

ILNAS

Institut luxembourgeois de la normalisation
de l'accréditation, de la sécurité et qualité
des produits et services

ILNAS-EN 17203:2021

Produits alimentaires - Dosage de la citrinine dans les produits alimentaires par CLHP-SM/SM

Lebensmittel - Bestimmung von Citrinin
in Lebensmitteln mit HPLC-MS/MS

Foodstuffs - Determination of citrinin in
food by HPLC-MS/MS

05/2021

A decorative graphic in the bottom right corner featuring several interlocking gears in shades of blue and yellow. Overlaid on the gears is a vertical column of binary code (0s and 1s) and various mathematical symbols like plus, minus, and multiplication signs.

Avant-propos national

Cette Norme Européenne EN 17203:2021 a été adoptée comme Norme Luxembourgeoise ILNAS-EN 17203:2021.

Toute personne intéressée, membre d'une organisation basée au Luxembourg, peut participer gratuitement à l'élaboration de normes luxembourgeoises (ILNAS), européennes (CEN, CENELEC) et internationales (ISO, IEC) :

- Influencer et participer à la conception de normes
- Anticiper les développements futurs
- Participer aux réunions des comités techniques

<https://portail-qualite.public.lu/fr/normes-normalisation/participer-normalisation.html>

CETTE PUBLICATION EST PROTÉGÉE PAR LE DROIT D'AUTEUR

Aucun contenu de la présente publication ne peut être reproduit ou utilisé sous quelque forme ou par quelque procédé que ce soit - électronique, mécanique, photocopie ou par d'autres moyens sans autorisation préalable !

NORME EUROPÉENNE ^{ILNAS-EN 17203:2021} **EN 17203**
EUROPÄISCHE NORM
EUROPEAN STANDARD

Mai 2021

ICS 67.050

Remplace l' EN 17203:2018

Version Française

**Produits alimentaires - Dosage de la citrinine dans les
produits alimentaires par CLHP-SM/SM**

Lebensmittel - Bestimmung von Citrinin in
Lebensmitteln mit HPLC-MS/MS

Foodstuffs - Determination of citrinin in food by HPLC-
MS/MS

La présente Norme européenne a été adoptée par le CEN le 19 mars 2021.

Les membres du CEN sont tenus de se soumettre au Règlement Intérieur du CEN/CENELEC, qui définit les conditions dans lesquelles doit être attribué, sans modification, le statut de norme nationale à la Norme européenne. Les listes mises à jour et les références bibliographiques relatives à ces normes nationales peuvent être obtenues auprès du Centre de Gestion du CEN-CENELEC ou auprès des membres du CEN.

La présente Norme européenne existe en trois versions officielles (allemand, anglais, français). Une version dans une autre langue faite par traduction sous la responsabilité d'un membre du CEN dans sa langue nationale et notifiée au Centre de Gestion du CEN-CENELEC, a le même statut que les versions officielles.

Les membres du CEN sont les organismes nationaux de normalisation des pays suivants: Allemagne, Autriche, Belgique, Bulgarie, Chypre, Croatie, Danemark, Espagne, Estonie, Finlande, France, Grèce, Hongrie, Irlande, Islande, Italie, Lettonie, Lituanie, Luxembourg, Malte, Norvège, Pays-Bas, Pologne, Portugal, République de Macédoine du Nord, République de Serbie, République Tchèque, Roumanie, Royaume-Uni, Slovaquie, Slovénie, Suède, Suisse et Turquie.



COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION
EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION

CEN-CENELEC Management Centre: Rue de la Science 23, B-1040 Bruxelles

Sommaire

	Page
Avant-propos européen	3
Introduction	4
1 Domaine d'application	5
2 Références normatives	5
3 Termes et définitions	5
4 Principe	5
5 Réactifs	5
6 Appareillage et matériel	8
7 Mode opératoire	9
7.1 Préparation de l'échantillon pour essai	9
7.2 Extraction de la citrinine	9
7.3 Mode opératoire de dopage	10
7.4 Préparation des solutions d'échantillon pour essai	10
7.5 Analyse CL-SM/SM	10
7.5.1 Généralités	10
7.5.2 Conditions de fonctionnement du CL-SM/SM	11
7.6 Identification	12
8 Calcul	12
8.1 Généralités	12
8.2 Calcul avec l'étalon interne	12
9 Fidélité	14
9.1 Généralités	14
9.2 Répétabilité	14
9.3 Reproductibilité	14
10 Rapport d'essai	15
Annexe A (informative) Exemples de conditions pour des systèmes CL-SM/SM appropriés.....	16
Annexe B (informative) Chromatogrammes types	18
Annexe C (informative) Données de fidélité.....	21
Bibliographie	24

Avant-propos européen

Le présent document (EN 17203:2021) a été élaboré par le Comité Technique CEN/TC 275 « Analyse des produits alimentaires - Méthodes horizontales », dont le secrétariat est tenu par le DIN.

Cette Norme européenne devra recevoir le statut de norme nationale, soit par publication d'un texte identique, soit par entérinement, au plus tard en novembre 2021, et toutes les normes nationales en contradiction devront être retirées au plus tard en novembre 2021.

L'attention est attirée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. Le CEN ne saurait être tenu pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

Le présent document remplace l'EN 17203:2018.

Le présent document a été élaboré en réponse à une demande de normalisation soumise au CEN par la Commission européenne et l'Association européenne de libre-échange.

Les modifications par rapport à la version de 2018 sont les suivantes :

- 5.24 - suppression de la nécessité de préparer extemporanément les solutions d'étalonnage chaque jour ;
- 6.14.2 - suppression de l'exigence d'avoir une contamination croisée inférieure à 1 % ;
- 7.5.1 - reformulation de la première phrase ;
- 7.5.2 - suppression de la dernière partie « lorsque le mode d'ionisation négative est utilisé » du second paragraphe avant le Tableau 2, commençant par « Lorsqu'un ion adduit est utilisé comme ion parent » car elle n'était pas applicable à cette méthode ;
- 7.5.2, Tableau 2 - réintroduction de la dernière colonne « 2^{ème} qualifiant » ;
- 7.6 - reformulation de manière plus claire du paragraphe 2, ligne 1 ;
- 8.1 - harmonisation du paragraphe 3 avec les autres normes du CEN/TC 275/GT 5.

Selon le règlement intérieur du CEN/CENELEC, les organismes de normalisation nationaux des pays suivants sont tenus de mettre cette Norme européenne en application : Allemagne, Autriche, Belgique, Bulgarie, Chypre, Croatie, Danemark, Espagne, Estonie, Finlande, France, Grèce, Hongrie, Irlande, Islande, Italie, Lettonie, Lituanie, Luxembourg, Malte, Norvège, Pays-Bas, Pologne, Portugal, République de Macédoine du Nord, République Tchèque, Roumanie, Royaume-Uni, Serbie, Slovaquie, Slovénie, Suède, Suisse et Turquie.

Introduction

La mycotoxine citrinine est un polycétide métabolite secondaire principalement produit après récolte dans les denrées alimentaires et les aliments pour animaux par plusieurs moisissures du genre *Penicillium* (par exemple *P. citrinum*), *Aspergillus* (par exemple *A. candidus*) et *Monascus* (par exemple *M. purpureus*). La citrinine est principalement présente dans les grains stockés tels que le riz, le maïs, le blé, l'orge, l'avoine et le seigle. La citrinine peut contaminer le riz rouge fermenté par *Monascus purpureus* et les compléments alimentaires à base de levure de riz rouge.

AVERTISSEMENT 1 — Des précautions et des mesures de protection appropriées doivent être prises lors de la réalisation des étapes de travail impliquant l'utilisation de produits chimiques dangereux. Il convient de tenir compte de la dernière version du Règlement (CE) n° 1907/2006 sur les substances dangereuses [5], ainsi que des décrets nationaux appropriés.

AVERTISSEMENT 2 — Le présent document peut impliquer l'utilisation de produits et la mise en œuvre de modes opératoires et d'appareillages à caractère dangereux. Le présent document n'a pas pour but d'aborder tous les problèmes de sécurité liés à son utilisation. Il incombe à l'utilisateur du présent document d'établir, avant de l'utiliser, des pratiques appropriées en matière d'hygiène et de sécurité et de déterminer l'applicabilité des restrictions réglementaires.

AVERTISSEMENT 3 — La citrinine est connue pour avoir des propriétés néphrotoxiques endommageant les tubes proximaux des reins [6].

1 Domaine d'application

Le présent document décrit un mode opératoire de détermination de la teneur en citrinine dans les aliments [céréales, levure de riz rouge (LRR)], les herbes aromatiques et les compléments alimentaires par chromatographie liquide couplée à une spectrométrie de masse en tandem (CL-SM/SM).

Cette méthode a été validée pour la citrinine dans la levure de riz rouge et dans les compléments alimentaires à base de levure de riz rouge dans la gamme de concentration de 2,5 µg/kg à 3 000 µg/kg et dans la farine de blé dans la gamme de concentration de 2,5 µg/kg à 100 µg/kg.

Les expériences en laboratoire ont montré que cette méthode est également applicable au riz blanc, aux herbes aromatiques telles que les feuilles de *Ginkgo biloba* en poudre et aux compléments alimentaires formulés dans la gamme de concentration de 2,5 µg/kg à 50 µg/kg.

2 Références normatives

Les documents suivants sont cités dans le texte de sorte qu'ils constituent, pour tout ou partie de leur contenu, des exigences du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence s'applique (y compris les éventuels amendements).

EN ISO 3696, *Eau pour laboratoire à usage analytique – Spécification et méthodes d'essai (ISO 3696)*

3 Termes et définitions

Aucun terme n'est défini dans le présent document.

L'ISO et l'IEC tiennent à jour des bases de données terminologiques destinées à être utilisées en normalisation, consultables aux adresses suivantes :

- IEC Electropedia : disponible à l'adresse <https://www.electropedia.org/>
- ISO Online browsing platform : disponible à l'adresse <https://www.iso.org/obp>

4 Principe

Une prise d'essai est humidifiée avec une solution aqueuse d'acide chlorhydrique et extraite par un mélange acétate éthyle/acétonitrile/acide acétique glacial pendant 60 min. L'extrait est agité et centrifugé après ajout de sulfate de magnésium et de chlorure de sodium pour fixer l'eau et permettre la séparation de phase. Une portion aliquote du surnageant est recueillie, filtrée, additionnée avec la solution d'étalon interne (EI) et analysée par CL-SM/SM en phase inverse. La quantification est basée sur la correspondance des rapports citrinine/citrinine-¹³C et sur les concentrations en citrinine.

5 Réactifs

Sauf spécification contraire, utiliser exclusivement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau de qualité 1 comme défini dans l'EN ISO 3696. Il est également possible d'utiliser des solutions disponibles dans le commerce qui présentent des propriétés équivalentes aux réactifs listés.

5.1 Acétate d'éthyle, qualité analytique ou supérieure.

5.2 Acétonitrile, qualité CL-SM.

5.3 Acide acétique glacial (CH₃COOH), qualité analytique ou supérieure.

5.4 Acide acétique glacial (CH₃COOH), qualité CL-SM.

5.5 Sulfate de magnésium, anhydre (MgSO_4), qualité analytique ou supérieure.

5.6 Chlorure de sodium (NaCl), qualité analytique ou supérieure.

5.7 Solution d'acide chlorhydrique (HCl), qualité analytique ou supérieure, fraction volumique $\varphi(\text{HCl}) = 37\%$ (acidimétrique).

5.8 Eau (H_2O), déionisée (ultrapure).

5.9 Eau (H_2O), qualité CL-SM.

5.10 Méthanol (MeOH), qualité CL-SM.

5.11 Acétate d'ammonium ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$), qualité CL-SM.

5.12 Solution d'extraction 1.

Ajouter 10 ml d'acide acétique glacial (5.3) à 990 ml d'eau (5.8) et mélanger pour obtenir un mélange eau/acide acétique glacial (99+1, v+v). Dissoudre 100 g de chlorure de sodium (5.6) dans 1 l de ce mélange et ajouter 16 ml de solution d'acide chlorhydrique (5.7). Cette solution peut être utilisée pendant 1 mois si elle est conservée à température ambiante.

5.13 Solution d'extraction 2.

Mélanger 240 ml d'acétonitrile (5.2) avec 750 ml d'acétate d'éthyle (5.1) et 10 ml d'acide acétique glacial (5.3). Cette solution (acétate d'éthyle + acétonitrile + acide acétique glacial, 75+24+1, v+v+v) peut être utilisée pendant 1 mois si elle est conservée à température ambiante.

5.14 Solution de dilution.

Mélanger 80 ml de méthanol (5.10) avec 18 ml d'eau (5.9) et 2 ml d'acide acétique glacial (5.4). Cette solution (méthanol + eau + acide acétique glacial, 80+18+2, v+v+v) peut être utilisée pendant 1 mois si elle est conservée à température ambiante.

5.15 Acétate d'ammonium/acide acétique glacial dans l'eau.

Dissoudre 9,5 g d'acétate d'ammonium (5.11) dans 12,5 ml d'eau (5.9), puis ajouter 12,5 ml d'acide acétique glacial (5.4) et bien mélanger. Cette solution peut être utilisée pendant 12 mois si elle est conservée à une température inférieure à $-18\text{ }^\circ\text{C}$.

5.16 Phase mobile A : acétate d'ammonium/acide acétique glacial dans l'eau, concentration molaire $c = 5\text{ mmol/l}$.

Ajouter 1 ml de la solution d'acétate d'ammonium/acide acétique glacial dans l'eau (5.15) à 999 ml d'eau (5.9) et bien mélanger.

5.17 Phase mobile B : acétate d'ammonium/acide acétique glacial dans le méthanol, $c = 5\text{ mmol/l}$.

Ajouter 1 ml de la solution d'acétate d'ammonium/acide acétique glacial dans l'eau (5.15) à 999 ml de méthanol (5.10) et bien mélanger.

5.18 Citrinine, étalon analytique $> 99\%$, par exemple en poudre ou solution étalon certifiée.