Dosage des résidus de "Benomyl" par chromatographie sur couche mince

Autor(en): **Vogel, J. / Corvi, C. / Veyrat, G.**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **63 (1972)**

Heft 3

PDF erstellt am: **05.06.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-982800

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

Dosage des résidus de «Benomyl» par chromatographie sur couche mince

J. Vogel, C. Corvi et *G. Veyrat*
(Chef du Laboratoire: *Ch. Berner*)

Le «Benomyl» constitue le principe actif du «Benlate» où il entre dans la proportion de 50 %. Le produit fini se présente sous forme de poudre mouillable.

Le «Benomyl» est le méthyl 1-(butylcarbamoyl)-2-benzimidazole-carbamate; il a l'aspect d'une poudre blanche cristalline, sans odeur particulière, insoluble dans l'eau, soluble dans certains solvants organiques dont l'acétate d'éthyle, le chloroforme, la diméthylformamide, l'acétone et dans une moindre mesure l'éthanol. C'est un fongicide systémique utilisé pour le traitement préventif et curatif des cultures maraîchères et ornementales.

Le «Benomyl», dès son application sur les plantes, se métabolise rapidement et, peu de temps après les traitements, il n'est plus décelable en tant que tel. On trouvera par contre la présence de benzimidazole carbamate de méthyle (BCM) qui est son métabolite direct.

Il faut noter d'autre part que les solutions de «Benomyl» dans différents solvants ne sont pas stables et qu'il se transforme au moins partiellement en BCM au cours de l'analyse.

Les méthodes proposées pour le dosage des résidus sur fruits et légumes sont souvent longues et délicates et se prêtent mal aux contrôles de routine, elles sont basées sur la spectrofluorimétrie (1), la spectrophotométrie dans l'ultra-violet (2) ou la chromatographie sur couche mince utilisant comme révélateur l'effet d'inhibition sur des cultures de diverses souches de Penicillium (3).

La nécessité de disposer d'une méthode aussi simple et rapide que possible nous a conduit à adopter la technique décrite ci après.

Principe de la méthode

Le «Bénomyl» résiduel et son métabolite (BCM) sont extraits à l'aide d'acétate d'éthyle, puis après passage en phase aqueuse sont hydrolysés quantitativement en 2-aminobenzimidazole. On effectue ensuite une chromatographie sur couche mince de la solution résultante et on révèle par le brome. Cette méthode s'adapte bien aux analyses de routine.

Appareillage

— Homogénéisateur à grand vitesse (genre «Ultra-Turax», «Polytron» ou similaire)
— Centrifugeuse avec tubes de 250 ml
— Evaporateur rotatif sous vide
— Dispositif pour chromatographie sur couche mince

Réactifs

— Acétate d'éthyle rectifié
— Hexane rectifié
— Méthanol rectifié
— Solution de NaOH 6,5 N p. a.
— Solution de HCl 0,1 N p. a.
— Sulfate de sodium p. a.
— Kieselgel G
— Brome
— Solution témoin de 2-aminobenzimidazole (2-AB) à 0,5 µg/µl dans l'acétate d'éthyle

Mode opératoire

Extraction et purification

Couper le produit à analyser en petits fragments, mélanger soigneusement et prélever un échantillon moyen de 50 g.

Placer cette prise dans un bécher de 500 ml et ajouter 150 ml d'acétate d'éthyle. Traiter à l'aide d'un homogénéisateur à grande vitesse jusqu'à consistance de bouillie fluide.

Transvaser dans 2 tubes à centrifuger de 250 ml en rinçant à l'acétate d'éthyle. Centrifuger quelques minutes et transvaser la phase supérieure limpide dans un erlenmeyer de 500 ml. Remettre 50 ml d'acétate d'éthyle dans chaque tube, traiter de nouveau à l'aide de l'homogénéisateur, centrifuger et joindre les phases supérieures au premier extrait dans l'erlenmeyer de 500 ml.

Répéter encore une fois l'extraction avec 50 ml d'acétate d'éthyle dans les mêmes conditions.

Filtrer l'extrait acétate d'éthyle si nécessaire et l'évaporer sous vide dans un ballon rodé de 250 ml contenant 25 ml de HCl 0,1 N. Réduire le volume à 10—15 ml. Le Benomyl se trouve ainsi en solution aqueuse acide.

Transvaser cette solution dans une ampoule à décanter de 125 ml en rinçant le ballon à l'eau chaude par petites portions jusqu'à un volume total de 30 ml de solution environ. Refroidir et extraire par 3 fois 50 ml d'hexane que l'on rejette.

Introduire la phase aqueuse ainsi purifiée dans un bécher de 150 ml, laver l'ampoule avec 10 ml d'eau chaude. On obtient ainsi un volume d'environ 40 ml. Ajouter 15 ml de NaOH 6,5 N. Introduire une baguette de verre pour régulariser l'ébullition, couvrir d'un verre de montre et laisser bouillir doucement pendant 15 minutes pour hydrolyser le Benomyl et le BCM en 2-aminobenzimidazole.

Transvaser la solution dans une ampoule à décanter de 150 ml et extraire par 3 portions de 50 ml d'acétate d'éthyle que l'on utilise au préalable pour rincer le bécher de 150 ml. Réunir les extraits acétate d'éthyle dans un erlenmeyer de 250 ml. Sécher sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer sous vide juste à sec dans un petit ballon cœur de 50 ml.

Chromatographie sur couche mince

Reprendre le résidu d'évaporation par 0,1 ml d'acétate d'éthyle. Déposer, sur plaque de Kieselgel G, 2 spots de 10 µl chacun (ce qui correspond à 5 µg de Benomyl si on a une teneur résiduelle de 1 ppm sur le produit examiné).

Sur l'un des spots, déposer 2 µg de 2-AB témoin. Déposer de plus une échelle comparative entre 0,5 et 10 µg de 2-AB sur le reste de la plaque.

Développer en cuve saturée avec le mélange:

Hexane	1
Acétate d'éthyle	1
Méthanol	1

Après séchage, exposer la plaque aux vapeurs de brome. Le 2-AB se transforme en son dérivé bromé en quelques secondes et l'on obtient des spots jaune-brun ayant une valeur Rf de 0,4 environ.

Les extraits végétaux ne réagissent pas aux vapeurs de brome et aucun spot parasite ne gêne l'observation de la plaque. Le processus analytique présente ainsi un haut degré de spécificité et de sûreté.

Interprétation des résultats

La quantité de 2-AB éventuellement présente est estimée par rapport à l'échelle témoin. Il faut ensuite doubler la valeur obtenue pour trouver la quantité correspondante de Benomyl (le facteur exact est 2,18).

L'échelle d'étalonnage donnée précédemment à titre indicatif couvre une zone comprise entre 0,2 et 4 ppm de Benomyl si la prise initiale est de 50 g.

0,1 à 0,2 ppm de Benomyl peut être considéré comme la limite inférieure de détection.

Résultats analytiques

Un certain nombre d'analyses ont été menées en parallèle selon la méthode chromatographique décrite ci-dessus et selon la méthode de *Mestres* et collab. (2) basée sur la spectrophotométrie du BCM. Les résultats ont été concordants entre les deux méthodes et le rendement global constaté oscille autour de 75 %, les pertes provenant essentiellement des opérations d'extraction.

Les valeurs trouvées par les méthodes chimiques ont été confirmées par des essais biochimiques basés sur la mesure des zones d'inhibition sur cultures de penicillium oxylicum. Les analyses par voie biochimique sont actuellement à l'étude et feront l'objet d'une publication ultérieure.

Résumé

Il est proposé une méthode de dosage des résidus de Benomyl sur les fruits et légumes. Le mode opératoire est adapté aux analyses de routine. Il consiste à extraire le Benomyl et son métabolite principal par l'acétate d'éthyle, puis à hydrolyser l'extrait purifié pour former le 2-aminobenzimidazole que l'on chromatographie sur couche mince et révèle par formation de son dérivé bromé. Ce mode opératoire peut être considéré comme spécifique. Les extraits végétaux ne provoquent aucune interférence. La limite de détection se situe à environ 0,2 ppm de Benomyl dans les conditions normales de travail.

Bibliographie

1. *H. L. Pease* et *J. A. Gardiner:* J. Agric. Food. Chem. **17**, 267 (1969).
2. *R. Mestres, J. Tourte* et *M. Campo:* Travaux de la Société de Pharmacie de Montpellier, **31**, 49 (1971).
3. *C. A. Peterson* et *L. V. Edgington:* J. Agric. Food. Chem. **17**, 898 (1969).