

CHROM. 17 605

APPLICATION DE LA DÉTECTION ÉLECTROCHIMIQUE AU DOSAGE DES RÉSIDUS DE QUELQUES INSECTICIDES CARBAMATES PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE

M. OLEK*, F. BLANCHARD et G. SUDRAUD

Laboratoire Central de Recherches et d'Analyses, 25 Avenue de la République, 91305-Massy (France)

(Reçu le 10 septembre 1984; manuscrit modifié reçu le 31 janvier 1985)

SUMMARY

Application of electrochemical detection to the determination of residues of some carbamate insecticides by high-performance liquid chromatography

A new high-performance liquid chromatographic determination of residues of some carbamate insecticides with electrochemical detection after degradation of molecules as the phenols is described. Residues of carbamate insecticides in vegetables can be quantified with high sensitivity.

INTRODUCTION

Les N-méthyl carbamates constituent une famille importante d'insecticides, représentant une quinzaine de matières actives, couvrant un large domaine d'utilisation: traitement des semences (mercaptodiméthur), traitement des sols (carbofuran), traitement des cultures (carbaryl, éthiophencarbe, méthomyl, promécarbe, etc.).

La recherche des résidus d'insecticides carbamates est un problème souvent délicat. Les méthodes classiques de détermination par chromatographie en phase gazeuse ne sont en général pas satisfaisantes en raison de l'instabilité thermique des molécules¹. Les méthodes décrites jusqu'ici par chromatographie en phase gazeuse font appel soit à des dérivations avec des réactifs divers tels que: triméthylanilinium hydroxide², chlorure de méthane-sulfonyl^{3,4}, bromure de pentafluorobenzyl⁵, soit à des déterminations directes sur des colonnes courtes^{6,7}, ou spécialement traitées⁸. Plus récemment, l'utilisation de colonnes capillaires courtes⁹ a permis de séparer et de doser à de très faibles concentrations dix carbamates. Toutes ces méthodes sont cependant délicates à mettre en oeuvre et de ce fait de nombreux auteurs ont préféré faire appel à la chromatographie liquide haute performance (CLHP). Les séparations sont effectuées le plus souvent sur des colonnes à polarité de phase inversée, avec détection par absorption UV¹⁰⁻¹³, fluorescence^{14,15}, ou électrochimique^{16,17}.

Les méthodes par absorption UV ont des sensibilités parfois trop faibles pour la recherche de résidus, et manquent de sélectivité. Les méthodes de détection par fluorescence ont des sensibilités et des sélectivités plus intéressantes, mais nécessitent

dans la plupart des cas une hydrolyse alcaline puis une dérivation en sortie de colonne, ce qui n'est pas très aisé à mettre en oeuvre¹⁴. Les méthodes par détection électrochimique décrites jusqu'à présent mettent en oeuvre l'oxydation directe des carbamates. Cela entraîne souvent la nécessité d'appliquer des potentiels très élevés (aux environs de +1,3 V), ce qui ne permet pas d'opérer dans des conditions satisfaisantes en raison de l'important bruit de fond observé à de tels potentiels.

La méthode décrite ci-après met en oeuvre la détection électrochimique après hydrolyse des carbamates sous forme phénolique. Les phénols sont en effet des molécules facilement oxydables, et la dégradation des carbamates aromatiques en phénols est très facile. Ainsi il a été démontré¹⁸ que l'hydrolyse du carbaryl était quasi-instantanée dans un mélange NaOH éthanolique-eau (10:90). Cette voie n'a guère été explorée jusqu'à présent. Seuls Kissinger *et al.*^{19,20} l'ont suggérée sans toutefois l'approfondir. Nous avons donc étudié la possibilité de dosage des carbamates suivants, par détection électrochimique, après dégradation en phénols: carbaryl, carbofuran, propoxur, éthiophencarbe, méthiocarbe (mercaptodiméthur), promécarbe.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Appareillage

Pompe Gynkotec modèle 600. Colonne: Nucleosil C₁₈ 5 μm , 15 cm \times 4,6 mm. Détecteur électrochimique Chromatofield Eldec 102., électrode de travail en carbone vitreux, électrode de référence Ag/AgCl/NaCl 3 M, contre électrode en acier inox. Phase mobile: méthanol-acide acétique-eau (49,5:0,5:50) contenant 1 g/l de LiClO₄; débit 1,3 ml/min. La phase mobile est filtrée sur membrane Millipore de 0,5 μm en PTFE et dégazée par barbotage permanent d'hélium.

Hydrolyse des carbamates

Mode opératoire: 100 μg de matière active sont dilués dans 20 ml de méthanol. On ajoute 2 ml de potasse méthanolique 0,25 N et on porte le mélange pendant 10 min au bain-marie à 90°C. Après refroidissement, la solution est neutralisée par 10 ml de HCl 0,1 M, puis introduite dans une ampoule à décanter. Les phénols sont alors extraits par 2 \times 50 ml de dichlorométhane. Les phases organiques sont filtrées sur Na₂SO₄ anhydre, évaporées juste à sec l'évaporateur rotatif puis reprises par 10 ml de méthanol (ce qui correspond à 10 μg de matière active par ml).

La solution précédente est alors diluée dix fois dans le méthanol pour l'étude par CLHP.

Étude par CLHP

Chacune des solutions précédentes (à 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) est injectée dans l'appareil à divers potentiels afin d'étudier la réponse électrochimique (hauteur en nA du pic obtenu).

Les temps de rétention des dérivés phénoliques des carbamates sont les suivants: carbofuran 6,52 min, propoxur 7,27 min, éthiophencarbe 10,38 min, carbaryl 10,52 min, méthiocarbe 18,32 min, promécarbe 19,82 min.

Les courbes intensité-potential obtenues pour ces dérivés phénoliques sont indiquées à la Fig. 1.

L'examen de ces courbes intensité-potential montre que les courants limite de

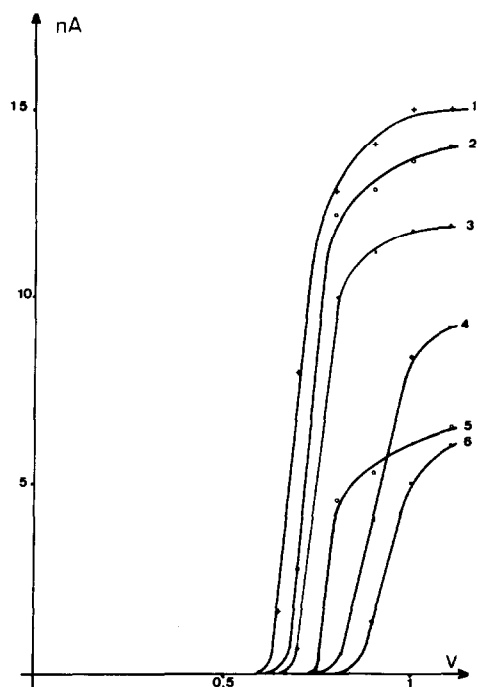


Fig. 1. Courbes intensité-potential des dérivés phénoliques des carbamates. 1 = Carbaryl; 2 = carbofuran; 3-propoxur; 4 = éthiophencarbe; 5 = méthiocarbe; 6 = promécarbe.

diffusion sont atteints à +0,9 V pour toutes les molécules à l'exception de l'éthiophencarbe et du promécarbe pour lesquels il faut monter à +1,0 V.

Rendement de l'hydrolyse

Afin de vérifier la validité du mode opératoire utilisé, nous avons contrôlé le rendement de l'hydrolyse du carbaryl. Le produit d'hydrolyse du carbaryl est en effet le 1-naphtol, facilement disponible, ce qui n'est pas le cas pour les autres matières actives. Lors de l'hydrolyse 100 μg de carbaryl donnent en théorie 71,6 μg de 1-naphtol. Nous avons donc hydrolysé suivant les conditions précédentes 100 μg de carbaryl.

La comparaison du pic obtenu lors de l'injection de la solution de carbaryl hydrolysé avec celui obtenu pour une injection de 1-naphtol à 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ donne un rapport des hauteurs de pic de 0,73 contre 0,716 théoriquement. Le rendement de l'hydrolyse est donc de 101,9% ce qui montre que l'hydrolyse du carbaryl est totale dans les conditions opératoires utilisées.

Nous supposons qu'il en est de même pour les autres matières actives, ce que confirment de nombreux auteurs^{5,14}.

Problème de la séparation du carbaryl et de l'éthiophencarbe

L'examen des temps de rétention montre que le carbaryl et l'éthiophencarbe ont des temps de rétention très voisins (respectivement 10,52 et 10,38 min). Il ne sera donc pas aisé de les distinguer, même si l'on dispose d'un intégrateur précis. Cepen-

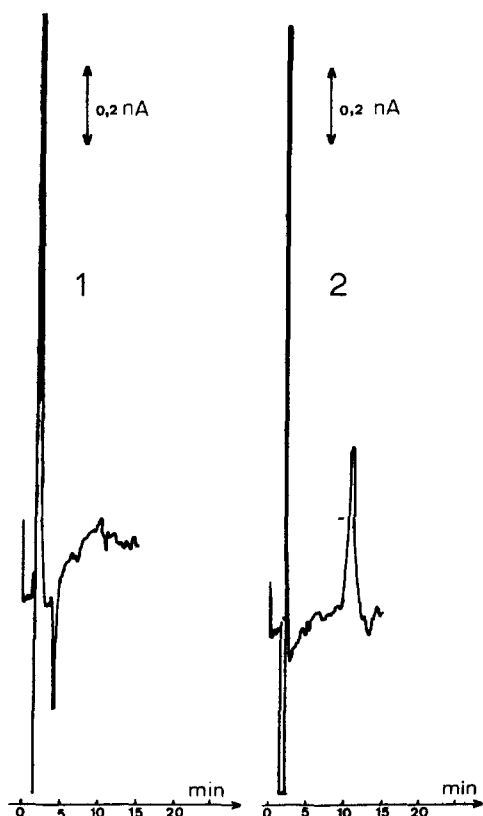


Fig. 2. Séparation de l'éthiophencarbe et du carbaryl par le potentiel. 1 = Éthiophencarbe 200 ng; 2 = carbaryl 2 ng. Potentiel appliqué: $+0,75 \text{ V}/E_{\text{ref}}$.

lant l'examen de la Fig. 1 montre qu'en jouant sur le potentiel, il est très facile de distinguer ces deux composés. En effet le carbaryl (1-naphtol) s'oxyde à des potentiels beaucoup plus bas que l'éthiophencarbe. Ainsi à $+0,75 \text{ V}$ le carbaryl donnera une réponse notable alors que l'éthiophencarbe ne sera plus détectable.

Nous avons ainsi injecté à $+0,75 \text{ V}$ une solution de 1-naphtol à $0,1 \mu\text{g/ml}$ et une solution d'éthiophencarbe hydrolysé à $10 \mu\text{g/ml}$. Le 1-naphtol donne un pic parfaitement visible alors que l'éthiophencarbe, bien que 100 fois plus concentré, ne donne aucun signal détectable (voir Fig. 2).

Étude du comportement des carbamates sur colonne de Florisil

Afin de pouvoir appliquer la détection électrochimique couplée à la CLHP à la détermination des résidus d'insecticides carbamates dans les fruits et légumes, nous avons été amenés à nous intéresser aux différentes méthodes possibles de purification des extraits végétaux. Diverses techniques de purification ont été proposées pour la recherche des carbamates: colonnes de silica-gel^{5,6}, cartouches Sep-Pak¹³, Célite¹⁴, Bio-Beads SX-3²¹ et Florisil^{11,22}. Nous avons retenu cette dernière technique, car elle est utilisée couramment au laboratoire pour la détermination des résidus de pesticides organo-chlorés.

Mode opératoire. Un ml de solution de matière active à 1 mg/ml dans le méthanol est évaporé et repris par 10 ml de mélange hexane–dichlorométhane (50:50). Dans une colonne en verre de 30 cm × 10 mm, munie d'une embase en verre fritté et d'un robinet, on introduit 5 g de Florisil désactivé à 2% d'eau en suspension dans l'hexane puis 1 g de Na₂SO₄ anhydre. La colonne est rincée avec 50 ml d'hexane. On dépose alors 1 ml de la solution à étudier (soit 100 µg de matière active) et on élué successivement par les deux mélanges suivants:

Première élution: acétonitrile–dichlorométhane–hexane (1,5:48,5:50) 100 ml.

Deuxième élution: acétone–hexane (15:85) 100 ml.

Les deux éluats sont évaporés, repris par 10 ml de méthanol puis soumis à l'hydrolyse suivant la méthode décrite.

Ils sont ensuite injectés en chromatographe liquide. Le calcul du rendement se fait par comparaison de la hauteur du pic observé avec celle obtenue pour une solution standard à 10 µg/ml de matière active hydrolysée. Les résultats suivants ont été obtenus:

	<i>Première élution</i>	<i>Deuxième élution</i>
Carbofuran	101%	0
Propoxur	106%	0
Carbaryl	95,7%	0
Éthiophencarbe	94,4%	0
Méthiocarbe	95,9%	0
Promécarbe	95,2%	0

Les chiffres obtenus montrent que la purification sur Florisil donne des résultats tout à fait satisfaisants pour toutes les molécules étudiées qui sont toutes éluées par le premier mélange.

Pour les essais sur échantillons supplémentés nous avons donc adopté le mode opératoire suivant:

Cinquante grammes d'échantillon sont broyés avec 100 ml d'acétone, puis mis à agiter pendant 1 h. Après filtration l'extrait est introduit dans une ampoule à décanter. On ajoute 300 ml d'eau distillée et 30 ml de solution saturée de chlorure de sodium. Les carbamates sont alors extraits par 2 × 50 ml de dichlorométhane. Les phases organiques sont réunies, filtrées sur sulfate de sodium anhydre, évaporées juste à sec puis reprises par 10 ml de mélange hexane–dichlorométhane (50:50). Deux ml de cet extrait sont alors purifiés sur colonne de Florisil puis hydrolysés suivant les méthodes décrites précédemment, et enfin étudiées par CLHP (voir Fig. 3).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Étude de la linéarité et de la reproductibilité

Afin d'étudier la linéarité et la reproductibilité de la réponse du détecteur électrochimique, nous avons injecté 10 fois 50 µl des solutions standard à 0,1, 1 et 10 µg/ml de chacune des matières actives hydrolysées étudiées. Les résultats obtenus sont indiqués au Tableau I.

L'examen des résultats montre que la linéarité de réponse est très bonne pour toutes les matières actives, dans le domaine étudié (5–500 ng injectés). En ce qui



Fig. 3. Dosage de résidus de méthiocarbe sur un échantillon de salade supplémenté à 0,5 mg/kg (injection de 50 μ l). Potentiel appliqué: +1,00 V/ E_{ref} .

concerne la reproductibilité, celle ci est tout à fait satisfaisante aux concentrations élevées (50 et 500 ng), et un peu moins bonne aux faibles concentrations (5 ng).

Recherche des limites de détection

Nous avons déterminé les limites de détection des différents composés étudiés en injectant des quantités de plus en plus diluées de matière active hydrolysée. Les résultats obtenus ont été les suivants: carbofuran 0,5 ng; propoxur 1 ng; carbaryl 0,5 ng; éthiophencarbe 2 ng; méthiocarbe 0,5 ng; promécarbe 2 ng.

À titre de comparaison, les limites de détection par absorption UV indiquées dans la littérature¹⁰ sont les suivantes: carbofuran 1,1 ng; propoxur 13,6 ng; carbaryl 3,6 ng; méthiocarbe 1,2 ng.

Nous voyons donc que les limites de détection obtenues par voie électrochimique sont toujours inférieures, et parfois notablement, à celles obtenues par absorption UV

Essais sur échantillons supplémentés

La méthode décrite ci-dessus a été mise en oeuvre sur deux échantillons de pommes et deux échantillons de salades supplémentés respectivement avec 0,5 et 1 mg/kg de carbaryl (pour les pommes) et 0,5 et 1 mg/kg de méthiocarbe (pour les salades).

TABLEAU I
ÉTUDE DE LA LINÉARITÉ ET DE LA REPRODUCTIBILITÉ

<i>Composé</i>	<i>Quantité injectée (ng)</i>	<i>Hauteur moyenne du pic (nA)</i>	<i>Écart-type relatif (%)</i>
Carbofuran	5	3,35	8,9
	50	31	6,7
	500	270	3,4
Propoxur	5	2,4	7,4
	50	25,6	1,5
	500	198	2,3
Carbaryl	5	2,5	4,4
	50	22,3	2,4
	500	170	1,5
Éthiophencarbe	5	0,88	5,7
	50	11,5	1,5
	500	100	6,0
Méthiocarbe	5	2,2	10,0
	50	19,5	1,2
	500	187	2,8
Promécarbe	5	0,45	7,4
	50	8,75	4,4
	500	84	2,5

Les rendements obtenus ont été les suivants: carbaryl sur pommes: 0,5 mg/kg, 75%; 1 mg/kg, 95%; méthiocarbe sur salades: 0,5 mg/kg; 80%; 1 mg/kg, 88%.

Etude de la contamination de l'électrode de travail

Il arrive parfois que les dosages réalisés par détection électrochimiques manquent de reproductibilité en raison de la contamination progressive de l'électrode de travail.

Afin de vérifier si la méthode que nous avons mise au point donne une bonne reproductibilité sur les échantillons réels, les échantillons supplémentés à 1 mg/kg ont été injectés chacun 30 fois de suite sans nettoyer l'électrode de travail.

Nous avons obtenu les résultats suivants:

Carbaryl sur pommes: potentiel appliqué: $+0,75 \text{ V}/E_{\text{réf}}$; hauteur moyenne du pic: 8,15 nA (pour 20 μl injectés); écart type relatif: 2,7%.

Méthiocarbe sur salades: potentiel appliqué: $+1,00 \text{ V}/E_{\text{réf}}$; hauteur moyenne du pic observé: 10,2 nA (pour 20 μl injectés); écart type relatif: 2,3%.

Les chiffres obtenus montrent qu'aucune contamination de l'électrode de travail n'a pu être décelée et donc que la purification sur Florisil est tout à fait convenable pour le dosage des résidus de carbamates dans les végétaux.

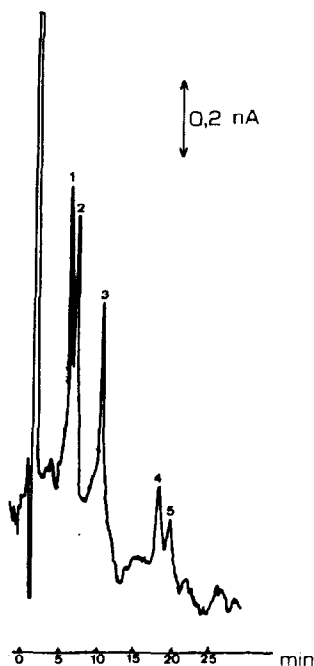


Fig. 4. Dosage d'un mélange de dérivés phénoliques de cinq carbamates. 1 = Carbofuran; 2 = propoxur; 3 = carbaryl; 4 = méthiocarbe; 5 = promécarbe. Concentration: 0,1 $\mu\text{g/ml}$. Volume injecté: 20 μl . Potentiel appliqué: +1,00 V/ E_{ref} .

CONCLUSION

La chromatographie liquide haute performances couplée à la détection électrochimique constitue une voie tout à fait intéressante pour la recherche et le dosage des résidus d'insecticides carbamates. Elle présente, par rapport aux méthodes classiques de détection en CLHP (absorption UV, fluorescence), un certain nombre d'avantages:

Très grande sensibilité: on détecte aisément jusqu'à 0,1 $\mu\text{g/ml}$ de matière active (voir Fig. 4).

Bonne sélectivité et bonne linéarité de réponse du détecteur électrochimique.

Grande simplicité: une simple hydrolyse alcaline suffit pour réaliser le dosage. Aucune dérivation post-colonne n'est nécessaire.

Son principal inconvénient tient au fait qu'elle n'est pas applicable aux carbamates aliphatiques (aldicarbe, méthomyl, oxamyl, etc.).

RÉSUMÉ

Une nouvelle méthode a été étudiée pour le dosage des résidus d'insecticides carbamates par chromatographie liquide haute performance. Elle met en oeuvre la détection électrochimique après dégradation des molécules sous forme phénolique. Il est ainsi possible de quantifier les résidus d'insecticides carbamates avec une très bonne sensibilité.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 E. D. Magallona, *Res. Rev.*, 56 (1975) 1-67.
- 2 L. Ogierman, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, 65 (1982) 1152-1156.
- 3 J. C. Maitlen et L. M. McDonough, *J. Agr. Food Chem.*, 28 (1980) 78-82.
- 4 J. C. Maitlen, *J. Agr. Food Chem.*, 29 (1981) 260-264.
- 5 J. A. Coburn, B. D. Ripley et A. Sy. Chau, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, 59 (1976) 188-196.
- 6 Y. W. Lee et N. D. Wescott, *J. Agr. Food Chem.*, 31 (1983) 92-96.
- 7 S. Y. Szeto et K. S. Sundaran, *J. Chromatogr.*, 200 (1980) 179-184.
- 8 R. C. Randall et D. E. Harris, *J. Chromatogr.*, 169 (1979) 245-259.
- 9 O. Wüest et W. Meier, *Z. Lebensm.-Unters.-Forsch.*, 177 (1983) 25-29.
- 10 C. M. Sparacino et S. W. Hines, *J. Chromatogr. Sci.*, 14 (1976) 549-556.
- 11 J. F. Lawrence, *J. Agr. Food Chem.*, 25 (1977) 211-212.
- 12 J. F. Lawrence, L. G. Panopio, D. A. Lewis et H. A. McLeod, *J. Agr. Food Chem.*, 29 (1981) 722-724.
- 13 W. P. Cochrane, M. Lanouette et S. Trudeau, *J. Chromatogr.*, 243 (1982) 307-314.
- 14 R. T. Krause, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, 63 (1980) 1114-1124.
- 15 M. De Berardinis, Jr. et W. A. Wargin, *J. Chromatogr.*, 246 (1982) 89-94.
- 16 W. J. Mayer et M. K. Greenberg, *J. Chromatogr.*, 208 (1981) 295-304.
- 17 J. L. Anderson et D. J. Chesney, *Anal. Chem.*, 52 (1980) 2156-2161.
- 18 J. J. Aaron et N. Some, *Analisis*, 10 (1982) 481-485.
- 19 P. T. Kissinger, K. Bratin, W. P. King et J. R. Rice, *ACS Symp. Series*, 136 (1980) 57-88.
- 20 P. T. Kissinger, K. Bratin, W. P. King et J. R. Rice, *Swiss Chem.*, 3 (1981) 77-88.
- 21 G. Fuchsichler, *Landwirtsch. Forsch.*, 35 (1982) 90-95.
- 22 J. F. Lawrence, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, 59 (1976) 1066-1070.