

Une méthode d'analyse du glyphosate et de l'AMPA dans le pollen

Nathalie Ducat (1), Dimitri Villette (1), Solange Mahiat (1), Alain Delvaux (1)

CRA-W, Unité Produits de protection, de contrôle et résidus, Bâtiment Carson, Rue du Bordia 11, 5030 Gembloux, n.ducat@cra.wallonie.be



La sensibilisation du grand public à un système agricole alternatif sans usage de pesticides chimiques de synthèse et pauvre en nitrates est un objectif du projet «PlanBEE», piloté par Nature & Progrès Belgique et financé par la SPGE (Société Publique de Gestion de l'Eau).

Ce système alternatif est basé sur une diversité de cultures mellifères sur de grandes surfaces.

Les abeilles y sont considérées comme des bio-indicateurs de l'état de l'environnement des sites étudiés.

Dans ce contexte, des analyses de pesticides, notamment du glyphosate et de son métabolite l'AMPA, ont été réalisées dans du pollen, du pain d'abeille et du pain d'osmie (abeille sauvage). Une méthode d'analyse a été développée pour ces 3 matrices difficiles. La LOQ de cette méthode est de 10 ng.g⁻¹ et la LOD de 3 ng.g⁻¹ pour le glyphosate et l'AMPA dans les 3 matrices. Les taux de récupération sont acceptables.

La LMR (Limite Maximale en Résidus) pour les produits de la ruche est de 50 ng.g⁻¹.

Extraction et mise en fiole du glyphosate et de l'AMPA des échantillons, des références en matrice et des contrôles de performance de la méthode

- ✓ 1 g d'échantillon + 5 ml eau -> macération 1h
- ✓ Ajout de 5 ml dichlorométhane et agitation douce pour éviter les émulsions. L'ajout de dichlorométhane avant la mise en fiole rend possible la filtration de la solution échantillon en éliminant des composés non polaires présents dans l'extrait.
- ✓ Centrifugation pendant 10 min à 4800 RCF
- ✓ Prélèvement du surnageant et filtration sur PTFE 0.2 µm en fiole d'injection (énergiquement)
- ✓ Ajout d'une quantité correspondant à 10 et à 100 ng.g⁻¹ (références en matrice) pour la quantification de chaque échantillon, afin de contourner les difficultés rencontrées à cause de «l'effet matrice» qui est très différent d'un pollen à l'autre et très important pour l'AMPA (jusque 500 fois)

Paramètres LC-MS/MS : UHPLC Shimadzu Nexera et spectromètre de masse Sciex 5500QTrap

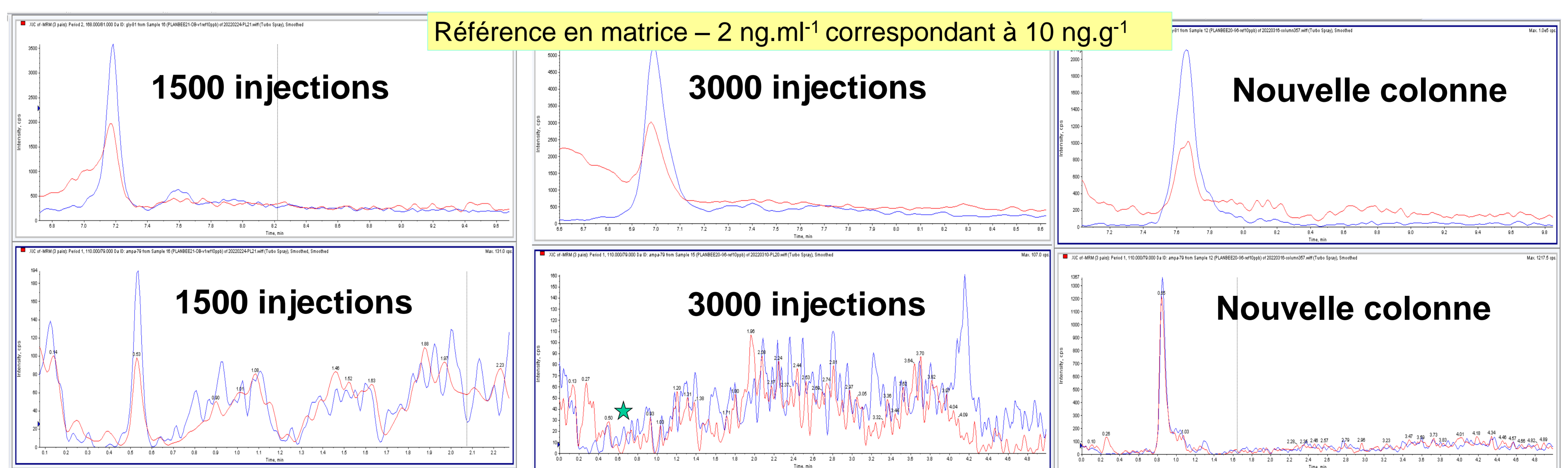
Gradient (Temps-min)	Pompe A : Eau à 0.5% acide formique	Pompe B : Méthanol à 0.5% acide formique	Température colonne	Volume d'injection	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	IS (volts)	DP (volts)	CE (volts)	
1.2	40	60	40°C	2 µl	168	63	-4500	-30	-26	<chem>OC(=O)CNC(=O)OP(=O)(O)O</chem>
2.5	98	2	Source : Méthode Restek	81						
10.0	98	2		110	63	-15	-26	-36	<chem>NC(=O)COP(=O)(O)O</chem>	
10.5	40	60	79							

Equilibration : 3 minutes Colonne Restek Raptor Polar X (50 x 2.1 mm x 2.7 µm) bien adaptée à la séparation des composés polaires

Comportement de la colonne Restek Raptor Polar X au cours des injections

Glyphosate

168 -> 63
168 -> 81



AMPA

110 -> 63
110 -> 79

Application de la méthode aux échantillons de pollen (PO), pain d'abeille (BB) et pain d'osmie (OB)

Entre 2020 et 2021, 64 échantillons (50 PO, 5 BB et 9 OB) ont été prélevés dans 5 ruchers implantés dans des sites expérimentaux situés en Wallonie (Belgique) autour de captages d'eau de la SWDE (Société Wallonne Des Eaux). L'AMPA n'a été détecté dans aucun échantillon. Du glyphosate a été détecté (entre 3 et 10 ng.g⁻¹) dans 32 échantillons et quantifié (> 10 ng.g⁻¹) dans 27 échantillons (19/50 PO, 4/5 BB et 4/9 OB) dont trois échantillons (2/50 PO et 1/9 OB) présentent des concentrations en glyphosate de, respectivement, 55, 246 et 168 ng.g⁻¹. Les 24 autres échantillons montrent des teneurs en glyphosate en dessous de 25 ng.g⁻¹.

Merci à Laurette Salmon pour la préparation des échantillons