

## Protocole d'extraction de phytosanitaires dans les plantes

Mots-clés : QuEChERS, pesticides, partie aérienne, partie souterraine

<b>Type d'outil</b> Méthode d'extraction de pesticides	<b>Milieus étudiés</b> plante : racine, rhizome, tige, feuille	<b>Disciplines mobilisées</b> Chimie, biochimie végétale	<b>Destinataires</b> Bureaux d'études, laboratoires
---	---	---	--

### OBJECTIFS

Optimiser le protocole d'extraction de phytosanitaires potentiellement présents au sein d'une matrice végétale, dans sa partie aérienne (feuille, tige) et sa partie souterraine (rhizome, racine), avant leur quantification par analyse chimique.

Préciser le rôle joué par les plantes en tant qu'accumulateur ou non de pesticides, et comme vecteur de transfert en direction de l'atmosphère par évapotranspiration.

### L'ESSENTIEL

La détermination des teneurs en pesticides dans le compartiment végétal demeure un défi analytique d'importance dans l'objectif de caractériser une contamination des milieux et de mettre en évidence l'existence de processus de transfert sol-eau-plante-atmosphère. La technique d'extraction des pesticides retenue est la méthode QuEChERS qui est reproductible, sensible et économe en temps et énergie.

### CONTENU DE L'OUTIL

La mise en œuvre opératoire de l'extraction des phytosanitaires des plantes est présentée. Des exemples de familles de composés chimiques extraits par cette méthode sont listés et le coût hors analyse est précisé.

AVANTAGES	INCONVENIENTS
<ul style="list-style-type: none"> <li>+ Déployable pour l'extraction de pesticides des parties souterraine (rhizome, racine) et aérienne (feuille, tige)</li> <li>+ Mise en place rapide</li> <li>+ Robustesse d'une technique largement utilisée dans la littérature et permettant des inter-comparaisons</li> <li>+ Temps d'extraction court (10 min./échantillon) contre 45 min./échantillon en extraction liquide-solide en utilisant des solvants organiques et des systèmes énergétiques (chauffage, ultrasons)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Travail en Laboratoire de chimie obligatoire</li> <li>- Coût des kits commerciaux QuEChERS, amorti par l'usage limité de solvants</li> </ul>

### MISE EN ŒUVRE

Temps	Moyens humains	Compétences	Matériel	Coûts
10 min. / échantillon	1 personne	Technicien chimiste	- centrifugeuse 10G - solvant (acétonitrile), filtres PTFE	15 € HT/ échantillon (coût hors analyse)

## CONTEXTE

---

Dans le cadre du projet [DynaMOT](#) (Chiapusio et al. 2022), une étude a été menée sur l'évaluation du devenir des pesticides dans les différents compartiments d'une ancienne parcelle agricole : sol, plantes, eau, air. La connaissance des processus de transferts de ces substances permet de proposer des actions de remédiation du milieu.

L'un des défis du projet consistait à identifier et quantifier les pesticides dans les parties souterraines et aériennes des plantes, et ce pour de nombreux échantillons (> 200). Pour cela le choix de la technique d'extraction s'est avéré être capital notamment pour de faibles concentrations en phytosanitaires dans les matrices végétales. La méthodologie proposée dans cette fiche technique est le résultat d'une optimisation méthodologique qui a été basée sur une comparaison entre l'ASE (Accelerated Solvent extractor) et la méthode QuEChERS. Pour l'ASE, différentes extractions ont été comparées : 1 extraction ACN (Acétonitrile), 2 extractions DCM (Dichlorométhane) et ACN, ou 4 extractions successives DCM/Acétone, 50/50, DCM, acétate d'éthyle, ACN. La masse des échantillons à extraire pour chaque organe de la plante a également été testée (racines 100 mg, 200 mg, 300 mg, rhizomes 100 mg, 200 mg, 500 mg, tiges 200 mg, 500 mg, feuilles 150 mg, 200 mg). Une attaque acide ( $H_2SO_4$  à 10%, 90°C, 1h30 puis extraction liquide) a été réalisée pour quantifier les résidus liés aux parois végétales. Les résultats du programme DynaMOT ont montré qu'il n'y avait pas de résidus liés aux parois végétales mises en évidence dans d'autres études (Chiapusio et al., 2011).

Les techniques d'extraction solide - liquide classiques (soxhlet, ultrasons et ASE) se sont avérées moins efficaces et plus chronophages que la technique QuEChERS utilisable pour différents types de matrice, plantes, fruits, eau, sol, sédiments (Concetta Bruzzoniti et al. 2014). C'est donc la technique QuEChERS qui a été retenue et qui est présentée.

## PRINCIPES

---

La méthode QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe) lancée depuis 2003 a été validée par de nombreux papiers de la littérature scientifique. Elle consiste en deux étapes, une étape d'extraction solide - liquide (matrice végétal, desséchant minéral  $MgSO_4$  et sels de citrate de sodium - acétonitrile) suivie d'une étape de purification ( $MgSO_4$  et amine secondaire) permettant de supprimer les sucres, les acides gras, les acides organiques et les pigments (anthocyanosides).

Cette technique permet d'extraire différentes familles de composés dont entre autres les pesticides, les chloroalcanes, les phénols et les perfluoroalkylés.

Les différentes étapes du processus d'extraction précédant l'analyse chimique proposées dans cette fiche technique sont synthétisées dans la Figure 1.

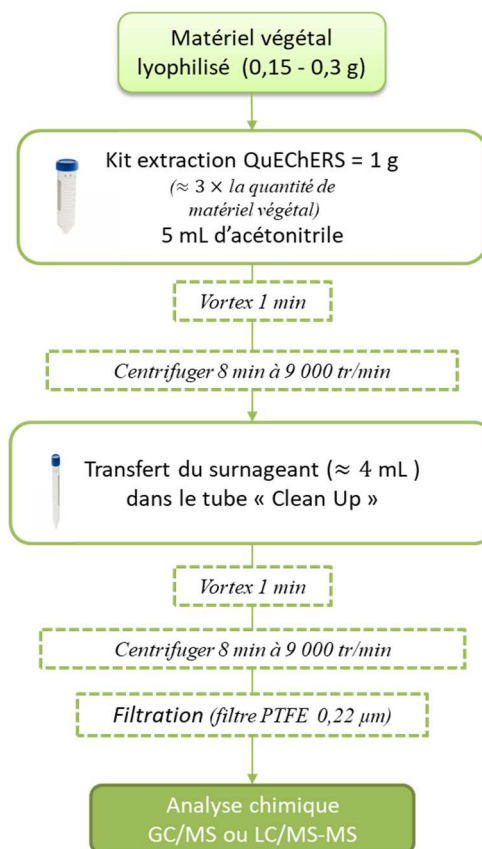


Figure 1 - Synoptique de l'extraction de matrice végétale par la méthode QuEChERS. La masse du matériel végétal exprimé en g de masse sèche varie suivant l'organe de la plante (cf. point de vigilance)

**Point de vigilance** : la masse sèche préconisée des différentes matrices extraites correspond au rendement d'extraction optimum des pesticides. Cette masse est obtenue après broyage et lyophilisation (cf. Fiche technique « Méthodologie de préparation de plantes et de leurs sols rhizosphériques pour des analyses biologiques et de pesticides intégrées »).

Matrice	Masse extraite (g masse sèche)
Racine	0,3
Rhizome	0,3
Tige	0,15
Feuille	0,15

**Point de vigilance** : pour une masse extraite de feuille plus élevée que 150 mg masse sèche, une purification préalable sera alors nécessaire pour éliminer l'excès de chlorophylle.

**Point de vigilance** : la présence de résidus liés dans les parois végétales est à vérifier systématiquement.

## PERSPECTIVES ET PRECONISATIONS

L'extraction des pesticides par la méthode QuEChERS nécessite un travail en laboratoire de chimie respectant les consignes de sécurité pour la manipulation de solvant organique dangereux et possédant un matériel adapté (centrifugeuse 10G). La prise en main de la méthode est rapide et simple. Le gain en temps est considérable par rapport aux autres techniques d'extraction.

L'étape suivant l'extraction est l'analyse des phytosanitaires à l'aide de moyens spécifiques disponibles en laboratoire, tels que GC/MS ou LC/MS-MS. A titre d'exemple sur le projet DynaMOT, les pesticides issus de la culture du maïs ont été extraits de la partie racinaire des plantes par la méthode QuEChERS et quantifiés par LC/MS-MS (atrazine, (S)-métolachlore et sous-produits de dégradation respectifs). Ces composés ont

été principalement absorbés et stockés au niveau des racines et rhizomes. Il n'y avait pas de phénomène de transfert des parties souterraines vers les feuilles. L'absence de translocation des pesticides dans les plantes étudiées a permis de conclure que le phénomène d'évapotranspiration se limitait à de l'évaporation des pesticides du sol vers l'atmosphère, que les racines étaient les organes puits des phytosanitaires et que la rhizosphère était un compartiment clé.

## PERSONNES RESSOURCES

### Bernard DAVID

Laboratoire EDYTEM (UMR CNRS-USMB)  
[bernard.david@univ-smb.fr](mailto:bernard.david@univ-smb.fr)  
04 79 75 88 03

### Geneviève CHIAPUSIO

Laboratoire CARRTEL (UMR USMB- INRAE)  
[genevieve.chiapusio@univ-smb.fr](mailto:genevieve.chiapusio@univ-smb.fr)  
04 79 75 81 07

## DOCUMENT(S) SOURCE

G.Chiapusio, S.Puijalon, P.Binet, S.Criquet et B.David (2022). *Dynamique des transferts et effets des Micropolluants Organiques persistants dans le fonctionnement d'une Tourbière alcaline en restauration*, Projet DynaMOT, Action n° 58 du Programme 2018 au titre de l'accord - cadre Agence de l'Eau ZABR.

## AUTEUR(S)

Bernard David (Laboratoire EDYTEM), Geneviève Chiapusio (Laboratoire CARRTEL)

## STRUCTURE(S) PORTEUSE(S) DU PROJET

Université Savoie Mont Blanc  
CNRS  
INRAE  
Agence de l'eau RMC

## SITES ET OBSERVATOIRES DE LA ZABR MOBILISES

Zone Humide sur le site en Chautagne-Savoie (commune de Chindrieux, gestion par le CEN Savoie depuis 2016).

## THEMATIQUES ZABR ABORDEES

Flux Polluants, Ecotoxicologie, Ecosystèmes (FPEE)

## PROJET

L'élaboration de ce protocole s'inscrit dans le cadre du projet [DynaMOT](#) « Dynamique des transferts et effets des Micropolluants Organiques persistants dans le fonctionnement d'une Tourbière alcaline en restauration » (2018-2020), projet financé par l'Agence de l'eau RMC.

## BIBLIOGRAPHIE

- Chiapusio G, Desalme D, Pujol S, Q Trang Bui, Bernard N, Toussaint ML, Binet P (2011). *Two biochemical forms of phenanthrene recovered in grassland plants (Lolium perenne L, and Trifolium pratense L) grown in 3 spiked soils*. Plant Soil 344 : 295-303
- Bruzzoniti MC, Checchini L, DeCarlo RM, Orlandini S, Rivoira L, Del Bubba M (2014). *QuEChERS sample preparation for the determination of pesticides and other organic residues in environmental matrices: a critical review*. Abbal.Bioanal.Chem. 406 (17) 4089-4116