

del pr

# Détermination des traces de pyréthrinoides (bioperméthrine et décaméthrine) dans les substrats biologiques par chromatographie en phase gazeuse

© Masson, Paris, 1981

M. PANSU, M. H. DHOUBI et M. PINTA

ORSTOM, Laboratoire de Spectrographie, 70-74, route d'Aulnay, 93140 Bondy

## SUMMARY

Determination of traces of biopermethrine and decamethrine purethrinoids in biological substrates through gas chromatography

Pyrethrinoids are well-placed among the modern means of fighting against insects in agriculture. Studies of toxicity and degradation and the remanence test on food products involve the development of a reliable, sensitive and rapid method of titrating.

The method described here is a progress when compared with existing methods as far as the extraction in substrates containing lipids as well as the direct titration of the biopermethrine and decamethrine through gas chromatography are concerned. Thus, the analysis time is reduced and identical, whatever the substrates may be, and the efficiency of extractions and purifications is above 90 % in all the cases. The determination limit which is improved, is below 2.5 µg for decamethrine and the variation coefficient is below 10 %.

Samples are extracted through crushing with hexane. The extracts, which are dried on sodium sulphate, are purified on Florisil columns according to two methods based on whether or not they contain lipids. Then, the concentrated eluates are analysed through gas chromatography on short apolar column SE 30 with an electron capture detector.

With some precautions, the potential decompositions in the chromatograph were properly controlled; in fact, the method was successfully applied to studies of remanence on wheat and migratory locust.

## RÉSUMÉ

Les pyréthrinoides apparaissent en bonne position parmi les moyens modernes de lutte insecticide en agriculture. Les études de toxicité et de dégradation, le contrôle de rémanence sur les produits alimentaires nécessitent la mise au point d'une méthode de dosage fiable, sensible et rapide, de ces produits.

La méthode décrite ici apporte des améliorations par rapport aux méthodes existantes en ce qui concerne l'extraction dans les substrats contenant des lipides ainsi que le dosage direct par chromatographie en phase gazeuse de la bioperméthrine et de la décaméthrine. Le temps d'analyse est ainsi réduit et égal, quels que soient les substrats; le rendement des extractions et purifications est supérieur à 90 % dans tous les cas. La limite de détermination, sensiblement améliorée, est inférieure à 2,5 µg pour la décaméthrine, et le coefficient de variation inférieur à 10 %.

Les échantillons subissent une extraction par broyage avec de l'hexane. Les extraits séchés sur sulfate de sodium sont purifiés sur colonnes de Florisil selon deux processus, suivant qu'ils renferment ou non, des lipides. Les éluats concentrés sont ensuite analysés par chromatographie en phase gazeuse sur colonne courte apolaire SE 30, avec un détecteur à capture d'électrons.

Moyennant certaines précautions, les décompositions qui peuvent se produire dans le chromatographe ont été convenablement maîtrisées; la méthode a été appliquée avec succès à des études de rémanence sur blé et sur criquet pèlerin.

## INTRODUCTION

Le besoin en insecticides, peu toxiques pour l'environnement et la chaîne biologique alimentaire, a conduit à étudier les possibilités d'utilisation d'extraits naturels végétaux.

Ainsi, les plantes à pyréthrinés, mentionnées au premier siècle de l'ère chrétienne, dans le livre chinois Chou-Li, pour leurs remarquables propriétés insecticides, ont été cultivées sur une échelle assez importante depuis le début du XX<sup>e</sup> siècle (Martel, 1978). En 1924, Staudinger et Ruzicka ont établi la

formule chimique des substances actives extraites des fleurs de pyrèthre. Puis, des composés proches de ces pyréthrinés furent synthétisés et fabriqués industriellement: l'alléthrine en 1949, la resméthrine en 1967. Enfin, apparurent la perméthrine en 1973 puis la cyperméthrine, la décaméthrine et le fenvalérate, les premiers « pyréthrinoides » stables à la lumière du jour. Comme les pyréthrinés naturelles, ces substances agissent très rapidement sur les insectes, par effet de choc, au niveau du système nerveux. Elles sont également peu toxiques pour l'homme et les animaux à sang chaud et facilement biodégradables.

Leur durée de vie à la lumière, suffisante pour la lutte insecticide, jointe à des conditions d'obtention plus faciles que les pyréthrinés naturelles; permet

Manuscrit reçu le 28 mars 1980; manuscrit modifié reçu le 18 juillet 1980; accepté le 7 août 1980.

Fonds Documentaire ORSTOM



010007264

Fonds Documentaire ORSTOM

Cote: B\* 7364 Ex: 1

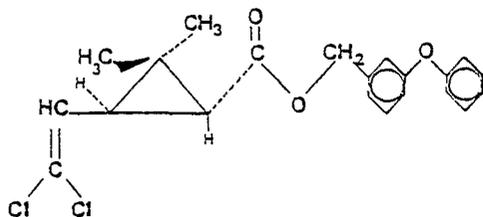
d'envisager des utilisations agricoles de ces pyréthri-noïdes. Nous pouvons ajouter une autre propriété en faveur de telles utilisations : c'est la possibilité de détection de très faibles traces dans les résidus après traitement, par extraction, purification et dosage en chromatographie gaz liquide au moyen d'un détec-teur à capture d'électrons.

Le présent travail est une contribution à la mise au point d'une méthode fiable, rapide et sensible pour le dosage de traces de pyréthri-noïdes dans les sub-strats végétaux et animaux. Cette méthode a, ensuite, été appliquée à l'étude de la persistance et de l'activité de ces substances sur un très grand rava-geur, jusqu'à présent combattu par la dieldrine, le criquet pèlerin, et sur la végétation que cet insecte consomme.

## PRODUITS EXPÉRIMENTÉS

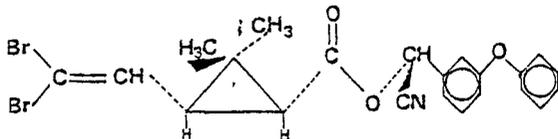
Parmi les pyréthri-noïdes les plus récemment créés (Elliott, 1978), nous en avons retenu deux en raison de leur activité insecticide et de leur résistance au rayonnement ultraviolet très supérieures aux pyréthri-nes naturelles :

— isomère *d trans* de la perméthrine ou bioper-méthrine (NRDC 147)



Ce produit a été décrit pour la première fois par Elliott *et al.* en 1973. Il s'agit de l'isomère *d trans* du dichlorochrysanthémate de métaphénoxybenzyle ou 2,2-diméthyl 3-(2,2 dichlorovinyl) cyclopropane carboxylate de 3 phénoxybenzyle.

— décaméthrine (NRDC 161)



Ce composé a été décrit en 1974 par Elliott ; il s'agit du *d cis* 2,2 diméthyl 3-(2,2 dibromovinyl) cyclopropane carboxylate de  $\alpha$  cyano 3-phénoxybenzyl. Il est mille sept cents fois plus actif sur les mouches domestiques que les pyréthri-nes naturelles et trente-quatre fois plus actif que la bioresméthrine (Martel, 1978).

## MÉTHODES DE DOSAGE

Les méthodes d'extraction, purification et dosage, s'inspirent de celles mises au point par Hascoet et André (1978), avec des modifications concernant :

- l'extraction sur de très petits échantillons,
- la purification de substrats contenant des lipi-des,
- le remplacement du dosage chromatographique après transestérification par le dosage direct sur colonne courte avec possibilité d'utiliser un étalon interne.

### 1. Extraction

Des échantillons de blé de 10 g environ sont broyés pendant 5 min. dans un broyeur Sorvall, avec 50 ml d'hexane et 20 g de sulfate de sodium anhy-dre.

Après filtration sous vide au Büchner, un deuxième broyage est effectué dans les mêmes condi-tions.

Après rinçage du broyeur et du filtre par deux fois 10 ml d'hexane, l'ensemble des filtrats est concentré sous vide à l'évaporateur rotatif et ramené à 10 ml exactement avec de l'hexane.

Chaque criquet (pesant deux à trois grammes) fait l'objet d'une semblable extraction, avec des pots de broyage plus petits et des quantités plus faibles d'hexane et de sulfate de sodium.

L'extraction de l'insecticide, au niveau des ovai-res, œufs, oothèques et larves de criquet, est réalisée dans un mini-broyeur avec 4 ml d'hexane. L'extrait est alors filtré dans une fiole jaugée de 10 ml, à tra-vers un petit entonnoir bouché d'un tampon de laine de verre et rempli de sulfate de sodium anhydre. Le volume est amené à 10 ml avec de petites portions d'hexane en rinçant le broyeur et le filtre.

### 2. Purification des extraits

#### 2.1. Extraits ne contenant pas de corps gras

L'utilisation du détecteur à capture d'électrons nécessite l'injection d'extraits soigneusement puri-fiés. Cette purification est effectuée par chromato-graphie sur colonne de florisil.

Nous utilisons des colonnes Pyrex, à robinets Téflon, de 30 cm de long de 1 cm de diamètre inté-rieur, munies d'un réservoir à solvant de 150 ml.

Le remplissage est constitué par un tampon de laine de verre, 5 g de florisil à 3 % d'eau et 2 g de sulfate de sodium anhydre.

Après rinçage des colonnes par 20 ml d'éther de pétrole, on dépose 1 ml de l'extrait de blé correspon-dant à 1 g de végétal et éventuellement une quantité fixée d'étalon interne (la perméthrine pouvant servir d'étalon interne pour le dosage de la décaméthrine et inversement).

On rince ensuite par deux fois 2 ml d'éther de pétrole et on élue les pyréthri-noïdes par 70 ml du mélange éther éthylique à 10 % dans l'éther de pétrole.

L'éluat est amené à sec à l'évaporateur rotatif et repris avec, exactement, 10 ml d'hexane pour le dosage chromatographique.

2.2. Extraits contenant des lipides

Nous avons remplacé la méthode de partage acétonitrile-hexane, utilisée par Hascoet et André, par une séparation chromatographique sur colonnes identiques à celles utilisées précédemment.

Dans ce cas, après avoir déposé sur la colonne 1 ml de l'extrait de criquet et éventuellement la quantité fixée d'étalon interne, on élue successivement les lipides avec 110 ml d'hexane puis les pyréthri-noïdes avec 70 ml du mélange éther éthylique à 10 % dans l'éther de pétrole.

Un contrôle gravimétrique nous montre que la totalité des matières grasses se retrouve dans le premier éluat et un contrôle avec des solutions étalons nous a montré que 120 ml d'hexane n'éluent aucune trace de perméthrine ni de décaméthrine (fig. 1).

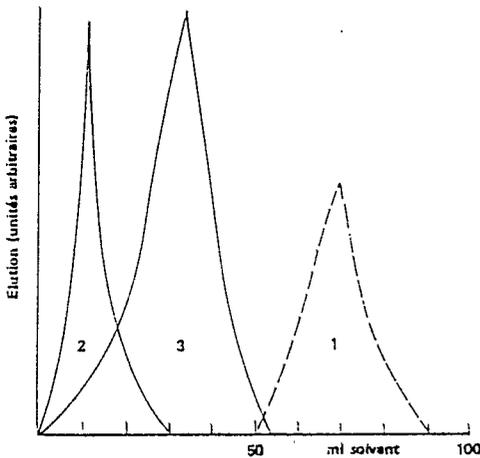


FIG. 1. — Purification sur colonnes Florisil.

- 1 - Élu-tion des corps gras par l'hexane
- 2 - Élu-tion de la perméthrine { mélange éther éthylique à
- 3 - Élu-tion de la décaméthrine { 10 % dans l'éther de pétrole.

FIG. 1. — Purification on Florisil column.

- 1 - Hexane elution of fats
- 2 - Permethrine elution { with ethyl ether 10 % in
- 3 - Decamethrine elution { petroleum ether.

2.3. Rendement des extractions-purifications. Justesse

Ils sont mesurés sur des extraits contaminés au moment du broyage par 15 µg de perméthrine et 15 µg de décaméthrine (tabl. I). Parallèlement, des essais à blanc, sur nos substrats non contaminés, n'ont permis de détecter aucune trace de pyréthri-noïdes.

3. Conditions chromatographiques

Le choix d'une bonne colonne et des conditions chromatographiques s'est avéré assez délicat pour éviter les décompositions en cours de dosage et pour l'obtention d'une reproductibilité et une sensibilité satisfaisantes.

TABLEAU I. — Rendements extractions-purifications.

TABLE I. —

| Pesticide / Substrac | Perméthrine % | Décaméthrine % |
|----------------------|---------------|----------------|
| Blé                  | 93            | 91             |
| Criquet              | 91            | 92             |

Sur un chromatographe Pye 104, nous avons utilisé deux colonnes apolaires, courtes, en pyrex de 4 mm de diamètre intérieur (tableau II). Bien que ces deux colonnes soient très peu différentes, elles donnent des résultats peu semblables en ce qui concerne le dosage de la décaméthrine (fig. 2).

TABLEAU II. — Conditions chromatographiques.

TABLE II. —

| Colonne I   | Colonne II  |
|---|---|
| 60 cm de longueur   | 80 cm de longueur   |
| Remplie de SE 30 à 5 % sur chromosorb W 100-120 Mesh                    | Remplie de SE 30 à 3 % sur chromosorb W 80-100 Mesh                     |
| Température { colonne : 215°C<br>injecteur : 250°C<br>détecteur : 300°C | Température { colonne : 215°C<br>injecteur : 300°C<br>détecteur : 300°C |
| Gaz vecteur : azote U purifié 5 ml/min                                  | Gaz vecteur : azote U purifié 85 ml/min                                 |
| Détecteur : capture d'électrons   | Détecteur : capture d'électrons   |
| alimentation pulsée : 150 µs  | alimentation pulsée : 500 µs  |
| accrémuation : 5 x 10 <sup>2</sup>                                      | accrémuation : 10 x 10 <sup>2</sup> (gamme : 50 à 150 ng/ml)            |
| Injection : 3 µl  | Injection : 3 µl (gamme : 3 x 10 <sup>2</sup> (gamme : 1 à 5 ng/ml)     |
|   | 5 µl (gamme : 1 à 5 ng/ml)  |

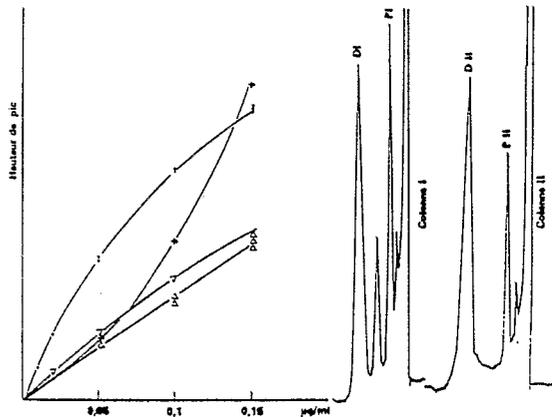


FIG. 2. — Courbes d'étalonnage et chromatogrammes.

- ∇ - Perméthrine colonne I
- Δ - Perméthrine colonne II
- + - Décaméthrine colonne I
- - Décaméthrine colonne II.

FIG. 2. — Calibration curves and chromatograms.

- ∇ - Permethrine column I
- Δ - Permethrine column II
- + - Decamethrine column I
- - Decamethrine column II.

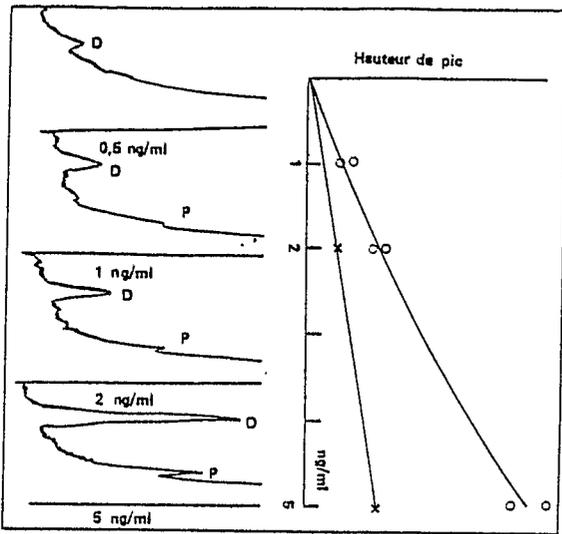


FIG. 3. — Limite de détection.  
x, P - Perméthrine o, D - Décaméthrine.

FIG. 3. — Detection limit.  
x, P - Permethrine o, D - Decamethrine.

FIG. 4. — Dégradation de pyréthrinoides sur plantules de blé.  
x - Décaméthrine o - Perméthrine.

FIG. 4. — Pyrethrinoids degradation in wheat seedlings.  
x - Decamethrine o - Permethrine.

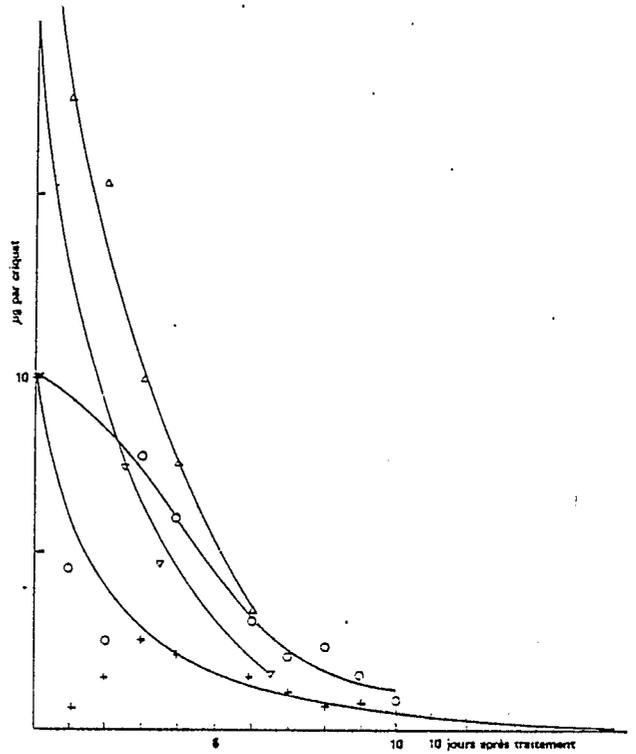
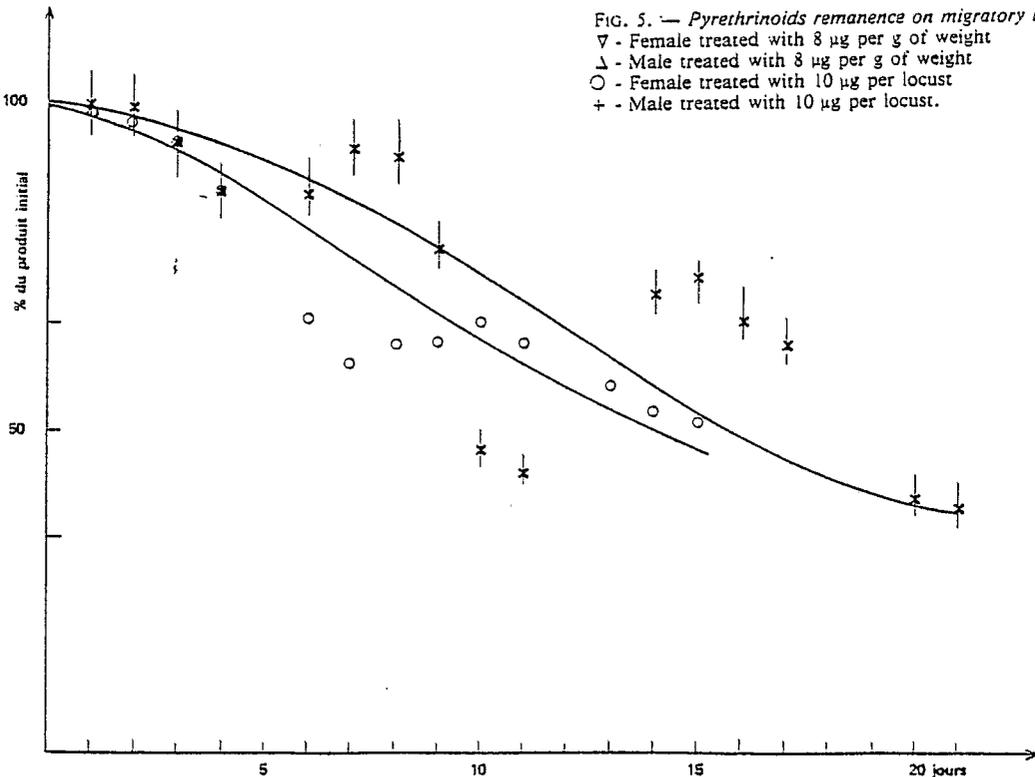


FIG. 5. — Rémanence de pyréthrinoides sur criquet pèlerin.  
▽ - Femelle traitée à 3 µg par g de poids vif  
△ - Mâle traité à 8 µg par g de poids vif  
○ - Femelle traitée à 10 µg par criquet  
+ - Mâle traité à 10 µg par criquet.

FIG. 5. — Pyrethrinoids remanence on migratory locust.  
▽ - Female treated with 8 µg per g of weight  
△ - Male treated with 8 µg per g of weight  
○ - Female treated with 10 µg per locust  
+ - Male treated with 10 µg per locust.

Pour ce composé, les chromatogrammes obtenus avec la colonne I indiquent une décomposition partielle et la courbe d'étalonnage montre une certaine absorption irréversible sur la colonne.

Le choix des colonnes, le traitement de remplissage, nécessitent donc le plus grand soin pour ce dosage.

De même, l'utilisation de colonnes courtes, de forts débits de gaz vecteur et de températures modérées, sont très souhaitables. Néanmoins, il est possible d'éviter toute décomposition comme le prouvent les chromatogrammes obtenus avec la colonne II qui ont conservé une remarquable stabilité après plus de cent analyses.

Les coefficients de variation des hauteurs de pics, pour des séries de vingt injections de trois solutions étalons, ont été déterminés sur la colonne I (tabl. III). Les valeurs indiquées sont donc des valeurs extrêmes de variation pour la plupart de nos essais.

TABLEAU III. — Coefficients de variation.

TABLE III. —

| Produit                    | Décaméthrine |     |      | Perméthrine |      |      |
|----------------------------|--------------|-----|------|-------------|------|------|
|                            | 0,05         | 0,1 | 0,15 | 0,05        | 0,1  | 0,15 |
| Concentration ug/ml        | 0,05         | 0,1 | 0,15 | 0,05        | 0,1  | 0,15 |
| Coefficient de variation % | 9,1          | 7,5 | 6,3  | 9,8         | 12,1 | 13,6 |

La limite de détection mesurée sur la colonne II, avec des injections de 5 µl, est de 0,5 ng/ml, soit  $2,5 \cdot 10^{-12}$  g pour une solution de décacméthrine et 2 ng/ml, soit  $10^{-11}$  g pour une solution de perméthrine (fig. 3).

Cette méthode a été appliquée, avec succès, à des études de la dégradation de ces pesticides sur plantules de blé, de leur persistance dans les criquets et de leur transmission à la descendance de ces insectes (fig. 4 et 5 - tabl. IV).

TABLEAU IV. — Dégradation de la décacméthrine sur criquets mâles et femelles et passage dans l'ovaire (en % de la contamination initiale).

TABLE IV. —

| Jours après traitement | 1  | 2   | 3  | 4  | 5  | 7  | 8   | 9   | 10 | 11 | 13 | 16 |
|------------------------|----|-----|----|----|----|----|-----|-----|----|----|----|----|
| Femelles               | 45 | 25  | 76 | 59 | 30 | 20 | 21  | 15  | 9  | -  | -  | -  |
| Mâles                  | 6  | 15  | 25 | 21 | 15 | 11 | 7   | 7   | 5  | 4  | 3  | 1  |
| Ovaires                | 1  | 0,9 | N  | N  | N  | N  | 2,9 | 2,8 | -  | -  | -  | -  |

N = néant.

### CONCLUSIONS

Le présent travail est une contribution à la mise au point de méthodes de dosage chromatographique des pyréthri-noïdes, décacméthrine et bioperméthrine.

Notre méthode apporte quelques améliorations par rapport à celle mise au point par André et Hascoett, par ailleurs satisfaisante.

La purification des substrats contenant des lipides est simplifiée et le rendement d'extraction-purification est supérieur à 90 % dans tous nos échantillons.

Le temps d'analyse se trouve réduit pour les substrats lipidiques et égal à celui des substrats non gras.

Notre méthode a permis de traiter des échantillons gras très petits (ovaires, œufs de criquets, etc.), avec les rendements signalés plus haut.

Les décompositions intervenant fréquemment lors du dosage direct par chromatographie en phase gazeuse ont pu être évitées. Le temps d'analyse se trouve ainsi réduit et la reproductibilité et la limite de détection égales et même sensiblement améliorées par rapport à la méthode par transestérification.

L'application à une étude de rémanence sur criquet pèlerin et sur plantules de blé qui comportait une centaine d'analyses, s'est révélée satisfaisante, tant en ce qui concerne l'absence de décomposition que la reproductibilité et la sensibilité.

### BIBLIOGRAPHIE

BARLOW (F.), HADAWAY (A. B.). — The insecticidal activity of some synthetic pyrethroids against mosquitoes and flies. *Pans*, 1975, 21, 233-238.

DHOUBI (M. H.). — Étude de la toxicité et de la dégradation de quelques pyréthri-noïdes ainsi que de leur effet sur la reproduction de *Schistocerca Gregaria* Forskal. *Mémoire du diplôme d'études approfondies*, 1979, Paris, VI.

FORD (M. G.), REAY (R. C.). — Toxicity of some pyrethroids to the adult desert locust. *Schistocerca Gregaria* Forskal. *Pest. Sci.*, 1972, 3, 262.

HASCOET (M.), ANDRÉ (L.). — Détermination des résidus de décacméthrine présents dans les végétaux et les sols traités. *Phytiatrie-Phytopharmacie*, 1978, 27, 85-98.

HASCOET (M.), CAVELIER (M.). — Les pyréthri-noïdes de synthèse. *Acad. Agric. Gr.*, 1978, 1371-1387.

LHOSTE (J.). — Pyréthri-nes naturelles et pyréthri-nes de synthèse. *Phytoma-Défense des cultures*, 1978, 9-13.

MARTEL (J.). — Définitions chimiques des pyréthri-noïdes photostables. *Phytiatrie-Phytopharmacie*, 1978, 27, 5-14.

MESTRES (R.). — Les résidus de décacméthrine dans les végétaux consommables. *Phytiatrie-Phytopharmacie*, 1978, 27, 81-84.

PIART (J.). — Étude expérimentale des phénomènes de dégradation de certains insecticides organiques de synthèse. *Cah. ORSTOM*, sér. Biol., 1978, XIII, 101-109.

RAYMOND (A.). — Étude de quelques pyréthri-noïdes par des tests de laboratoire. DAA-INA, Paris-Grignon, 1975.