

CHROM. 22 682

## **Étude par chromatographie liquide haute performance des antioxydants phénoliques présents dans les matériaux plastiques**

### **Comparaison de trois méthodes de détection: spectrophotométrique dans l'ultra-violet, électrochimique, et évaporative à diffusion de la lumière**

NAJET YAGOUBI\*, ARLETTE E. BAILLET, FERNAND PELLERIN et DANIELLE BAYLOCQ  
*Centre d'Études Pharmaceutiques, Laboratoire de Chimie Analytique, Rue J.B. Clément, F-92290 Chatenay-Malabry (France)*

(Reçu le 20 février 1990; manuscrit modifié reçu le 9 juillet 1990)

---

#### **ABSTRACT**

*Comparison of three detection systems for reversed-phase high-performance liquid chromatography of traces of antioxidants in plastics: UV spectroscopy, electrochemical detection and light-scattering diffusion.*

National and international regulations require the identification of phenolic antioxidants in plastic materials used for the packaging of pharmaceuticals, food and cosmetics, and the detection of their possible migration into the contents. The objective of this paper is to propose a method for the identification of these compounds by high-performance liquid chromatography and to determine their limit of sensitivity by UV spectrophotometry, electrochemistry and light scattering diffusion. The results are discussed for four phenolic antioxidants generally used in plastic materials.

---

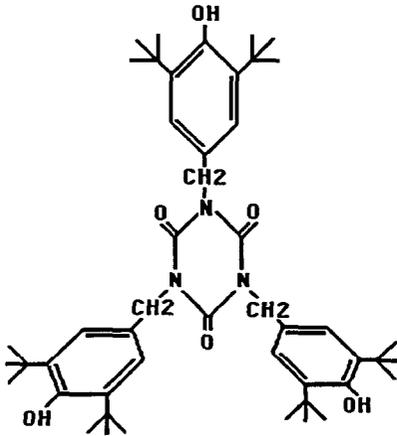
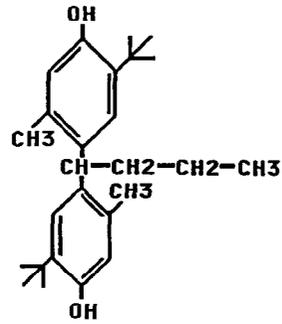
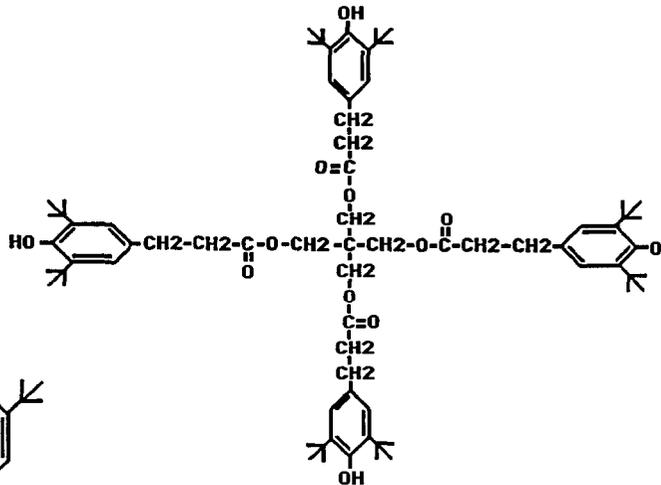
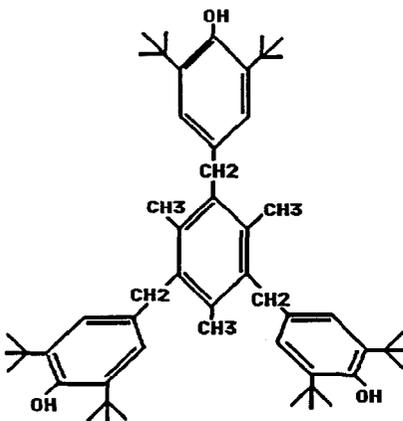
#### **INTRODUCTION**

Les impératifs technologiques et économiques des industries pharmaceutiques et alimentaires ont développé considérablement l'emploi d'agents antioxydants [1]. Un certain nombre de ces molécules sont présentes dans les matières plastiques pour protéger le polymère au cours de sa transformation. Leur utilisation est impérative lorsque la température nécessaire à la polymérisation totale du matériau est élevée.

Plusieurs méthodes d'analyse des antioxydants phénoliques ont déjà été proposées dans la littérature. Nous rappelons les méthodes colorimétriques [2], les méthodes chromatographiques: chromatographie sur couche mince [3,4], chromatographie gaz-liquide [5], chromatographie liquide haute performance (CLHP) à polarité de phases inversée [6,7], phase normale [8] et perméation de gel [9].

La complexité de la structure des matériaux plastiques a posé le problème des

incompatibilités et des interactions des substances à leur contact. Des études d'interactions contenant-contenu ont été effectuées et se sont traduites par des modifications diverses [10]. Elles sont dues à une solubilité réciproque entre récipient et forme pharmaceutique ou alimentaire. Les migrations des antioxydants étant très faibles il nous a semblé judicieux de mettre au point une méthode d'analyse par

**GOODRITE 3114****SANTOWHITE****IRGANOX 1010****IRGANOX 1330**

CLHP avec trois modes de détection afin de pouvoir quantifier ces échanges éventuels.

Les techniques ont été validées par des critères statistiques qui ont permis de confirmer les performances des méthodes de détection choisies pour le dosage des traces.

Nous avons appliqué notre étude à quatre antioxydants phénoliques rencontrés habituellement dans les matériaux plastiques, seuls, ou le plus souvent en mélange: Santowhite [bis(méthyl-3-*tert.*-butyl-6-phenol)-4,4'-butylidene], Irganox 3114 [tris(di-*tert.*-butyl-3,5-hydroxy-4-benzyl)isocyanurate], Irganox 1010 {pentaerythrityl-tetrakis[3-(3,5-di-*tert.*-butyl-4-hydroxyphenyl)-propionate]} et Irganox 1330 [triméthyl-1,3,5-tris(di-*tert.*-3',5'-hydroxy-4'-benzyl)-2,4,6-benzène].

## PARTIE EXPÉRIMENTALE

### *Appareillage*

L'appareil utilisé est un chromatographe en phase liquide équipé d'une pompe Chromatem 800 (Touzart et Matignon, Vitry sur Seine, France) muni d'un programmeur Altex 420 et d'une vanne Rhéodyne à boucle de 20  $\mu$ l. La séparation des quatre molécules a été effectuée avec une colonne de silice greffée C<sub>18</sub> Spherisorb ODS2, 5  $\mu$ m, 250  $\times$  4.6 mm D.I. (S.F.C.C., Neuilly Plaisance, France). L'analyse a été réalisée en mode isocratique avec un éluant composé d'acétonitrile pur. Pour la détection électrochimique un électrolyte indifférent le perchlorate de lithium sera ajouté à raison de 5 g/l.

Les différents modes de détection ont été réalisés suivant les cas à l'aide d'un détecteur par spectrophotométrie dans l'ultraviolet SPD 2A Shimadzu (Touzart et Matignon) à longueurs d'ondes variables, d'un détecteur à diffusion de la lumière DDL 11 (Cunow, Cergy Saint Christophe, France) (gaz nébuliseur: azote) et d'un détecteur ampérométrique (Metrohm Roucaire, Velizy Villacoublay, France) constitué de deux unités: une cellule électrochimique type 656 constituée d'une électrode indicatrice en carbone vitreux, une électrode de référence Ag (AgCl), KCl 3 M et une électrode auxiliaire constituée d'un disque de platine; une unité ampérométrique type 641 VA. La mesure du signal est réalisée sur un intégrateur type SP 4270 (Spectra-Physics, De Courtabuef, France).

### *Réactifs*

Quatre antioxydants témoins ont été analysés: Santowhite, Irganox 3114, Irganox 1010 et Irganox 1330 (Ciba-Geigy, Rueil, France). Ils ont été dissous dans l'acétonitrile (Carlo Erba, Milan, Italie). Le perchlorate de lithium est utilisé comme électrolyte indifférent (Merck, Nogent sur Marne, France).

### *Choix des conditions opératoires*

Pour chaque type de détection un certain nombre de paramètres ont été étudiés afin d'optimiser les conditions opératoires.

*Détection par spectrophotométrie dans l'ultra-violet (UV).* Pour chaque molécule un spectre d'absorption dans l'UV a été réalisé et la longueur d'onde de 280 nm commune aux quatre composés a été retenue comme longueur d'onde de détection.

*Détection ampérométrique.* Des voltampérogrammes pour les quatre antioxy-

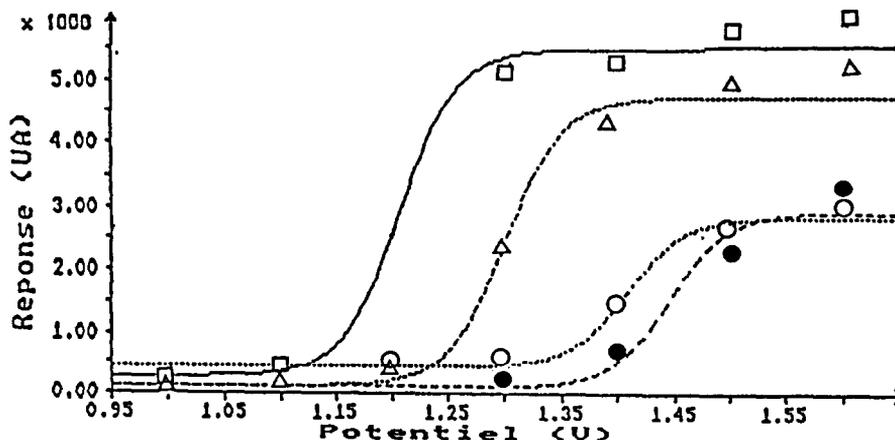


Fig. 1. Voltampérogramme hydrodynamique,  $\square$  = Santowhite;  $\bullet$  = Irganox 3114;  $\circ$  = Irganox 1010;  $\triangle$  = Irganox 1330.

dants ont été préalablement tracés et ont permis de démontrer leur électroactivité et donc la possibilité d'une étude par CLHP couplée à une détection ampérométrique directe. Ces courbes ont été obtenues en opérant dans l'acétonitrile en présence de perchlorate de lithium (5 g/l). En outre les courbes voltampérométriques hydrodynamiques ont été obtenues par injection de 20  $\mu$ l d'une solution à 5  $\mu$ g/ml de chaque composé, à des potentiels allant de 1,0 V, 1,2 V, 1,3 V, 1,4 V, 1,5 V et 1,6 V. (Fig. 1) et ont conduit à fixer le potentiel de détection à 1,6 V.

*Détection à diffusion de la lumière.* De nombreux auteurs ont établi des corrélations entre les valeurs théoriques et expérimentales obtenues avec ce système de détection [11] et les effets de la nature du solvant et des solutés sur la réponse du détecteur [12]. Nous avons optimisé l'analyse par l'étude de deux paramètres déterminants sur la réponse du détecteur: la température du tube de diffusion et la pression de gaz de nébulisation. L'intensité de la réponse en fonction de l'accroissement de la température du tube de diffusion évolue de manière identique pour les quatre molécules (Fig. 2A). L'augmentation de la pression de gaz de nébulisation donne une réponse hétérogène. La pression optimale varie légèrement en fonction des molécules étudiées (Fig. 2B). Cependant elle reste supérieure ou égale à 2 bar. Une température de 30°C et une pression de 2 bar ont été retenues comme conditions optimales.

## RÉSULTATS ET DISCUSSION

L'objectif de l'étude a été d'une part de détecter et de doser des antioxydants présents dans les polyoléfines et d'autre part de quantifier leur migration éventuelle dans des formulations pharmaceutiques; en effet les concentrations autorisées pour la conservation des matériaux peuvent être aisément dosées par les méthodes déjà citées. La sensibilité des trois systèmes de détection utilisés a été comparée et il a été possible de justifier leur utilisation pour le dosage de traces.

Cette étude a été menée à l'aide des critères suivants. Analyse qualitative: seuil de détection. Analyse quantitative: régression linéaire, domaine de linéarité et seuil de quantification. Les résultats sont rassemblés (Tableau I).

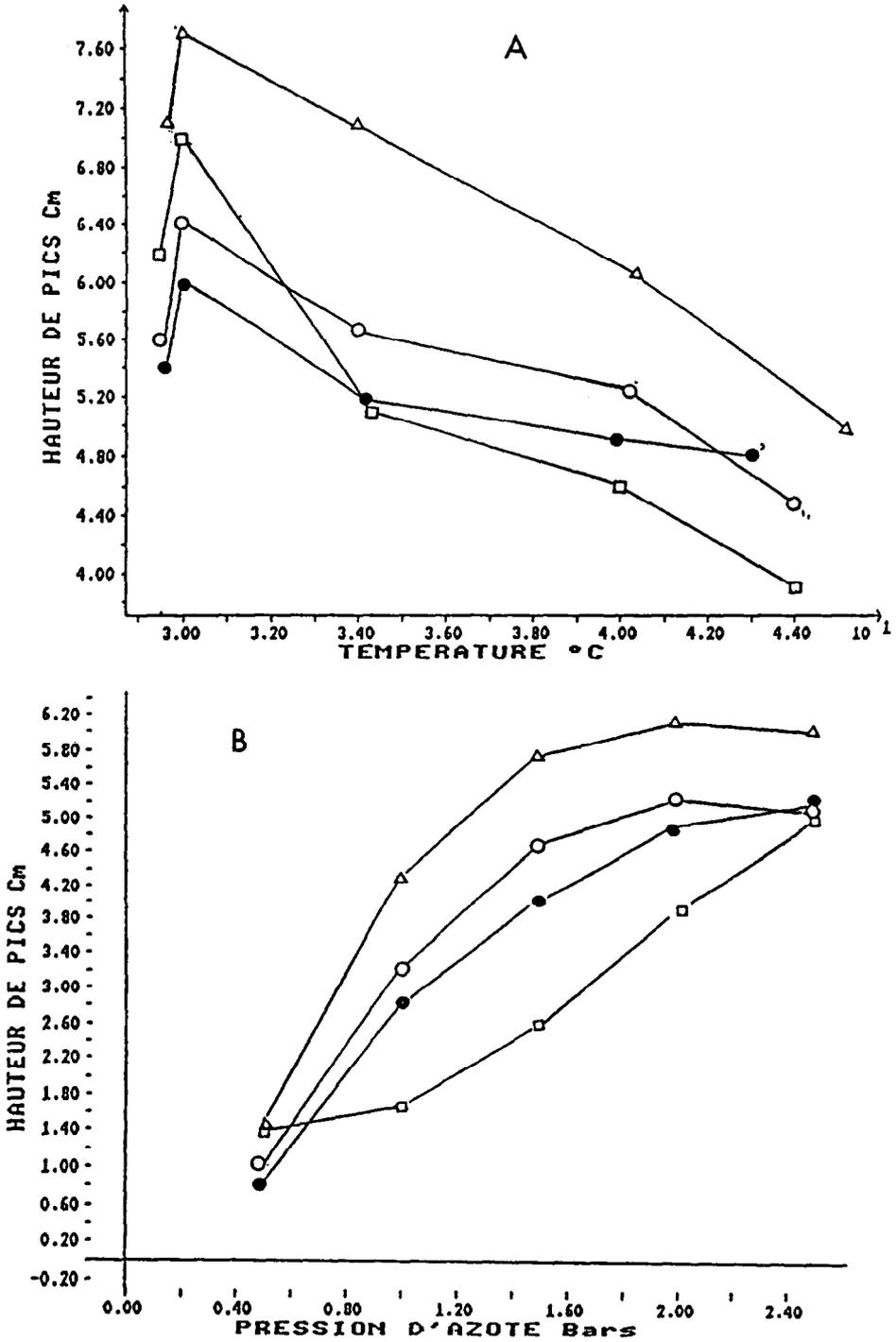


Fig. 2. Optimisation de deux paramètres de la détection à diffusion de lumière. □ = Santowhite; ● = Irganox 3114; ○ = Irganox 1010; △ = Irganox 1330. (A) Hauteur en fonction de l'augmentation de la température de nébulisation; (B) Hauteur en fonction de l'augmentation de la pression d'azote.

TABLEAU I

## VALIDATION QUANTITATIVE ET LIMITE DE DÉTECTION

● = UV: relation réponse-quantité injectée. ■ = détection ampérométrique: relation réponse-quantité injectée. ▲ = détection à diffusion de lumière: relation réponse-quantité injectée en coordonnées logarithmiques.

Antioxydants	Domaine de linéarité ( $\mu\text{mol}$ )	Droite de regression		Coefficient de variation (% sur le facteur de réponse)	Seuil de quantification		Limite de détection ( $\text{pmol}$ ) <sup>a</sup>
		Pente	Ordonnée a l'origine		$\mu\text{mol}$	C.V. (%)	
Santowhite	3.3-0.40 ●	20.1	-4.81	2.07	0.40	0.44	1.6
	1.8-0.24 ■	11.3	+6.64	3.70	0.24	2.13	0.3
	1.4-0.50 ▲	1.40	+1.07	6.01	0.50	0.87	69
Irganox 3114	2.5-0.32 ●	7.66	+5.30	3.18	0.32	1.44	2.4
	2.3-0.15 ■	4.70	-1.66	3.20	0.15	2.34	1.8
	0.7-0.23 ▲	1.36	+1.01	6.07	0.23	0.40	28
Irganox 1010	2.0-0.24 ●	9.11	-1.80	2.36	0.24	0.77	1.7
	3.0-0.30 ■	3.67	-1.65	2.97	0.30	1.00	1.7
	0.5-0.16 ▲	1.38	+0.89	4.91	0.16	0.94	43
Irganox 1330	4.0-0.20 ●	13.2	+22.4	3.44	0.20	1.02	2
	2.0-0.20 ■	7.80	-7.42	3.20	0.20	0.57	2
	1.0-0.30 ▲	1.42	+0.95	4.25	0.30	0.76	46

<sup>a</sup> Test de student, 5% de risque.

### *Seuil de détection*

La limite de détection est la plus faible valeur de la grandeur mesurée dont la méthode permet d'affirmer qu'elle n'est pas nulle [13]. Elle est estimée *à priori* par la valeur du rapport signal sur bruit égal à trois. Nous l'avons complétée par un test statistique qui consiste à comparer les résultats obtenus pour une valeur vraie faible mais différente de zéro avec ceux correspondant à une valeur vraie nulle (blanc) [14].

A partir des résultats obtenus les remarques suivantes peuvent être formulées:

– la détection à diffusion de lumière est la méthode la moins sensible du fait de son caractère non spécifique;

– la détection ampérométrique et l'UV donnent des résultats similaires et selon l'encombrement stérique des molécules l'une ou l'autre méthode sera choisie.

Il faut noter que la détection ampérométrique a été menée à un potentiel élevé, c'est à dire dans des conditions opératoires limites du détecteur utilisé, de ce fait le maximum de sensibilité de l'appareillage n'a pas été atteint. Toutefois ces deux systèmes de détection (ampérométrie et UV) se révèlent performants pour le dosage de traces.

### *Régression linéaire*

L'étude de la régression nous a amené à vérifier si la relation entre les quantités injectées et les réponses observées peut être assimilée à une droite. Les équations ont été calculées par la méthode des moindres carrés. Pour les systèmes de détection ampérométrique et UV cette relation est linéaire (Fig. 3). Cependant il est à noter que dans le cas de la détection à diffusion de lumière cette relation n'est pas linéaire. L'allure de la courbe est celle d'une sigmoïde (Fig. 4A), sur laquelle une faible zone de linéarité a été déterminée allant de 0,5 à 0,3  $\mu\text{mol}$ . Par conséquent cette courbe a été tracée en coordonnées logarithmiques (Fig. 4B). Des résultats similaires ont été publiés sur d'autres types de molécules par d'autres auteurs [15].

Le domaine de linéarité a été déterminé à l'aide du coefficient de corrélation. Ce calcul n'est pas suffisant pour vérifier si la représentation concentration-réponse est bien linéaire. Une autre approche, plus précise, consiste à calculer le coefficient de variation du facteur de réponse de la droite de régression. Le facteur de réponse est le rapport réponse-concentration.

Si cette relation est une droite dans une zone déterminée, ce facteur sera constant qu'elles que soient les valeurs des couples (concentration-réponse) [16]. Les concentrations étudiées satisfont l'analyse de traces avec un domaine de linéarité comparable pour les systèmes de détection ampérométrique et UV, mais reste relativement limité dans le cas de détection à diffusion de lumière.

### *Seuil de quantification*

La limite de détection est une valeur imprécise pour effectuer des dosages quantitatifs. Nous avons utilisé le seuil de quantification défini par le Comité des Spécialités Pharmaceutiques concernant la validation analytique des dosages dans les milieux biologiques [17]. C'est la plus petite quantité d'une substance à examiner dans un échantillon pouvant être dosée dans les conditions expérimentales décrites avec un coefficient de variation du facteur de réponse acceptable.

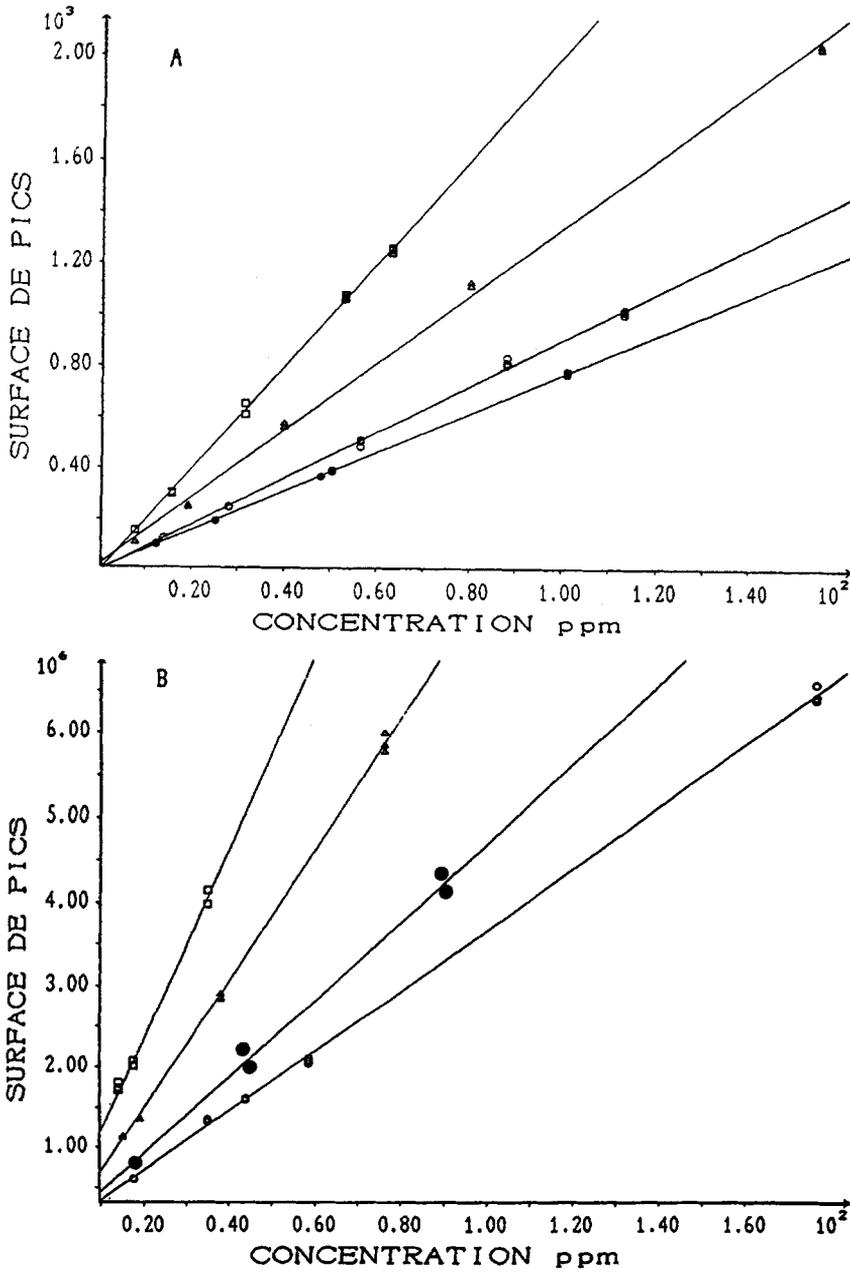


Fig. 3. Représentation graphique de la relation réponse-quantité injectée. □ = Santowhite; ● = Irganox 3114; ○ = Irganox 1010; △ = Irganox 1330. (A) UV; (B) détection ampérométrique.

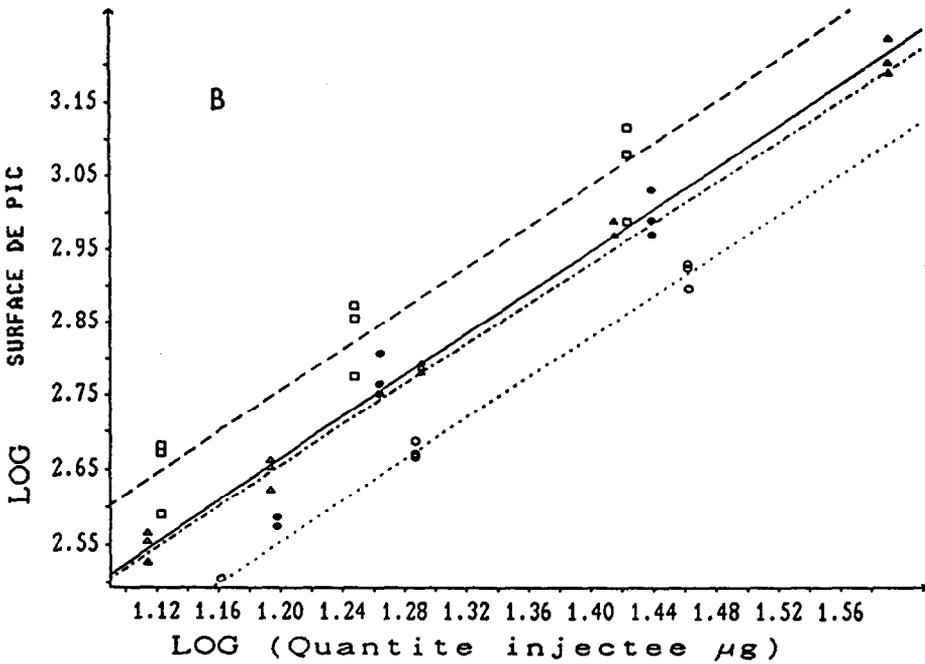
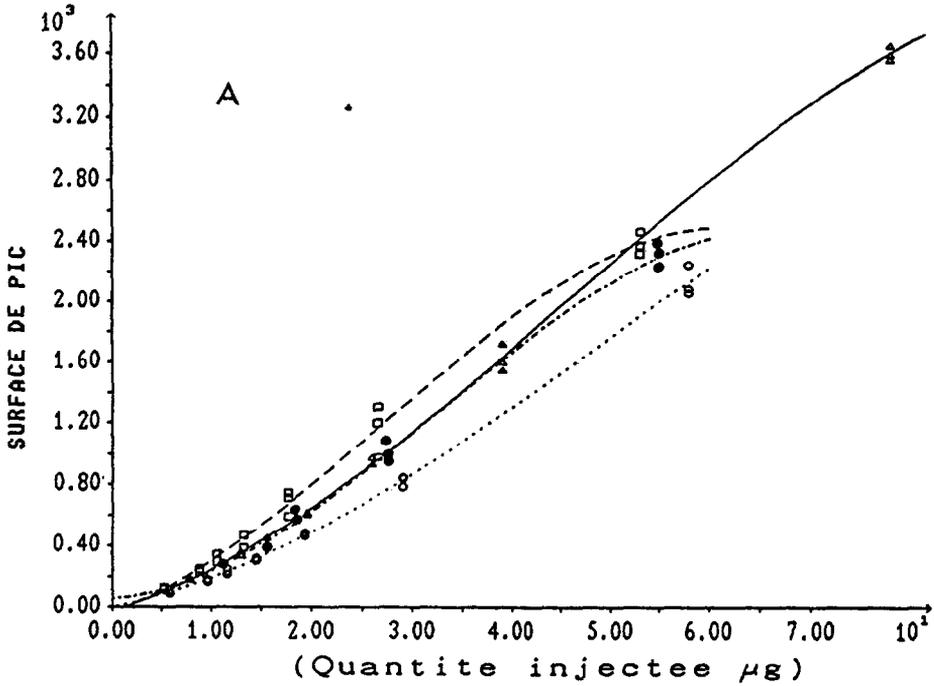


Fig. 4. Représentation graphique de la relation réponse du DDL-quantité injectée. □ = Santowhite; ● = Irganox 3114; ○ = Irganox 1010; △ = Irganox 1330. (A) Relation sigmoïdale en coordonnées directes; (B) relation linéaire en coordonnées logarithmiques.

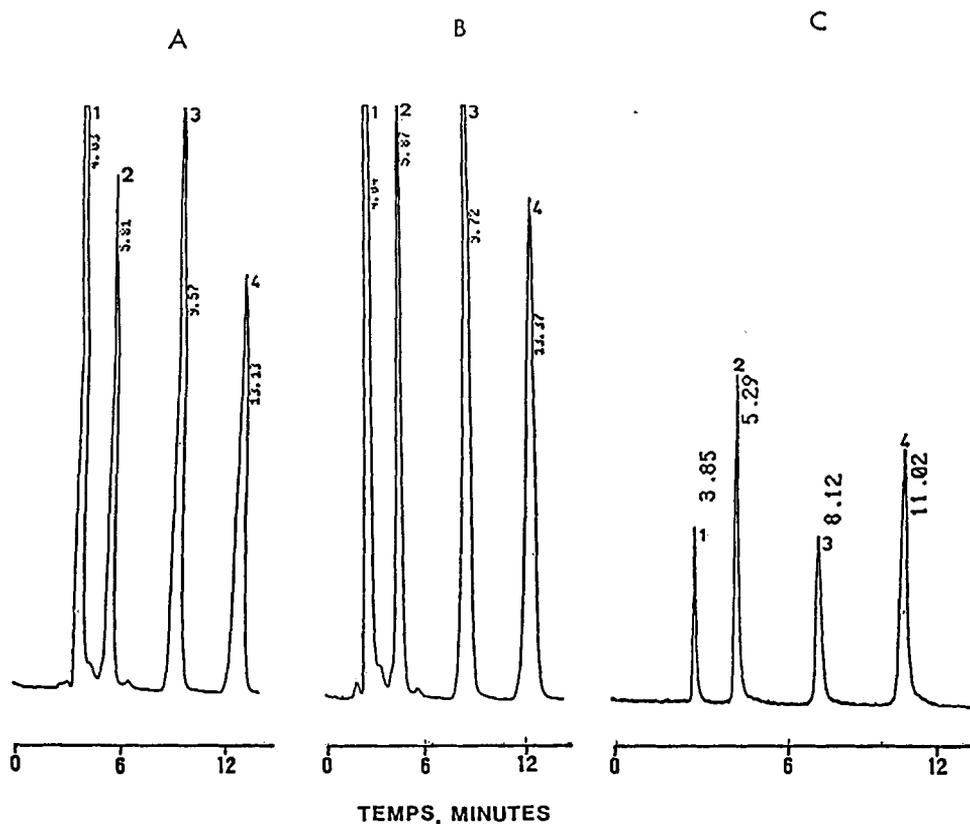


Fig. 5. Chromatogramme d'une solution étalon d'antioxydants de concentration voisine de 5  $\mu\text{g/ml}$ . Conditions: colonne,  $\text{C}_{18}$  Spherisorb ODS2, 5  $\mu\text{m}$ , 250  $\times$  4,6 mm D.I.; phase mobile, acétonitrile; 20  $\mu\text{l}$  de quantité injectée. Pics: 1 = Santowhite; 2 = Irganox 3114; 3 = Irganox 1010; 4 = Irganox 1330. (A) UV; (B) détection ampérométrique (1 ml/min); (C) détection à diffusion de lumière (1,2 ml/min).

## CONCLUSION

Les antioxydants phénoliques contenus dans les matériaux plastiques sont susceptibles de migrer à l'état de traces dans les médicaments, les aliments ou les cosmétiques. Les analyses obtenues avec trois systèmes de détection couplés à la CLHP (Fig. 5) ont été comparées et les résultats validés par des critères statistiques.

Les détections ampérométrique et spectrophotométrique dans l'ultraviolet se sont révélées très performantes. La détection par diffusion de la lumière est moins sensible mais reste exploitable dans ce domaine d'étude. Une mise au point est actuellement en cours pour la détermination des produits de dégradations des antioxydants phénoliques après stérilisation par les radiations ionisantes à l'aide d'un détecteur à barette de diodes.

## RÉSUMÉ

Les réglementations Européenne et Internationale exigent une identification des antioxydants contenus dans les articles en matières plastiques destinés à être mis en contact avec les produits pharmaceutiques, les aliments et les produits cosmétiques.

L'objectif de cette étude est de proposer une méthode d'identification et de dosage de quatre antioxydants phénoliques communément utilisés dans les matériaux plastiques (Santowhite, Irganox 3114, Irganox 1010, Irganox 1330).

## BIBLIOGRAPHIE

- 1 J. Alary et C. Grosset, *Bull. Trav. Soc. Pharm. Lyon*, 26 (1982) 80.
- 2 C. S. Prakasa Sastry, K. Ekambareswara Rao et U. V. Prasad, *Talanta*, 29 (1982) 917.
- 3 Ch. B. Airaud, A. Gayte-Sorbier, P. Laurent et R. Creusevau, *J. Chromatogr.*, 314 (1984) 349.
- 4 Ch. B. Airaud, A. Gayte-Sorbier et P. Creusevau, *J. Chromatogr.*, 392 (1987) 407.
- 5 J. A. Denning et J. A. Marshall, *Analyst.*, 97 (1972) 710.
- 6 D. Baylocq, C. Majcherczyk et F. Pellerin, *Ann. Pharm. Fr.*, 43 (1985) 329.
- 7 S. Yamamoto, M. Kanda, M. Yokouchi et S. Tahara, *J. Chromatogr.*, 370 (1986) 179.
- 8 H. Indyk et D. C. Woollard, *J. Chromatogr.*, 356 (1986) 401.
- 9 A. M. Wims et S. J. Swarin, *J. Appl. Polym. Sci.*, 19 (1975) 1243.
- 10 F. Pellerin, D. Baylocq, D. André, C. Majcherczyk et N. Al Laham, *Ann. Pharm. Fr.*, 42 (1984) 15.
- 11 A. Stolyhwo, H. Collin et G. Guiochon, *J. Chromatogr.*, 265 (1983) 1.
- 12 M. Righezza et G. Guiochon, *J. Liq. Chromatogr.*, 11 (1988) 1967.
- 13 Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée, *Compendium de la Nomenclature en Chimie Analytique, Règle de définition de 1977*, Société Chimique de France, Paris, 1977.
- 14 Commission d'établissement des méthodes d'analyses du Commissariat à l'énergie atomique, *Statistiques Appliquées à l'Exploitation des Mesures*, Edition Masson, Paris, 1986.
- 15 J. M. Charlesworth, *Anal. Chem.*, 50 (1978) 1414.
- 16 D. Lecompte, *S.T.P. Pharma*, 2 (No. hors série) (1986) 843.
- 17 Comité des spécialistes Pharmaceutiques, Groupe de Travail; "Qualité des Médicaments", octobre (1988), circulaire No. 13375. Office des Publications Officielles des Communautés Européennes Luxembourg, 1988.