



Certificat d'analyse

Matériau de référence certifié

CRM-YTX-d (lot 20231207)

Solution d'étalonnage certifiée pour la yessotoxine

Les yessotoxines (YTX) constituent un groupe de composés de type éthers polycycliques, produits par divers dinoflagellés (algues), incluant *Protoceratium reticulatum*, *Lingulodinium polyedrum* et *Gonyaulax spinifera* [1]. La concentration de YTX dans les mollusques et les crustacés destinés à la consommation humaine est réglementée dans certaines régions [2,3]. Le CRM-YTX-d est une solution d'étalonnage certifiée de YTX dans du méthanol et remplace le CRM-YTX-c.

Tableau 1. Valeurs certifiées et incertitudes pour le CRM-YTX-d

Composé	µg/g	µg/mL (15 à 30 °C)	µmol/L (15 à 30 °C)
Yessotoxine	6,01 ± 0,32	4,74 ± 0,26	4,15 ± 0,23

Yessotoxine

Numéro au registre CAS : 112514-54-2

InChIKey : HCYDZFJGUKMTQB-AVHIVUAZSA-N

Formule moléculaire : C₅₅H₈₂O₂₁S₂

Masse molaire : 1143,4 g/mol

[M-H]⁻ : m/z 1141,4717

[M-2H]²⁻ : m/z 570,2322

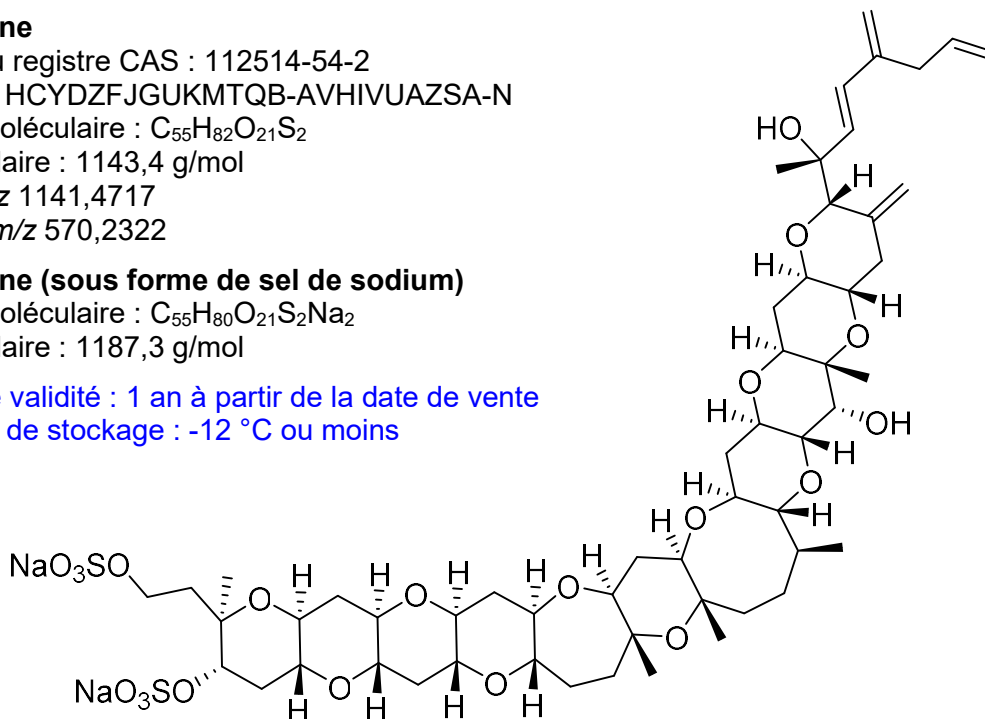
Yessotoxine (sous forme de sel de sodium)

Formule moléculaire : C₅₅H₈₀O₂₁S₂Na₂

Masse molaire : 1187,3 g/mol

Période de validité : 1 an à partir de la date de vente

Conditions de stockage : -12 °C ou moins



Utilisation prévue

Le CRM-YTX-d est une solution d'étalonnage certifiée conçue pour la mise au point de méthodes d'analyse et le dosage précis de la YTX. Sa concentration convient à la préparation d'une série de dilutions pour l'étalonnage d'instruments, comme des systèmes de chromatographie en phase liquide avec détection par spectrométrie de masse (CPL-SM), ainsi qu'au dopage d'échantillons témoins à des fins de mesure du taux de récupération.

Instructions pour l'entreposage et l'utilisation

Pour s'assurer de la stabilité du CRM-YTX-d, les ampoules doivent être conservées à une température de -12 °C ou moins.

Il est important de souligner que le volume de la solution n'est pas certifié. Seule sa concentration l'est. Il ne suffit donc pas de transférer tout le contenu de l'ampoule dans une fiole jaugée et de compléter cette dernière au volume.

Avant d'ouvrir une ampoule, il faut la laisser revenir à la température ambiante et bien mélanger son contenu. Un dispositif étalonné doit être utilisé pour faire des transferts précis de la solution de matériau de référence certifié (CRM). Le sous-échantillonnage répété et l'entreposage de la solution de CRM une fois l'ampoule ouverte peuvent influencer sur la concentration. Les utilisateurs peuvent cependant tenter de démontrer que leurs procédures de sous-échantillonnage et d'entreposage n'ont aucune incidence sur la concentration.

Préparation du CRM-YTX-d

La YTX a été isolée d'un dinoflagellé (*Protoceratium reticulatum*) cultivé au Cawthron Institute, en Nouvelle-Zélande [4]. La structure et la pureté de la YTX ont été confirmées par RMN de ^1H et CPL-SM. Un rapport de masse/charge (m/z) précis mesuré de $1141,4751 \pm 0,0004$ ($\Delta = +2,9$ ppm pour le $\text{C}_{55}\text{H}_{81}\text{O}_{21}\text{S}_2^-$) a été obtenu pour l'ion $[\text{M}-\text{H}]^-$ de la YTX par spectrométrie de masse à haute résolution (figure 1A). Le spectre de dissociation induite par collision (figure 1B) correspond aux rapports scientifiques publiés et au CRM précédent de la YTX [4,5].

La solution mère a été préparée par dissolution de la YTX purifiée dans du CD_3OD à des fins d'analyse quantitative par RMN de ^1H (RMNq) [6]. La solution de CRM-YTX-d a été préparée par dilution précise de la solution mère dans du méthanol dégazé de grande pureté. Des aliquotes ont été mises dans des ampoules en verre ambré préalablement remplies d'argon, puis immédiatement scellées à la flamme. Chaque ampoule contient environ 0,5 mL de solution.

Méthodes d'analyse et attribution des valeurs

La valeur certifiée du CRM-YTX-d (tableau 1) est une moyenne pondérée en fonction de l'incertitude des résultats obtenus au Conseil national de recherches Canada (CNRC) par RMNq avec l'acide benzoïque (PS-1 du NIST) comme substance étalon, par CPL-SM/SM avec le CRM-YTX-c comme substance étalon, et par CPL associée à la détection des aérosols chargés avec le CRM-hYTX-b comme substance étalon. Des impuretés de la YTX, identifiées avec réserves, sont présentes en faible concentration (~2 %) dans le CRM-YTX-d (figure 2).

Homogénéité

Un nombre représentatif d'ampoules de CRM-YTX-d a été prélevé dans la série d'ampoules préparées, puis elles ont été analysées par CPL-SM/SM. Aucune hétérogénéité n'a été observée.

Stabilité

Des études ont révélé une bonne stabilité de la YTX dans le méthanol lorsque cette solution est stockée dans des ampoules scellées à une température de -12 °C ou moins.

Incertitude

Toutes les sources raisonnables d'incertitude liée à la caractérisation du CRM-YTX-d ont été prises en compte et mesurées. L'incertitude globale estimée (U_{CRM}) comprend les incertitudes associées à la caractérisation du lot (u_{char}) et à l'instabilité durant l'entreposage (u_{stab}) [7]. Ces éléments, présentés au tableau 2, sont combinés et élargis de la manière suivante :

$$U_{CRM} = k \sqrt{u_{char}^2 + u_{hom}^2 + u_{stab}^2}$$

dans laquelle k est le facteur de couverture pour un niveau de confiance de 95 % (= 2).

Tableau 2. Éléments d'incertitude pour les valeurs certifiées du CRM-YTX-d

Incertitude	Relative*
u_{char}	0,015
u_{hom}	négligeable
u_{stab}	0,022

* Relative aux valeurs données dans le tableau 1.

Consignes de sécurité

Seules des personnes qualifiées doivent manipuler cette solution, et des méthodes d'élimination appropriées doivent être employées. Il faut porter un équipement de protection individuelle approprié lors de l'ouverture d'une ampoule, en cas de bris du verre. Il existe une fiche de données de sécurité (FDS) pour le CRM-YTX-d.

Période de validité

Lorsque l'ampoule non ouverte est conservée à la température recommandée (-12 °C ou moins), la concentration certifiée du CRM-YTX-d est valide pendant 1 an à partir de la date de vente.

Traçabilité métrologique

Les résultats présentés dans le présent certificat sont traçables au SI (*Système international d'unités*) au moyen d'un étalon préparé par gravimétrie composé d'acide benzoïque (matériau de référence certifié PS1 du NIST), de CRM-YTX-c du CNRC (lot 20151125) et de CRM-hYTX-b du CNRC (lot 20190716).

Système de gestion de la qualité (ISO 17034, ISO/CEI 17025)

Ce matériau a été produit conformément au Système de gestion de la qualité de Métrologie du Conseil national de recherches du Canada (CNRC), qui est conforme aux exigences des normes ISO 17034 et ISO/CEI 17025.

Le Système de gestion de la qualité de Métrologie qui appuie les aptitudes en matière de mesures et d'étalonnages du CNRC, telles qu'indiquées dans la base de données des comparaisons clés du Bureau international des poids et mesures (BIPM) (http://kcdb.bipm.org/default_fr.asp), a été examiné et approuvé sous l'autorité du Système interaméricain de métrologie (SIM) et s'est avéré conforme aux attentes de l'Arrangement de reconnaissance mutuelle du Comité international des poids et mesures (CIPM). L'approbation SIM est disponible sur demande.

Références

1. Hess P, Aasen J (2007). Chemistry, origins, and distribution of yessotoxin and its analogues, in Botana LM (Ed). Phycotoxines : Chemistry and Biochemistry (Blackwell Publishing, Oxford):187-202. <https://doi.org/10.1002/9780470277874.ch10>
2. Anonyme (2004). Règlement (CE) n° 853/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 fixant des règles spécifiques d'hygiène applicables aux denrées alimentaires d'origine animale. Journal officiel de l'Union européenne, L 139 du 30 avril 2004. <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2004/853/oj>
3. Anonyme (2013). Règlement (UE) n° 786/2013 de la Commission du 16 août 2013 modifiant l'annexe III du règlement (CE) n° 853/2004 du Parlement européen et du Conseil en ce qui concerne les limites autorisées de yessotoxines chez les mollusques bivalves vivants. Journal officiel de l'Union européenne, L 220 du 16 août 2013. <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2013/786/oj>
4. Miles CO, Wilkins AL, Jensen DJ, Cooney JM, Quilliam MA, Aasen J, MacKenzie AL (2004). Isolation of 41a-homoyessotoxin and the identification of 9-methyl-41a-homoyessotoxin and nor-ring A-yessotoxin from *Protoceratium reticulatum*. Chem Res Toxicol 17 (11):1414-1422. <https://doi.org/10.1021/tx049832r>
5. Giddings SD, Crain S, McCarron P (2016). CRM-YTX-c : Solution d'étalonnage certifiée pour la yessotoxine. Conseil national de recherches du Canada, Halifax. <https://doi.org/10.4224/crm.2016.ytx-c.20151125>
6. Burton IW, Quilliam MA, Walter JA (2005). Quantitative ¹H NMR with external standards: Use in preparation of calibration solutions for algal toxins and other natural products. Anal Chem 77:3123-3131. <https://doi.org/10.1021/ac048385h>
7. Pauwels J, Lamberty A, Schimmel H (2000). Evaluation of uncertainty of reference materials. Accreditation and Quality Assurance 5:95-99. <https://doi.org/10.1007/s007690050020>

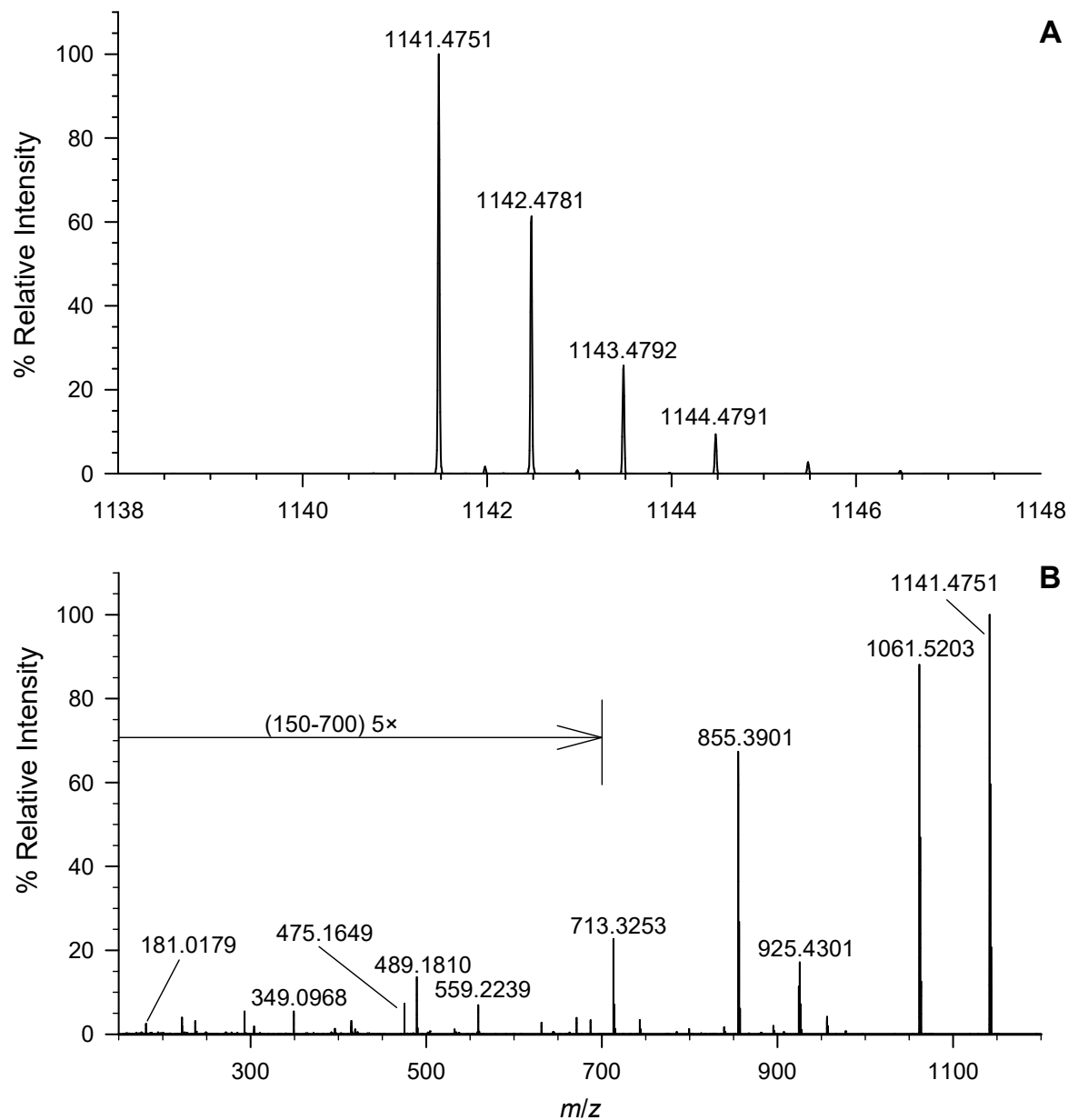


Figure 1. Spectres de masse en balayage complet (A) et de dissociation induite par collision (SM/SM) (B), obtenus par analyse par CPL-SMHR de la YTX utilisée pour la préparation du CRM-YTX-d, à l'aide d'un spectromètre de masse Q Exactive-HF en mode négatif. Les données de balayage complet ont été acquises à une résolution de 120 000. Les données de SM/SM ont été acquises en mode balayage de suivi de réactions en parallèle à une résolution de 30 000 et à une énergie de collision par paliers de -25 et de -80 eV.

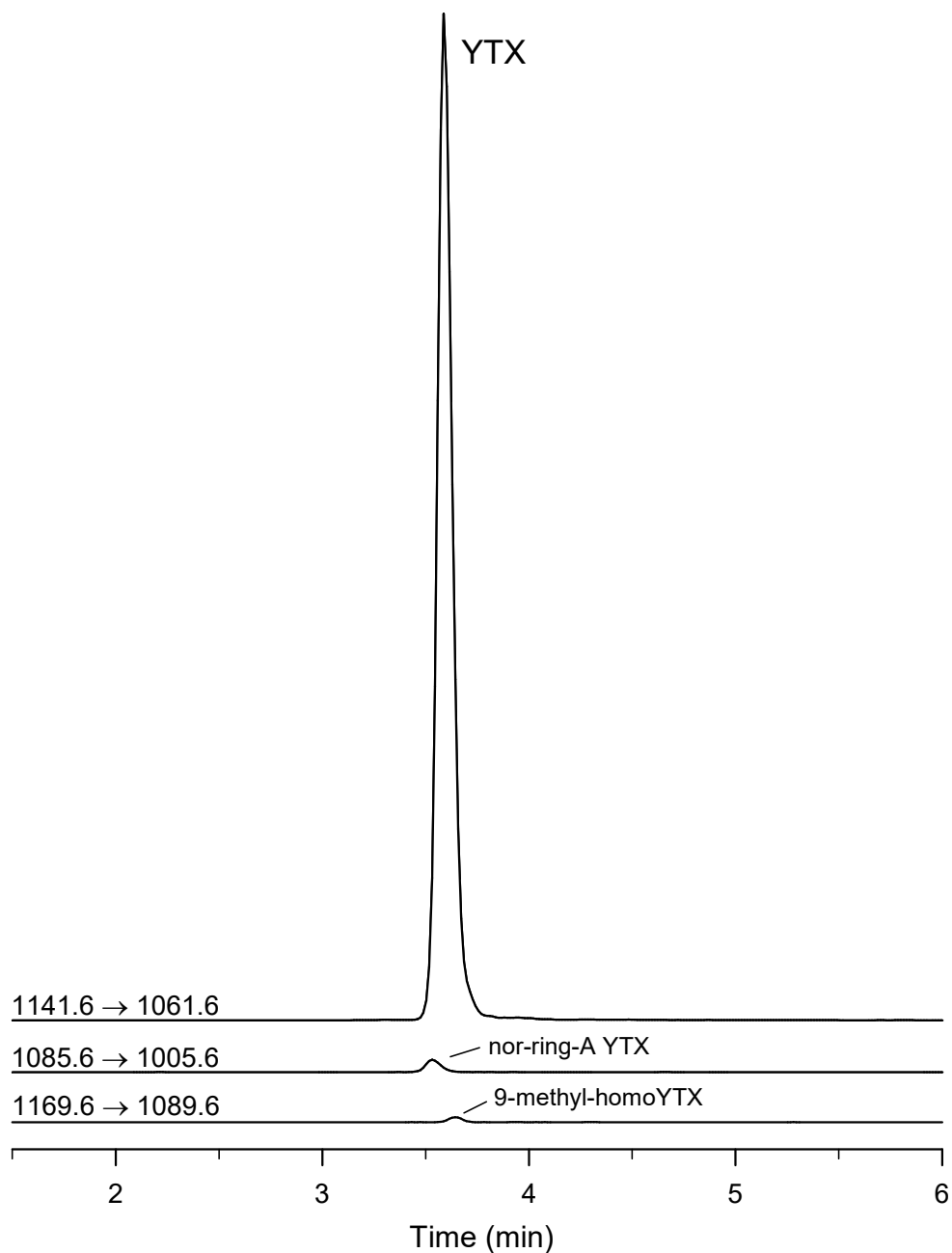


Figure 2. Analyse par CPL-SM/SM du CRM-YTX-d. Conditions de chromatographie : Colonne Synergi Max-RP de 2,5 μm (2,0 \times 50 mm) de Phenomenex; 2 mM d'acétate d'ammonium (pH 6,8) dans de l'eau désionisée (A) et dans de l'acétonitrile à 95 % (B); gradient : 25 à 100 % de B en 5 min, 300 $\mu\text{L}/\text{min}$ à 20 $^{\circ}\text{C}$; volume injecté : 5 μL . Conditions de spectrométrie de masse : ionisation négative par électronébulisation (-4,5 kV) et mode balayage de suivi de réactions choisies avec potentiel de désagrégation de -80 eV et énergie de collision de -55 eV. Les impuretés à l'état de traces sont identifiées avec réserves.

Remerciements

Les membres du personnel du CNRC suivants ont contribué à la production et à la certification du CRM-YTX-d : Crain S, Giddings SD, Gillies JR, Gray TA, LeBlanc P, McAulay CJ, Lewis N, McCarron P, Mudge EM, Perez Calderon RA, Rafuse C, Reeves KL et Thomas K.

Le présent document doit être cité comme suit :

Giddings SD, Crain S, McCarron P. CRM-YTX-d : matériau de référence d'une solution d'étalonnage certifiée pour la yessotoxine. Certificat d'analyse de Métrologie des biotoxines CRM-YTX-d-20231207, Conseil national de recherches du Canada, Halifax.

DOI : <https://doi.org/10.4224/crm.2024.ytx-d.20231207>

Date de délivrance : juin 2024

Version du document : 20240612

Approuvé par :

Pearse McCarron, Ph. D.
Chef d'équipe, Métrologie des biotoxines

Ce certificat n'est valide que si le matériau correspondant a été obtenu directement du CNRC ou d'un revendeur autorisé.

Veillez adresser tout commentaire, renseignement ou demande au :

Conseil national de recherches Canada
1411, rue Oxford
Halifax (Nouvelle-Écosse) B3H 3Z1
Canada

Téléphone : 1-902-426-8281

Télécopieur : 1-902-426-5426

Courriel : CRM-MRCHalifax@nrc-cnrc.gc.ca