

## Détermination et quantification de 80 pesticides dans les miels et les abeilles par GC-ToF et LC-MS/MS

C. Arnaudguilhem • A. Buleté • B. Giroud • C. Fratta • L. Wiest

USR 059 Service central d'analyse du CNRS, Solaize, France

L'intensification de l'agriculture s'est caractérisée par un recours important aux intrants et en particulier aux pesticides. Cependant, des études ont mis en évidence leurs caractères toxiques et cancérigènes et les rendent en partie responsables de la dégradation de l'environnement et de la santé humaine. En particulier, ils sont fréquemment incriminés dans la mortalité des abeilles. Le but de cette étude, financée par France AgriMer, est d'obtenir une vue globale de la présence des contaminants environnementaux dans les abeilles et les produits de la ruche, notamment le miel.

Parallèlement, nous avons souhaité développer une méthode fiable, rapide, sensible et peu coûteuse pour aider les apiculteurs à expliquer les taux élevés de mortalité des abeilles en étudiant les relations entre les pesticides et la mortalité.

Dans ce but, une liste de 80 pesticides a été établie en collaboration avec les apiculteurs en tenant compte de leurs données toxicologiques et de leurs effets sur les abeilles.

L'extraction de tels composés - de nature et propriétés physico-chimiques différentes - à l'état de traces dans des matrices complexes et variées comme les abeilles et le miel constitue un véritable challenge analytique.

Les 80 pesticides sélectionnés proviennent de 16 familles chimiques : organochlorés, organophosphorés, carbamates, carbinols, acylalanines, triazoles, thiadiazines, oxazolidinones, imidazoles, pyrethroides, formamidines, tetrazines, thiazolidinones, avermectines, mylbemycines et chloronicotines.

L'extraction est basée sur la méthode QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Efficient and Sensitive), méthode normée en Janvier 2009 par l'AFNOR (NF EN 15662) pour l'analyse multirésidus de pesticides dans les aliments d'origine végétale. Elle consiste en une extraction liquide/liquide avec de l'acétonitrile en milieu tamponné et en présence de sels pour extraire les pesticides, suivie d'une purification par extraction sur phase solide dispersée (PSA ou PSA/C18) pour éliminer les interférences de la matrice. L'extrait purifié est ensuite analysé, après addition d'analytes protectants en GC-ToF et après dilution par 10 en LC-MS/MS.

Outre sa robustesse, cette méthode présente l'avantage d'éviter les contaminations inter-échantillons, avec

l'utilisation de tubes jetables. Elle a été appliquée aux 2 matrices étudiées, le miel et l'abeille. En ce qui concerne le miel, la méthode QuEChERS a pu être utilisée telle quelle, tandis que pour l'extraction des abeilles, matrice plus riche en interférences apolaires, il a été nécessaire d'ajouter une petite quantité d'hexane dans l'acétonitrile, afin de les éliminer.

La méthode optimisée a ensuite été validée sur 3 jours dans les 2 matrices : les répétabilités inter et intra-séries, rendements, limites de détection et quantification et linéarité ont été déterminés. Pour les deux matrices, la validation a permis de déterminer que la méthode est robuste et qu'elle permet d'atteindre des limites de détection compatibles à la recherche de contaminants environnementaux, c'est-à-dire, entre 0,1 et 30 ng/g. Seulement trois molécules (doramectine, chlorothalonil, diméthoate) n'ont pas pu être validées en raison de leur faible sensibilité dans la matrice abeille. Enfin, cette méthodologie a été appliquée à 34 échantillons réels de chaque matrice, montrant la présence de pesticides, pouvant provenir soit des traitements réalisés par l'apiculteur, soit des activités agricoles environnantes.

Dans un contexte de mortalité et déclin des abeilles, nous avons ainsi développé un outil analytique fiable pour aider les apiculteurs à comprendre ce phénomène et les relations qu'il peut y avoir avec les traitements par pesticides. Cette méthode permet de détecter et quantifier une grande variété de contaminants environnementaux dans le miel et les abeilles.

La combinaison de méthodes analytiques puissantes, comme la GC-ToF et la LC-MS/MS, avec la méthode d'extraction QuEChERS a permis d'atteindre la sensibilité et la sélectivité nécessaire à la détection des ces composés à des teneurs de l'ordre du ng/g.