

CHROM. 12,548

MÉTHODE D'ANALYSE PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE DES FORMULATIONS À BASE DE MÉLANGES D'ACIDES PHÉNOXYCARBOXYLIQUES, DE DICAMBA, D'IOXYNIL ET DE BROMOXYNIL

J.-C. VAN DAMME et M. GALOUX

Station de Phytopharmacie de l'État, 11 Rue du Bordia, B-5800 Gembloux (Belgique)

(Reçu le 18 octobre 1979)

SUMMARY

High-performance liquid chromatography analysis of formulations of phenoxy-carboxylic acids, dicamba, ioxynil and bromoxynil mixtures

Eighteen mixed formulations of phenoxy-carboxylic acids and other herbicides such as dicamba, ioxynil and bromoxynil have been analyzed by high-performance liquid chromatography using a 5- μ m Nucleosil 50 column.

The concentration of acetic acid in the eluent hexane-acetic acid depends on the formulation to be analyzed and on the analysis time. The formulations are extracted with a chloroform-diethyl ether mixture, and 20 μ l of the extract are injected onto the column. The compounds are detected at 285 nm.

The method is simple, rapid and the formulations are specifically analyzed without derivatization.

INTRODUCTION*

Les formulations commerciales à base d'acides phénoxy-carboxyliques (MCPA, mécoprop, MCPB, 2,4,-D, dichlorprop, 2,4,5-T) contiennent souvent deux ou plusieurs matières actives. Dans certains cas, ces acides sont également associés à d'autres herbicides tels l'ioxynil, le bromoxynil, le dicamba. Ces produits sont formulés soit sous forme de sels sodiques, potassiques ou d'amines, soit sous forme d'esters.

Pour le dosage des résidus, plusieurs méthodes permettent de séparer et d'analyser sélectivement ces acides par chromatographie sur couche mince. Les adsorbants utilisés sont le gel de silice ou l'alumine et les éluants, de l'hexane, du

* Bromoxynil = 3,5-dibromo-4-hydroxybenzonitrile; 2,4-D = acide 2,4-dichlorophénoxy-acétique; dicamba = acide 3,6-dichloro-2-méthoxybenzoïque; dichlorprop = acide (\pm)-2-(2,4-dichlorophénoxy) propionique; ioxynil = 4-hydroxy-3,5-di-iodobenzonitrile; MCPA = acide 4-chloro-2-méthylphénoxyacétique; MCPB = acide 4-(4-chloro-2-méthylphénoxy) butyrique; mécoprop = acide (\pm)-2-(4-chloro-2-méthylphénoxy) propionique; 2,4,5-T = acide 2,4,5-trichlorophénoxyacétique.

dichlorométhane ou du chloroforme contenant de l'acide formique ou acétique¹⁻³.

Au niveau des formulations commerciales, le mécoprop, le MCPA et le 2,4-D ou le 2,4,5-T peuvent être séparés par chromatographie sur colonne de florisil désactivée à 5% d'eau, l'éluant étant du chloroforme exempt d'éthanol contenant 5% d'acide acétique. Mais, les séparations ne sont pas toujours reproductibles et exigent plus d'une journée de travail.

L'analyse des acides phénoxy-carboxyliques par chromatographie gazeuse nécessite la transformation préalable de ces acides en dérivés plus volatils et moins polaires⁴⁻⁶.

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) permet d'adapter les conditions de la chromatographie sur couche mince ou sur colonne; l'analyse directe des acides avec des performances comparables à celles de la chromatographie gazeuse est dès lors possible.

Plusieurs méthodes de dosage de ces acides par HPLC ont été publiées dans la littérature. Eisenbeiss et Sieper⁷, en analyse de résidus, ont séparé les acides phénoxy-carboxyliques sur une colonne de Perisorb A de 1500 × 2 mm avec un mélange hexane-acide acétique (92.5:7.5). Tuinstra *et al.*⁸ ont dosé les résidus de nombreux acides dans les eaux au moyen d'une colonne de Partisil 5 avec le même éluant. Des formulations contenant du 2,4-D et du piclorame ont été analysées par chromatographie sur colonne échangeuse d'ions Zipax SAX⁹. Skelly *et al.*¹⁰ ont séparé le 2,4-D de ses impuretés sur une colonne de Partisil ODS avec un mélange acétonitrile-eau (20:80) tamponné à pH 3.

Cet article décrit une méthode qui permet d'analyser sélectivement dans un mélange les acides mécoprop, dichlorprop, MCPA, 2,4-D, 2,4,5-T ainsi que le dicamba, l'ionynil et le bromoxynil.

Cette méthode est basée sur la séparation de ces composés sur une colonne de Nucléosil 50, l'éluion étant effectuée avec de l'hexane contenant 2.5 à 7% d'acide acétique.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Appareillage

Le chromatographe liquide (Tracor 990) est équipé d'un détecteur à longueur d'onde variable Tracor 970, d'une vanne Rhéodyne 7120 munie d'une boucle d'injection de 20 μ l, d'un enregistreur et d'un intégrateur Infotronics CRS 304.

La colonne (20 cm × 4 mm I.D.) contenant des particules sphériques de gel de silice de 5 μ m de diamètre (Nucléosil 50), est entourée d'une jaquette permettant de maintenir la colonne à 25° au moyen d'un bain thermostatique de précision.

Conditions de la chromatographie liquide

L'éluant utilisé est du *n*-hexane à 5% (v/v) d'acide acétique, sauf pour les formulations 17 et 18 où le pourcentage d'acide acétique est de 2.5%. Débit = 1.75 ml/min; pression = 1020 p.s.i.; longueur d'onde = 285 nm.

Réactifs

Les réactifs utilisés sont les suivants: *n*-hexane Lichrosolv Merck 4391, acide acétique (p.a.), chloroforme Chromar Mallinckrodt 4443 (exempt d'éthanol), éther

diéthylique (p.a.), mélange chloroforme-éther diéthylique (50:50), méthanol (p.a.), KOH 2 N dans le méthanol, HCl 2.4 N (HCl concentré min. 37% dilué 5 fois), Na₂SO₄ anhydre, matières actives pures (min. 99%) Pestanal Riedel-de Haën. Les solutions de références sont préparées comme suit :

Peser avec précision environ 0.250 g de produit pur dans un ballon jaugé de 100 ml, dissoudre et porter au volume avec le mélange chloroforme-éther diéthylique. Ces solutions à 2.5 g/l sont diluées de manière à contenir des concentrations voisines à celles des solutions à mesurer.

Extraction

Formulations à base de sels. Transvaser dans une ampoule à décanter de 250 ml une prise d'essai contenant 0.150 à 0.200 g d'équivalents acides de la matière active la plus concentrée au moyen de 50 ml d'eau. Ajouter 25 ml d'HCl 2.4 N pour libérer les acides de leurs sels et extraire ces acides par 4 × 50 ml et 1 × 25 ml d'un mélange chloroforme-éther diéthylique. Recueillir les phases organiques dans un ballon jaugé de 250 ml en les séchant préalablement par passage sur Na₂SO₄ anhydre. Rincer le Na₂SO₄ et porter au volume avec le mélange chloroforme-éther diéthylique.

Formulations à base d'esters. Peser, dans un erlenmeyer de 100 ml, une prise d'essai contenant 0.150 à 0.200 g d'équivalents acides de la matière active la plus concentrée. Ajouter 15 ml de KOH 2 N dans du méthanol, rincer les parois de l'erlenmeyer avec quelques ml de méthanol et chauffer une heure sous reflux. Rincer le réfrigérant avec un peu d'eau, évaporer le méthanol sur bain marie. Transvaser dans une ampoule de 250 ml au moyen de 50 ml d'eau. Ajouter 25 ml d'HCl 2.4 N et extraire par 1 × 100, 2 × 50 et 1 × 25 ml du mélange chloroforme-éther diéthylique. Recueillir les phases organiques dans un ballon jaugé de 250 ml en les séchant préalablement par passage sur Na₂SO₄ anhydre. Rincer le Na₂SO₄ et porter au volume avec le mélange chloroforme-éther diéthylique.

Chromatographie

Injecter en alternance 20 µl des solutions de référence et des solutions de l'échantillon à analyser. La concentration de l'échantillon est mesurée par rapport aux références qui le précèdent et le suivent, ceci afin d'éviter des différences dues aux modifications éventuelles de la colonne dans le temps. Si les séparations obtenues ne sont plus satisfaisantes, la colonne peut être reconditionnée avec du méthanol.

Chaque échantillon est injecté deux fois et les surfaces sont mesurées au moyen d'un intégrateur.

$$\% \text{ matière active} = \frac{S}{S'} \cdot \frac{P'}{P} \cdot 25$$

S = moyenne des surfaces des pics de l'échantillon; S' = moyenne des surfaces des pics correspondant de la solution de référence; P = prise d'essai en g; P' = concentration en g/l dans la solution de référence.

RÉSULTATS

La Fig. 1 représente les droites d'étalonnage obtenues pour le mécoprop, le MCPA et le 2,4-D pour des concentrations comprises entre 0.3 et 1 mg/ml. Les co-

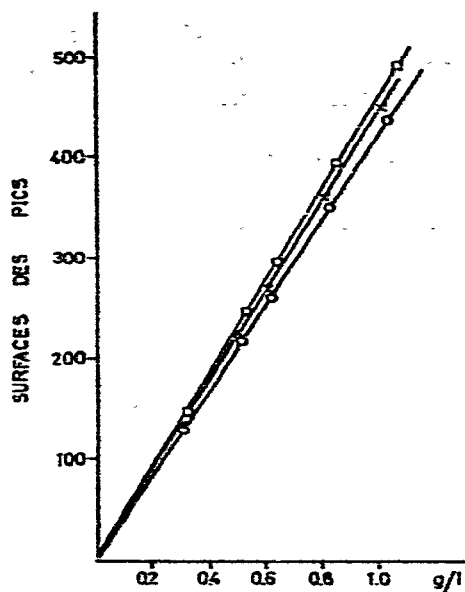


Fig. 1. Droites d'étalonnage du mécoprop (O), du 2,4-D (x) et du MCPA (□).

efficients de corrélation obtenus pour ces trois droites sont supérieurs à 0.9999. La reproductibilité des injections au moyen de la boucle de 20 μ l est illustrée au Tableau I. L'écart-type relatif pour neuf injections est de 0.24% pour le mécoprop, 0.27% pour le MCPA et 0.27% pour le 2,4-D. L'écart-type relatif pour six répétitions sur l'échantillon 2 est de 0.33% pour le mécoprop et de 0.46% pour le MCPA.

Le Tableau II donne les taux de récupération de l'extraction en ampoule avec le mélange chloroforme-éther diéthylique pour le 2,4-D seul et en mélange avec le 2,4,5-T, les prises d'essai étant de 0.150 à 0.200 g comme indiqué dans la méthode. Ces taux de récupération sont de 99.4% pour le 2,4,5-T et de 99.9% pour le 2,4-D.

TABLEAU I

SURFACES* MESURÉES POUR NEUF INJECTIONS D'UNE SOLUTION DE RÉFÉRENCE CONTENANT DU MÉCOPROP, DU MCPA ET DU 2,4-D

Injection	Mécoprop	MCPA	2,4-D
1	3919	4223	3997
2	3912	4209	4007
3	3925	4224	3999
4	3931	4215	4007
5	3939	4242	4017
6	3917	4222	4024
7	3912	4217	4023
8	3916	4239	4015
9	3931	4212	3995
Moyenne	3922	4223	4009
Ecart-type	9.5	11.4	11.0
Ecart-type en %	0.24	0.27	0.27

* En unités arbitraires.

TABLEAU II
TAUX DE RÉCUPÉRATION POUR LE 2,4-D ET LE 2,4,5-T

Echantillon	2,4-D	2,4,5-T
1	100.1	99.4
2	99.9	99.4
3	99.8	—
4	99.9	—
Moyenne	99.9	99.4

Une série de six analyses a été effectuée sur chacun des échantillons 3, 6, 11 et 13. Deux des prises d'essai pour chacun des quatre échantillons ont été fortifiées par 50 mg de 2,4-D. Le taux de récupération mesuré dans ces conditions est de 100.1 % avec un écart-type relatif de 0.31 %.

Dix-huit échantillons de produits commerciaux ont été analysés par HPLC. Les résultats obtenus sont présentés au Tableau III, en comparaison avec les teneurs garanties par les fabricants.

Dans le Tableau IV sont indiqués les résultats en acidité totale ainsi que les valeurs d'acidité totale calculées sur la base des garanties et des résultats obtenus par HPLC.

DISCUSSION

La chromatographie liquide sur gel de silice normal est particulièrement intéressante pour la séparation et le dosage d'acides phénoxy-carboxyliques, car on peut adapter facilement l'éluant aux différents mélanges en modifiant le pourcentage d'acide acétique dans l'hexane comme le montre la Fig. 2. Ainsi, avec de l'hexane contenant 2.5 % d'acide acétique, on peut séparer toutes les matières actives présentes dans les formulations analysées (mécoprop, dicamba, dichlorprop, ioxynil, MCPA, bromoxynil, 2,4,5-T, 2,4-D), mais le temps d'analyse est de 20 min.

On peut réduire ce temps à 13 min en utilisant de l'hexane à 5 % d'acide acétique, mais dans ces conditions, le dicamba n'est pas entièrement séparé du dichlorprop, le MCPA de l'ioxynil et le 2,4,5-T du bromoxynil comme le montre la Fig. 3a.

En augmentant le pourcentage d'acide acétique à 7 %, les formulations qui ne contiennent que du mécoprop et du MCPA peuvent être analysées en moins de 5 min celles qui ne contiennent que du mécoprop, du MCPA et/ou du 2,4-D en moins de 8 min.

Les échantillons 1 à 16 ont été analysés avec l'éluant à 5 %. La Fig. 3b montre le chromatogramme obtenu pour l'échantillon 6. Pour les échantillons 17 et 18, l'analyse a été effectuée avec l'éluant à 2.5 %; ces deux dernières formulations ont été mesurées en moins de 15 min, car elles ne contiennent ni 2,4-D, ni 2,4,5-T.

Le Tableau III montre que les plus grands écarts entre les teneurs garanties et les résultats HPLC ont été obtenus pour le 2,4-D; ces écarts sont de l'ordre de 20 % pour l'échantillon 11 et de 40 % pour l'échantillon 3. Pour le mécoprop et le MCPA, les différences entre les teneurs garanties et les résultats HPLC sont inférieures à 5 %. Les autres matières actives, qui ne sont présentes que dans quelques uns des mélanges analysés, donnent des différences variables.

TABLEAU III
TENEURS GARANTIES ET RÉSULTATS EN % DES FORMULATIONS ANALYSÉES

Formulation	Teneurs garanties par le fabricant				Résultats* obtenus par HPLC									
	Méco-prop	Dicamba	Dichlor-prop	Ioxy-nil	MCPA	2,4,5-T	2,4-D	Méco-prop	Dicamba	Dichlor-prop	Ioxy-nil	MCPA	2,4,5-T	2,4-D
1	23.2				16.6			22.1				16.0		
2	24.4				17.6			23.3				17.2		
3	12.6					9.9		12.4						5.8
4					27.7	29.7						27.6		27.4
5					26.3	29.7						25.4		28.8
6	23.1				9.2	9.2		22.3				9.0		8.0
7						13.8		27.6					12.9	27.1
8	10.6		15.7		10.6			10.3		13.7		10.7		21.3
9					21.8			21.8				21.2	18.8	26.1
10						28.0						19.2		17.3
11		5.2			21.5	21.5			4.8					6.2
12	6.6	1.9			6.6	6.6		6.5	1.7			6.5		21.2
13					24.0	24.0						23.2		
14	35.7	2.3						34.8	2.2					
15						23.1							21.7	20.4
16	30.7			7.4				30.0						
17				10.0								19.1		
18			24.4	4.1	8.1					23.3	4.1	8.0		

* Moyenne d'au moins trois déterminations.

TABLEAU IV

COMPARAISON DES ACIDITÉS TOTALES

Les acidités totales, exprimées en %, sont calculées soit en MCPA, soit en 2,4-D, si la formulation ne contient pas de MCPA, soit en MCPP, si la formulation ne contient ni MCPA ni 2,4-D.

Formulation	Garantie (G)	HPLC (C)	Titrage (T)	$\frac{T - G}{G}$	$\frac{C - G}{G}$
1	38.2	36.7	39.2	+ 2.6	- 3.9
2	40.4	39.0	41.9	+ 3.7	- 3.5
3	22.8	18.6	19.9	-12.7	-18.4
4	54.7	52.5	56.2	+ 2.7	- 4.0
5	53.3	51.5	54.3	+ 1.9	- 3.4
6	39.1	37.2	39.7	+ 1.5	- 4.9
7	39.5	38.3	40.5	+ 2.5	- 3.0
8	33.9	32.0	35.6	+ 5.0	- 5.6
9	41.6	40.5	42.4	+ 1.9	- 2.6
10	44.2	42.4	45.6	+ 3.2	- 4.1
11	45.7	39.3	42.1	- 7.9	-14.0
12	20.5	19.7	21.6	+ 5.4	- 3.9
13	45.8	42.4	45.9	+ 0.2	- 7.4
14	37.9	36.9	39.7	+ 4.7	- 2.6
15	43.1	39.2	42.1	- 2.3	- 9.0
16	35.0	34.0	-	-	- 2.9
17	25.4	24.6	-	-	- 3.1
18	31.1	30.1	-	-	- 3.2

Si on se réfère aux spécifications FAO qui admettent un écart de ± 5 , de ± 6 et de $\pm 10\%$ respectivement pour les formulations dont les teneurs sont comprises entre 25 et 50%, entre 10 et 25% et entre 2.5 et 10%, les échantillons 1, 2, 5, 9, 12, 14, 16, 17 et 18 sont conformes aux garanties données par les fabricants. Par contre, les

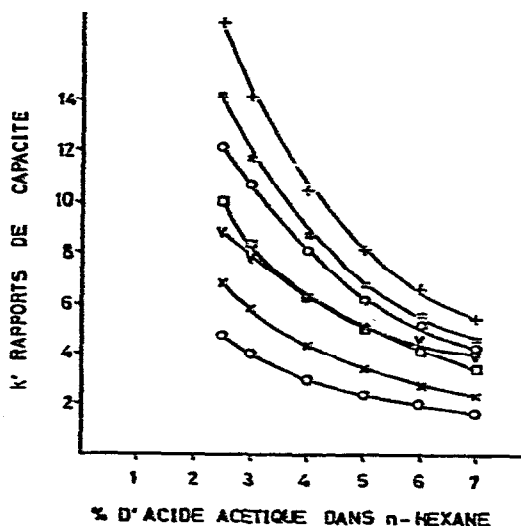


Fig. 2. Rapports de capacité (k') en fonction du pourcentage d'acide acétique dans l'hexane. O, Mécoprop; x, dichlorprop; □, MCPA; V, ioxynil; ●, bromoxynil; =, 2,4,5-T; +, 2,4-D.

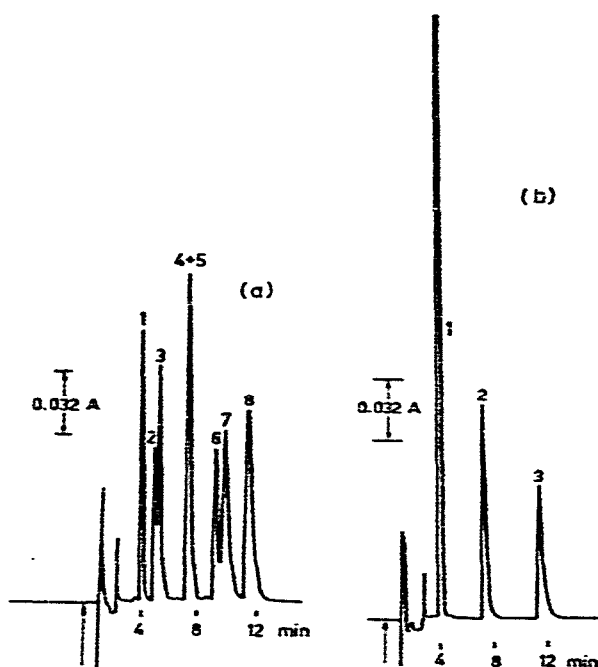


Fig. 3. (a) Chromatogramme d'une solution contenant mécoprop (1), dicamba (2), dichlorprop (3), MCPA (4), icxynil (5), bromoxynil (6), 2,4,5-T (7), 2,4,D (8). Phase stationnaire: Nucléosil 5 μm . Eluant: *n*-hexane-acide acétique (95:5). Débit: 1.75 ml/min. Pression: 1020 p.s.i. Détection UV à 285 nm. (b) Chromatogramme de l'échantillon 6. Mêmes conditions que Fig. 3a. 1 = Mécoprop, 2 = MCPA, 3 = 2,4-D.

formulations 3, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 13 et 15 ne satisfont pas les tolérances admises par la FAO pour une de leurs matières actives au moins.

L'HPLC étant une méthode spécifique, le fait que les résultats sont généralement inférieurs aux teneurs garanties pourrait s'expliquer par le manque de précision dans les déclarations, la plupart de ces teneurs étant probablement garanties en produits techniques sans tenir compte de leur pureté. Il est difficile de vérifier cette hypothèse, car les différences observées peuvent résulter également d'un léger sous-dosage alors que la garantie est bien exprimée sur la base "matière active pure".

La méthode d'analyse par titrage de l'acidité totale¹¹ mesure également les impuretés qui se comportent comme la matière active pure en cours d'analyse; par conséquent, les résultats obtenus par titrage doivent approcher la quantité de produits techniques présents dans les formulations. Le Tableau IV permet de comparer les acidités totales obtenues expérimentalement par titrage et celles calculées à partir des teneurs garanties et des résultats HPLC. Les différences entre ces trois valeurs permettent d'explicitier les résultats HPLC et de confirmer les valeurs nettement inférieures obtenues pour certaines formulations.

Pour les formulations 1, 2, 5, 9, 12, 14, 16, 17 et 18, conformes pour toutes les matières actives suivant les normes FAO, la différence entre l'acidité totale par titrage et l'acidité totale garantie varie de 2 à 4%, sauf pour les formulations 12 et 14 où elle est proche de 5%. On peut donc considérer que ces formulations sont garanties en

produits techniques mais légèrement surdosées, car les résultats globaux de l'HPLC sont toujours inférieurs (de 2,5 à 4%) aux teneurs garanties. Par contre, les échantillons 12 et 14 sont vraisemblablement déclarés sur base des matières actives pures.

Pour les échantillons 4, 6, 7, 8 et 10, non conformes pour au moins une de leurs matières actives, l'acidité totale par titrage est supérieure de 1.5 à 3.5% à l'acidité totale garantie. Ces formulations sont donc également déclarées en produits techniques, sauf l'échantillon 8 (écart de 5%) qui est soit garanti en matière active pure, soit plus fortement surdosé en produits techniques. L'écart, relativement faible (3 à 6%) entre l'acidité totale garantie et celle obtenue par HPLC, montre que le défaut d'un des constituants est compensé par un excès d'un ou plusieurs autres constituants.

Pour les échantillons 3, 11, 13 et 15, le fait que l'acidité totale par titrage est inférieure ou égale aux acidités totales garanties prouve que ces formulations sont sous-dosées, particulièrement les échantillons 3 et 11. Une confirmation est d'ailleurs apportée par les écarts importants observés pour le 2,4-D par HPLC.

CONCLUSION

La méthode par chromatographie liquide est rapide et permet d'analyser simultanément et spécifiquement les acides phénoxy-carboxyliques sans formation de dérivés. Cette méthode permet aussi d'analyser sur la même colonne et dans les mêmes conditions des mélanges contenant d'autres matières actives telles l'ioxynil, le dicamba, le bromoxynil.

En ce qui concerne la conformité des produits à leur teneur garantie, il est indispensable d'exiger que ces teneurs garanties soient données uniquement sur la base des matières actives pures afin d'éviter toute controverse au sujet des puretés des produits techniques.

REMERCIEMENTS

Les auteurs ont grandement apprécié l'aide technique de Monsieur R. Luxen et de Madame J. Potvin. Ils remercient les firmes de produits phytopharmaceutiques qui ont eu l'obligeance de leur fournir les formulations commerciales.

RÉSUMÉ

Dix-huit formulations contenant en mélange des acides phénoxy-carboxyliques et d'autres herbicides tels que le dicamba, l'ioxynil et le bromoxynil ont été analysées par chromatographie liquide haute performance au moyen d'une colonne contenant des particules de Nucléosil 50 de 5 μm .

L'éluant utilisé est de l'hexane contenant un certain pourcentage d'acide acétique en fonction des constituants du mélange et du temps d'analyse. Après extraction en milieu acide par un mélange chloroforme-éther diéthylique, ces herbicides sont injectés et détectés à 285 nm.

La méthode est rapide et permet d'analyser spécifiquement ces formulations sans formation préalable de dérivés.

REFERENCES

- 1 G. Zweig and J. Sherma (Rédacteurs), *Analytical Methods for Pesticides and Plant Growth Regulators*, Vol.VII, Academic Press, New York, London, 1973, pp. 23-25.
- 2 D. C. Abbott et P. J. Wagstaffe, *J. Chromatogr.*, 43 (1969) 361-367.
- 3 C. Meinard, *Phyt.-Phytopharm.*, 20 (1971) 257-260.
- 4 R. H. Collier et G. S. Grimes, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, 57 (1974) 781-784.
- 5 J. R. Beur et R. D. Baker, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, 54 (1971) 713-717.
- 6 G. Zweig et J. Sherma (Rédacteurs), *Analytical Methods for Pesticides and Plant Growth Regulators*, Vol. VI, Academic Press, New York, London, 1972.
- 7 F. Eisenbeiss et H. Sieper, *J. Chromatogr.*, 83 (1973) 439-446.
- 8 L. G. Tuinstra, A. H. Roos et J. M. Bronsgeest, *Med. Fac. Landbouw. Rijksuniv. Gent*, 41/2 (1976).
- 9 N. E. Skelly, R. J. Russel et D. F. Porter, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, 59 (1976) 748-752.
- 10 N. E. Skelly, T. S. Stevens et D. A. Mapes, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, 60 (1977) 868-872.
- 11 *Recueil des Méthodes d'Examen des Produits Phytopharmaceutiques, Méthode A-11-10*, Ministère de l'Agriculture, Station de Phytopharmacie, Gembloux, 1954.