



HAL
open science

Méthodes analytiques pour l'étude de la migration des additifs des conditionnements plastiques pour des applications pharmaceutiques

Charlène Pouech, Laure Wiest, Florent Lafay, Didier Léonard, Cécile Cren-Olive, Emmanuelle Vulliet

► To cite this version:

Charlène Pouech, Laure Wiest, Florent Lafay, Didier Léonard, Cécile Cren-Olive, et al.. Méthodes analytiques pour l'étude de la migration des additifs des conditionnements plastiques pour des applications pharmaceutiques. STP PHARMA PRATIQUES : TECHNIQUES REGLEMENTATION, 2018, 28 (3&4), pp.155-165. <hal-01915920>

HAL Id: hal-01915920

<https://hal.science/hal-01915920v1>

Submitted on 10 Sep 2020

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.



HAL Authorization

Méthodes analytiques pour l'étude de la migration des additifs des conditionnements pour des applications pharmaceutiques

Analytical methods for the study of the migration of polymer additives for pharmaceutical packaging

C. Pouech, L. Wiest, F. Lafay, D. Léonard, C. Cren-Olivé, E. Vulliet

RÉSUMÉ

Les matières plastiques sont utilisées dans de nombreux domaines d'applications, et en particulier dans celui du conditionnement. Or, l'inertie d'un conditionnement vis à vis de son contenu est rarement totale. La migration des additifs correspond à l'interaction la plus préoccupante pour la santé du consommateur car elle peut affecter la qualité du produit et/ou le rendre toxique.

Dans ce contexte, répondre à la problématique du suivi de la migration des additifs de manière optimale implique de mettre au œuvre des méthodes analytiques fiables avec un haut degré de sélectivité, spécificité et sensibilité. Pour cela, il est nécessaire (i) de développer des techniques de préparation d'échantillon qui permettent de concentrer la teneur en additifs contenus dans le milieu en contact avec le conditionnement, et (ii) d'employer des techniques d'analyses adaptées permettant d'identifier et/ou quantifier à la fois les additifs présents dans le contenu et de pouvoir les imputer au contenant.

MOTS CLES : Migration ; additifs ; matrices aqueuses ; matrices biologiques ; UHPLC-

MS/MS; ToF-SIMS; spectrométrie de masse

KEY WORDS: Migration; polymer additives; water; biological matrices; UHPLC-MS/MS;

ToF-SIMS; mass spectrometry

1. INTRODUCTION

Au cours des dernières décennies, l'intérêt pour les matières plastiques, notamment dans le domaine du conditionnement, n'a cessé de croître. Les nombreuses propriétés des polymères expliquent ce succès. En effet, ils sont solides, légers, recyclables et facilement transformables. Toutes ces caractéristiques remarquables sont en partie dues à l'incorporation de substances connues sous le nom d'additifs. Le terme "additif" désigne tout composé ajouté à la matrice polymère. De cette manière, les antioxydants, les stabilisants, les agents de démoulage et les plastifiants sont considérés comme des "additifs". Ces composés facilitent les procédés de transformation des polymères et améliorent leurs performances en les protégeant notamment contre l'oxydation et en maintenant leur apparence. Mais n'étant pas liés de manière covalente aux polymères, ils peuvent migrer dans le contenu et ainsi altérer les propriétés du produit voire entraîner un risque de toxicité pour les consommateurs. C'est pour cela qu'il est important d'étudier les phénomènes de migration des additifs.

L'analyse des additifs constitue un véritable challenge¹ de par la grande diversité des composés à analyser. La liste des 24 substances recherchées² dans cette étude a été constituée à partir de la liste des additifs autorisés par la Pharmacopée Européenne³, à laquelle nous avons ajouté des additifs couramment utilisés dans d'autres domaines tels que le Chimassorb 81 et le Glycerol Monostearate (GMS), ainsi que les produits de dégradation de l'Irganox 1010 et l'Irgafos 168 qui sont les deux additifs les plus couramment employés dans la synthèse d'un polymère. La liste ainsi définie comprend alors des substances aux propriétés physico-chimiques très diverses, ce qui rend difficile leur analyse en un minimum d'étapes (Tableau 1).

Tableau 1 Familles d'additifs ciblés et leur rôle dans la formulation des polymères

Famille de molécules	Rôle	Exemples
Antioxydants (9)	Protéger le polymère de l'oxydation	Irganox 1010, Irganox 1330, Irgafos 168
Stabilisants lumière (7)	Protéger le polymère de la photodégradation	Tinuvin 622, Cyasorb UV 9, Chimassorb 81, Vitamine E, Hostanox 03
Agents de démoulage (3)	Aider à la transformation et à la mise en forme	Oleamide, Glycerol monostearate, Erucamide
Produits de dégradation de l'Irganox 1010 (4)	Présence et dégradation de l'Irganox 1010	2,6-di-tert-butyl-p-benzoquinone, 2,6-di-tert-butyl-4-methoxyphenol
Produits de dégradation de l'Irgafos 168 (2)	Présence et dégradation de l'Irgafos 168	Triphenyl phosphate

La compréhension des phénomènes de migration des additifs nécessite deux types d'informations (Figure 1) : d'une part, la détermination sélective et sensible des substances qui ont migré dans le contenu, d'autre part l'identification des molécules en surface des matériaux. Les concentrations recherchées étant de l'ordre du ng/mL, des techniques analytiques à haute sensibilité sont requises, telles que les techniques de chromatographies couplées à la spectrométrie de masse. De plus, afin de concentrer les analytes recherchés présents dans les contenus à faible teneur, des méthodes de préparation d'échantillon à haut facteur d'enrichissement telles que l'extraction sur phase solide (SPE) doivent être développées.

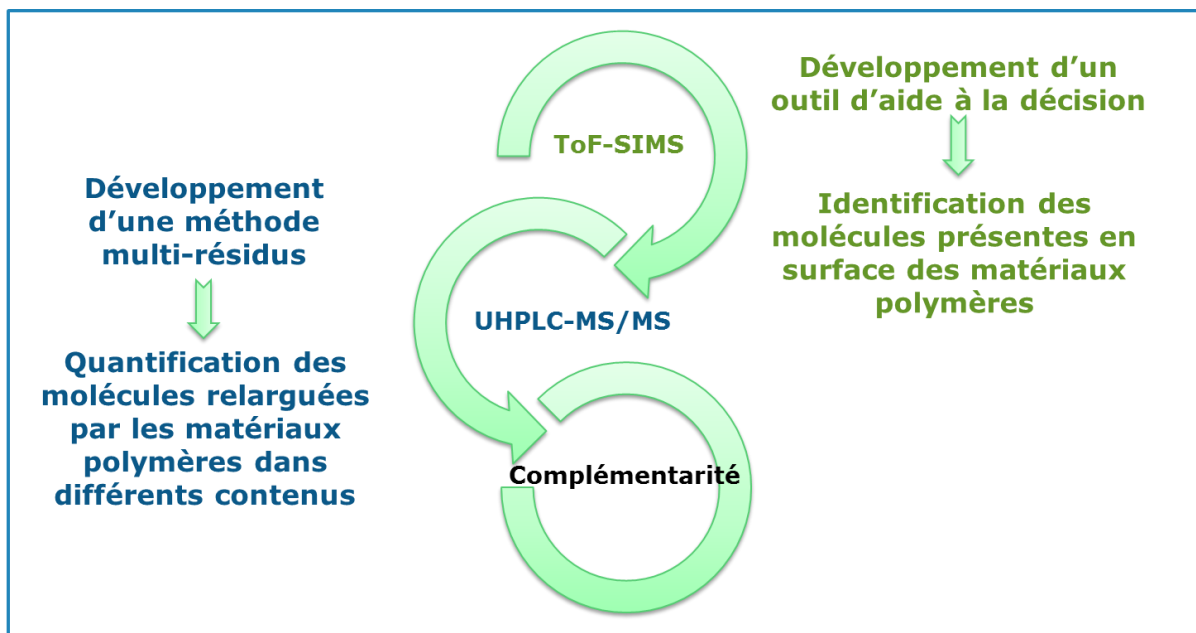


Figure 1 Stratégie analytique

D'autre part, afin de relier la présence de l'additif avec le contenant, il faut identifier les molécules présentes en extrême surface des matériaux de conditionnement. La technique mise en œuvre dans notre étude est la spectrométrie de masse ToF-SIMS (Time of Flight- Secondary Ion Mass Spectrometry), technique de choix pour détecter et identifier des additifs à la surface de matériaux polymères. L'objectif de cet article est de présenter des éléments de mise au point et de validation de ces deux techniques d'analyse et leurs applications sur l'étude de la migration d'additifs provenant de différents polymères, dans des échantillons aqueux.

2. MIGRATION DES ADDITIFS DANS UN MILIEU AQUEUX PAR UHPLC-MS/MS

2.1. Optimisation et performances de la méthode analytique

Les concentrations des additifs qui ont migré sont à l'état de traces, de l'ordre du ng/mL et requièrent donc des techniques d'analyse spécifiques et sensibles. Pour atteindre cette sensibilité, des méthodes chromatographiques, à savoir la chromatographie en phase gazeuse et la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) ont été utilisées⁴. Cependant, l'HPLC semble être la méthode analytique la plus appropriée pour la séparation des additifs en raison de la diversité de leurs propriétés physicochimiques, telles que le poids moléculaire, la polarité, la thermolabilité et la volatilité. Différents détecteurs, tels qu'un détecteur UV ou un spectromètre de masse peuvent être couplés à l'HPLC. Mais, afin d'obtenir une sélectivité et une sensibilité optimum, nous avons choisi la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS), qui permet de détecter à la fois la masse de la molécule ciblée et celles de deux ions fragments caractéristiques de la molécule. Enfin, afin de gagner encore en sensibilité, un protocole de concentration de l'échantillon par extraction sur phase solide¹ (SPE) a été mis au point, permettant un facteur d'enrichissement de 50.

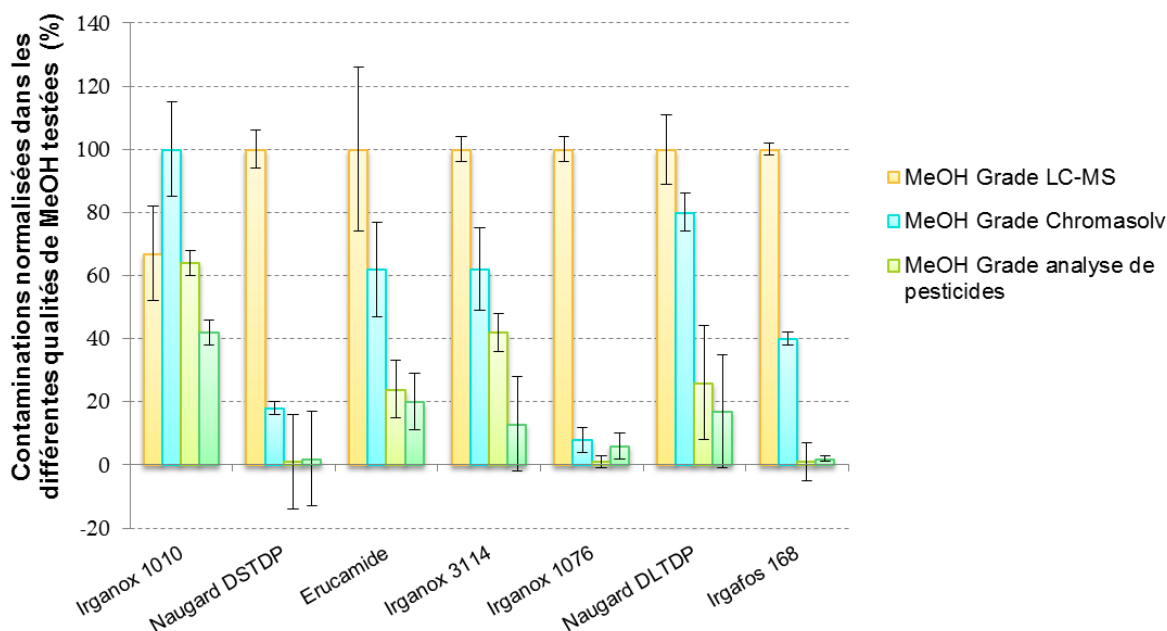


Figure 2 Contaminations normalisées (%) en additifs dans différentes qualités de méthanol

Une des difficultés supplémentaires dans l'analyse d'additifs plastiques est l'omniprésence de ces contaminants dans notre environnement, y compris dans les instruments analytiques. Au cours de

notre étude, deux facteurs de contamination ont été particulièrement étudiés : les solvants, que ce soit pour l'extraction et l'analyse, et les matériaux de cartouche SPE. Concernant les solvants, plusieurs tests ont démontré que plus le solvant est purifié, et donc de qualité supérieure, plus il est contaminé (Figure 2). Cette contamination pourrait s'expliquer par le fait que les solvants de haute qualité sont filtrés plusieurs fois, et ces filtres contiennent des additifs. De plus, un degré variable de contamination entre différents lots de solvants a été observé. Afin de surmonter cette contamination, les solvants utilisés dans la méthode ont été distillés depuis la phase d'extraction des molécules en SPE jusqu'à leur analyse en UHPLC-MS/MS. En ce qui concerne les matériaux de cartouches SPE, deux matériaux ont été testés, le Teflon® et le polypropylène. Sept additifs étaient relargués par les deux cartouches et nous pouvons donc conclure qu'aucune des deux cartouches n'est complètement inerte. Cependant, les concentrations obtenues à partir de la cartouche en Teflon® étaient inférieures à celles de la cartouche en polypropylène pour quatre substances (Oléamide, Hostanox 03, Irganox 1010 et Irganox 1330). C'est alors cette dernière qui a été choisie, malgré un relargage important en Erucamide empêchant sa quantification précise

Enfin, la méthode optimisée a été validée selon les critères de la norme ICH⁵. Les limites de quantification obtenues sont entre 3 et 4000 fois inférieures à celles de la littérature : sur les 24 substances recherchées, 18 présentent des limites de quantification méthodes (MQL) inférieures au ng/mL, 5 inférieures à 10 ng/mL, et la MQL de la molécule la moins sensible, la 2,6-di-tert-butyl-p-benzoquinone, s'élève à 23 ng/mL.

2.2 Tests de migration

La méthode analytique multi-résidus a été appliquée à différents polymères, notés Polymère A, B et C. Selon la norme de l'US Food and Drug Administration⁶, il est nécessaire d'effectuer les tests d'extraction dans des échantillons similaires à ceux destinés à être utilisés. Puisque dans notre cas, les matériaux étudiés sont destinés à contenir de l'eau à différents pH, les études de migration ont été réalisées dans l'eau à différents pH, températures et pour différentes durées, afin d'étudier les différentes interactions entre le polymère et le contenu.

Tableau 2 Additifs ayant migré en solution aqueuse, toutes conditions de température, pH et temps confondues

Polymère A	Polymère B	Polymère C
Tinuvin 622	Irganox 1010 (via la détection de 3 de ses produits de dégradation)	Tinuvin 622
Irganox 1010 (via la détection de 3 de ses produits de dégradation)	Irganox 1010 (via la détection de 3 de ses produits de dégradation)	Irganox 1010 (via la détection de 3 de ses produits de dégradation)
Oléamide	Oléamide	Glycérol Monostéarate
Glycérol Monostéarate	Glycérol Monostéarate	Glycérol Monostéarate
	Irgafos 168 (via la détection de 2 de ses produits de dégradation)	Irgafos 168 (via la détection de 2 de ses produits de dégradation)
Chimassorb 81		
Cyasorb UV9		
Irganox 1330		

Le Tableau 2 représente les additifs qui ont été quantifiés au cours de ces tests, toutes conditions confondues. Il montre alors la variabilité des additifs retrouvés en fonction du polymère étudié. Il révèle également l'importance d'analyser les produits de dégradation puisque ni l'Irganox 1010, ni l'Irgafos 168, n'auraient été détectés sans la recherche de ceux-ci. La Figure 3 présente les additifs et les concentrations retrouvées sur une étude de migration à température ambiante, pendant 12h et à différents pH : 2, 7 et 9. On observe alors que l'influence du pH n'est pas négligeable puisque seulement 3 composés ont été quantifiés à pH 7 contre 4 à pH 2 et 9. De plus, la concentration totale en additifs est inférieure à pH 7. Pour conclure, ces résultats confirment l'importance d'étudier la migration des additifs dans différents conditions, et que l'usage d'un conditionnement doit être limité à certaines plages de pH et de température.

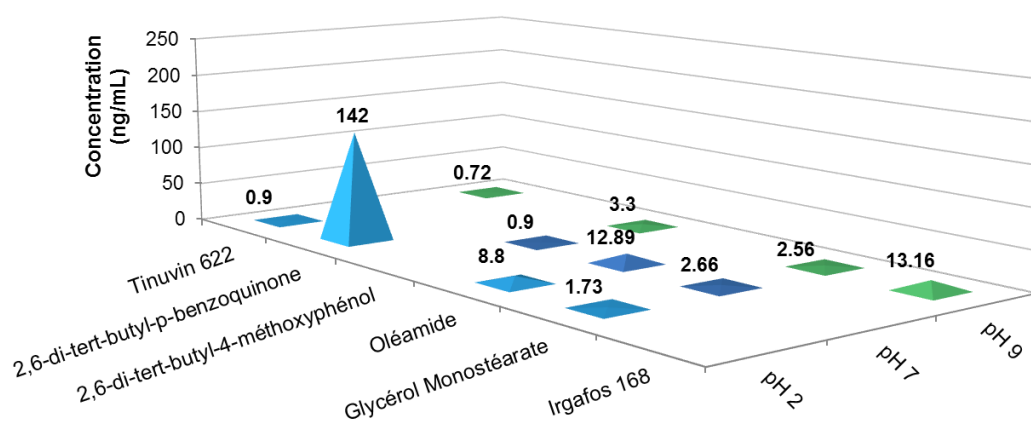


Figure 3 Etude de migration dans les échantillons aqueux à différents pH : concentrations en additifs retrouvés en ng/mL

3. CHIMIE DE SURFACE DES MATERIAUX POLYMERES PAR TOF-SIMS

3.1. Optimisation de l'analyse

L'analyse de surface permet d'identifier les molécules présentes en surface des matériaux polymères. Elle est intéressante à mettre en œuvre dans le cadre de la problématique de migration des additifs dans la mesure où il est souvent très difficile de se procurer la formulation des matériaux polymères des conditionnements. L'analyse de surface, quelle qu'elle soit, consiste en l'interaction de rayonnements électromagnétiques ou particule avec l'échantillon, et en l'analyse des particules émises. Il existe alors 3 principales techniques : XPS, SIMS et ToF-SIMS qui diffèrent de par la particule utilisée pour l'excitation, la profondeur d'interaction, ... Nous avons fait le choix de mettre en œuvre la technique ToF-SIMS car elle permet de caractériser les additifs par des ions de hautes valeurs de m/z . Il est alors facile de les discriminer des ions caractéristiques du polymère situé à faible valeurs de m/z . Cette technique a d'ores et déjà été utilisée pour identifier des plastifiants, des stabilisants lumière ou encore des agents de démoulage⁷. Leur identification à la surface de polymères s'est faite en comparant les ions caractéristiques du spectre de référence de la molécule à ceux observés sur le spectre de l'échantillon analysé. Chaque additif est alors caractérisé à la fois par des ions de haute valeur de m/z supérieur à 100 et par des ions de basse valeur de m/z inférieur à 100.

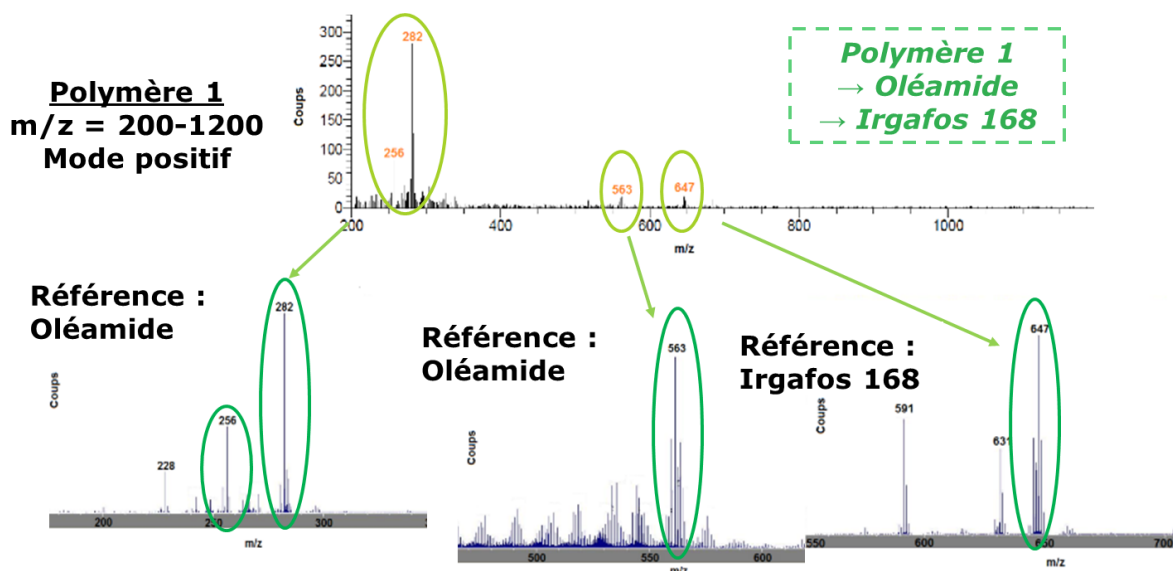


Figure 4 Exemple d'identification d'additifs à la surface de polymère par ToF-SIMS

La Figure 4 illustre l'utilisation de l'approche couramment utilisée dans la littérature avec l'exemple du Polymère 1. On observe sur le spectre ToF-SIMS du mode positif à haute valeur de m/z

la présence des ions à m/z de 256, 282, 563, 647. Ces ions ont alors été comparés à des ions de spectres de référence. Ainsi les ions 256, 282, et 563 ont pu être attribués à l'agent de démoulage Oléamide, et l'ion 647 à l'antioxydant Irgafos 168. Ce travail d'interprétation a été réalisé pour l'ensemble des échantillons polymères de l'étude. Nous avons alors été en mesure d'identifier des additifs à la surface de chacun des polymères. Cependant cette approche est très limitée car les spectres de référence de toutes les molécules ne sont pas disponibles commercialement pour tous les additifs. Dans notre étude, seulement 9 substances sur les 25 ciblées ont pu être retrouvées dans les bases de données.

Nous avons donc décidé de compléter cette première approche par une seconde qui consiste à se constituer une bibliothèque de spectres de référence : chaque molécule est analysée par ToF-SIMS sur une feuille d'Indium et les ions secondaires caractéristiques de chacune sont déterminés, constituant ainsi leur empreinte moléculaire. Les spectres ToF-SIMS contenant plusieurs centaines d'ions, l'utilisation de méthodes d'analyse multi-variée a été indispensable pour tirer l'information principale et révéler les différences entre chaque spectre, et/ou encore les relations entre chaque spectre. Dans le cadre de ces travaux, nous avons fait le choix de conserver tous les ions ayant une intensité absolue supérieure au bruit de fond c'est-à-dire supérieure à 100 coups. Une liste d'ions a donc été obtenue par additif, aboutissant à 25 listes. Ces 25 listes ont par la suite été fusionnées afin d'obtenir une liste très complète comprenant les ions de tous les spectres ToF-SIMS de toutes les molécules. Cette liste est composée de 670 ions en mode positif, et de 619 ions en mode négatif.

3.2. Application des deux approches à l'étude de trois polymères

Les deux approches d'analyse par ToF-SIMS ont été appliquées à l'analyse de trois polymères. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 3. Nous pouvons alors constater que la plupart des additifs identifiés via la première approche le sont aussi avec la seconde approche (représentés en vert), soit totalement sur toutes les zones d'analyse, soit partiellement sur quelques zones d'analyse. Sur la base de ces résultats, la seconde approche est donc cohérente avec la première approche. Par ailleurs, la seconde approche permet d'identifier plus d'additifs que la première approche. A titre d'exemple, 6 additifs ont été détectés à la surface du polymère A avec la seconde approche alors que seulement 3 ont été identifiés avec la première approche. La seconde approche mise au point permet alors une interprétation des spectres ToF-SIMS plus fine et plus poussée.

Tableau 3 Caractérisation des additifs présents à la surface de 3 polymères par les deux approches d'analyse développées en ToF-SIMS

		Polymère A	Polymère B	Polymère C
Approche 1	Additif détecté sur au moins 1 zone d'analyse	Erucamide Irgafos 168 Tinuvin 326	Irganox 1010 ou 1076 Irgafos 168	Irganox 1076
Approche 2	Additif potentiellement intrinsèque à la formulation (détecté sur les 3 zones d'analyse)	Tinuvin 622 Cyasorb UV9 Erucamide Vitamine E Irganox 1010 Irgafos 168	Tinuvin 622 Irganox 1010 Irgafos 168	Tinuvin 622 Irgafos 168
	Additif potentiellement en concentration faible ou contaminant de mise en œuvre (détecté sur 1 ou 2 zones d'analyse)	- -	Hostanox 03 - -	Irganox 1010 Irganox 1076

4. COMPLEMENTARITE DES DEUX METHODES D'ANALYSE

Pour montrer la complémentarité des 2 techniques pour le suivi de la migration, nous avons comparé les additifs identifiés avec chacune des techniques (ToF-SIMS versus UHPLC) pour chaque matériau polymère de l'étude. Cette comparaison est présentée dans le Tableau 4. Il est tout d'abord important de rappeler que nous ne serons pas en mesure de conclure sur la complémentarité des techniques pour l'Erucamide car il n'a pas été possible de le quantifier en UHPLC-MS/MS en raison d'un relargage trop important de la cartouche en Téflon. Ensuite, il est intéressant de souligner que pour chaque polymère, une dizaine d'additifs n'est détecté ni en surface du matériau, ni en solution. A contrario, certains additifs ont été détectés à la fois en surface du matériau polymère de manière intrinsèque et en solution. Cela indique alors qu'il y a eu transfert de ces additifs depuis la surface du polymère vers les solutions aqueuses : le phénomène de migration pour ces additifs a donc bien été identifié de manière très cohérente. Le Tinuvin 622, l'Irganox 1010 et l'Irgafos 168 sont des molécules pour lesquelles le phénomène de migration est confirmé. Par ailleurs, nous pouvons constater que certains additifs sont identifiés en solution alors qu'ils ne le sont pas à la surface des matériaux (ou bien ils le sont mais uniquement sur quelques zones d'analyse). Comme par exemple le Cyasorb UV9, l'Oléamide, le Glycerol Monostearate (GMS) et l'Irganox 1330. En ce qui concerne l'Hostanox 03 et l'Irganox 1076, ils ont seulement été détectés par ToF-SIMS sur certaines zones d'analyse et pas en solution. Enfin, nous pouvons noter que d'autres additifs ont seulement été détectés par ToF-SIMS

(sur toutes les zones d'analyse) et pas en solution. Cela concerne notamment l'Erucamide et la vitamine E.

Tableau 4 Comparaison des résultats obtenus par les deux techniques d'analyse, ToF-SIMS et UHPLC-MS/MS

		Polymère A	Polymère B	Polymère C
ToF-SIMS	Additif potentiellement intrinsèque à la formulation (détecté sur les 3 zones d'analyse)	Tinuvin 622 Cyasorb UV9 Erucamide Vitamine E Irganox 1010 Irgafos 168	Tinuvin 622 Irganox 1010 Irgafos 168	Tinuvin 622 Irgafos 168
	Additif potentiellement en concentration faible ou contaminant de mise en œuvre (détecté sur 1 ou 2 zones d'analyse)	-	Hostanox 03	Irganox 1010 Irganox 1076
UHPLC - MS/MS	Additif ayant été relargué dans les solutions de relargage (toutes conditions pH, t, et T°C confondues)	Tinuvin 622 Cyasorb UV9 Oléamide GMS Irganox 1010 Irganox 1330	Irganox 1010 Oléamide GMS Irgafos 168	Tinuvin 622 Irganox 1010 GMS Irgafos 168
	Additif dont le relargage ne peut être étudié	Erucamide	Erucamide	Erucamide

- A la fois en surface de manière intrinsèque et en solution
- Seulement en solution (et sur quelques zones d'analyse)
- Seulement en surface sur quelques zones d'analyse et pas en solution
- Seulement en surface sur toutes les zones d'analyse et pas en solution

Finalement, les résultats issus de la comparaison des données obtenues à partir des analyses ToF-SIMS et UHPLC-MS/MS démontrent la complémentarité des deux techniques analytiques pour répondre à la problématique d'identification des transferts entre contenant et contenu. Pour chacun des matériaux, nous avons pu constater que 4 situations se présentaient systématiquement. Nous avons attribué une hypothèse à chaque situation rencontrée :

- les additifs ne sont détectés ni en surface, ni en solution: ils ne sont pas intégrés dans la formulation du polymère, ou ils sont intégrés dans la formulation du polymère mais à des concentrations inférieures aux limites de détection des deux techniques analytiques ToF-SIMS et UHPLC-MS/MS,
- les additifs sont détectés à la fois en surface et en solution: ce sont des additifs pour lesquels le phénomène de migration est démontré.
- les additifs ne sont détectés qu'en solution: leur présence s'apparente à une contamination au cours des tests de relargage (cette hypothèse devra donc être confirmée par des tests

supplémentaires), ou les valeurs des seuils choisies pour identifier un additif à la surface du polymère dans le traitement des données en ToF-SIMS ne sont pas adaptées et seraient trop hautes.

- Enfin, les additifs ne sont détectés qu'en surface: il ne s'est produit aucun transfert entre le polymère et les solutions aqueuses, ou les quantités relarguées sont à des concentrations inférieures aux limites de quantifications de la technique SPE-UHPLC-MS/MS.

Ainsi, les phénomènes de migration que nous cherchions à mettre en évidence peuvent être identifiés. Il y a donc un intérêt réel à utiliser les deux techniques pour rendre compte du phénomène de migration.

5. CONCLUSION

Afin d'obtenir des propriétés intéressantes, l'utilisation d'additifs dans la formulation des polymères est indispensable. Cependant, la migration de ces composés dans le contenant peut représenter un risque pour le consommateur. C'est pourquoi il est important d'étudier ces phénomènes, ce qui nécessite des méthodes d'analyse spécifiques et sensibles. Dans cette étude, le choix a été fait d'utiliser deux techniques d'analyse de pointe, ToF-SIMS et UHPLC-MS/MS, pour la détection des additifs en surface des polymères et en solution, respectivement. Grâce à des limites de quantification de l'ordre du ng/mL et à la complémentarité des résultats obtenus par les deux méthodes mises au point, des phénomènes de migration contenu-contenant ont pu être mis en évidence pour trois différents polymères.

BIBLIOGRAPHIE

1. Pouech C (2014): Développement de méthodologies analytiques pour l'étude de la migration depuis des contenants en matière plastique prévus pour des applications pharmaceutiques vers des solutions aqueuses et des fluides biologiques. Thèse de doctorat : Chimie analytique (confidentielle). Université Claude Bernard Lyon 1
2. Pouech C, Lafay F, Wiest L, Baudot R, Leonard D, Cren-Olive C (2014): Monitoring the extraction of additives and additive degradation products from polymer packaging into

solutions by multi-residue method including solid phase extraction and ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 406, 1493-1507

3. EMEA 2005, European Medicines Agency Inspections, London 19 May 2005, CPMP/QWP/4359/03, EMEA/CVMP/205/04, Committee for medicinal products for human use (CHMP)-Committee for medicinal products for veterinary use (CVMP)-Guideline on plastic immediate packaging materials
4. Andre C, Castanheira I, Cruz JM, Paseiro P, Sanches-Silva A (2010): Analytical strategies to evaluate antioxidants in food: a review. *Trends in Food Science & Technology* 21, 229-246
5. International Conference on Harmonisation (ICH), Harmonised Tripartite Guideline Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1), 2005
6. US Food and Drug Administration (1999) Guidance for industry: Container closures systems for packaging human drugs and biologics. FDA, Rockville, pp 1–56
7. Moore C, McKeown P (2005): LC-MS/MS and TOF-SIMS identification of the color bodies on the surface of a polymer. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* 16, 295-301

ADRESSES DES AUTEURS

- C. Pouech, Novasep Finorga, 497 Route de Givors, 38670 Chasse-sur-Rhône

- L. Wiest, F. Lafay, D. Léonard, E. Vulliet, Institut des Sciences Analytiques, UMR 5280 CNRS, Université de Lyon, Université Lyon 1, ENS-Lyon, 5 rue de la Doua, 69100 Villeurbanne

- C. Cren-Olivé, Nestle Skin Health GALDERMA R&D, Les Templiers, 2400 Route des Colles, BP87, 06902 Sophia-Antipolis