JANVIER 2022 | AUTEURS : **DENIS BELLENOT & SARA NEUVILLE, ITEIPMAI**

RÉSIDUS DE PESTICIDES ET FAUX-POSITIFS :
LE CAS DES DITHIOCARBAMATES



Câprier

AU SOMMAIRE

Dithiocarbamates et résidus de pesticides
Méthode de dosage des dithiocarbamates
Les faux-positifs
Conclusion
Bibliographie

Les résultats obtenus dans le cadre d'une analyse de résidus de pesticides dans une denrée alimentaire végétale peuvent parfois paraitre aberrants. Ces faux positifs peuvent quelques fois être expliqués. Cet article bibliographique présente un cas d'école : la surestimation des teneurs en dithiocarbamates.



Capucine



Colza

3 Belle Tête
Melay
49120 Chemillé-en-Anjou

iteipmai

02.41.30.30.79
iteipmai@iteipmai.fr
www.iteipmai.fr

Des résultats aberrants d'analyse de pesticides amènent régulièrement nos adhérents à nous questionner sur les causes possibles, notamment lors de dépassement de LMR.

> *Des résidus d'un pesticide, résidus dépassant les normes européennes, ont été détectés sur nos cultures… Nous n'avons pourtant pas appliqué ce produit phytosanitaire sur notre parcelle ni cette année, ni les années précédentes. Les parcelles environnantes n'ont pas non plus été traitées. Quelle peut-être l'explication ?*

Bien que ne pouvant pas toujours répondre à cette épineuse question, certains cas de faux-positifs (analyse «erronée») sont liés à la méthode d'analyse utilisée.

Cet article bibliographique présente un cas d'école : la surestimation de teneurs en dithiocarbamates.

DITHIOCARBAMATES ET RÉSIDUS DE PESTICIDES EN PROTECTION DES CULTURES

Définition européenne

Tous les aliments (denrées animales ou végétales) destinés à la consommation humaine ou animale dans l'Union Européenne sont soumis à une Limite Maximale de Résidus de pesticides (LMR), qui est la concentration en résidus de pesticides à ne pas dépasser dans un aliment. Ces LMR sont rassemblées et harmonisées dans le règlement européen (CE) 396/2005. Elles sont fixées à partir des usages phytosanitaires autorisés en Europe, pour chaque substance active. L'application d'un produit phytosanitaire homologué sur une culture donnée, à la dose préconisée, et en respectant le délai avant récolte indiqué ne doit donc théoriquement pas entrainer de dépassement de LMR.

Pour chaque substance active, la réglementation européenne définit les résidus à analyser, ou, plus exactement à quantifier, sur les denrées alimentaires. Il peut s'agir soit de la substance active elle-même, soit d'un ou plusieurs métabolites (molécules issues de la dégradation de la substance active), soit des deux.

La réglementation européenne (CE 396/2005) propose pour chaque dithiocarbamate une LMR exprimée en ppm de CS_2 (sulfure de carbone).

Produits phytosanitaires à base de dithiocarbamates

En protection des cultures, le terme « dithiocarbamates» recouvre un ensemble de substances actives : manèbe, mancozèbe, métirame, propinèbe, thirame et zirame. A ce jour, seules les substances métirame et zirame sont approuvées au niveau européen.

La liste des usages autorisés en France (culture * type de traitement) est disponible sur le site de référence du ministère de l'Agriculture : e-phy.

https://ephy.anses.fr



Certaines cultures peuvent donc être traitées avec des produits commerciaux contenant des dithiocarbamates. Il arrive que des résidus bien plus élevés que ceux initialement attendus soient détectés. Il arrive également que des cultures non traitées, et qui n'ont pas pu être contaminées (culture adjacente ou précédent cultural non traités) montrent des niveaux de résidus de pesticides dépassant parfois de beaucoup la Limite Maximale de Résidus.

Afin de comprendre quelles sont les différentes raisons qui peuvent expliquer ces cas de faux-positifs, penchons-nous sur les méthodes d'analyse des dithiocarbamates.

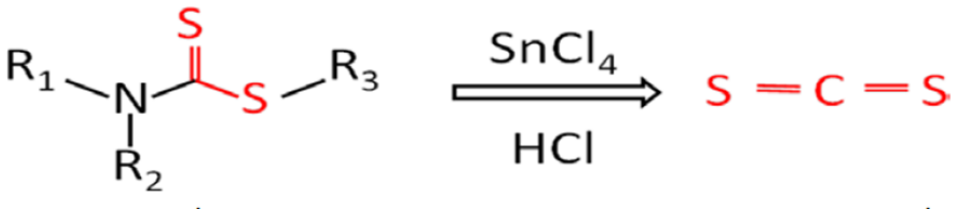
MÉTHODES DE DOSAGE DES DITHIOCARBAMATES

D'un point de vue chimique, les dithiocarbamates sont les équivalents soufrés des carbamates. Certains carbamates sont (ou ont été) utilisés comme insecticides, d'autres comme médicaments :



Carbamate (à gauche) et Dithiocarbamate (à droite)

La méthode classique et officielle de dosage des dithiocarbamates (NF EN 12396) est une méthode indirecte, c'est-à-dire que ce ne sont pas les molécules de dithiocarbamates elles-mêmes qui sont dosées mais une molécule qui en est issue, le sulfure de carbone, CS_2, selon le mécanisme suivant :



En pratique, l'échantillon sur lequel les mesures sont effectuées est chauffé en milieu acide chlorhydrique en présence de chlorure d'étain. Par coupure de la molécule de dithiocarbamate, on obtient du sulfure de carbone CS_2 qui est alors dosé par chromatographie en phase gazeuse ou par spectrophotométrie.

Pour une prise d'essai de 500 g, la limite de quantification de la méthode est de 0,1 ppm [Crnogorac G. *et al*. 2009.]. Cette méthode fonctionne avec tous les dithiocarbamates mais ne permet pas de les distinguer les uns des autres. De plus, cette méthode dose tous les composés capables de libérer du CS_2 dans les conditions de l'analyse, c'est à dire toutes les molécules soufrées, ce qui peut entraîner des faux positifs.

Notons que quelques laboratoires proposent des dosages par des méthodes chromatographiques qui permettent de doser individuellement chacune de ces molécules de dithiocarbamates. Ces méthodes spécifiques n'entrainent donc pas de faux positif.

LES FAUX-POSITIFS…

…d'origine technologique

Certains thiocarbamates servant à la vulcanisation du caoutchouc, il est possible de contaminer les échantillons si on les manipule avec des gants en caoutchouc vulcanisé, ou si l'on utilise des récipients dont les bouchons contiennent du caoutchouc. On ne pourra alors pas savoir si le CS_2 mesuré vient de résidus de fongicides ou de contamination lors de la manipulation de l'échantillon. [CRL 2009]

…d'origine botanique

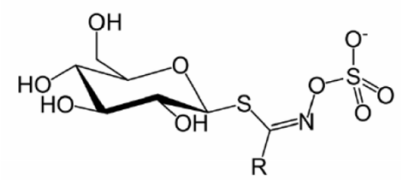
Un certain nombre de composés d'origine végétale sont connus pour se transformer en CS_2 dans les conditions de l'analyse. Les plus connus sont les glucosinolates mais d'autres composés, en particulier des dérivés d'acides aminés soufrés, peuvent aussi subir cette réaction.

- **les glucosinolates**

Glucosinolates dans les crucifères

Les glucosinolates sont présents dans 16 familles de dicotylédones [Fahey, Zalcmann *et al.* 2002], principalement dans la famille des crucifères (ou Brassicacées) [Bristeau *et al*., 2018].

Ces molécules naturelles contiennent des atomes de soufre et libèrent donc du CS_2 en présence de chlorure d'étain en milieu acide chlorhydrique.



Glucosinolate

Glucosinolates dans les PPAM

A côté des crucifères de grandes cultures (colza, choux divers, …) on trouve aussi quelques PPAM, reprises dans le tableau ci-dessous.
La liste A des PM est une liste des plantes médicinales utilisées traditionnellement et définie dans le code de santé publique.

NOM COMMUN	NOM SCIENTIFIQUE	ORIGINE
Baptisia tinctoria	*Baptisia tinctoria* (L.) R. Br. (= *Sophora tinctoria* L.)	Pharmacopée homéo.
Bourse à Pasteur	*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik.	Liste A des PM
Cochléaire, herbe aux cuillères	*Cochlearia officinalis* L .	Liste A des PM
Erysimum, vélar, herbe au chantre	*Sisymbrium officinale* (L.) Scop. (= *Erysimum officinale* L.)	Liste A des PM
Moutarde junciforme	*Brassica juncea* (L.) Czern.	Liste A des PM
Pastel	*Isatis tinctoria* L. (= *I. indigotica Fortune*)	Liste A des PM
Radis noir	*Raphanus sativus* L. var. niger (Mill.) Kerner	Liste A des PM
Raifort sauvage	*Armoracia rusticana* Gaertn., B. Mey. et Scherb. (= *Cochlearia armoracia* L.)	Liste A des PM

Autres plantes à glucosinolate

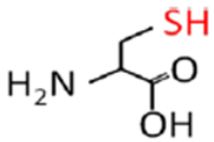
De la famille des *Capparaceae*, mais parfois placé dans la famille des *Brassicaceae*, le câprier contient aussi des glucosinolates, en particulier dans les boutons floraux (= câpres). Le principal est le glucocapperine ou méthylglucosinolate.

La capucine (*Tropaeolaceae*) renferme aussi des glucosinolates.
La réglementation européenne propose d'ailleurs des LMR dithiocarbamates (exprimées en disulfure de carbone) plus élevées pour ces deux plantes que pour la plupart des autres.

NOM COMMUN	NOM SCIENTIFIQUE	LMR DITHIOCARBAMATES
Capucine	*Tropaeolum majus* L	5 ppm (fleurs comestibles)
Câprier	*Capparis spinosa* L.	25 ppm (LMR câpres)

- **Les dérivés d'acides aminés soufrés**

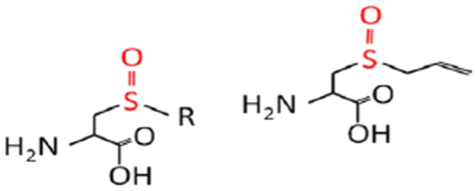
Dans quelques familles botaniques, les acides aminés soufrés tels que la cystéine se présentent sous forme de dérivés alkylés.



Cystéine

Chez les Alliacées

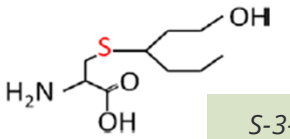
Chez les Alliacées la cystéine se présente sous forme de dérivés sulfoxydés et alkylés. Parmi les plus connus de ces dérivés, on peut citer l'alliine de l'ail. Ces composés se décomposent facilement pour donner entre autres des di et tri-sulfures d'alkyles.



- cystéine sulfoxyde alkyle (à gauche) Alliine - (à droite)

Chez le houblon

On sait depuis longtemps que l'arôme de certaines variétés de houblons est dû à des dérivés soufrés dont la nature n'est connue que depuis peu. En effet, en 2012, l'équipe de Gros [Gros *et al.* 2012] a mis en évidence l'existence de dérivés alkylés de la cystéine.



S-3-(1-hydroxyhexyl) cysteine

NOM COMMUN	NOM SCIENTIFIQUE	LMR DITHIOCARBAMATES
Houblon	*Humulus lupulus* L.	25 ppm

CONCLUSION

Certains auteurs recommandent d'utiliser la méthode actuelle comme une méthode de crible : si l'échantillon examiné a une teneur en CS_2 supérieure à la LMR, il faut alors utiliser une méthode spécifique pour rechercher les dithiocarbamates. Ces méthodes commencent à être publiées mais elles ne sont pas encore officielles ; elles mettent généralement en œuvre la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse.

Nota bene : Pour répondre à vos questions sur des résultats d'analyse de résidus de pesticides qui vous paraissent aberrants, le premier réflexe à avoir est de récupérer les références de la méthode d'analyse utilisée !

CREDITS PHOTOS
Câprier, page 1 - Caper - Freila, Gety Images
Capucine, page 1 - Nasturtium Flower - LazingBee, Getty Images Signature
Colza, page 1 - aerial view rapeseed flowers - PHILIPPE MONTIGNY, Getty Images

BIBLIOGRAPHIE

Réglementation

- EU Pesticides Database :
  https://ec.europa.eu/food/plants/pesticides/eu-pesticides-database_en

- Règlement (CE) N° 396/2005 du Parlement européen et du Conseil du 23 février 2005 concernant les limites maximales applicables aux résidus de pesticides présents dans ou sur les denrées alimentaires et les aliments pour animaux d'origine végétale et animale et modifiant la directive 91/414/CEE du Conseil.
  http://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32005R0396&from=FR

Les différents règlements de modification de LMR pour les dithiocarbamates :
Reg. (EC) No 149/2008, 839/2008, 822/2009, 750/2010, 978/2011, 34/2013, 2016/1, 2016/567, 2017/171.

Méthodologie

Bristeau S., Ghestem JP., mai 2018, Synthèse sur la problématique de la surveillance des dithiocarbamates dans les eaux environnementales.
Voir le document en pdf.

Crnogorac G *et al*.; 2009; Residue analysis of dithiocarbamate Fungicides; Trends in Analytical Chemistry, Vol. 28, No. 1, 2009

CRL 2009; Comunity reference Laboratory for Single Residue Methods; Analysis of Dithiocarbamate Residues in Foods of Plant Origin involving Cleavage into Carbon Disulfide, Partitioning into Isooctane and Determinative Analysis by GC-ECD.

Dasgupta S., Mujawar S., Banerjee K., Huebschmann H.-J.; 2012 ; Analysis of Dithiocarbamate Pesticides by GC-MS - analysis of dithiocarbamate pesticides by GC-MS.
Voir le document en pdf.

Glucosinolates

Fahey J. *et al*. ; 2002; *Corrigendum* to "The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants"; Phytochemistry, Volume 56 (2001), pages 5–51 et Phytochemistry, Volume 59, Issue 2, January 2002, Page 237

Romeo V., *et al*.; 2007; Flavour profile of capers (*Capparis spinosa* L.) from the Eolian Archipelago by HS-SPME/GC–MS; Food Chemistry 101 (2007) 1272–1278

Houblon

Gros J. *et al*. ; 2011 ; Occurrence of odorant polyfunctional thiols in the Super Alpha Tomahawk hop cultivar. Comparison with the thiol-rich Nelson Sauvin bitter variety. ; J Agric Food Chem. 2011 Aug 24;59(16):8853-65.

Wolfe P.H. ; 2012 ; A Study of Factors Affecting the Extraction of Flavor When Dry Hopping Beer; A THESIS submitted to Oregon State University in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science Presented August 7th, 2012

Gros J. *et al*. ; 2012 ; Occurrence of Odorant Polyfunctional Thiols in Beers Hopped with Different Cultivars. First Evidence of an S-Cysteine Conjugate in Hop (*Humulus lupulus* L.) ; J. Agric. Food Chem. ; 2012, 60, 7805−7816