

## Introduction

Dans le cadre de la réglementation européenne soutenant la culture du chanvre, le CRAW est amené à déterminer la teneur en  $\Delta^9$ -TetraHydroCannabinol ( $\Delta^9$ -THC, substance psychotrope du cannabis) des échantillons prélevés dans les parcelles de culture soumises à intervention. Outre la présence de  $\Delta^9$ -THC, l'analyse par chromatographie gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme met en évidence d'autres composés dans les extraits. L'étude qui a été menée sur ces extraits vise à discriminer les échantillons analysés par rapport à leur nature (variété), la localisation de la parcelle, la zone géographique ou le moment de prélèvement.

## Matériel et méthode

### Nature des échantillons

Les échantillons correspondent aux extrémités fleuries de plantes de chanvre (*Cannabis sativa*) cultivées en Région Wallonne.

### Préparation des échantillons

#### Pré-séchage

Lors de leur réception, les échantillons sont séchés de façon quantitative en étuve ventilée 72 heures à 60°C.

#### Préparation de l'échantillon d'analyse

Les échantillons secs sont débarrassés des tiges et des graines de plus de 2 mm, puis ils sont broyés jusqu'à l'obtention d'une poudre (tamis à mailles de 1 mm).

Les tiges sont ensuite broyées sur le même moulin. Elles feront l'objet d'études séparées.

### Extraction

40 mg d'échantillon sec sont pesés en cupule ependorf

1.800  $\mu$ L de solvant d'extraction contenant le standard interne (solution 35 mg de squalane par 100 mL d'hexane) sont ajoutés.

Les cupules sont placées 20 minutes dans un bain à ultra-sons avant d'être centrifugées 5 minutes à 3.000 rpm.

Le surnageant est transféré dans une fiole pour être injecté en GC-FID.

Le protocole d'extraction est réalisé en double.

#### Détermination de la matière sèche

2 g d'échantillon sont placés 4 heures à 104°C pour déterminer la teneur en matière sèche.

### Conditions chromatographiques

**Colonne** : ZB-5MS (Phenomenex)

**Injection** : 0,1  $\mu$ L – Mode Split 50:1 He 50 mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>

**Température de l'injecteur** : 175°C

**Durée d'analyse** : 11,75 minutes

**Gaz vecteur** : hélium

**Température de la colonne** :

T = 0.00 minutes : 200 °C

T = 2.00 minutes : 200 °C

Progression : 20 °C  $\cdot$ min<sup>-1</sup>

T = 6.75 minutes : 295 °C

T = 11.75 minutes : 295 °C

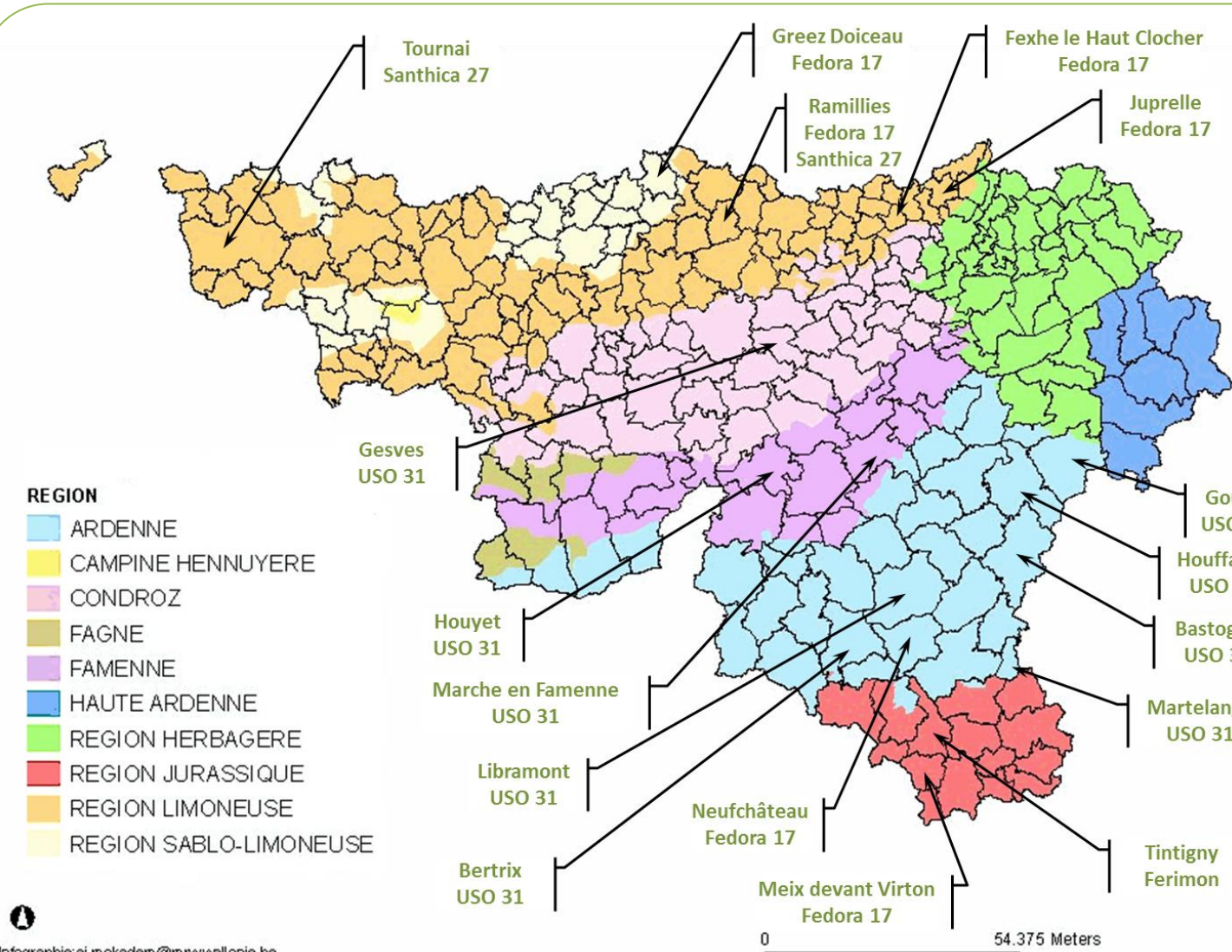
**Détection** : ionisation de flamme

**Température du détecteur** : 250 °C

**Gaz du détecteur** : H<sub>2</sub> : 40 mL $\cdot$ min<sup>-1</sup> – Air : 450 mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>

**Fréquence d'acquisition** : 20 Hz

## Résultats



### Échantillons

**Origine** : parcelles de culture réparties sur l'ensemble de la Région Wallonne (RW), dans le cadre des cultures subventionnées par l'UE

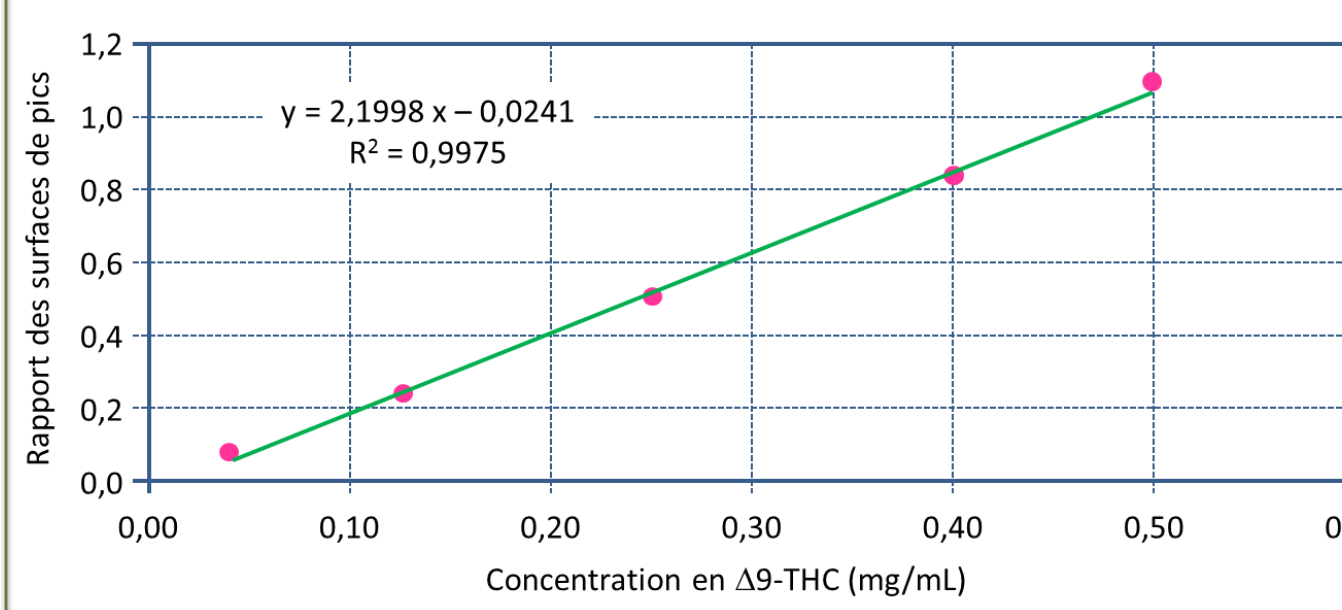
Culture en plein essor en RW

**Zones les plus concernées** : l'Ardennes et la Région Limoneuse (70 % des échantillons collectés et analysés en 2012)

**Zones les moins concernées** : la Condroz, la Haute Ardennes, la Fagne et la Région herbagère.

**Calibrage** : concentration en  $\Delta^9$ -THC de 0,040 à 0,500 mg/mL

Analyses réalisées en double



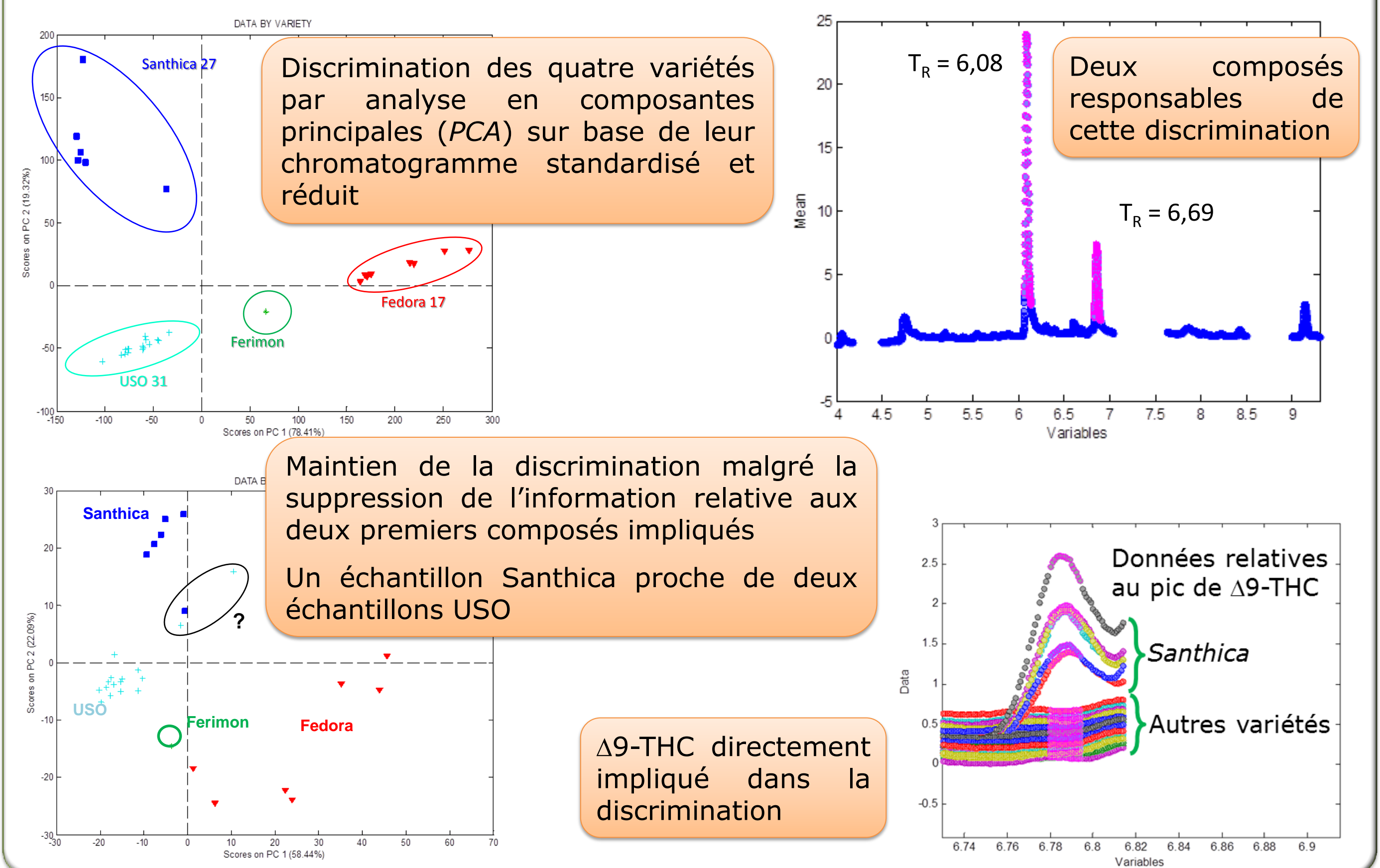
	Fédora 17	Santhica 27	USO 31	Ferimon
N	8	6	16	1
Min	0,092	0,051	0,048	
Max	0,116	0,066	0,061	
Moyenne	0,102	0,055	0,055	0,085
Ecart type	0,0074	0,0056	0,0033	
CV %	7,2	10,3	6,0	

Teneur déterminée en grammes de  $\Delta^9$ -THC par 100 grammes d'échantillon d'analyse, séché jusqu'à poids constant (moyenne des deux extractions) et affectée d'une tolérance de 0,03 grammes

La variété Fedora 17 est la plus riche en  $\Delta^9$ -THC.

### Approche chimiométrique

Standardisation par rapport au squalane (SI) : temps de rétention et intensité – élimination des zones du chromatogramme a priori sans intérêt.



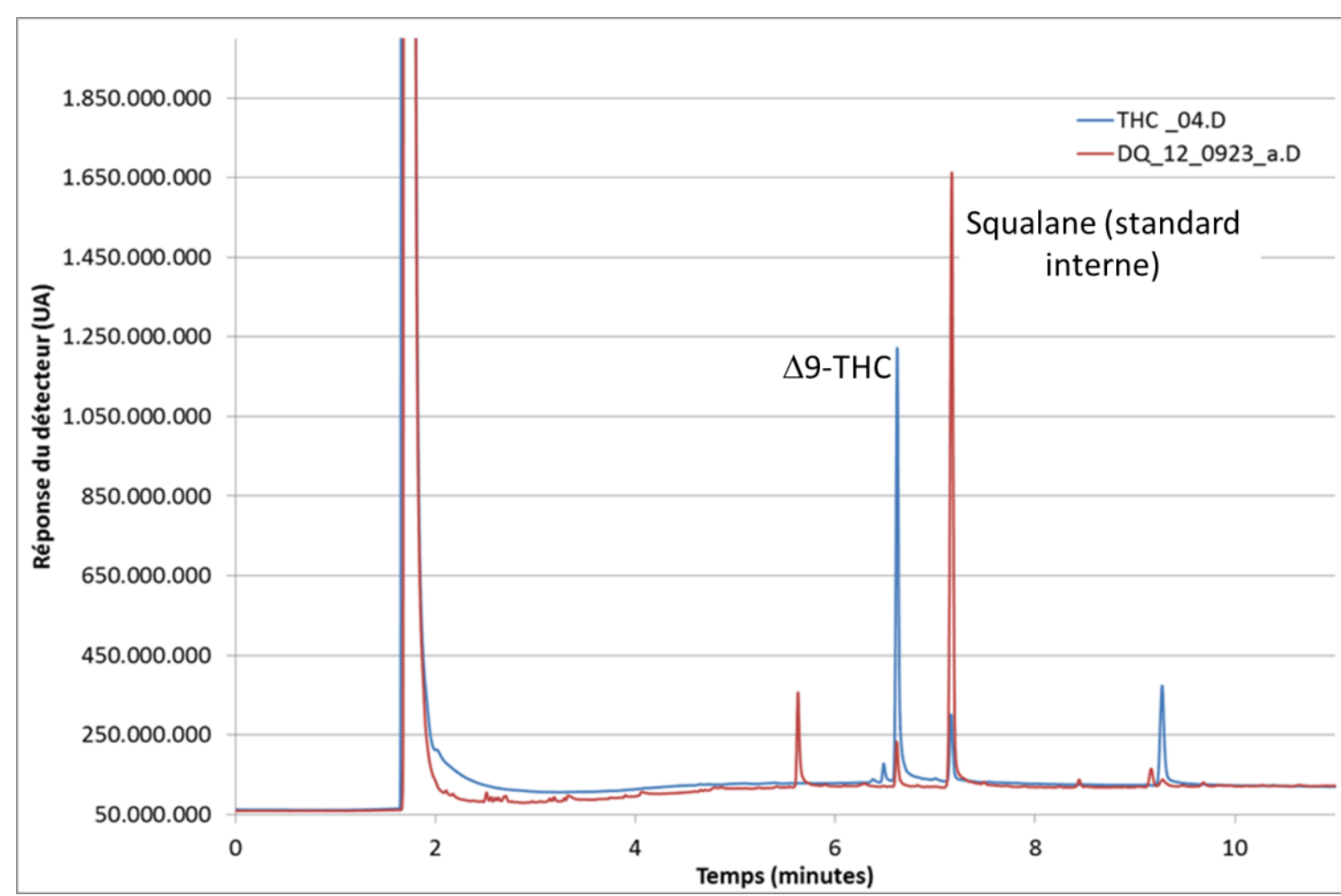
### Séparation chromatographique

Optimisation chromatographique pour séparer le squalane (SI) et le  $\Delta^9$ -THC

Temps de rétention obtenus : 6,65 minutes pour le  $\Delta^9$ -THC et de 7,16 minutes pour le standard interne

Apparition d'autres composés (à identifier) dans l'extrait et dans la solution du standard ( $\Delta^9$ -THC)

Pas d'interférences chromatographiques dans la séparation (spécificité de la méthode)



## Conclusions et perspectives

La méthode de détection du  $\Delta^9$ -THC dans les inflorescences de chanvre implémentée au sein du CRAW a permis de contrôler la conformité des plantations rencontrées en Région Wallonne. La variété la plus fréquente en 2012 est la variété USO 31 qui est implantée dans la partie centrale de la RW (52 % des échantillons analysés). Après optimisation des paramètres chromatographiques, les teneurs de  $\Delta^9$ -THC mesurées montrent que la variété Santhica 27 se distingue des trois autres variétés par des taux plus élevés.

L'utilisation de la chimiométrie, appliquée aux données chromatographiques standardisées, a permis de discriminer les quatre variétés analysées. Plusieurs composés, d'importance variable sont responsables de cette discrimination. Parmi ces composés, seul le  $\Delta^9$ -THC est à ce jour identifié. Les extraits devront être analysés par GC-MS en vue de l'identification des autres composés. Ces identifications pourront conduire au choix de certaines variétés valorisables pour d'autres composés bio-actifs.

Aucune corrélation n'a pu être mise en évidence entre la chromatographie et les paramètres localité, zone géographique ou date de prélèvement.

L'intégration dans la base de données chromatographique des échantillons prélevés les années antérieures devra permettre de confirmer la discrimination obtenue cette année, en complétant les variétés analysées.

## Remerciements

Les auteurs remercient la Région Wallonne, DGARNE, Département des Aides, Direction des Surfaces agricoles, pour les informations relatives à l'identité des variétés et à la localisation des parcelles.