



HAL
open science

Développement d'une méthode d'analyse du zirame par LC-MS/MS pour les mesures d'exposition des agriculteurs lors du nettoyage des semoirs

Justine Lanson, Yannick Lecluse, Jérémie Le Goff, Juliette Pompili, Gildas Griveau, Marie Rannou, Raphael Delepee, Pierre Lebailly, Valérie Bouchart

► To cite this version:

Justine Lanson, Yannick Lecluse, Jérémie Le Goff, Juliette Pompili, Gildas Griveau, et al.. Développement d'une méthode d'analyse du zirame par LC-MS/MS pour les mesures d'exposition des agriculteurs lors du nettoyage des semoirs. 15ème Congrès de l'Association Francophone des Sciences Séparatives, Mar 2023, Paris, France. hal-04055768

HAL Id: hal-04055768

<https://normandie-univ.hal.science/hal-04055768>

Submitted on 3 Apr 2023

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 ET OBJECTIFS

Le projet « PESTEXPO – Nettoyage semoirs » est une étude d'évaluation de l'exposition aux pesticides en milieu agricole au cours des différentes tâches de travail effectuées lors du nettoyage des semoirs ayant contenu des semences enrobées de pesticides. L'objectif est de déterminer le niveau d'exposition cutanée et respiratoire des utilisateurs. Parmi les matières actives présentes dans l'enrobage de semences de maïs, on trouve le zirame qui est utilisé en traitement répulsif contre les corvidés (Korit 400 FS).

Le zirame est un dithiocarbamate (DTC), famille de produits phytosanitaires incluant des substances actives utilisées comme corvicides et fongicides dans l'agriculture. La famille chimique des DTC compte plus de 20 substances qui sont classées en sous-familles selon leur structure et se différencient par leur complexe métallique. Les diméthyl dithiocarbamates (DMD) avec le zirame, le ferbame, le thirame et le nickel diméthyl dithiocarbamate sont une des 8 sous-familles¹.

LABÉO a mis au point une méthode d'analyse par LC-MS/MS permettant de doser le zirame, comme marqueur d'exposition, et d'atteindre une limite de quantification la plus basse possible afin de détecter des concentrations potentiellement faibles. La méthode développée doit être simple et rapide pour permettre le traitement d'un nombre important d'échantillons.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

DISPOSITIFS DE MESURE DE L'EXPOSITION AU ZIRAME

Afin de mesurer les niveaux d'exposition, les volontaires sont équipés de :

- gants en coton
 - patchs en coton disposés sur les différentes parties du corps
 - pompes d'échantillonnage équipées de filtres XAD2
- Des frottis sont effectués avec des patchs sur le matériel avant et après son nettoyage.

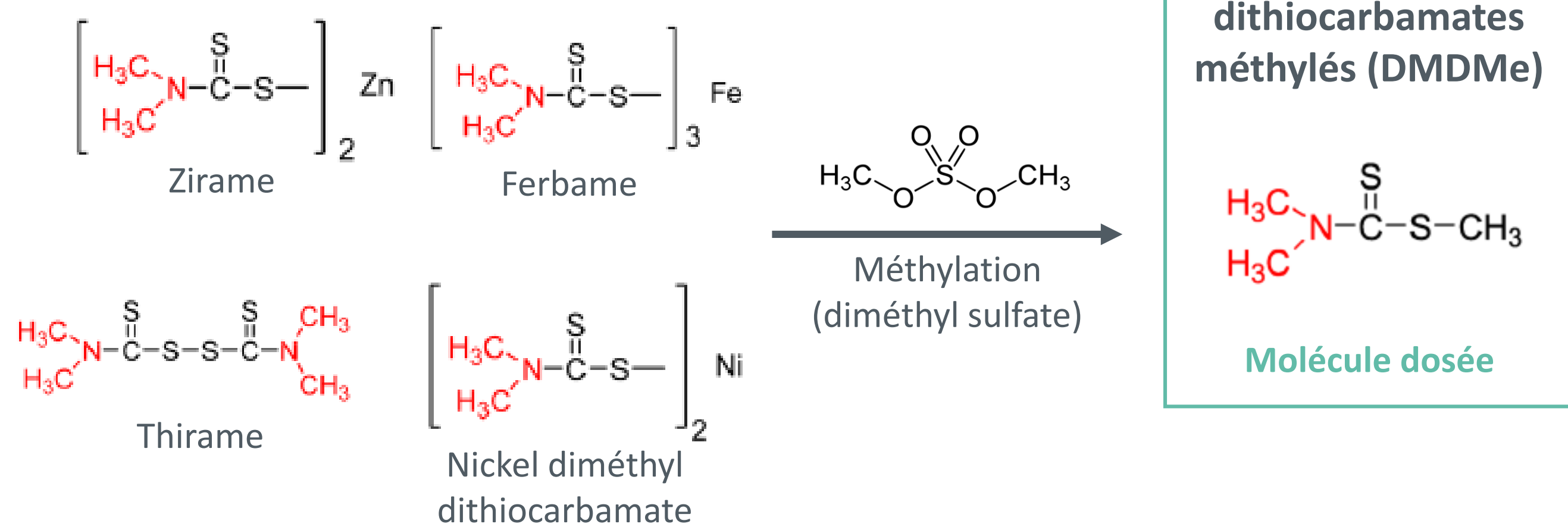


Suivi du nettoyage des semoirs de 5 individus => environ 130 échantillons

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

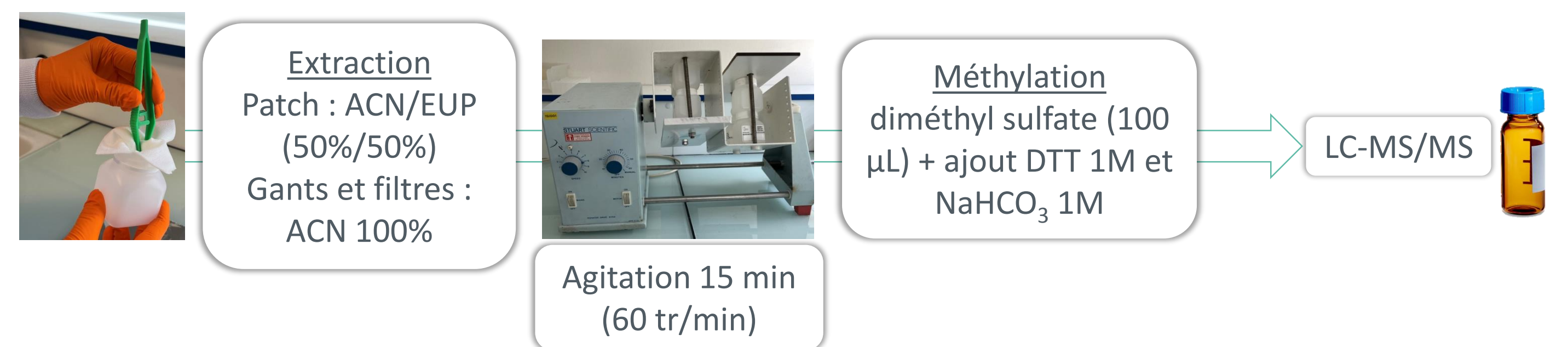
Les diméthyl dithiocarbamates (DMD) sont instables (processus d'hydrolyse et de photolyse) avec un temps de demi-vie inférieur à une journée¹. Pour réaliser leur dosage, une étape de méthylation est nécessaire pour stabiliser la molécule^{2,3}. Cependant, après méthylation des DMD (zirame, ferbame, thirame, nickel diméthyl dithiocarbamate) il n'est pas possible de différencier individuellement les composés.

Diméthyl dithiocarbamates (DMD)



MÉTHODE ANALYTIQUE

Préparation des échantillons



Dosage des DMDMe par LC-MS/MS

Chaîne Agilent 1290 UPLC couplée au spectromètre de masse triple quadripôle 6495

Paramètres LC :

- Colonne Acuity UPLC® BEH C18 100 x 2,1 mm – 1,7 µm
- Température colonne = 40°C
- Débit = 0,40 mL/min
- Volume d'injection = 10 µL
- Phases mobiles = EUP + 0,1% acide formique et ACN + 0,1% acide formique
- Temps d'analyse = 12 min

Paramètres MS/MS :

- Gaz = 150°C à 11 L/min
- Sheath gas = 250°C à 10 L/min
- Capillaire = 1500V + et 3500V –
- Nébuliseur = 30 psi

Molécule	Mode ESI	Ions précurseurs (m/z)	Ions produits (m/z)	Energie de collision (eV)	Temps de rétention (min)
Zirame	+	136,1	88* 73,1	15 45	3,234

* Ion quantifieur

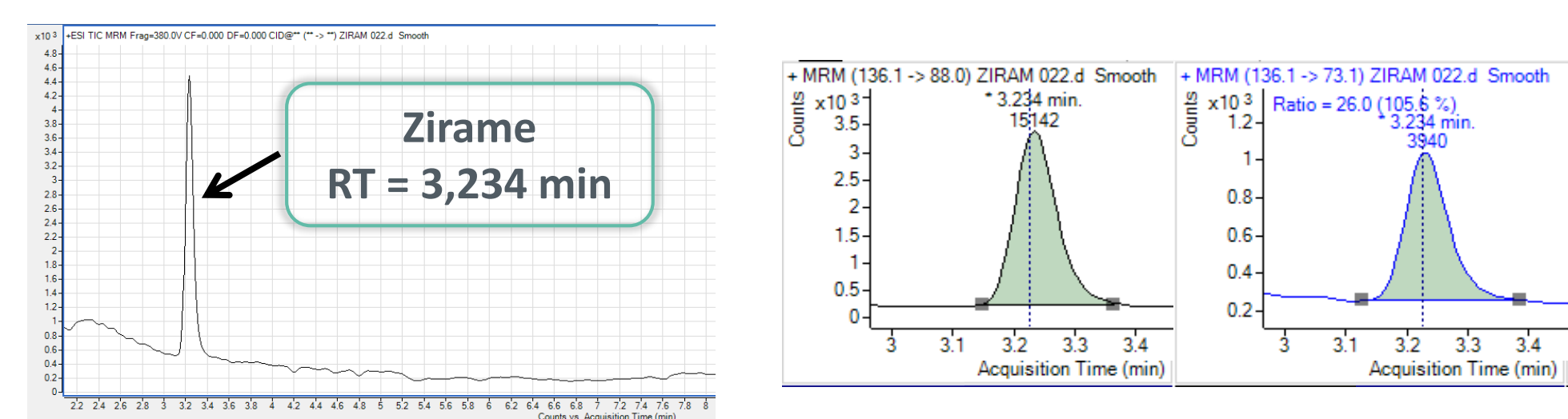


Figure 1 : Chromatogramme et transitions du zirame

VALIDATION DE LA MÉTHODE SELON LA NORME NF T90-210

- **Étude de linéarité** : 5 gammes d'étalonnage avec référence synthétique (2 - 5 - 10 - 20 - 50 - 100 - 500 µg/L) en étalonnage externe. L'écart maximal acceptable (EMA) est fixé à 30% à la LQ et 20% pour les autres niveaux.

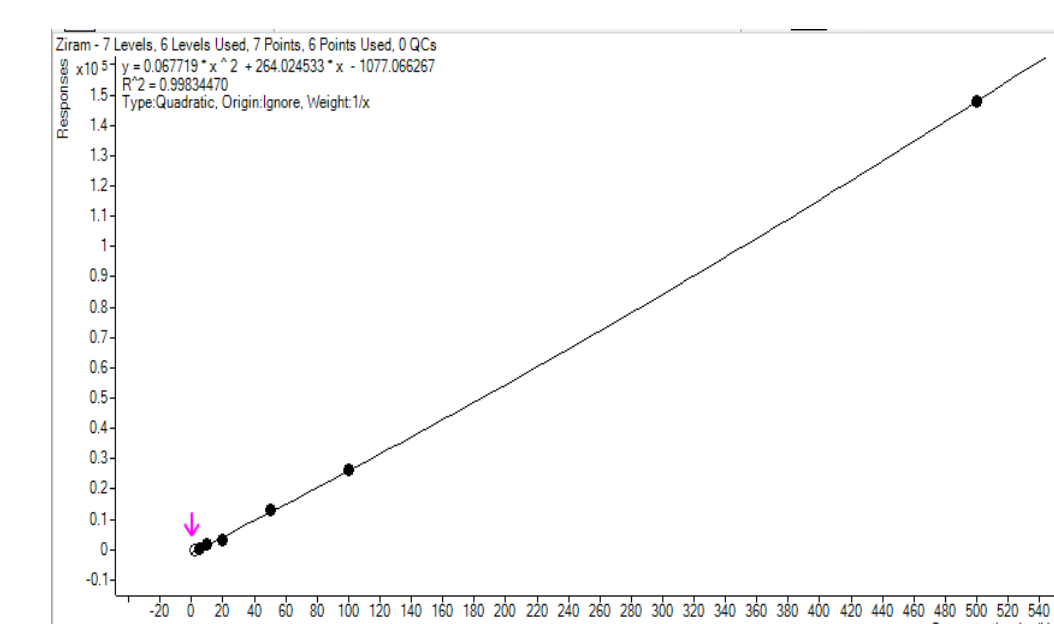


Figure 2 : Étalonage linéaire du zirame

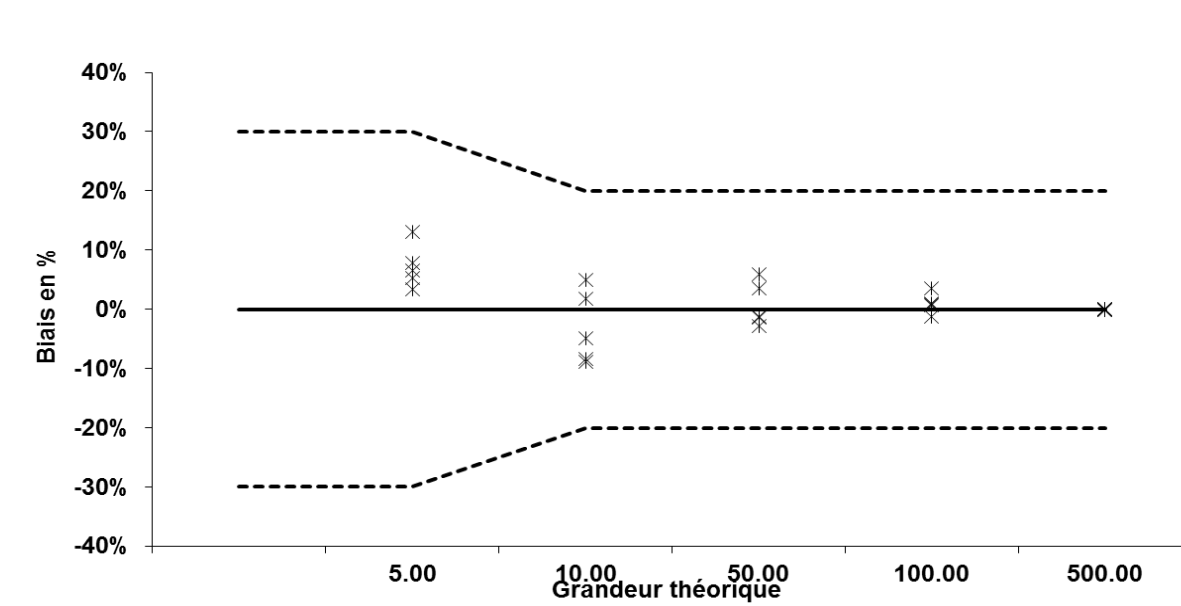


Figure 3 : Répartition des biais en % en fonction des niveaux par rapport aux EMA

- **Étude d'exactitude** : 5 séries de patchs et gants dopés à 3 niveaux de concentration (LQ = 5 µg/L; NIV2 = 50 µg/L et NIV3 = 100 µg/L). L'écart maximal acceptable est fixé à 40% à la LQ et 30% pour les niveaux 2 et 3.

- **Étude de rendement** : dopage de patchs et gants à 3 niveaux de concentration finale dans les extraits : LQ = 5 µg/L; NIV2 = 50 µg/L et NIV3 = 100 µg/L.



→ Pas de correction de rendement nécessaire

- **Détermination des limites de quantification (LQ)** : 200 ng/patch et 400 ng/gant

- **Contrôle qualité** : L'absence de zirame marqué amène à faire des contrôles dopés dans chaque série et d'intercaler des contrôles qualité au sein de la série d'analyse. Le thirame d12 ne se comporte pas de la même manière dans les contrôles qualité et dans la gamme donc la méthode a été validée en étalonnage externe.

- **Étude de stabilité** : Dopage de patchs en répétabilité au niveau 2 (50 µg/L) et conservation au congélateur à -20°C. Etude de stabilité sur les extraits méthylés congelés à -20°C. L'écart maximal acceptable est fixé à 30%.

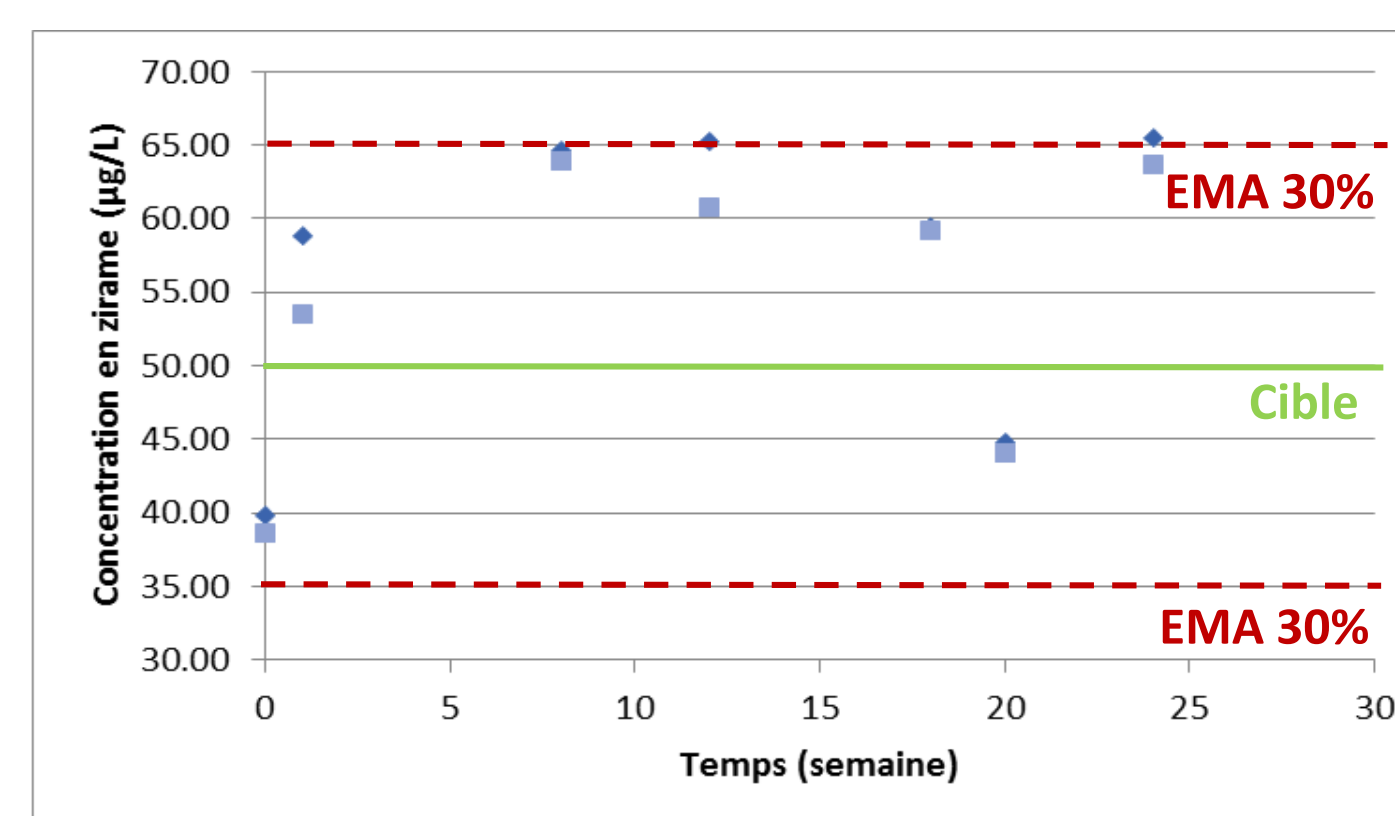


Figure 4 : Etude de stabilité des patchs dopés

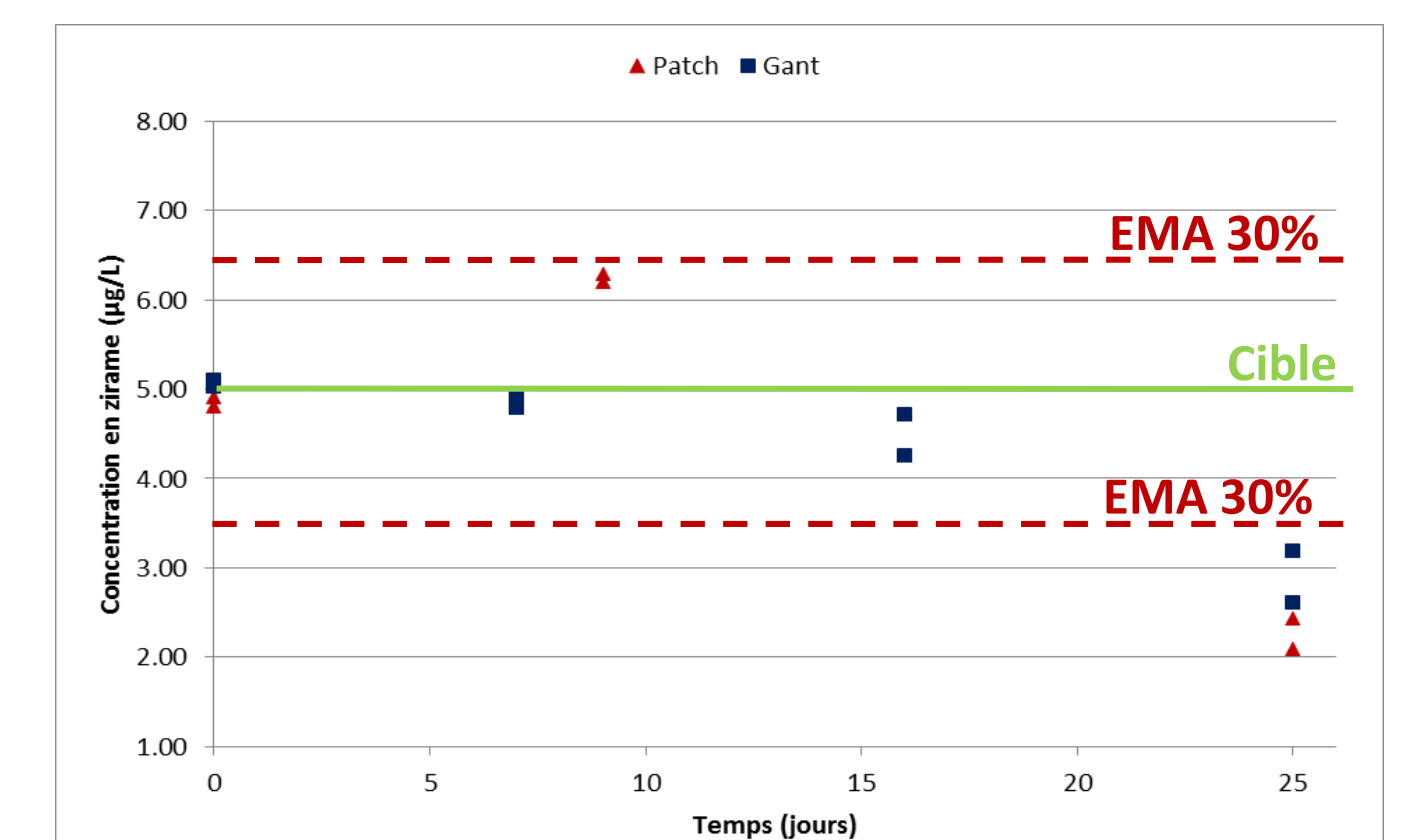


Figure 5 : Etude de stabilité des extraits méthylés

→ On observe une dégradation des extraits méthylés à partir de 25 jours après conservation au congélateur à -20°C. Les extraits méthylés (patchs et gants) sont conservés et analysés jusqu'à 9 jours après conservation à -20°C.

CONCLUSION

La méthode de dosage des résidus de pesticides a été validée selon le référentiel NF T90-210 avec une limite de quantification en zirame de 200 ng/patch et 400 ng/gant. Cette méthode est adaptée aux besoins de l'étude et a permis la mise en évidence de résidus de zirame dans plusieurs échantillons issus de 4 Coopératives d'Utilisation de Matériels Agricoles (CUMA) et 1 Entreprise de Travaux Agricoles (ETA), principalement sur les combinaisons et les frottis de matériel. Ces données préliminaires montrent l'intérêt d'étudier cette phase de nettoyage de semoir et son exposition aux pesticides.

Références : ¹ BRISTEAU S., GHESTEM J.-P. (2018) – Synthèse sur la problématique de la surveillance des dithiocarbamates dans les eaux environnementales. Rapport final. AQUAREF BRGM/RP-67894-FR, p.43, ill.20

² KAKITANI et al., A rapid and sensitive analysis of dithiocarbamate fungicides using modified QuEChERS method and liquid chromatography-tandem mass spectrometry, J. Pestic. Sci. 42 (4), 145-150 (2017)

³ HAYAMA et al., Simplified method for determination of polycarbamate fungicide in water samples by liquid chromatography with tandem mass spectrometry following derivatization with dimethyl sulfate, Journal of Chromatography 1141, 251-258 (2007)