



HAL
open science

Développement d'une méthode de dosage multi-résidus de pesticides sur des abeilles par chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse en tandem.

Christelle Dubreule, Camille Tanguy, Margot Delfour, Hamid Achour,
Pierre-Hugues Pitel, Valérie Bouchart

► To cite this version:

Christelle Dubreule, Camille Tanguy, Margot Delfour, Hamid Achour, Pierre-Hugues Pitel, et al.. Développement d'une méthode de dosage multi-résidus de pesticides sur des abeilles par chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse en tandem.. Congrès SEP 2017 12eme congrès francophone sur les sciences séparatives et les couplages de l'AFSEP., Mar 2017, Paris, France. hal-03429001

HAL Id: hal-03429001

<https://normandie-univ.hal.science/hal-03429001>

Submitted on 15 Nov 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.



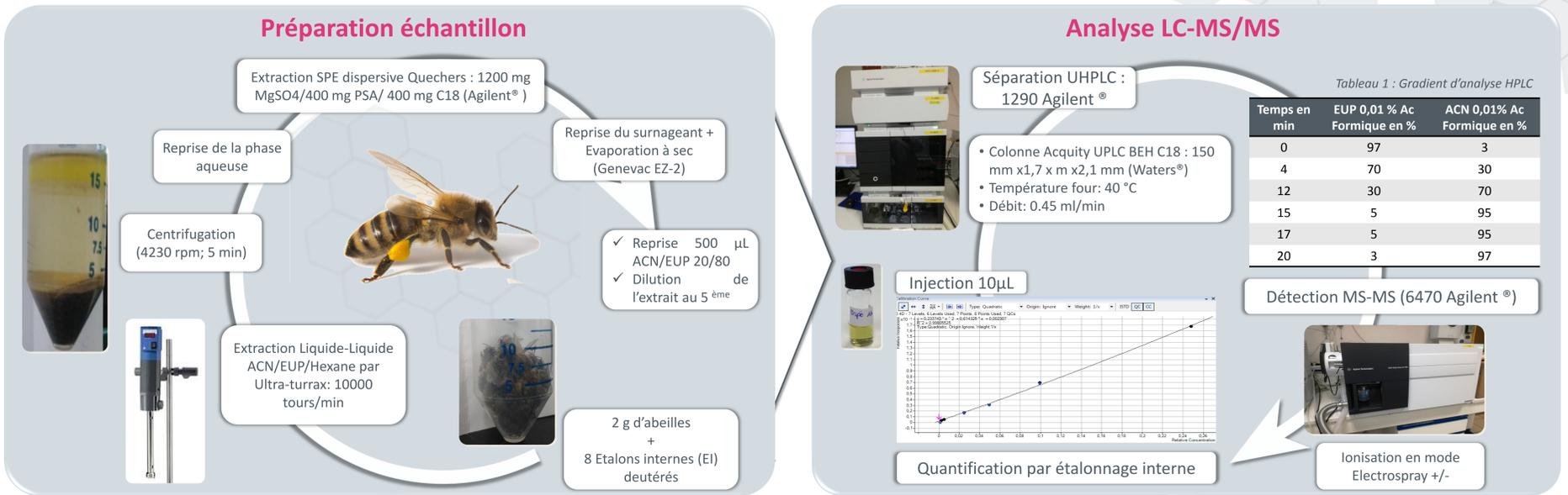
Contexte

Depuis la fin du XX^{ème} siècle, le développement de l'agriculture est caractérisée par l'utilisation massive de nombreux intrants et particulièrement de produits phytosanitaires. De nombreuses études ont montré l'impact de ces produits sur la dégradation des écosystèmes (Eau, Sol, Air, végétaux...) ainsi que leurs effets délétères sur la santé humaine. Certains de ces pesticides sont suspectés d'être à l'origine de mortalité massive aiguë d'abeilles (MMA) et donc d'induire des pertes économiques majeures pour les apiculteurs. L'abeille étant une espèce sentinelle, au regard de ses propriétés biologiques et physiologiques, elle permet d'évaluer la contamination environnementale. Les études sur les MMA d'abeilles ne s'intéressent réglementairement qu'aux insecticides (organophosphorés, organochlorés, pyréthrinoides et néonicotinamides...). Il semble donc intéressant de suivre d'autres familles chimiques de pesticides, herbicides et fongicides (urées, carbamates, triazines...) auxquelles les abeilles sont potentiellement exposées au travers des différents traitements saisonniers des cultures et qui peuvent avoir un impact direct ou indirect sur leur santé.

Objectif

L'objectif de cette étude est de détecter rapidement, en moins de 48 heures après la collecte des abeilles mortes, la présence de 118 produits phytosanitaires et d'assister les services de l'Etat pour l'orientation des enquêtes réalisées dans les ruchers et les suites à donner. Cette méthode sera validée selon la NF V 03-110, sur une plage de concentration de 0,31- 62 ng/g d'abeilles selon les molécules.

Matériels et méthodes



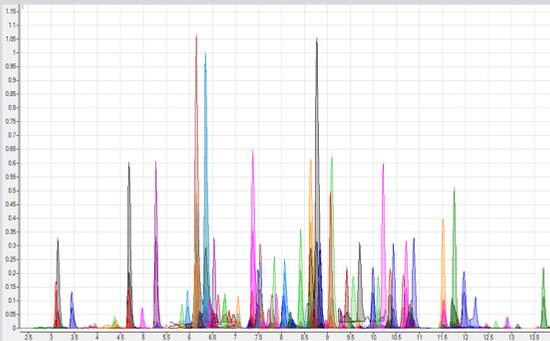
Validation selon NF V03-110 :

« Analyse des produits agricoles et alimentaires - Protocole de caractérisation en vue de la validation d'une méthode d'analyse quantitative par construction du profil d'exactitude ».

- Etude d'étalonnage
- Détermination des limites de quantification (LQ)
- Etude d'exactitude : répétabilité/ reproductibilité
- Estimation des incertitudes

Résultats

Paramètres LC-MS/MS



- Acquisition en Dynamic MRM : Polarité + et - simultanément
- Ajout des Temps de rétention (Tr) de chaque molécule dans la méthode d'analyse

Rapidité d'analyse:
Quantification de 118 pesticides en 17 min

Critères de quantification et de confirmation (SANTE/11945/2015) :

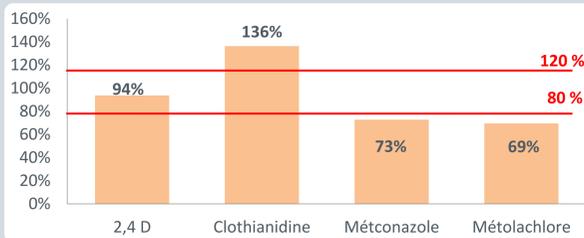
- 1 transition de quantification: S/N > 10
- Rapport Intensité ionique (ech/std) : < 30%
- 1 transition de confirmation: S/N > 3
- Dérive Tr < 2,5 %
- -50 % < Dérive ISTD < +50 %

Molécules	Ion précurseur	Ion produit	Frag	EC	+/-	EI attribué
2,4 D	221	163	80	8	-	2,4 D 3
	219	161	80	8	-	
Clothianidine	250	169	56	5	+	Atrazine D5
	250	132	56	9	+	
Metconazole	320	125	115	44	+	Atrazine D5
	320	70	115	24	+	
Métolachlore	284	252	95	8	+	Métolachlore D6
	284	176	95	24	+	

Tableau 2 : Exemples de Transitions et EI associés

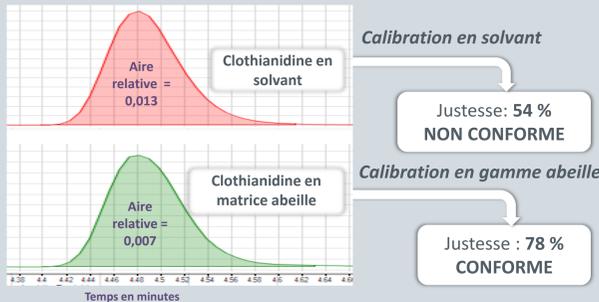
Comparaison gamme solvant - gamme extraite

Évaluation effet matrice (EM):



Présence d'un effet matrice selon les molécules

Évaluation de la justesse selon la nature de la gamme d'étalonnage pour une supplémentation à 12.4 ng/g d'abeille :



	Gamme solvant ACN/EUP 20/80	Gamme extraite abeille
Pourcentage de molécules validées sur les 118 de l'étude	41 %	81 %

Tableau 3 : Influence nature de la gamme à 12,4 ng/g abeille

Quantification via gamme extraite en matrice abeille

Caractérisation méthode

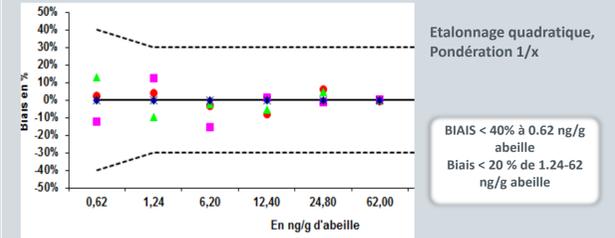
Étude d'étalonnage- Détermination des LQ

LQ en ng/g abeille	Pourcentage molécules
0.31	34%
0.62	28%
1.24	23%
6.2	22%
12.4	1%

Objectifs:
EMA 40 % LQ
EMA 20 % Autres niveaux

Sur 118 molécules:
115 conformes

Tableau 4 : Performances des limites de quantification atteintes en ng/g abeille



Etalonnage quadratique, Pondération 1/x

BIAIS < 40% à 0.62 ng/g abeille
Biais < 20 % de 1.24-62 ng/g abeille

Figure 4 : Exemple d'étalonnage en gamme extraite pour le 2.4 D en ng/g abeille

Étude d'exactitude

Objectifs de performance :
Ecart Maximal Acceptable 30 %

Étude de l'exactitude avec la norme NF V03-110	6.2 ng/g abeille	12.4 ng/g abeille
Probabilité z	80%	80%
Limite haute d'acceptabilité	8 0600	16 1200
Limite haute de tolérance	7 369	13 878
Limite basse de tolérance	5 311	12 382
Limite basse d'acceptabilité	4 3400	8 6800
Conclusion : l'exactitude de la méthode est	vérifiée	vérifiée
Profil d'exactitude par rapport au taux de récupération		
Récupération %	102.26%	105.89%
Limite haute d'acceptabilité en %	130%	130%
Limite haute de l'intervalle de tolérance en %	118.9%	111.9%
Limite basse de l'intervalle de tolérance en %	85.7%	99.9%
Limite basse d'acceptabilité en %	70%	70%
Profil d'exactitude par rapport au biais		
Limites d'acceptabilité en % (EMA)	+/-	30%
Biais %	2.25%	5.89%
Limites haute de l'intervalle de tolérance du biais en %	18.9%	111.9%
Limites basse de l'intervalle de tolérance du biais en %	-14.3%	-0.1%

Figure 5 : Profil d'exactitude du 2.4 D en ng/g abeille

95 Pesticides conformes
70 % < Justesse < 120%

Conclusion

Cette étude a permis de développer et de valider une méthode de quantification multi-résidus pour 95 pesticides non recherchés classiquement dans les cas de mortalité massive aiguë d'abeilles. Cette méthode a été utilisée sur des échantillons symptomatiques d'abeilles, il sera intéressant de poursuivre cette étude en analysant en parallèle des abeilles asymptomatiques afin d'évaluer le niveau basal de contamination en ces produits.

Flashez et contactez
Valérie Bouchart
valerie.bouchart@laboratoire-labeo.fr

Remerciements à Mr Yoan Le Louarne et à Mr Jean-François Collobert (DRAAF-SRAL Normandie) pour leur collaboration

