



Certificat d'analyse

Matériau de référence certifié

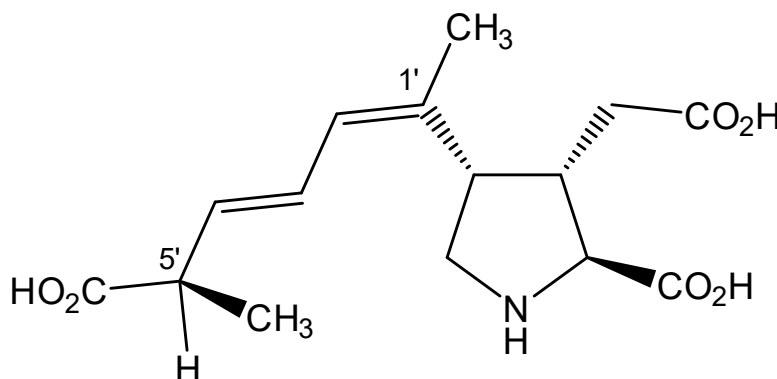
CRM-DA-h (Lot numéro 20210922)

Solution d'étalonnage certifiée pour l'acide domoïque

L'acide domoïque est une toxine responsable d'incidents d'intoxication par phycotoxine amnésique (IPA) [1, 2]. Le CRM-DA-h est une solution d'étalonnage certifiée d'acide domoïque dans de l'acétonitrile/eau (1:19, v/v), qui est conçue pour faciliter l'identification et le dosage de l'acide domoïque. La présente solution remplace la solution d'étalonnage CRM-DA-g.

Tableau 1 : Concentration certifiée et incertitude pour le CRM-DA-h.

Composé	µg/g	µg/mL (15-30 °C)	µmol/L (15-30 °C)
Acide domoïque + C5'- <i>epi</i> -acide domoïque	97,9 ± 5,5	97,1 ± 5,5	312 ± 18



Acide domoïque

Numéro CAS : 14277-97-5

InChIKey : VZFRNCSOCOPNDB-AOKDLOFSSA-N

Formule moléculaire : C₁₅H₂₁NO₆

Masse moléculaire : 311,33 g/mol

[M+H]⁺ : m/z 312,1442

Période de validité : 1 an après la date de vente

Conditions de stockage : +4 °C

Utilisation prévue

Le CRM-DA-h est une solution d'étalonnage certifiée conçue pour le développement de méthodes d'analyse et le dosage précis de l'acide domoïque. La concentration convient à la préparation d'une série de dilutions pour l'étalonnage d'instruments, comme la chromatographie en phase liquide avec détection par absorption ultraviolette (CPL-UV) ou par spectrométrie de masse (CPL-SM), ainsi que le dopage d'échantillons de contrôle à des fins de calculs de taux de récupération.

Instructions pour le stockage et l'utilisation

Pour assurer la stabilité du CRM-DA-h, les ampoules doivent être conservées à +4 °C. Les études sur la stabilité ont montré qu'une décomposition très graduelle peut se produire quand la solution est conservée dans un congélateur traditionnel (environ -12 °C), probablement en raison d'événements de congélation/décongélation. Il faut donc éviter de congeler la solution.

Avant d'ouvrir une ampoule, il faut la laisser revenir à la température ambiante et bien mélanger son contenu. Les ampoules doivent être ouvertes au niveau de la ligne prélimée. Un dispositif étalonné devrait être utilisé pour faire des transferts précis d'aliquotes. Une augmentation de la concentration causée par l'évaporation du solvant se produira dans l'éventualité où la solution est laissée à l'air libre plus de quelques minutes. Il est recommandé de ne pas évaporer le CRM jusqu'à son dessèchement complet, en raison de pertes possibles sur les parois en verre et de l'isomérisation accrue de l'acide domoïque. *Remarque* : Le volume de la solution n'est pas certifié. Seule la 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.

Préparation du CRM-DA-h

L'acide domoïque purifié a été obtenu auprès de BioVectra DCL (Charlottetown, PE, Canada). La structure et la pureté de l'acide domoïque ont été confirmées par CPL-SM [3] (Figures 1 et 2), CPL-UV [4, 5] (Figure 3), spectroscopie RMN et CPL avec détection des aérosols chargés (CPL-DAC). La pureté totale a été évaluée par RMNq avec l'acide benzoïque comme étalon interne [6]. Une m/z précise mesurée de 312,1431 ($\Delta = -3$ ppm pour $C_{15}H_{22}NO_6^+$) a été établie pour l'ion $[M+H]^+$ de l'acide domoïque en utilisant la CPL-SM haute résolution (CPL-SMHR).

La solution mère a été préparée en dissolvant l'acide domoïque purifié dans de l'eau désionisée par gravimétrie, le pH étant ajusté à 5 avec de l'hydroxyde de sodium dilué pour éviter la décomposition de l'acide domoïque. La solution de CRM-DA-h a été préparée en diluant avec précision la solution mère dans une solution aqueuse dégazée d'acétonitrile à 5 %. Des aliquotes ont été mises dans des ampoules en verre ambré préalablement remplies d'argon, 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-DA-h (tableau 1) est basée sur les résultats obtenus au CNRC par RMN quantitative (RMNq) du produit de départ et CPL-UV de la solution MRC. La valeur certifiée est la concentration combinée de l'acide domoïque et de son diastéréo-isomère C5', C5'-*épi*-AD. Les concentrations relatives des différents isomères (tableau 2) sont fournies en tant que valeurs informatives non certifiées qui ont été déterminées par des analyses CPL-UV et corrigées à l'aide des coefficients d'extinction publiés de l'acide domoïque et de ses isomères

[7]. Il a été démontré que l'acide domoïque s'isomérisent lentement en solution en C5'-épi-AD. Comme l'acide domoïque et le C5'-épi-AD présentent les mêmes spectres UV, les réponses relatives en CPL-UV sont les mêmes et, par conséquent, les proportions relatives peuvent être recalculées si nécessaire. Toutefois, comme le total combiné de l'acide domoïque et du C5'-épi-AD est certifié, les analystes doivent baser l'étalonnage des instruments sur la somme de leurs aires de pic.

Tableau 2 : Valeurs informatives pour les isomères de l'AD présents dans le CRM-DA-h au moment de l'emballage.

Composé	λ_{\max} (nm)	ϵ_{\max} ⁷ (L cm ⁻¹ mol ⁻¹)	Concentration* (µg/mL)
Acide domoïque	242	26 300	96,6
C5'-epi-acide domoïque	242	26 300	0,55
Acide isodomoïque E	241	~26 000	0,19
Acide isodomoïque D	244	~26 000	0,82
Acide isodomoïque A	220	~8 300	1,1

*Ces concentrations ne sont pas certifiées.

Homogénéité

Nous avons prélevé un nombre représentatif d'ampoules parmi la série d'ampoules produites et en avons déterminé les concentrations de CRM-DA-h par CPL-UV. Aucune hétérogénéité n'a pu être mise en évidence.

Stabilité

Les études de stabilité réalisées sur les préparations précédentes de CRM-DA ont démontré une bonne stabilité de l'acide domoïque dans de l'acétonitrile à 5 % stocké dans des ampoules scellées à des températures de +4 °C.

Incertitude

Toutes les sources raisonnables d'incertitudes liées à la caractérisation du CRM-DA-h ont été prises en compte et mesurées. L'incertitude totale estimée (U_{CRM}) comprend les incertitudes associées à la caractérisation du lot (u_{char}) et à l'instabilité lors du stockage (u_{stab}) [8]. Ces éléments sont donnés dans le tableau 3 et 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 3 : Éléments d'incertitude pour la valeur certifiée du CRM-DA-h.

Incertitudes	Relative*
U_{char}	0,020
U_{hom}	négligeable
U_{stab}	0,020

*Relative à la concentration donnée dans le tableau 1.

Consignes de sécurité

En cas d'ingestion de quantités suffisantes, l'acide domoïque peut causer de graves problèmes neurologiques tels que la perte de mémoire à court terme ou même la mort. Seules des personnes qualifiées devraient manipuler cette solution et des méthodes d'élimination appropriées devraient être employées. Il faut porter un équipement de protection individuelle approprié lors de l'ouverture d'une ampoule, en cas de bris du verre. Une fiche de données de sécurité (FDS) est disponible pour le CRM-DA-h.

Période de validité

Quand l'ampoule non ouverte est conservée à la température recommandée de +4 °C, la concentration certifiée de la solution CRM-DA-h 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'étalons préparés par gravimétrie d'acide benzoïque (NIST PS1) et de CRM-DA-g (lot numéro 20140730) du CNRC.

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. Quilliam MA, Wright JLC (1989). The amnesic poisoning mystery. *Anal Chem* 61:1053-1060. DOI: 10.1021/ac00193a002
2. Wright JLC, Boyd RK, de Freitas ASW, Falk M, Foxall RA, Jamieson WD, Laycock MV, McCulloch AW, McInnes AG, Odense P, Pathak VP, Quilliam MA, Ragan MA, Sim PG, Thibault P, Walter JA, Gilgan M, Richard DJA, Dewar D (1989). Identification of domoic acid, a neuroexcitatory amino acid, in toxic mussels from eastern Prince Edward Island. *Can J Chem* 67:481-490. DOI: 10.1139/v89-075
3. Quilliam MA, Thomson BA, Scott GJ, Siu KWM (1989). Ion-spray mass spectrometry of marine neurotoxins. *Rapid Commun Mass Spectrom* 3: 145-150. DOI: 10.1002/rcm.1290030508
4. Quilliam MA, Sim PG, McCulloch AW, McInnes AG (1989). High-performance liquid chromatography of domoic acid, a marine neurotoxin, with application to shellfish and plankton. *Int J Environ Anal Chem* 36: 139-154. DOI: 10.1080/03067318908026867
5. Quilliam MA, Xie M, Hardstaff WR (1995). Rapid extraction and cleanup for liquid chromatographic determination of domoic acid in unsalted seafood. *J AOAC Int* 78: 543-554. DOI: 10.1093/JAOAC/78.2.543
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. DOI: 10.1021/ac048385h
7. Falk M, Walter JA, Wiseman PW (1989). Ultraviolet spectrum of domoic acid. *Can J Chem* 67:1421-1425. DOI:10: 1139/v89-218
8. Pauwels J, Lamberty A, Schimmel H (2000). Evaluation of uncertainty of reference materials. *Accred Qual Assur* 5: 95–99. DOI: 10.1007/s007690050020

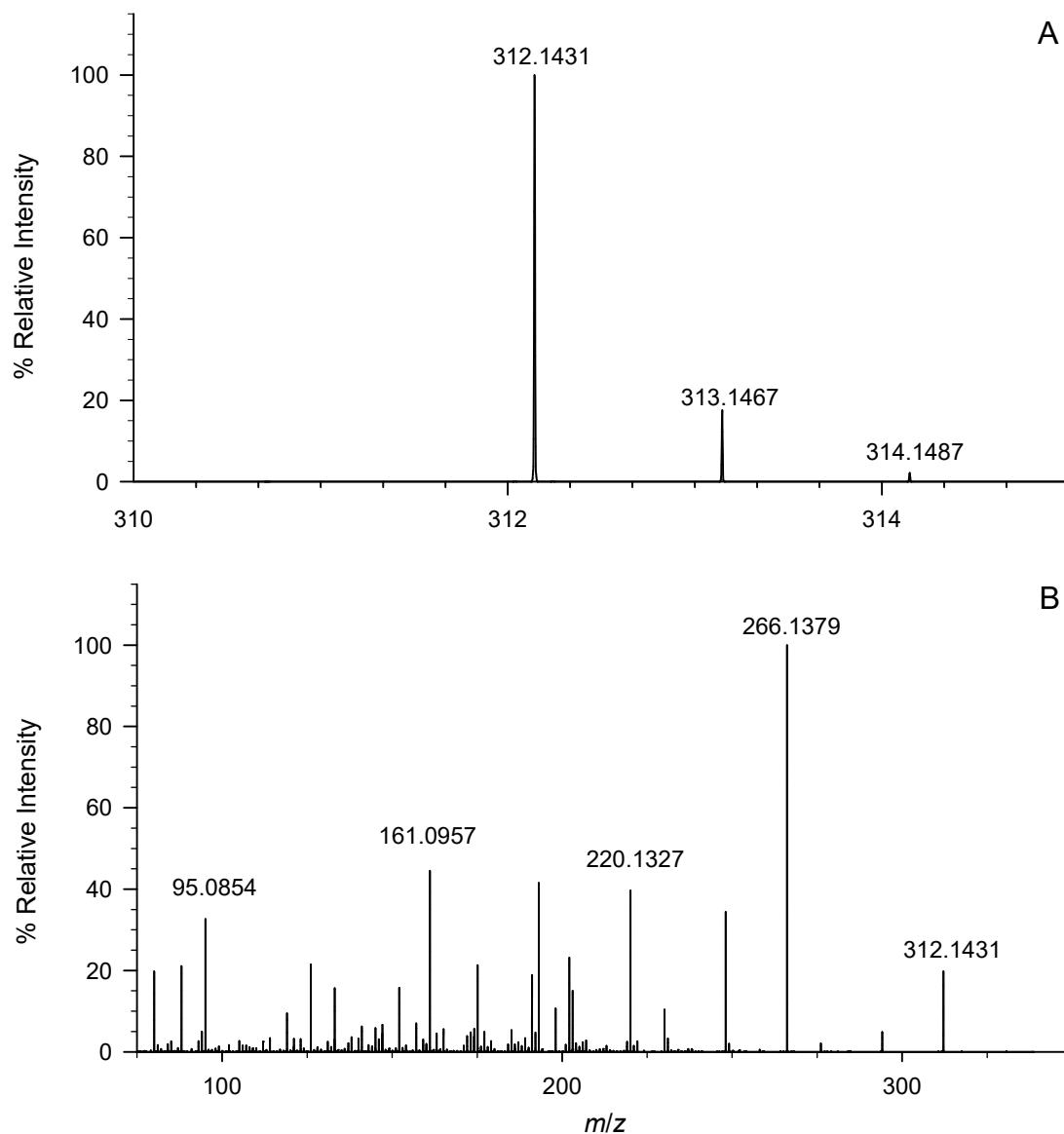


Figure 1 : Spectre CPL-SMHR à balayage complet (A) et en tandem (B) du CRM-DA-h, analysé sur un spectromètre de masse QExactive-HF ionisation par électrospray. Les données ont été collectées en mode positif. Résolution réglée à 60 000. Énergie de collision de 35 V pour le spectre en tandem de SM.

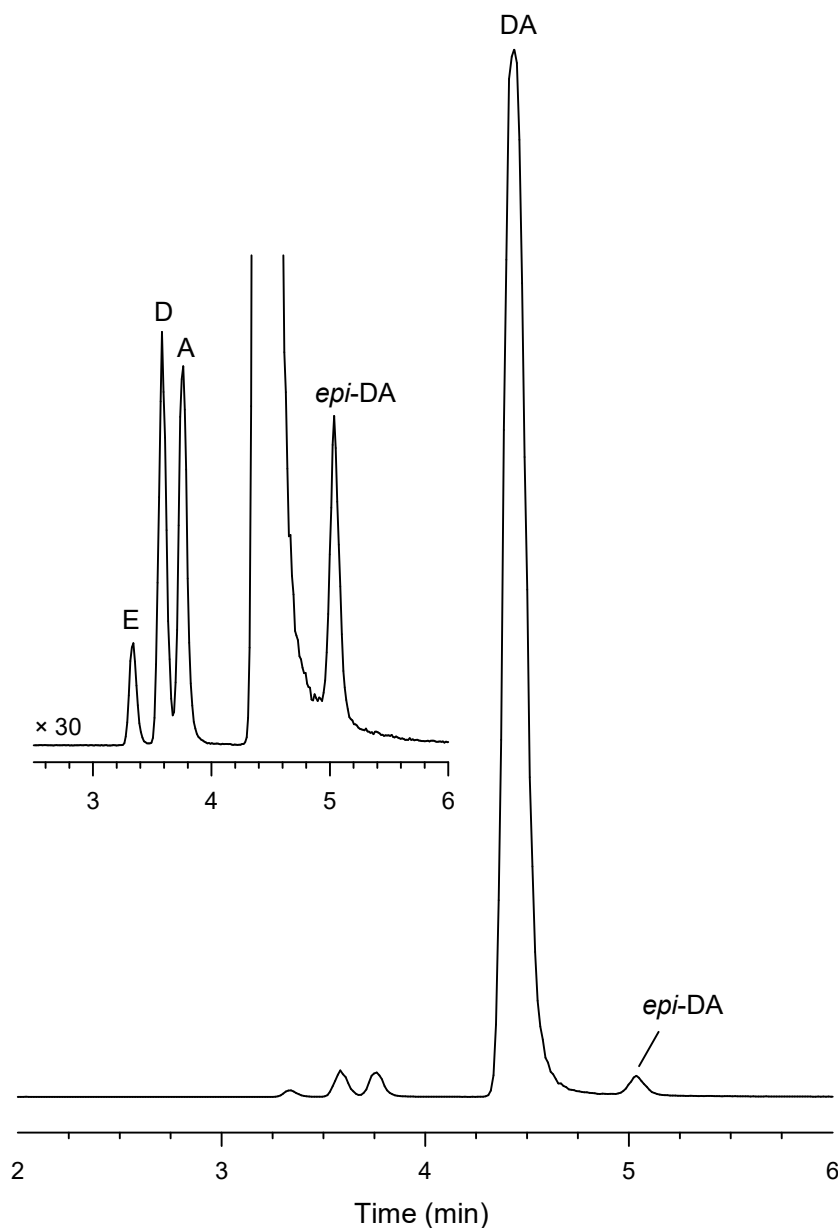


Figure 2 : Analyse par CPL-SM/SM du CRM-DA-h en mode suivi de réactions choisies (m/z 312 \rightarrow 166), avec un CPL Agilent 1290 relié à un Sciex 5500 QTRAP avec ionisation par électronébulisation. Conditions chromatographiques : Colonne Waters Acquity HSS T3 (100 mm \times 2,1 mm, 1,8 μ m) à 45 °C; phase mobile : 0,1 % d'acide formique dans de l'eau désionisée (A) et 0,1 % d'acide formique dans de l'acétonitrile (B); élution isocratique avec 10 % de B à 0,30 mL/min; volume injecté de 0,5 μ L. Conditions pour la SM : énergie de collision, 25 V; potentiel de désagglomération, 50 V, température de la source, 375 °C.

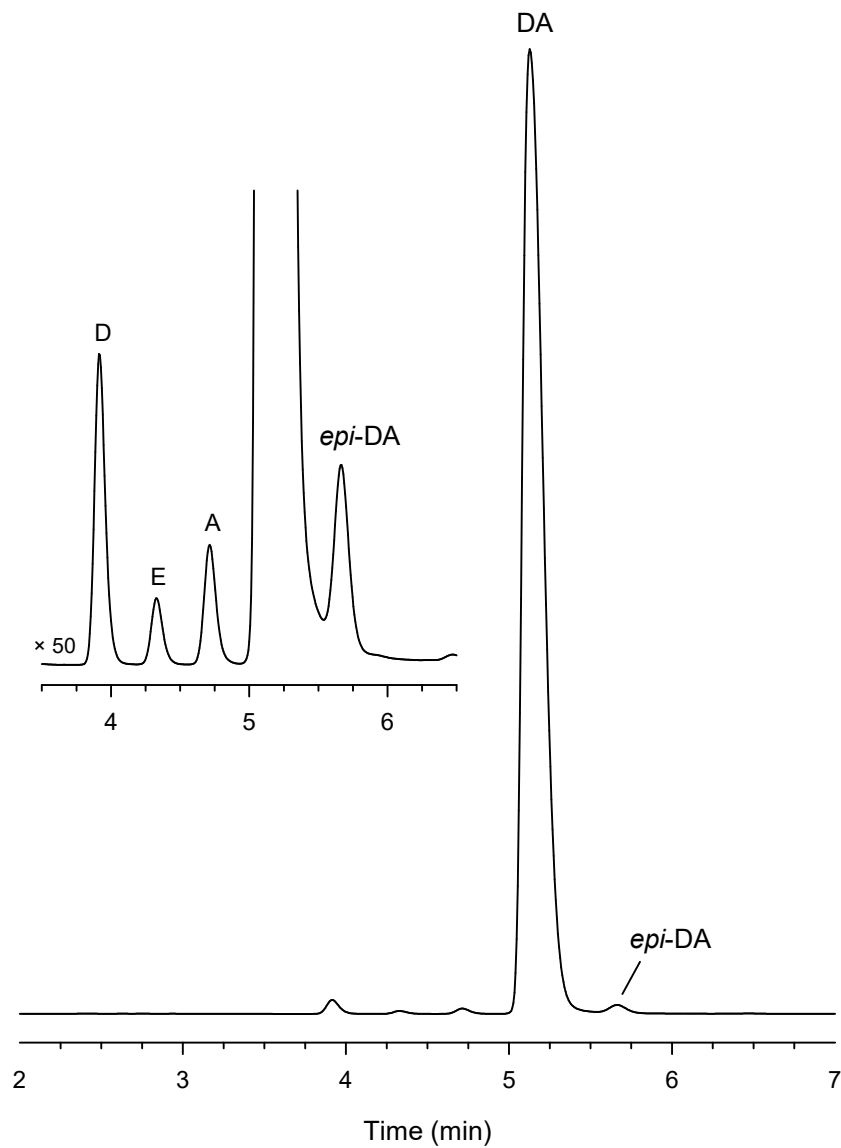


Figure 3 : Analyse par CPL-UV du CRM-DA-h. Conditions : Colonne Waters Acquity HSS T3 (100 mm × 2,1 mm, 1,8 µm) à +40 °C; phase mobile, acide trifluoracétique à 0,1 % dans de l'eau désionisée (A), et dans de l'acétonitrile (B); élution isocratique avec 10 % de B, à 0,40 mL/min; volume injecté, 5 µL; détection UV à 242 nm.

Remerciements

Les membres suivants du personnel du CNRC ont contribué à la production et à la certification du CRM-DA-h : Beach DG, Crain S, Giddings SD, LeBlanc P, Lewis NI, McCarron P, Miles CO, Mudge EM, Perez Calderon RA, Rafuse C, Reeves KL, Thomas K et Wright EJ.

Le présent document devrait être cité de la manière suivante :

Thomas K, Perez Calderon RA, Crain S, Miles CO, McCarron P « CRM-DA-h, un matériau de référence d'une solution d'étalonnage certifiée pour l'acide domoïque », Certificat d'analyse de Métrologie des biotoxines CRM-DA-h-20210922, Conseil national de recherches Canada, Halifax.

DOI <https://doi.org/10.4224/crm.2022.da-h.20210922>

Date de délivrance : Juillet 2022

Version du document : 20220729

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.

Adresser tout commentaire, toute information ou toute requête à :

Conseil national de recherches du 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