jr, V. H. Smoking Article with Reduced Carbon Monoxide Delivery. US6823872B2, November 30, 2004.
- (136) Baldwin, S. D.; Sanders, E. B.; Myracle, J. L.; Goodman, B. L.; Arterbery, C. W.; Geiszler, W. A.; Floyd, B.; Claffin, W. E. Smoking Articles Using Novel Paper Wrapper. US5168884A, December 8, 1992.
- (137) Fatehi, P.; Kititerakun, R.; Ni, Y.; Xiao, H. Synergy of CMC and Modified Chitosan on Strength Properties of Cellulosic Fiber Network. *Carbohydrate Polymers* **2010**, 80 (1), 208–214.
- (138) Bharali, P.; Saikia, P.; Katta, L.; Reddy, B. M. Enhancement in CO Oxidation Activity of Nanosized CexZr1-xO2 Solid Solutions by Incorporation of Additional Dopants. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* **2013**, 19 (1), 327–336.
- (139) Li, S.; Olegario, R. M.; Banyasz, J. L.; Shafer, K. H. Gas Chromatography–Mass Spectrometry Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Single Puff of Cigarette Smoke. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* **2003**, 66 (1–2), 155–163.
- (140) Adam, T.; Streibel, T.; Mitschke, S.; Mühlberger, F.; Baker, R. R.; Zimmermann, R. Application of Time-of-Flight Mass Spectrometry with Laser-Based Photoionization Methods for Analytical Pyrolysis of PVC and Tobacco. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* **2005**, 74 (1–2), 454–464.
- (141) Lawrence, E. O. The Evolution of the Cyclotron. Nobel Lecture **1951**.
- (142) Thomas, H. A.; Driscoll, R. L.; Hipple, J. A. Measurement of the Proton Moment in Absolute Units; National Bureau of Standards, 1950.
- (143) Comisarow, M. B.; Marshall, A. G. Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Spectroscopy. *Chemical Physics Letters* **1974**, 25 (2), 282–283.
- (144) Dole, M.; Mack, L. L.; Hines, R. L.; Mobley, R. C.; Ferguson, L. D.; Alice, M. B. Molecular Beams of Macroions. *The Journal of Chemical Physics* **1968**, 49 (5), 2240–2249.
- (145) Taylor, G. Disintegration of Water Drops in an Electric Field. *Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* **1964**, 280 (1382), 383–397.
- (146) Iribarne, J. V.; Thomson, B. A. On the Evaporation of Small Ions from Charged Droplets. *The Journal of Chemical Physics* **1976**, 64 (6), 2287–2294.
- (147) Siu, K. W. M.; Guevremont, R.; Blanc, J. C. Y. L.; O'Brien, R. T.; Berman, S. S. Is Droplet Evaporation Crucial in the Mechanism of Electrospray Mass Spectrometry? *Organic Mass Spectrometry* **1993**, 28 (5), 579–584.
- (148) Principe de la source ionisation électrospray. *Spectrométrie de masse*, 2016.

- (149) Kebarle, P.; Peschke, M. On the Mechanisms by Which the Charged Droplets Produced by Electrospray Lead to Gas Phase Ions. *Analytica Chimica Acta* **2000**, 406 (1), 11–35.
- (150) Aubriet, F. Traitement de Données Haute Résolution. **2014**, No. http://www.fticr.org/IMG/pdf/14_Aubriet_Haute_resolution.pdf.
- (151) Kind, T.; Fiehn, O. Seven Golden Rules for Heuristic Filtering of Molecular Formulas Obtained by Accurate Mass Spectrometry. *BMC Bioinformatics* **2007**, 8, 105.
- (152) Hertzog, J.; Carré, V.; Le Brech, Y.; Dufour, A.; Aubriet, F. Toward Controlled Ionization Conditions for ESI-FT-ICR-MS Analysis of Bio-Oils from Lignocellulosic Material. *Energy Fuels* **2016**, 30 (7), 5729–5739.
- (153) Adam, T.; Mitschke, S.; Streibel, T.; Baker, R. R.; Zimmermann, R. Puff-by-Puff Resolved Characterisation of Cigarette Mainstream Smoke by Single Photon Ionisation (SPI)-Time-of-Flight Mass Spectrometry (TOFMS): Comparison of the 2R4F Research Cigarette and Pure Burley, Virginia, Oriental and Maryland Tobacco Cigarettes. *Anal Chim Acta* **2006**, 572 (2), 219–229.
- (154) Adam, T.; Ferge, T.; Mitschke, S.; Streibel, T.; Baker, R. R.; Zimmermann, R. Discrimination of Three Tobacco Types (Burley, Virginia and Oriental) by Pyrolysis Single-Photon Ionisation-Time-of-Flight Mass Spectrometry and Advanced Statistical Methods. *Anal Bioanal Chem* **2005**, 381 (2), 487–499.

La fumée de cigarette est un aérosol complexe constitué d'une phase gazeuse et d'une phase particulaire. Elle est issue de la combustion et de la pyrolyse des différents ingrédients de la cigarette lors de son fumage. Sa toxicité est intimement liée à sa composition chimique et à son comportement dans l'organisme. L'étude de la phase gazeuse a conduit à de nombreux travaux, celle de la phase particulaire est bien moins documentée. Cependant, la composition de la fraction particulaire présente de fortes différences en fonction de type de fumée considérée (fumée inhalée, exhalée, ...). Une grande partie des travaux qui traitent de l'analyse de cette fraction particulaire correspond à des approches ciblées ne s'intéressant qu'à certains composés comme la nicotine, les HAP ou les amines aromatiques.

L'objectif de ce travail de thèse a été d'approfondir notre connaissance de la composition chimique de la matière particulaire des fumées de cigarette inhalées par le fumeur actif (MSS). La démarche entreprise est celle d'une analyse non-ciblée assurant la mise en évidence du plus grand nombre possible de constituants de la fumée de cigarette. L'étude de l'influence de la nature du filtre (normal ou de type O-ring), de la présence ou de l'absence d'additifs (agents de saveur) et de l'origine géographique de la cigarette sur la nature et la distribution des composés présents dans la matière particulaire a également pu être menée.

Un préalable à cette étude a été la mise en place d'une méthode répétable de fumage des cigarettes et de collecte de la phase gazeuse et particulaire. A cette fin, une machine à fumer, a été conçue de manière à prélever les particules et les composés organiques volatiles ou COV des MSS pendant une simulation de fumage. La procédure de fumage de cigarette adoptée respecte la norme ISO 4387. Les particules sont collectées sur un filtre de quartz alors que les COV sont piégés sur un charbon actif. Après chaque prélèvement, les COV adsorbés sur le charbon actif sont extraits par le dichlorométhane. Ce solvant est également employé pour réaliser l'extraction des composés présents dans les particules de MSS. Parmi les COV, les BTEX (benzène, toluène, éthyl-benzène, ortho- méta- et para-xylène) ont été choisis comme traceurs de la phase gazeuse. La nicotine a été retenue comme traceur de la phase particulaire. L'analyse des BTEX est menée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS), celle de la nicotine par couplage de la chromatographie gazeuse avec la spectrométrie de masse en tandem (GC/MS/MS). La variation de la concentration obtenue pour ces différents traceurs sur huit répliqués est de l'ordre de 7 à 20%. Elle est jugée suffisamment basse pour que les méthodes de fumage et de prélèvement employées soient jugées répétables. L'analyse non-ciblée de la matière particulaire est menée directement et sans prétraitement sur les filtres de collecte par désorption/ionisation laser (LDI) ou en étudiant les extraits après évaporation du dichlorométhane et resolubilisation dans le méthanol par électro-nébulisation (ESI). De manière systématique, un spectromètre de masse à résonance cyclotronique des ions à transformée de Fourier (FT-ICR MS) est employé. La très haute résolution et la très haute précision sur la mesure des rapports m/z de cet instrument sont en effet requis pour l'examen de ces échantillons extrêmement complexes.

La complémentarité des analyses LDI et ESI pour l'analyse de la fumée de cigarette a pu être établie. Les analyses ESI assurent la détection des composés les plus polaires comme ceux possédant un groupement pyridine ou pyrrolidinyl. Celles menées par LDI apparaissent plus sensibles aux espèces hétéro-aromatiques poly-condensées. L'ensemble des résultats obtenus montre l'influence de la morphologie de la cigarette, de son origine et de la présence potentielle d'agents de saveur (clou de girofle) sur la composition chimique de la matière particulaire des MSS.

Abstract

The cigarette smokes are complex mixtures, composed of a gaseous phase and a particulate phase. They are generated by the combustion and the pyrolysis of the cigarette ingredients (tobacco, additive and paper). The toxic effects of cigarette smoke are directly correlated with its chemical composition as well as the morphology of the aerosol itself. The composition of the particulate (aerosol) fraction is still only partially described and the relationship with the nature of the cigarette smoke (inhaled, exhaled,...) poorly documented.

The aim of this thesis is to increase our knowledge of the chemical composition of the particulate matter of the cigarette smoke inhaled by an active smoker (MSS). The used approach is a non-targeted analysis ensuring the detection of as many as possible of the cigarette smoke constituents. The study of the influence of the nature of the filter (normal or O-ring type), the presence or absence of additives (flavoring agents) and the geographical origin of the cigarette on the nature and the distribution of the compounds present in the particulate matter was also carried out.

For this purpose, a smoking machine has been designed to collect particulates and volatile organic compounds (VOCs) from mainstream cigarette smoke (MSS) during a smoking simulation procedure. The adopted cigarette smoking procedure respects the ISO 4387. The particles are collected on a quartz filter while the VOCs are trapped on an activated charcoal.

After sampling, the VOCs adsorbed on the activated charcoal are extracted with dichloromethane. This solvent is also used to extract the compounds present in the MSS particles. Among the VOCs, BTEX (benzene, toluene, ethylbenzene, ortho- meta- and para-xylene) were chosen as tracers for the gas phase. Nicotine was retained as tracer of the particulate phase. The analysis of BTEX is conducted by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC/MS) and the nicotine by gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry (GC/MS/MS). The variation of the concentration obtained for the different tracers for eight replicates is ranging from 7 to 20%. This is low enough to consider that the used smoking and sampling methods are repeatable.

Non-targeted analysis of the particulate matter is carried out without pretreatment by laser desorption/ionization (LDI) mass spectrometry of the MSS collected on quartz filter or by electrospray (ESI) mass spectrometry of dichloromethane extracts after its evaporation and the solubilization of MSS components in methanol. A Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometer (FT-ICR MS) was systematically used. The very high resolution and the very high accuracy measurement achieved by this instrument is required for the examination of such extremely complex samples.

The complementarity of LDI and ESI ionization for the analysis of the particle cigarette smoke compounds was established. The ESI analyses evidenced polar compounds and components with a pyridine group and LDI ensured the detection of poly-condensed hetero-aromatic species. All the results obtained in this study showed the influence of the morphology of the cigarette, of its origin and the presence of flavoring agents (cloves) on the chemical composition of the particulate matter of the MSS.

Publication

Study of the mainstream cigarette smoke aerosols by Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry coupled to laser/desorption and electrospray ionization – Additional insights on the heteroaromatic components

Kamissoko A., Carré V., Schramm, S., Aubriet F. Rapid Communication in Mass Spectrometry (Acceptée le 15 Novembre 2018).

Communications Orales

Kamissoko A., Carré V., Aubriet F. « Study of the particulate phases of cigarette smoke by laser desorption mass spectrometry » Journée Scientifique de l'Ecole Doctorale SESAMES, Metz, 24 Novembre 2017.

Kamissoko A., Carré V., Aubriet F. « Etude de la phase gazeuse et particulaire de la fumée de cigarette par la spectrométrie de masse » 22^{èmes} Rencontres du Club des Jeunes de la société française de Spectrométrie de Masse, Trélon, 20-24 mars 2017.

Kamissoko A., Carré V., Aubriet F. « Evaluation d'une procédure de prélèvement de fumée de cigarette par suivi de la concentration de BTEX » Journée Scientifique de l'Ecole Doctorale SESAME, Nancy, 31 Mai 2016.

Carré V., Schramm, S., Kamissoko A., Aubriet F. « High resolution mass spectrometry study of a complex environmental aerosol by electrospray ionization and laser desorption ionization: the cigarette smoke. » EuroAnalysis 2015, Bordeaux (France) 6-10 Septembre 2015.

Communications Posters

Kamissoko A., Carré V., Aubriet F. « Study of the particles from the mainstream smoke of French and Indonesian cigarettes by LDI-FTICRMS » 13th European Fourier Transform Mass Spectrometry (EFTMS) Workshop & 2nd EFTMS School 2018, Freising, (Allemagne) 24 – 27 avril 2018.

Kamissoko A., Carré V., Aubriet F. « Study of the particle from the mainstream smoke of French and Indonesian cigarette by LDI-FTICRMS » European Mass Spectrometry Conference 2018, Saarbrück (Allemagne) 11 – 15 mars 2018.

Kamissoko A., Carré V., Aubriet F. « Étude de la composition de particules du courant principal de fumée de cigarette en fonction de la nature de la cigarette par LDI-FTICRMS » SMMAP 2017, Disneyland Paris, 2-5 Octobre 2017.

Kamissoko A., Carré V., Aubriet F. « Evaluating cigarette smoke collection process by monitoring the concentration of BTEX » 4^{ème} Edition DocScilor 2017, Nancy, 15 Juin 2017.

Kamissoko A., Carré V., Aubriet F. « Evaluation d'une procédure de prélèvement de fumée de cigarette par suivi de la concentration de BTEX » 33^{èmes} Journées Françaises de Spectrométrie de Masse, Bordeaux, 27-30 septembre 2016.