



# Certificat d'analyse

Matériau de référence certifié

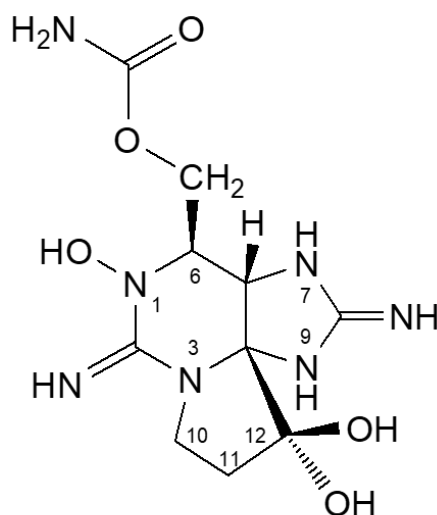
## CRM-NEO-e (lot 20251218)

Matériau de référence certifié d'une solution d'étalonnage pour la néosaxitoxine

La néosaxitoxine (NEO) est un analogue de la saxitoxine présent à la fois dans les microalgues marines [1] et dans les cyanobactéries d'eau douce [2]. Le CRM-NEO-e est un matériau de référence certifié (MRC) d'une solution d'étalonnage de la NEO dans une solution aqueuse d'acide chlorhydrique (HCl) à 0,5 mM.

Tableau 1 : Valeur certifiée et incertitude élargie ( $k = 2$ ) pour le CRM-NEO-e

Composé	Concentration $\mu\text{mol/L}$ (15-30 °C)
NEO	$59,6 \pm 1,5$



### néosaxitoxine

Numéro de registre CAS : [64296-20-4](#)

InChIKey : [PPEKGEBBBBNZKS-HGRQIUPRSA-N](#)

Formule moléculaire :  $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_7\text{O}_5$

Masse molaire : 315,3 g/mol

$[\text{M}+\text{H}]^+$  :  $m/z$  316,1364

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

Conditions d'entreposage : +4 °C

**Tableau 2 : Valeur informative pour le CRM-NEO-e**

<b>Composé</b>	<b>Concentration µmol/L (15-30 °C)</b>
STX	0,06

### **Utilisation prévue**

Le CRM-NEO-e est une solution d'étalonnage certifiée conçue pour la mise au point de méthodes d'analyse et le dosage précis de la NEO. Sa concentration convient à la préparation d'une série de dilutions pour l'étalonnage d'instruments, comme les appareils de chromatographie en phase liquide avec détection par oxydation-fluorescence post-colonne (CPL-ox-FL) ou un système de chromatographie en phase liquide avec spectrométrie de masse (CPL-SM).

### **Préparation du matériau**

La néosaxitoxine a été isolée à partir de la biomasse cellulaire cultivée d'*Alexandrium tamarense*, purifiée sur colonne ouverte et par chromatographie préparative, puis déshydratée *in vacuo* [3].

La structure et la pureté de la NEO ont été confirmées par spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN), par chromatographie en phase liquide à l'aide de la SM à basse [4] et à haute résolution (figures 1 et 2), par CPL-ox-FL [5] (figure 3) et par détection des aérosols chargés [6]. Un  $m/z$  précis et mesuré de 316,1363 ( $\Delta = 0,3$  ppm pour le  $C_{10}H_{18}N_7O_5^+$ ) a été obtenu pour l'ion  $[M+H]^+$  de la NEO par CPL couplée à la SM à haute résolution (CPL-SMHR).

Une solution mère a été préparée en dissolvant la NEO purifiée dans une solution aqueuse de HCl à 0,5 mM en vue d'analyse quantitative par RMN de  $^1H$  (RMNq) [7]. La solution de CRM-NEO-e a été préparée en diluant avec précision la solution mère dans du HCl à 0,5 mM dégazé à pH 3,4. Des aliquotes ont été distribuées dans des ampoules en verre ambré propres remplies d'argon, puis immédiatement scellées à la flamme. Chaque ampoule contient environ 0,5 mL.

### **Caractérisation du matériau**

La valeur certifiée pour le CRM-NEO-e (tableau 1) est basée sur les résultats obtenus au Conseil national de recherches du Canada (CNRC) par RMNq de  $^1H$  en utilisant l'hydrogénophtalate de potassium pour l'étalonnage et par la CPL-SMHR utilisant le CRM-NEO-d du CNRC pour l'étalonnage. Une valeur informative (tableau 2) pour la saxitoxine (STX) a été attribuée par CPL-SM.

### **Traçabilité métrologique**

Les résultats présentés dans le présent certificat sont traçables au Système international d'unités (SI) au moyen d'étalons préparés par gravimétrie et composés de matériaux de référence certifiés d'hydrogénophtalate de potassium (Inmetro MRC 8943.0001) et de néosaxitoxine (CNRC CRM-NEO-d, lot 20170411).

## Homogénéité

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

## Stabilité

Des études sur la NEO dans une solution de HCl à 0,5 mM ont démontré sa stabilité à la température d'entreposage recommandée de +4 °C, ainsi qu'au congélateur (-12 °C ou moins). Aucune décomposition n'a été observée à la température ambiante pendant un mois.

## Incertitude

L'incertitude élargie ( $U$ ) pour la valeur est égale à  $U = ku_c$ ,  $u_c$  étant l'incertitude type composée calculée conformément au Comité commun pour les guides en métrologie (JCGM) [8] et  $k$  étant le facteur de couverture. Un facteur de couverture de  $k = 2$  a été appliqué, ce qui correspond à un niveau de confiance d'environ 95 %.

Toutes les sources raisonnables d'incertitude liées à la valeur certifiée du tableau 1 ont été prises en compte. L'estimation de l'incertitude combinée comprend les incertitudes dues à la caractérisation du lot, à la variation possible inter-unité et à la stabilité du matériau.

## Entreposage

Le matériau doit être entreposé à +4 °C. L'ampoule devrait être entreposée non ouverte.

## Instructions de manipulation et d'utilisation

Avant l'ouverture, chaque ampoule doit d'abord être équilibrée à la température ambiante et le contenu doit être soigneusement mélangé. L'ampoule doit être ouverte à la marque prélimée juste avant son utilisation. Un dispositif étalonné doit être utilisé pour transférer de façon précise la solution du MRC. La valeur certifiée n'est garantie que si l'ampoule est échantillonnée immédiatement après l'ouverture afin de limiter l'évaporation du solvant. Il est important de noter que le volume de la solution n'est pas certifié; seule sa concentration l'est. En conséquence, tout le contenu de l'ampoule ne peut être dilué de façon volumétrique.

Après la première ouverture de l'ampoule, un sous-échantillonnage répétitif de la solution du MRC et son entreposage peuvent avoir un impact sur la valeur certifiée. Il incombe aux utilisateurs de démontrer que leurs procédures de sous-échantillonnage et d'entreposage n'ont aucune incidence sur la valeur certifiée.

## **Renseignements sur la santé et la sécurité**

Seul un personnel qualifié devrait manipuler ce matériau et des méthodes d'élimination appropriées doivent être suivies. Une Fiche de données de sécurité (FDS) est disponible à l'adresse [10.4224/crm.2026.neo-e.20251218](https://10.4224/crm.2026.neo-e.20251218). Réservé à l'usage du laboratoire uniquement; non destiné à la consommation humaine, aux usages thérapeutiques, aux médicaments, aux usages domestiques ou à tout autre usage.

## **Période de validité**

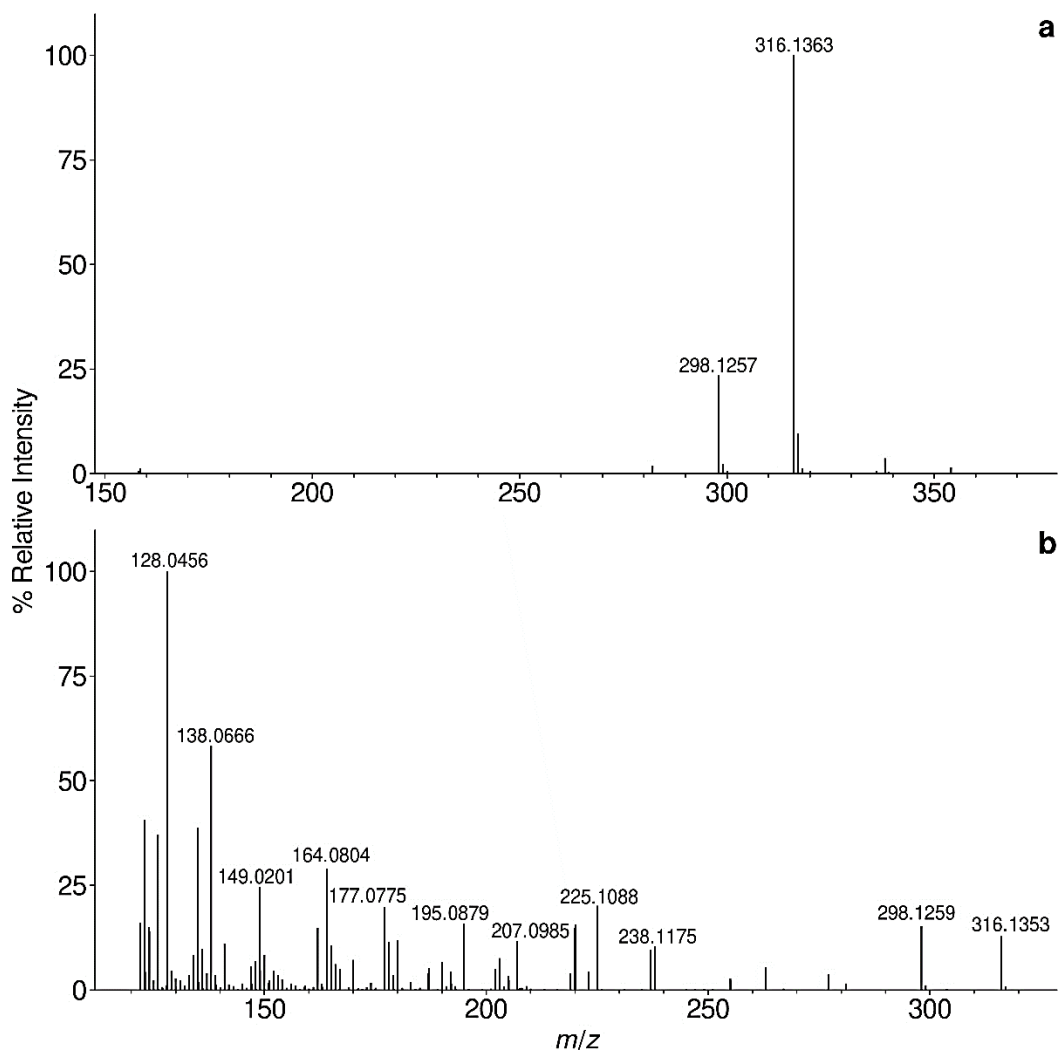
La valeur certifiée est valide pendant 1 an à compter de la date de vente, pourvu que les conditions d'entreposage et les instructions de manipulation et d'utilisation précisées dans le présent certificat soient respectées.

## **Système de gestion de la qualité**

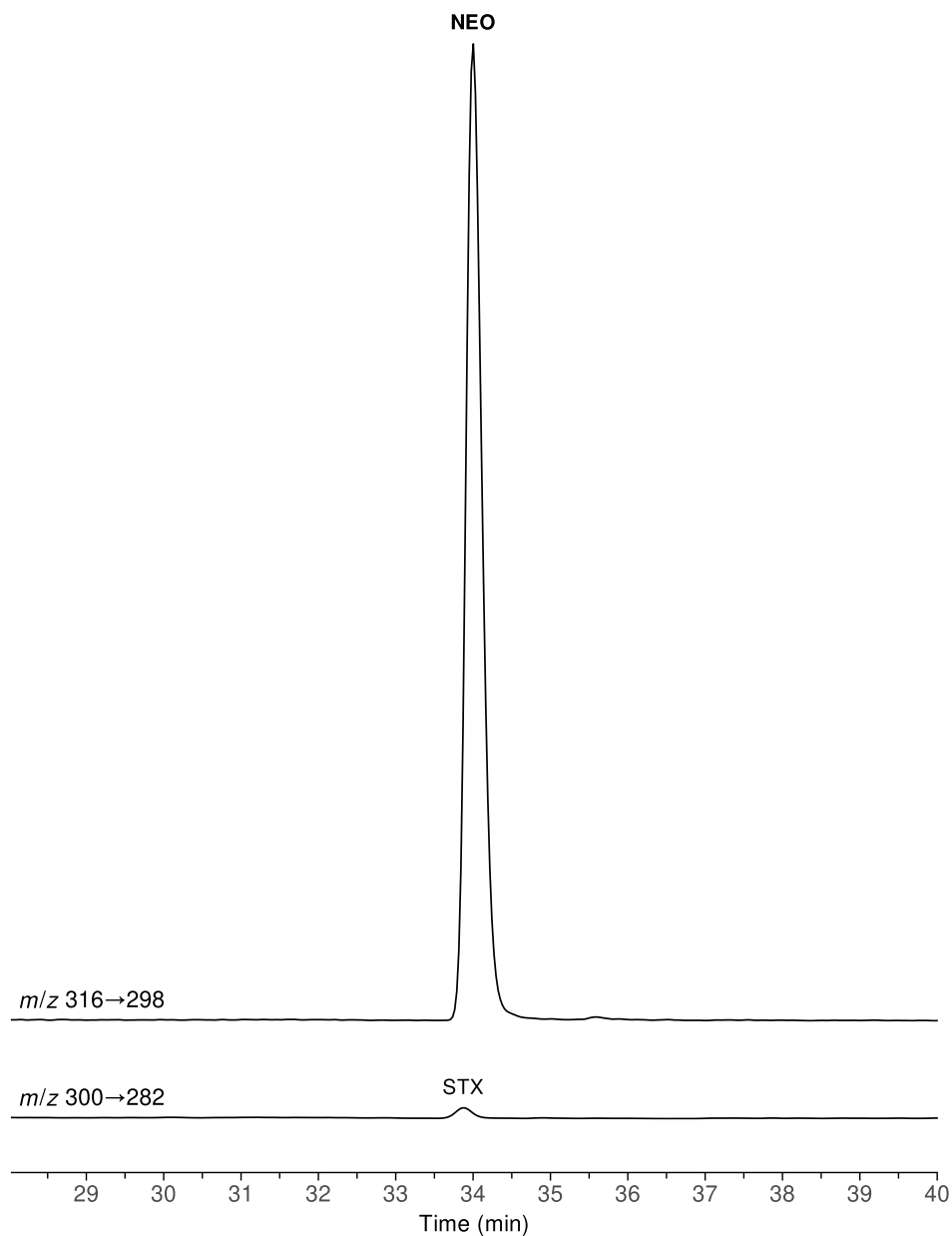
Le CNRC est l'institut national de métrologie (INM) du Canada et est signataire de l'Arrangement de reconnaissance mutuelle du Comité international des poids et mesures (CIPM MRA). Le CIPM MRA a été développé en réponse à un besoin croissant d'un système ouvert, transparent et complet pour donner aux utilisateurs des informations quantitatives fiables sur la comparabilité des services nationaux de métrologie et de fournir la base technique des accords plus larges négociés pour les échanges internationaux, le commerce et les affaires réglementaires. Notre Système de gestion de la qualité pour les services de mesure et les matériaux de référence certifiés est conforme aux exigences des normes ISO/IEC 17025 et ISO 17034.

## Références

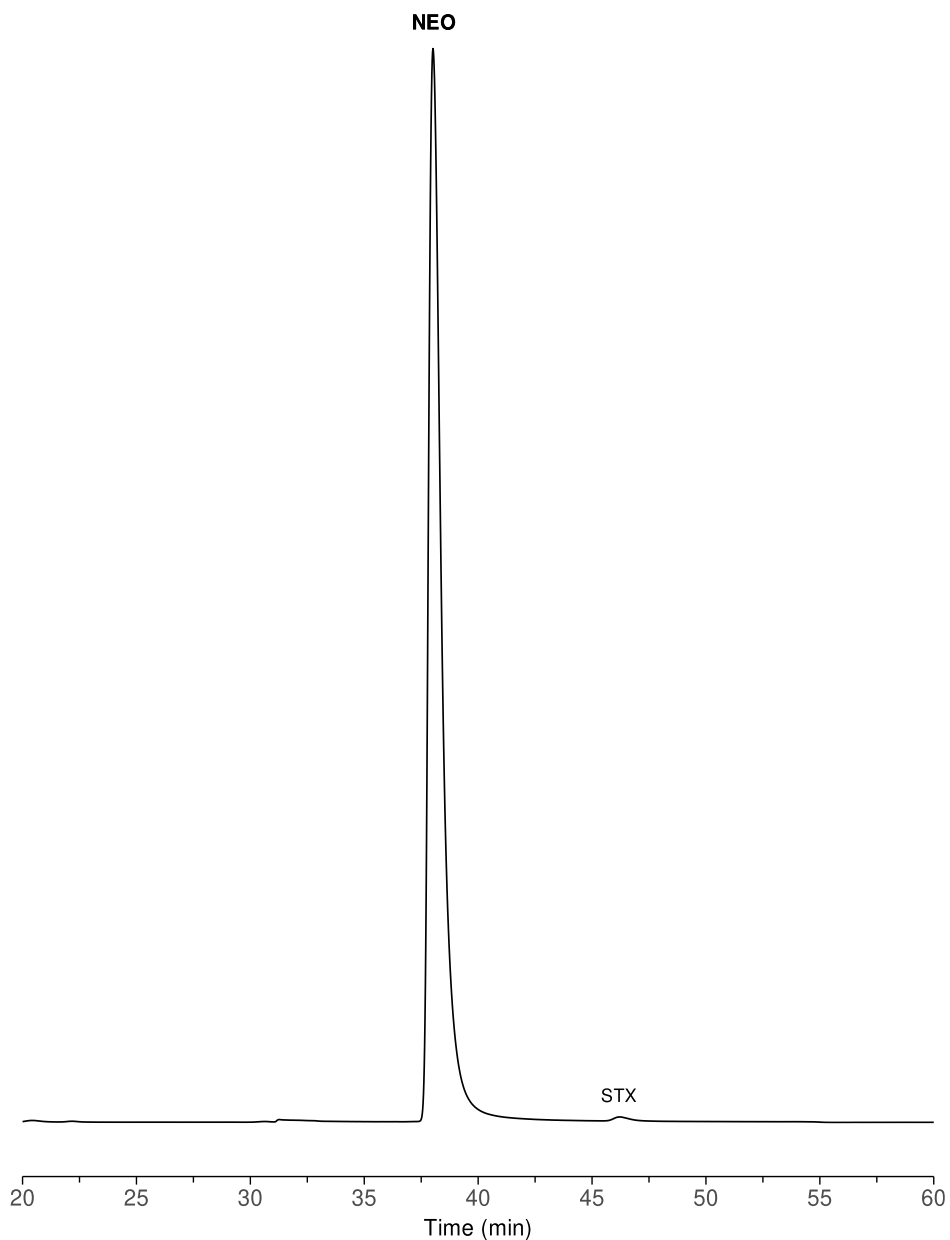
1. Hall S, Strichartz G, Moczydlowski E, Ravindran A, Reichardt PB. The saxitoxins: sources, chemistry, and pharmacology. *Am Chem Soc.* 1990; 418(3): 29-65. <https://doi.org/10.1021/bk-1990-0418.ch003>.
2. D'Agostino PM, Boundy MJ, Harwood TD, Carmichael WW, Neilan BA, Wood SA. Re-evaluation of paralytic shellfish toxin profiles in cyanobacteria using hydrophilic interaction liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Toxicon.* 2019; 158: 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.11.301>.
3. Laycock MV, Thibault P, Ayer SW, Walter JA. Isolation and purification procedures for the preparation of paralytic shellfish poisoning toxin standards. *Nat Toxins.* 1994; 2(4): 175-183. <https://doi.org/10.1002/nt.2620020405>.
4. Dell'Aversano C, Hess P, Quilliam MA. Hydrophilic interaction liquid chromatography-mass spectrometry for the analysis of paralytic shellfish poisoning (PSP) toxins. *J Chromatogr A.* 2005; 1081(2): 190-201. <http://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.05.056>.
5. van de Riet J, Gibbs RS, Muggah PM, Rourke WA, MacNeil JD, Quilliam MA. Liquid chromatography post-column oxidation (PCOX) method for the determination of paralytic shellfish toxins in mussels, clams, oysters, and scallops: collaborative study. *J AOAC.* 2011; 94(4): 1154-1176. <https://doi.org/10.1093/jaoac/94.4.1154>.
6. Qiu J, Wright EJ, Thomas K, Li A, McCarron P, Beach DG. Semiquantitation of Paralytic Shellfish Toxins by Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography-Mass Spectrometry Using Relative Molar Response Factors. *Toxins.* 2020; 12(6): 398. <https://doi.org/10.3390/toxins12060398>.
7. Burton IW, Quilliam MA, Walter JA. Quantitative <sup>1</sup>H NMR with external standards: Use in preparation of calibration solutions for algal toxins and other natural products. *Anal Chem.* 2005; 77(10): 3123-3131. <https://doi.org/10.1021/ac048385h>.
8. JCGM 100:2008. Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement. Joint Committee for Guides in Metrology (JCGM); 2008. <https://doi.org/10.59161/JCGM100-2008E>.



**Figure 1 :** Spectres de masse en balayage complet (a) et de dissociation induite par collision (SM/SM) (b) issus de l'analyse CPL-SMHR du CRM-NEO-e, obtenus à l'aide d'un spectromètre de masse Thermo QExactive-HF en mode positif. Toutes les données ont été acquises avec un réglage de résolution de 60 000. Les données SM/SM ont été acquises en mode de balayage avec surveillance de réactions en parallèle, en utilisant une énergie de collision normalisée de 60 eV.



**Figure 2 :** Analyse par CPL-SM/SM du CRM-NEO-e par surveillance de réactions sélectionnées. Conditions de la CPL : colonne TOSOH 5  $\mu$ m TSKgel Amide-80 (2,1  $\times$  250 mm) à 40 °C; phase mobile : (A) eau avec formate d'ammonium 2 mM et acide formique 50 mM, et (B) 100 % d'acétonitrile; gradient : de 10 % à 45 % de A en 25 min, jusqu'à 70 % de A à 27 min, maintenu jusqu'à 40 min; débit : 0,2 mL/min; volume d'injection : 1  $\mu$ L.



**Figure 3 :** Analyse par CPL–ox–FL du CRM-NEO-e. Conditions: Agilent 5  $\mu$ m Zorbax Bonus-RP, (4,6  $\times$  250 mm) at 35  $^{\circ}$ C; phase mobile : (A) solution contenant 11 mM de sulfonate d’heptane et 5,5 mM d’acide phosphorique dans l’eau (pH 7,1), et (B) solution contenant 11 mM de sulfonate d’heptane et 16,5 mM d’acide phosphorique dans l’eau (pH 7,1) et 9 % acétonitrile; gradient discontinu 100 % de A, passage à 100 % B à 25 min; 0,8 mL/min; volume d’injection de 25  $\mu$ L; oxydation post-colonne utilisant 5 mM d’acide périodique dans 100 mM de phosphate de sodium à pH 7,8; 0,4 mL/min; bobine de réaction à 80  $^{\circ}$ C; effluent acidifié avec 0,75 M d’acide nitrique; 0.4 mL/min; détection : fluorescence avec excitation à 330 nm et émission à 390 nm.

## Auteurs

Callie J. McAulay, Krista M. Thomas, Kelley L. Reeves, Bruno C. Garrido et Pearse McCarron.

Centre de recherche en métrologie, Conseil national de recherches du Canada, 1411, rue Oxford, Halifax (Nouvelle-Écosse) B3H 3Z1, Canada

## Remerciements

Les membres du personnel du CNRC suivants ont contribué à la production et à la certification du CRM-NEO-e : Daniel G. Beach, Bruno C. Garrido, Sabrina D. Giddings, Jack R. Gillies, Sophie Haverstock, Patricia LeBlanc, Callie J. McAulay, Pearse McCarron, Elizabeth M. Mudge, Ruth A. Perez Calderon, Cheryl Rafuse, Krista M. Thomas, Elliott J. Wright et Lydia Zamlynny.

Date d'émission : avril 2026

Version du document : 20260402

**Approuvé par :** \_\_\_\_\_

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

Ce certificat est valide uniquement si le matériau correspondant a été obtenu directement auprès du CNRC ou d'un revendeur autorisé. Les utilisateurs doivent s'assurer que le certificat à leur disposition est à jour. Pour les mises à jour, veuillez consulter le site suivant : [10.4224/crm.2026.neo-e.20251218](https://www150.statcan.gc.ca/n1/pub/10-4224/crm.2026.neo-e.20251218).

**Veuillez adresser tout commentaire, renseignement ou demande au :**

Conseil national de recherches du Canada  
Centre de recherche en métrologie  
1411, rue Oxford  
Halifax (Nouvelle-Écosse) B3H 3Z1

**Téléphone :** 902-426-8281

**Télécopieur :** 902-426-5426

**Courriel :** [CRM.sales-ventes.MRC@nrc-cnrc.gc.ca](mailto:CRM.sales-ventes.MRC@nrc-cnrc.gc.ca)

The logo for Canada, featuring the word "Canada" in a serif font with a small Canadian flag icon above the letter "a".