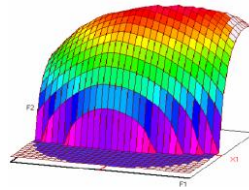




Année Universitaire : 2016-2017



Master Sciences et Techniques CAC Ageq
Chimiométrie et Analyse Chimique : Application à la gestion de la qualité

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
Pour l'Obtention du Diplôme de Master Sciences et
Techniques

**Validation des méthodes analytique selon
la norme française NF T90-210**

Présenté par :

- AMZAD Mohamed

Encadré par :

- Mr BOUSLAMTI Amine (LACQ)

- Pr. El GHADRAOUI E.H. (FST Fès)

Soutenu Le 12 Juin 2017 devant le jury composé de :

-
-
-
-

Stage effectué à : laboratoire d'analyse et de contrôle qualité (EVM)

Remerciement

Avant tout développement sur cette expérience professionnelle, il apparaît opportun de commencer ce rapport de stage par des remerciements, à ceux qui m'ont beaucoup appris au cours de ce stage, et à ceux qui ont la gentillesse de faire de ce stage un moment très profitable.

Mais si les remerciements se ressemblent d'un livre à un autre, c'est parce que dans la plupart des temps les auteurs manquent des mots pour décrire adéquatement l'étendue de leur dette. Et non parce qu'ils ressentent tous le même degré de gratitude pour ceux qui les ont soutenus.

Alors Je m'en vais moi aussi, pour commencer remercier mon maitre du stage, **Mr BOUSLAMTI Amine** responsable laboratoire d'analyse et de contrôle qualité, pour son accueil, le temps passé ensemble et le partage de son expertise au quotidien. Grâce aussi à sa confiance j'ai pu m'accomplir totalement dans mes missions. Il fut d'une aide précieuse dans les moments les plus délicats.

Je remercie également toute l'équipe du laboratoire LACQ : **Ben Hida Asmaa, Balkouch Said** et **El Ouazizi Maryam** pour leurs accueils, leurs esprits d'équipe et leurs recours toute au long du stage.

Je tiens à remercier mon encadrant à la FST de Fès Professeur **El GhADRAOUI E.H** pour l'aide et les conseils concernant les missions évoquées dans ce rapport.

Mes remerciements aux membres de jurys pour l'acceptation de juger ce travail.

Que tous nos chers condisciples, ma famille, mes amis trouvent ici leur part contribution.

Table des matières

Introduction générale	1
Chapitre 1 : Présentation du groupe éléphant vert	2
I. Généralités.....	2
II. Diagnostic du système ELEPHANT VERT Maroc	2
1. GREEN BIZ	3
2. EV Biofertilisant.....	3
3. VALORHYZE.....	3
4. La clinique des plantes (CDP).....	3
5. Laboratoire d'analyses et contrôle de qualité (LACQ)	4
a. Présentation du laboratoire LACQ.....	4
b. Activités et objectifs du Laboratoire d'analyses et de contrôle qualité (LACQ) :	4
Chapitre 2 : étude bibliographique.....	6
I. Introduction :	6
1. Définition d'une validation de méthode	6
2. Critères de la validation d'une méthode analytique	6
II. Présentation des deux protocoles de validation selon l'accréditation ISO 17025	8
A. Le protocole NF T90-210 (qualité d'eau).....	8
1. Domaine d'application	8
2. Principe.....	8
3. Évaluation des performances d'une méthode analytique	8
B. Protocole de la NF V-03-110 (Analyse des produits agricoles et alimentaires).....	13
1. Domaine d'application.....	13
2. Mise en œuvre du profil d'exactitude.....	13
C. Etude comparative des deux normes	20
III. Matériel et méthodes	21
1. La méthode de dosage des oligo-éléments Cuivre, Manganèse, Zinc et le Fer par spectroscopie d'émission atomique ICP-AES dans la matrice sol.....	21
a. Principe de fonctionnement du système ICP-AES	22
b. Mode opératoire	23
2. La méthode de dosage des cations : Calcium, sodium, Magnésium et potassium dans la matrice eau par ICP-AES	24
a. Mode opératoire	24
3. La méthode de dosage du carbone organique dans le sol par oxydation sulfochromique.....	26

Projet de fin d'études

a. Principe de fonctionnement du spectroscopie UV-visible	26
b. Mode opératoire :	27
Chapitre 3 : Partie expérimentale.....	29
I. La méthode de dosage des oligo-éléments (Cu, Mn, Zn, Fe) par spectroscopie d'émission atomique ICP-AES dans la matrice sol	29
1. Étude de la fonction d'étalonnage	29
2. Étude de la limite quantification présumée	33
II. La méthode de dosage des cations (K, Mg, Na et Ca) par ICP-AES dans la matrice eau.....	34
1. Étude de la fonction d'étalonnage	34
2. Étude de la limite quantification présumée	39
3. Étude de l'exactitude de la méthode pour les quatre éléments.....	40
4. Suivi de la méthode de dosage des cations par ICP-AES par la carte de contrôle	43
III. Dosage du carbone organique dans le sol par oxydation sulfochromique :	44
1. Étude de la fonction d'étalonnage	45
2. Étude de la limite quantification présumée	47
3. Étude de l'exactitude de la méthode pour un niveau à 0.2%, 0.8% et 1.6%	49
4. Suivi de la méthode de dosage du carbone organique avec la carte de contrôle	50
Conclusion générale.....	51

Listes des tableaux

Tableau 1 : Test d'adéquation de la fonction d'étalonnage.....	10
Tableau 2 : calcul des paramètres d'exactitude	12
Tableau 3 : organisation des mesures du plan de validation	15
Tableau 4 : Organisation des essais du plan d'étalonnage	16
Tableau 5 : critères de fidélité et de justesse par niveau.....	17
Tableau 6 : résumé des différents éléments qui serviront au profil d'exactitude, incluant les limites des intervalles de tolérance par niveau	18
Tableau 7 : préparations des solutions étalons.....	24
Tableau 8 : préparations des solutions étalons.....	25
Tableau 9 : gamme d'étalonnage	25
Tableau 10 : Solutions étalons de glucose dans une solution de bichromate	28
Tableau 11 : Tableau du signal obtenu sur des étalons à des jours différents pour l'évaluation d'une fonction linéaire de cuivre.....	29
Tableau 12 : Tableau du signal obtenu sur des étalons à des jours différents pour l'évaluation d'une fonction linéaire de Fer	30
Tableau 13 : Tableau du signal obtenu sur des étalons à des jours différents pour l'évaluation d'une fonction linéaire de manganèse.....	30

Projet de fin d'études

Tableau 14 : Tableau du signal obtenu sur des étalons à des jours différents pour l'évaluation d'une fonction linéaire du Zinc.....	30
Tableau 15 : tableau des grandeurs retrouvées pour les éléments Cuivre et le Fer	30
Tableau 16 : tableau des grandeurs retrouvées pour les éléments manganèse et Zinc.....	31
Tableau 17 : Tableau des biais relatifs par rapport aux valeurs théoriques pour le Cuivre et le Fer....	31
Tableau 18 : Tableau des biais relatifs par rapport aux valeurs théoriques pour le manganèse et le Zinc	31
Tableau 19 : Test d'adéquation au modèle d'étalonnage du Cuivre	31
Tableau 20 : Test d'adéquation au modèle d'étalonnage de Fer.....	32
Tableau 21 : Test d'adéquation au modèle d'étalonnage du manganèse	32
Tableau 22 : Test d'adéquation au modèle d'étalonnage du Zinc	32
Tableau 23 : Tableau du signal obtenu sur des étalons à des jours différents pour l'évaluation d'une fonction linéaire pour le calcium.....	35
Tableau 24 : Tableau du signal obtenu sur des étalons à des jours différents pour l'évaluation d'une fonction linéaire du manganèse.....	35
Tableau 25 : Tableau du signal obtenu sur des étalons à des jours différents pour l'évaluation d'une fonction linéaire du sodium	35
Tableau 26 : Tableau du signal obtenu sur des étalons à des jours différents pour l'évaluation d'une fonction linéaire pour le potassium	35
Tableau 27 : Tableau des grandeurs retrouvées pour le calcium et le magnésium.....	36
Tableau 28 : Tableau des grandeurs retrouvées pour le sodium et le potassium	36
Tableau 29 : Tableau des biais relatifs par rapport aux valeurs théoriques du calcium et de magnésium	36
Tableau 30 : Tableau des biais relatifs par rapport aux valeurs théoriques du sodium et potassium .	36
Tableau 31 : Test d'adéquation au modèle d'étalonnage du calcium	37
Tableau 32 : Test d'adéquation au modèle d'étalonnage du manganèse	37
Tableau 33 : Test d'adéquation au modèle d'étalonnage du sodium.....	37
Tableau 34 : Test d'adéquation au modèle d'étalonnage du potassium.....	37
Tableau 35 : résultats de détermination de la limite de quantification.....	39
Tableau 36 : valeurs de références de la limite de quantification assignés à chaque élément.....	39
Tableau 37 : tableau des résultats de la limite de quantifications pour les quatre éléments	40
Tableau 38 : Paramètres d'exactitude de la limite de quantification présumée pour les quatre éléments.....	40
Tableau 39 : tableau des résultats de l'exactitude de la méthode de sodium.....	41
Tableau 40 : tableau des résultats de l'exactitude de la méthode du manganèse.....	41
Tableau 41 : tableau des résultats de l'exactitude de la méthode du potassium.....	41
Tableau 42 : tableau des résultats de l'exactitude de la méthode du calcium	41
Tableau 43 : estimation des paramètres d'exactitude du manganèse et sodium	42
Tableau 44 : estimation des paramètres d'exactitude du potassium et calcium	42
Tableau 45 : tableau des résultats de la carte de contrôle des éléments (K, Na, Mg, Ca).....	43
Tableau 46 : Tableau du signal obtenu sur des étalons à des jours différents pour l'évaluation d'une fonction linéaire	45
Tableau 47 : Tableau des grandeurs retrouvées	45
Tableau 48 : Tableau des biais relatifs par rapport aux valeurs théoriques	45
Tableau 49 : Test d'adéquation au modèle d'étalonnage de la méthode	46
Tableau 50 : résultats de dilution du matériau de référence.....	47

Projet de fin d'études

Tableau 51 : tableau des résultats de la limite de quantification	48
Tableau 52 : Paramètres d'exactitude de la limite de quantification présumée	48
Tableau 53 : tableau des résultats de l'exactitude de la méthode	49
Tableau 54 : Estimation des paramètres d'exactitude de la méthode pour trois niveaux	49
Tableau 55 : tableau des résultats de la carte de contrôle du carbone organique	50

Listes des figures

Figure 1 : groupe éléphant vert Maroc	2
Figure 2 : les trois compartiments du laboratoire LACQ	4
Figure 3 : les activités du laboratoire d'analyses et contrôle de qualité (LACQ).....	5
Figure 4 : les unités de compétence du laboratoire LACQ.....	5
Figure 5 : profil d'exactitude exprimé par le taux de recouvrement	19
Figure 6 : système d'analyse ICP-AES	21
Figure 7 : schéma descriptif des différentes composantes de l'ICP-AES	23
Figure 8 : spectromètre UV visible	26
Figure 9 : répartition des biais en % par rapport à des EMA pour les quatre éléments à analyser.....	33
Figure 10 : Graphique des biais relatifs par rapport aux grandeurs théoriques pour les éléments étudiés.....	38
Figure 11 : cartes de contrôle des éléments (K, Mg, Ca, Na)	44
Figure 12 : répartition des biais en % par rapport à des EMA définie par le laboratoire	47
Figure 13 : carte de contrôle du carbone organique sur le sol de référence	50

Abréviations

LACQ : laboratoire d'analyse et de contrôle qualité.

NF : norme française.

ISO/CEI : Organisation internationale de normalisation/Commission électrotechnique internationale.

EVM : éléphant vert Maroc

CDP : cliniques des plantes

VRZ : valorhyze

R&D : recherche et développement

COFRAC : Comité français d'accréditation

SFSTP : Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques

ICP-AES : spectroscopie d'émission atomique, plasma à couplage inductif

IMANOR : Institut Marocain de Normalisation

EMA : écart maximale acceptable

MRC : matériau de référence certifié

MRE : matériau de référence externe

MRI : matériau de référence interne

LQ : limite de quantification

Introduction générale

Depuis 50 ans, les analyses agronomiques et environnementales ont pris une importance croissante dans la gestion des exploitations. Outil d'aide à la décision incontournable, le recours à l'analyse permet de concilier des objectifs de production et des itinéraires techniques respectueux de l'environnement. Le laboratoire d'analyse et de contrôle qualité (LACQ) apporte des solutions toujours nouvelles pour le développement d'une agriculture moderne, source d'une nourriture de qualité pour tous et respectueuse de l'environnement.

Pour que le laboratoire répond aux besoins des clients doit démontrer qu'il travaille suivant un système de management de la qualité, qu'il est compétent et capable de produire des résultats techniquement valides, selon la norme NF ISO/CEI 17025. Cette norme constitue le référentiel pour l'accréditation des laboratoires.

La partie technique de l'ISO 17025 exige que toute méthode utilisée par le laboratoire doit être validée et répondre aux normes de validation, c'est l'objectif principal de mon projet de fin d'étude : la validation des méthodes analytiques selon le protocole de la norme française NF T90-210.

Ce rapport est organisé de la façon suivante :

Le premier chapitre consacré à la présentation de la société groupe éléphant vert et le laboratoire d'analyse et de contrôle qualité (LACQ).

Le deuxième chapitre décrit l'étude bibliographique sur les deux principales référentielles de la validation (NF T90-210 et NF V03-110), et les points de convergence ainsi que les principales différences entre les 2 normes, puis la description des matériels et méthodes étudiés pendant le stage.

Le troisième chapitre traite toutes les expériences réalisées et les traitements statistiques pour la validation analytique.

Chapitre 1 : Présentation du groupe éléphant vert

I. Généralités

ÉLÉPHANT VERT est un groupe commercial suisse créé par Antenna Technologies, une fondation spécialisée dans la recherche, l'adaptation et le transfert de technologies innovantes permettant de lutter contre la pauvreté et de promouvoir un développement durable.

ÉLÉPHANT VERT agit sous le soutien financier d'Antenna Technologies, cette dernière est une fondation suisse soutenant financièrement différents groupes EV, engagé pour une agriculture durable, propose des produits agricoles issus de la recherche et du développement dans le domaine des micro-organismes d'intérêt agricole ainsi que des services d'accompagnement technique, financier et industriel.

EV Maroc, filiale du groupe, a été créée en 2012 pour produire et vendre des biens et services agricoles destinés avant tout au marché marocain, et voués dans un deuxième temps à l'exportation. Elle se compose de plusieurs filiales ; EV Biofertilisant, Valorhyze, la Clinique des plantes (CDP), Green Biz et une nouvelle implantation laboratoire d'analyse et contrôle qualité (LACQ) le lieu de mon stage.



Figure 1 : groupe éléphant vert Maroc

II. Diagnostic du système ELEPHANT VERT Maroc

EV Maroc se compose de plusieurs filiales spécifiques permettant de structurer les activités. Toutes les filiales sont plus ou moins liées par leurs activités. Chacune d'elles ont leur rôle pour manifester et participer au développement d'une agriculture durable répondant ainsi aux objectifs du groupe.

1. GREEN BIZ

GREEN BIZ basée à Rabat, est le centre de gestion des projets financiers d'EV Maroc. Ces prestations sont intégrées à la gamme de service NOVATOOLS FINANCE. La filiale est chargée d'investir dans les PME innovantes en leur achetant des produits de stimulation et de protection des plantes qui forment respectivement les gammes de produits, NOVASTIM et NOVAPROTECT, pour la revente à leur nom. La revente est possible grâce au développement d'un réseau de revendeurs sur l'ensemble du territoire marocain qui représentent environ 50% des ventes. Cet investissement permet à l'entreprise de financer ses coûts de recherches, d'homologation voire de certains coûts de développement commercial.

GREEN BIZ fait également le lien financier entre toutes les filiales présentes au Maroc.

2. EV Biofertilisant

EV Biofertilisant est le pilier d'EV Maroc, située à Meknès correspond à l'usine de fabrication de biofertilisants (ORGANOVA, FERTINOVA et amendements organiques). La vente de ces produits correspond à la source principale formant le chiffre d'affaire de la maison mère. L'entreprise s'engage à traiter et valoriser les déchets de la filière agricole locale. Pour minimiser le coût de production et minimiser ses émissions de gaz à effet de serre, la stratégie mise sur l'utilisation de matières premières achetées dans les villes proches de l'usine. Par ailleurs, le maintien et le développement de l'activité repose sur la demande et les besoins des clients. EV Biofertilisant collabore avec VRZ qui lui assure les nombreux contrôles qualité et lui fournit les solutions enrichies en bactéries nécessaires à la fabrication des amendements organiques ajustés.

3. VALORHYZE

VRZ est un autre maillon constituant EV Maroc. C'est le centre de recherche et développement. Dans les laboratoires, les chercheurs s'activent à développer de nouveaux produits à base de micro-organismes du sol ayant des effets sur la nutrition ou la protection des plantes et du sol.

4. La clinique des plantes (CDP)

La Clinique des plantes est une station d'essais aux champs. Elle est mise à disposition pour réaliser tous les essais dont la R&D à besoin. C'est elle qui assure l'accompagnement technique (NOVATOOLS Techniques) des nouveaux clients d'EV Maroc de manière à acquérir leur confiance. Elle propose également des formations et des expérimentations aux acteurs du monde agricole.

5. Laboratoire d'analyses et contrôle de qualité (LACQ)

a. Présentation du laboratoire LACQ

Le laboratoire d'analyse et contrôle de qualité LACQ c'est une nouvelle implantation dans le groupe éléphant vert Maroc, ce laboratoire a pour mission de répondre aux préoccupations majeures des différents acteurs de l'agriculture et de l'environnement.

Le laboratoire LACQ constitué de trois compartiments, chaque compartiment est destiné pour des analyses spécifiques avec des équipement compatibles au domaine d'analyses.



Figure 2 : les trois compartiments du laboratoire LACQ

b. Activités et objectifs du Laboratoire d'analyses et de contrôle qualité (LACQ) :

Le laboratoire d'analyses et de contrôle qualité a pour but de contrôler la qualité physico-chimique et microbiologie des différentes matières : amendement organique support de culture engrais, organo-minéral, sol au sein du groupe éléphant vert.

LACQ alimente les activités recherche et développement des différents pole R&D de VALORHYZE. De plus il réalise des analyses en prestation de service pour des clients externes afin d'offrir un meilleur niveau de service et satisfaire les besoins des clients.

LACQ est engagés dans un système qualité reconnu par les organismes d'accréditations et les autorités publiques (NF EN 17025). Ces reconnaissances garantissent les compétences techniques, la fiabilité des résultats et prouvent l'indépendance du laboratoire.

Le LACQ réalise des analyses environnementales sur différents matrices : sol, végétaux, matières fertilisantes, engrais, compost et eau. Les analyses sont réalisées selon des protocoles normés suivant les programmes COFRAC 96, 108 et 156.

Les activités du LACQ sont organisées autour de 4 unités de compétence qui sont présentés dans la figure 3 auxquelles le service qualité apporte son soutien : unité des analyses physico-chimiques, unité des analyses des éléments de traces métalliques, et unité des analyses des éléments de traces organiques, microbiologiques et inertes.

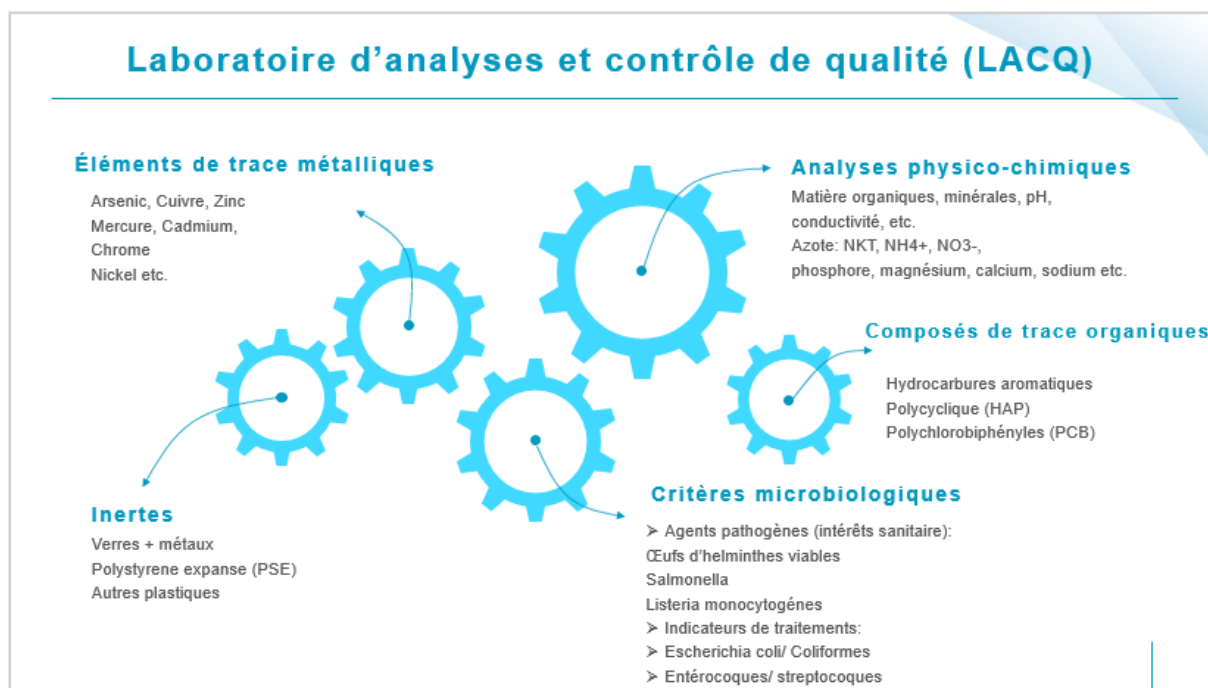


Figure 3 : les activités du laboratoire d'analyses et contrôle de qualité (LACQ)

Le laboratoire LACQ est équipé de plusieurs systèmes d'analyses qui sont présentés dans la figure 4, à savoir un système complet d'analyse d'azote kjeldhal, système d'analyse des métaux lourds ICP-AES, analyse de la matière organique et minérale...



Figure 4 : les unités de compétence du laboratoire LACQ

Le laboratoire LACQ participe activement aux commissions de normalisation, certification et accréditation marocain de normalisation (IMANOR).

Chapitre 2 : étude bibliographique

I. Introduction :

Afin de réfléchir à une validation d'une méthode analytique dans le domaine de l'agronomie, une étude de la littérature concernant la validation des méthodes étendue aux autres domaines a été réalisée.

Cette étude est basée sur des critères objectifs, permettant de mettre en évidence les méthodes proposées, les critères de validation, les plans d'analyse et les méthodes de calcul utilisées.

Cette analyse fait ressortir deux référentiels de validation qui sont présentés dans la 16^{ème} édition du congrès international de métrologie : la norme NF T90-210 et la norme NF V03-110, pour une accréditation ISO CEI 17025, Ces deux protocoles ont été révisés récemment (respectivement en 2009 et 2010) et ont tous deux subi de profondes évolutions.

L'objectif de cette bibliographie est de présenter la démarche suivie par chaque référentiel ainsi les points de convergence et les principales différences entre les 2 normes afin de choisir le protocole adapter à mettre en œuvre pour la validation d'une méthode analytique.

1. Définition d'une validation de méthode

D'après la norme NF EN ISO CEI 17025, la validation d'une méthode est la « confirmation par examen et l'apport de preuves objectives du fait que les prescriptions particulières en vue d'une utilisation prévue déterminée sont remplies », c'est-à-dire de démontrer que la méthode employée permet d'atteindre des objectifs techniques définis à l'avance.

2. Critères de la validation d'une méthode analytique

Les critères de validation sont ceux couramment utilisés dans les procédures analytiques. Il s'agit de la justesse, la fidélité (répétabilité et fidélité intermédiaire) linéarité, exactitude et la limite de quantification.

1.1. Linéarité

La linéarité d'une méthode d'analyse est sa capacité de donner des résultats qui sont directement (à l'intérieur de certaines limites) proportionnels à la concentration de la substance analysée dans un échantillon.

1.2. Justesse

La justesse correspond au degré de concordance entre la valeur de la méthode obtenue et la valeur de référence ou la valeur considérée comme véritable par convention. Elle doit être vérifiée dans le domaine d'utilisation de la méthode d'analyse.

1.3. Fidélité

La fidélité d'une méthode correspond au degré d'accord entre les résultats des mesures obtenues par l'analyse individuelle de plusieurs prélèvements d'un même échantillon homogène, prélevés dans des conditions prescrites. La fidélité peut s'évaluer à trois niveaux : Répétabilité, la fidélité intermédiaire et la reproductibilité.

La fidélité est généralement exprimée par la variance, l'écart-type ou le coefficient de variation d'un ensemble de mesures.

1.1.1. Répétabilité

La répétabilité est une expression de la fidélité de l'analyse lorsque celle-ci est reprise dans les mêmes conditions de réalisations, après un court intervalle de temps, et faite dans des conditions qui comprennent la même procédure de mesure, le même opérateur, le même lieu, ainsi que les mesurages répétés sur le même objet ou des objets similaires pendant une courte période de temps.

1.1.2. Fidélité intermédiaire

La fidélité intermédiaire correspond aux variations survenant dans un même laboratoire : analyses effectuées pendant des jours différents, par des personnes différentes, au moyen d'appareils différents, etc.

1.1.3. Reproductibilité

La reproductibilité correspond à la concordance entre laboratoires dans des conditions qui comprennent des lieux, des opérateurs et des systèmes de mesure différents, ainsi que des mesurages répétés sur le même objet ou des objets similaires.

1.4. Limite de quantification

La limite de quantification est la plus petite concentration de l'analyte pouvant être quantifiée, dans les conditions expérimentales décrites de la méthode. Elle correspond à la concentration la plus petite du domaine de validité.

1.5. Exactitude

L'exactitude est l'étroitesse de l'accord entre le résultat d'un mesurage et la valeur vraie du mesurande. Cette notion est la combinaison d'une erreur systématique, liée à la justesse de la méthode, et d'une composante aléatoire, liée à la mesure elle-même et qui dépend donc de la fidélité de la méthode.

II. Présentation des deux protocoles de validation selon l'accréditation ISO 17025

A. Le protocole NF T90-210 (qualité d'eau)

1. Domaine d'application

Cette norme a pour objet de définir un protocole d'évaluation d'une méthode quantitative, employée dans un laboratoire, dans le domaine de l'analyse physico-chimique de l'eau.

2. Principe

L'évaluation intra laboratoire porte sur le domaine d'application de la méthode défini par l'analyste, ce domaine d'application doit être couvert la liste des échantillons choisis pour les essais, les types de matrices et les grandeurs avec lesquels on va travailler.

Il faut aussi préciser les nombres d'échantillons et de répétitions choisis, puisque ces essais ont pour objet de définir les performances de la méthode analytique

3. Évaluation des performances d'une méthode analytique

1.1. Étude de la fonction d'étalonnage

L'objectif est d'évaluer une fonction d'étalonnage dans un domaine d'étalonnage par un test d'adéquation ou une comparaison.

Il n'est pas nécessaire d'effectuer cette étude lorsque la méthode ne nécessite pas un étalonnage.

Organisation des essais

Préparer 5 gammes d'étalonnage au minimum dans des conditions de fidélité intermédiaire

L'étude de l'étalonnage est réalisée en fonction des grandeurs retrouvées obtenues à partir des valeurs d'informations y sur chaque étalon et de la fonction utilisée.

Par exemple pour une fonction linéaire ($y = a_0 + a_1 \cdot x$) appliquée à une gamme d'étalonnage, la grandeur retrouvée x est calculée à l'aide de l'équation : $x = \frac{y - a_0}{a_1}$

Où a_0 l'ordonnée à l'origine qui correspond à la réponse du blanc
 a_1 la pente qui correspond à la sensibilité.

- **Interprétation des résultats**

Projet de fin d'études

Calculer la justesse (biais) $b_{i,j}$ entre chaque valeur mesurée est la valeur prédite pour chaque niveau de concentrations : $b_{i,j} = \hat{X}_{i,j} - X_{i,j}$

L'étude de l'étalonnage dans le domaine choisie est basée selon deux approches possibles :

Cas n°1 : approche EMA étalonnage

Il s'agit de vérifier que tous les biais observés sur chaque étalon analysé sont acceptables à partir d'un écart maximal acceptable (EMA) fixé par l'expérimentateur pour chaque étalon.

L'EMA correspond à l'écart maximal acceptable entre la valeur de l'étalon et la valeur retrouvée.

Si tous les biais sont inférieurs à l'EMA fixé pour chaque étalon alors la fonction d'étalonnage est considérée comme acceptable dans le domaine étudié.

Cas n°2 : approche statistique globale

Pour évaluer la fonction d'étalonnage on décompose la somme des carrés des écarts totaux entre les grandeurs théoriques et les grandeurs retrouvées en une somme de carrés d'écarts expérimentaux et d'écarts dus au modèle

$$\sum_{j=1}^p \sum_{i=1}^n (\hat{x}_{i,j} - x_{i,j})^2 = \sum_{j=1}^p \sum_{i=1}^n (\hat{x}_{i,j} - \overline{\hat{x}_{i,j}})^2 + \sum_{j=1}^p \sum_{i=1}^n (x_{i,j} - \overline{\hat{x}_{i,j}})^2$$

$\sum_{j=1}^p \sum_{i=1}^n (\hat{x}_{i,j} - x_{i,j})^2$ Représente la somme des carrés des écarts totaux entre les grandeurs théoriques et les grandeurs retrouvées SCE_{tot}

$\sum_{j=1}^p \sum_{i=1}^n (\hat{x}_{i,j} - \overline{\hat{x}_{i,j}})^2$ Représente la somme des carrés des écarts due à une erreur expérimentale SCE_{exp}

$\sum_{j=1}^p \sum_{i=1}^n (x_{i,j} - \overline{\hat{x}_{i,j}})^2$ Représente la somme des carrés des écarts due à une erreur de modèle SCE_{mod}

Construire le tableau du test d'adéquation selon le modèle du Tableau 1

Projet de fin d'études

Tableau 1 : Test d'adéquation de la fonction d'étalonnage

Sources de variation	Sommes des carrés d'écart	Degrés de liberté	Variances	Critère calculé	Valeur critique au risque $\alpha = 1\%$
Modèle	SCE_{mod}	P	$s_{mod}^2 = \frac{SCE_{mod}}{p}$	$C_{mod} = \frac{s_{mod}^2}{s_{exp}^2}$	$VC_{mod} = F(p, p(n-1), \alpha)$
Expérimentale	SCE_{exp}	$p(n-1)$	$s_{exp}^2 = \frac{SCE_{exp}}{p(n-1)}$		
Totale	SCE_{tot}	Np			

La valeur critique $VC_{mod} = F(p, p(n-1), \alpha)$ correspondant au fractile de la loi de Fisher dans un test unilatéral pour un niveau de risque α pour un nombre p et $p(n-1)$ degrés de liberté. Ce test est effectué avec un risque d'erreur α égal à 1 %

Interprétation :

- Si C_{mod} est inférieur à VC_{mod} alors la fonction d'étalonnage est considérée comme acceptable dans le domaine étudié.
- Sinon la fonction d'étalonnage ne peut pas être utilisée dans le domaine étudié

Comme action corrective de la non-conformité de la fonction d'étalonnage c'est de revoir le test en réduisant le domaine d'étude, ou de changer la fonction d'étalonnage envisagée.

1.2. Étude d'une limite de quantification présumée de la méthode :

L'objectif est de vérifier qu'une limite de quantification présumée LQ est acceptable dans une matrice considérée.

- **Organisation des essais**

Préparer un volume suffisant d'une eau représentative du domaine d'application de la méthode ne contenant pas l'élément à analyser puis doper ce matériau avec une quantité d'analyte correspondant à la limite de quantification.

Réaliser une analyse complète sur cinq prises d'essai au minimum dans des conditions de fidélité intermédiaire en faisant deux répétitions dans des conditions de répétabilité.

- **Interprétations des résultats**

Il s'agit de s'assurer de l'exactitude de la limite de quantification présumée par rapport à un écart maximal acceptable de 60 % de la LQ en vérifiant les deux inégalités suivantes :

$$\bar{z}_{LQ} - 2 \times s_{LQ} > LQ - 60 \% \times LQ.$$

$$\bar{z}_{LQ} + 2 \times s_{LQ} < LQ + 60 \% \times LQ.$$

\bar{z}_{LQ} Grandeur moyenne calculée

s_{LQ} Écart-type de fidélité intermédiaire calculé

Si au moins une des deux inégalités n'est pas vérifiée alors la LQ n'est pas vérifiée.

1.3. Étude de l'exactitude de la méthode :

L'étude de l'exactitude porte sur l'évaluation de la fidélité intermédiaire et du biais par rapport à des valeurs qui servent de référence.

L'exactitude de la méthode est vérifiée sur des échantillons de valeur de référence et selon un écart maximal acceptable issue d'une exigence réglementaire ou normative ou fixée par le client ou le laboratoire.

- **Organisation des essais**

Préparer au moins trois échantillons couvrant le domaine d'application de la méthode en termes de concentration pour une matrice donnée, ensuite analyser chaque échantillon dans au moins cinq séries dans des conditions de fidélité intermédiaire.

Pour chaque échantillon et dans chaque série, effectuer au moins deux répétitions dans des conditions de répétabilité.

- **Estimation des paramètres d'exactitude**

Le tableau 2 présente les paramètres calculer pour la vérification de l'exactitude d'une méthode :

Projet de fin d'études

Tableau 2 : calcul des paramètres d'exactitude

Valeur de référence	Échantillon 1	...	Échantillon p
	Réf ₁		Réf _p
Incertitude-type sur la valeur de référence	u _{réf,1}		u _{réf,p}
Nombre de séries	n ₁		n _p
Nombre de répétitions par série	r ₁		r _p
Moyenne générale	\bar{z}_1		\bar{z}_p
Écart-type de fidélité intermédiaire	S _{FI,1}		S _{FI,p}
CV de fidélité intermédiaire en %	CV _{FI,1}		CV _{FI,p}

L'écart-type de fidélité intermédiaire S_{FI} est calculé selon : $S_{FI} = \sqrt{S_B^2 - S_{rép}^2}$ avec :

$S_{rép}^2$ La variance de répétabilité estimée par : $S_{rép}^2 = \frac{\sum_{i=1}^n S_i^2}{n}$

S_B^2 La variance inter-séries ou changement de conditions estimée par : $S_B^2 = S(\bar{Z})^2 - \frac{S_{rép}^2}{r}$

La moyenne \bar{Z} des résultats obtenus sur l'échantillon est $\bar{Z} = \frac{\sum_{i=1}^n \bar{Z}}{n}$

Le coefficient de variation de fidélité intermédiaire de la méthode sur l'échantillon est :

$CV_{FI} = 100 \times S_{FI} / \bar{Z}$ exprimé en pourcentage

- **Interprétation d'exactitude**

Interprétation du biais pour un niveau

La vérification de la justesse nécessite que l'écart normalisé $EN = \frac{|\bar{Z} - Réf|}{\sqrt{\frac{S_{FI}^2}{n} + u_{Réf}^2}}$ doit être inférieur

ou égal à 2

Interprétation des paramètres d'exactitude pour un niveau

Vérifier les deux inégalités suivant et en définissant préalablement un EMA issu d'une exigence réglementaire ou normative ou fixée par le client ou le laboratoire :

$$\bar{Z} - 2 \times S_{FI} > Réf - EMA$$

$$\bar{Z} + 2 \times S_{FI} < Réf + EMA$$

Si au moins une des deux inégalités n'est pas vérifiée alors l'exactitude de la méthode sur le niveau analysé n'est pas vérifiée.

B. Protocole de la NF V-03-110 (Analyse des produits agricoles et alimentaires)

A côté de la norme NF T90-210 qui est destiné à la qualité des eaux, une approche originale, basée sur le profil d'exactitude en utilisant les intervalles de tolérance statistique et l'erreur totale de mesure comme outil de décision unique a été proposé par la commission SFSTP qui est destiné à l'analyse des produits agricoles et alimentaires.

Le profil d'exactitude ne s'applique qu'aux méthodes complètement développées et mises au point. En particulier, la sélectivité/spécificité doit avoir été étudiée ainsi que le domaine d'application de la méthode à valider, en termes de types de matrice et de niveaux de concentrations.

1. Domaine d'application

Cette norme a pour objet de définir une procédure de caractérisation d'une méthode d'analyse quantitative, en vue de sa validation, basée sur la construction puis l'interprétation d'un profil d'exactitude.

2. Mise en œuvre du profil d'exactitude

1.1. Définir la quantité mesurée

À partir du mode opératoire de la méthode, on définit la quantité mesurée.

Il existe deux types de méthodes : Les méthodes indirectes qui exigent un étalonnage pour calculer la concentration des échantillons inconnus. Pour ces méthodes, on procède en deux étapes : Construire la courbe d'étalonnage en utilisant le même principe physico-chimique que celui qui sert pour les échantillons, ensuite faire des mesures sur les échantillons inconnus et calculer leurs concentrations à l'aide d'un modèle d'étalonnage.

- Les méthodes directes dont l'analyte est défini par la méthode elle-même.

On mesure alors la concentration des échantillons inconnus à l'aide d'une autre méthode de mesure, comme une pesée ou une titrimétrie.

1.2. Préciser les objectifs de la validation

Définir le domaine de validation de la méthode, sous la forme d'une gamme de concentrations absolues ou relatives. Le choix du domaine d'application peut correspondre à une obligation

légale. Par exemple, dans le domaine pharmaceutique, il faut prendre en compte les domaines minimums suivants :

- pour les substances pures ou les spécialités pharmaceutiques, le domaine doit au moins couvrir entre 80 et 120 % de leurs valeurs nominales.
- pour une vérification de concentration continue, le domaine doit s'étendre entre 70 et 130 % de la concentration attendue.

1.3. Sélectionner les échantillons d'étalonnage et de validation

Définir le type de matrice

Les essais qui servent à calculer les éléments du profil d'exactitude doivent être réalisés sur des échantillons clairement identifiés, appelés échantillons de validation. Ce sont des matériaux qui doivent être le plus représentatif possible du domaine d'application de la méthode. Ils peuvent ainsi inclure différentes matrices pour les méthodes multi-matrices. Mais surtout on doit être capable de leur attribuer une valeur de référence qui représente la teneur attendue. Penser à choisir des matériaux stables et homogènes en quantité suffisante pour réaliser l'ensemble des essais définis par le plan d'expérience de validation

Établir les valeurs de référence des échantillons de validation

Pour estimer la justesse de la méthode, il faut disposer d'échantillons de validation dont la concentration est connue le plus exactement possible avec une incertitude connue.

Cette concentration correspond à la valeur de référence assignée à l'échantillon de validation et doit être fixée indépendamment de la méthode à valider, on la note X. Il existe plusieurs approches possibles pour établir la valeur de référence assignée à un échantillon de validation, parmi lesquelles :

- utiliser des matériaux de référence certifiés (MRC), externes (MRE) ou internes (MRI)
- réaliser des ajouts dosés à partir d'une molécule étalon de pureté connue
- préparer des échantillons dopés ou synthétiques avec la matrice choisie
- utiliser une méthode de référence, appliquée en interne ou en externe par un laboratoire pair

- ***Planifier les essais de validation***

Organiser les essais de validation

Le plan d'expérience de validation sert à estimer, dans les conditions où le mode opératoire sera appliqué en routine, quelles seront les performances en routine de la méthode. Dans ce

Projet de fin d'études

contexte, un essai consiste à faire un mesurage sur un échantillon de validation, de préférence dont la valeur de référence a été établie avec une incertitude connue.

Pour réaliser ce plan, prévoir :

- I séries de mesures, pour chaque série, effectuer J répétitions et K niveaux de concentration couvrant le domaine d'application de la méthode.

Dans ce contexte, on entend par un niveau une valeur de référence.

Construire un tableau qui rassemblera les données brutes selon le modèle du tableau 1. Les valeurs de référence X_k des échantillons de validation sont exprimées en quantités absolues (mg, g...) ou relatives (mg/kg, mg/l...). Pour les méthodes indirectes, la réponse Y est notée dans une unité correspondant à celle de la méthode instrumentale (surface du pic, hauteur de pic, absorbance,). Pour les méthodes directes, elle est directement exprimée dans la même unité que celle des valeurs de référence.

Tableau 3 : organisation des mesures du plan de validation

Niveaux	Séries (Jours)	Concentrations des échantillons de validation (valeurs de référence) X	Mesurages (Réponses instrumentales) Y			
			1	2	...	J
1	1	x_{11}	y_{111}	y_{121}	...	y_{1J1}

	I
2	1					
	...					
	I					
...				
K	1					
				
	I	x_{IK}				y_{IK}

Choisir le nombre de séries, de répétitions et de niveaux de validation

Dans le cas d'une validation interne, on peut choisir les exigences minimales suivantes :

- le nombre de séries I égal ou supérieur à 3. Une série peut être représentée par un jour mais aussi par une combinaison de diverses sources d'incertitude, comme plusieurs appareils, plusieurs opérateurs et plusieurs jours.
- le nombre constant de répétitions par série et par niveau J égal ou supérieur à 2.
- le nombre de niveaux de concentration K égal ou supérieur à 3

- **Planifier l'étalonnage (pour les méthodes indirectes)**

Organiser les essais d'étalonnage

Projet de fin d'études

Le plan d'étalonnage a pour objectif de permettre l'estimation des coefficients du modèle de la courbe d'étalonnage. Pour réaliser ce plan, on va choisir les paramètres suivants :

- prévoir I séries. Ce nombre doit absolument être le même que pour le plan de validation. Par exemple, si le jour se confond avec la série, les mesurages d'étalonnage doivent être effectués les mêmes jours que les mesurages de validation. On calculera ainsi un modèle d'étalonnage pour chaque jour et non pas un modèle global.
- pour chaque niveau, effectuer J' mesurages répétés. Le nombre de répétitions J' peut être différent du nombre J choisi pour le plan de validation.
- pour chaque série prévoir K' niveaux étalons de concentrations connues, couvrant la gamme d'étalonnage. Le nombre de niveaux K' peut être différent du nombre K choisi pour le plan de validation. Construire le tableau 4 qui résume l'ensemble des essais et mesurages à effectuer. Dans ce tableau les concentrations des étalons sont exprimées en quantités absolues (mg, g...) ou relatives (mg/kg, mg/l...). Après réalisation, les réponses sont notées dans les unités de la méthode instrumentale (surface du pic, hauteur de pic, absorbance...).

Tableau 4 : Organisation des essais du plan d'étalonnage

Niveaux des étalons	Séries (Jours)	Concentrations des échantillons de validation (valeurs de référence) X	Mesurages (Réponses instrumentales) Y			
			1	2	...	J'
1	1	x_{11}	y_{111}	y_{121}	...	$y_{1J'1}$
			
	I		...			
2	1					
	...					
	I					
...				
K'	1					
				
	I	$x_{JK'}$				$y_{IJ'K'}$

1.4. Calculer les concentrations prédites inverses (pour les méthodes indirectes)

- *Calculer les modèles d'étalonnage*

Pour les méthodes indirectes, il est nécessaire d'exprimer la réponse instrumentale Y en fonction des concentrations x des étalons, à l'aide d'un modèle mathématique de la forme : $Y = f(x)$ Les fonctions classiquement utilisées sont regroupées au tableau 3 mais cette liste n'est pas limitative. Les paramètres $a_1, a_2...$ sont appelés les paramètres du modèle.

Projet de fin d'études

Calculer les paramètres du modèle d'étalonnage à partir des données recueillies pour chaque série k , de façon à obtenir k ensembles de valeurs des paramètres. Le même type de modèle doit être utilisé pour l'ensemble des données, quelle que soit la série, mais les valeurs des paramètres peuvent être différentes d'une série à l'autre. Cette approche permet de prendre en compte les variations inter séries (inter-jours) observées. Le calcul des estimations des coefficients du modèle d'étalonnage peut faire appel aux diverses techniques statistiques classiques détaillées dans la littérature : régression par la méthode des moindres carrés, régression pondérée et régression non linéaire.

- *Calculer les concentrations retrouvées par prédiction inverse*

Pour les méthodes indirectes, les modèles d'étalonnage servent à calculer les concentrations retrouvées, à partir des données au plan de validation, en utilisant la fonction inverse du modèle d'étalonnage, selon le modèle mathématique suivant : $\hat{x} = z = f^{-1}(Y)$

Par exemple pour le modèle linéaire la prédiction inverse selon l'équation : $z = \frac{Y - a_0}{a_1}$

La fonction inverse est appelée équation de prédiction inverse et les valeurs z ainsi obtenues sont appelées concentrations retrouvées.

1.5. Calculer les critères de validation

- *Calculer la justesse et la fidélité par niveau*

Rassembler avec les critères de justesse et de fidélité, calculés pour un niveau et non plus pour un mesurage individuel, sous la forme du tableau 5.

Tableau 5 : critères de fidélité et de justesse par niveau

Critères	Symbole	Niveaux		
		1	...	K
Valeur de référence moyenne	$\bar{\bar{x}}_k$			
Concentration retrouvée moyenne	$\bar{\bar{z}}_k$			
Écart-type de répétabilité	s_{kr}			
Écart-type inter-séries	s_{kB}			
Écart-type de fidélité intermédiaire	$s_{kFI} = \sqrt{s_{kr}^2 + s_{kB}^2}$			
Coefficient de variation de la fidélité intermédiaire	$\frac{s_{kFI}}{\bar{\bar{x}}_k} \times 100$			
Biais moyen absolu	$\bar{\bar{z}}_k - \bar{\bar{x}}_k$			
Biais moyen relatif	$\left(\frac{\bar{\bar{z}}_k - \bar{\bar{x}}_k}{\bar{\bar{x}}_k} \right) \times 100$			
Taux de recouvrement moyen	$\frac{\bar{\bar{z}}_k}{\bar{\bar{x}}_k} \times 100$			

Projet de fin d'études

- *Calculer les intervalles de tolérance*

Le calcul se fait à partir des données du tableau 4, indépendamment pour chaque niveau de concentration k . Pour des raisons de simplification des formules, l'indice k est omis dans les formules suivantes. Exprimer l'intervalle de tolérance comme un intervalle symétrique autour de la concentration retrouvée moyenne \bar{Z} du niveau : $\bar{Z} \mp K_{tol} \times S_{IT}$

Calculer l'écart-type de l'intervalle de tolérance S_{IT} selon la formule (5), il servira aussi à l'estimation de l'incertitude de mesure. Il est obtenu grâce aux formules suivantes :

$$S_{IT} = S_{FI} \sqrt{1 + \frac{1}{I \times J \times B^2}} ; \quad B = \sqrt{\frac{R+1}{J \times R+1}} ; \quad R = \frac{S_B^2}{S_r^2}$$

La quantité K_{tol} est appelé facteur de couverture de l'intervalle de tolérance et vaut :

$$K_{tol} = t_{v, \frac{1+\beta}{2}}$$

t est Le quantile de la distribution de Student pour v degrés de liberté et β la probabilité du contenu de l'intervalle de tolérance. Le nombre de degrés de liberté v est calculé selon méthode d'approximation et donne :

$$v = \frac{(R + 1)^2}{\frac{(R + \frac{1}{J})^2}{I - 1} + \frac{1 - \frac{1}{J}}{IJ}}$$

Pour chaque niveau k , calculer l'écart-type de l'intervalle de tolérance S_{IT} , le facteur de couverture k_{tol} et les limites basse et haute de l'intervalle de tolérance. La valeur choisie pour β doit être au moins de 80%. L'ensemble des calculs est rassemblé dans le tableau 6 :

Tableau 6 : résumé des différents éléments qui serviront au profil d'exactitude, incluant les limites des intervalles de tolérance par niveau

Critères	Symbole	Niveaux		
		1	...	K
Valeur de référence moyenne	\bar{x}			
Limite de tolérance basse	$\bar{z} - k_{tol} \times s_{IT}$			
Limite de tolérance haute	$\bar{z} + k_{tol} \times s_{IT}$			
Limite de tolérance basse relative	$\left(\frac{\bar{z} - k_{tol} \times s_{IT}}{\bar{x}} \right) \times 100$			
Limite de tolérance haute relative	$\left(\frac{\bar{z} + k_{tol} \times s_{IT}}{\bar{x}} \right) \times 100$			
Limite d'acceptabilité basse relative	$(1 - \lambda) \times 100$			
Limite d'acceptabilité haute relative	$(1 + \lambda) \times 100$			

1.6. Construire le profil d'exactitude

Le profil d'exactitude peut être construit de différentes façons, en fonction du type de données traité. La méthode la plus classique, lorsqu'on a à faire à des concentrations relatives, où les performances sont exprimées de façon relative, par un taux de recouvrement. Mais si les données sont des comptages exprimés en logarithmes, il vaut mieux exprimer les performances, comme des différences entre 2 logarithmes, ce qui est équivalent à un rapport. Pour construire le profil d'exactitude, sélectionner dans le tableau 5, les lignes suivantes :

À reporter sur l'axe horizontal les valeurs de référence moyennes.

À reporter sur l'axe vertical

- Les limites de tolérance basses relatives,
- Les limites de tolérance hautes relatives,
- Les taux de recouvrement moyens,
- Les limites d'acceptabilité basses relatives,
- Les limites d'acceptabilité hautes relatives,

Reporter ces données sur un graphique en utilisant les valeurs de référence moyennes pour dessiner l'axe des abscisses, comme l'illustre la figure 5.

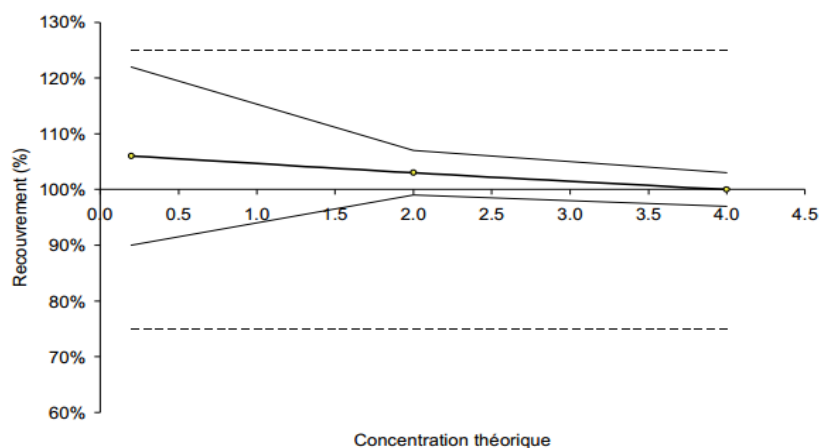


Figure 5 : profil d'exactitude exprimé par le taux de recouvrement

1.7. Interprétation du profil d'exactitude

Pour utiliser le profil d'exactitude en vue de valider une méthode, il faut avoir fixé les deux critères de décision suivants :

Les limites d'acceptabilité $\pm\lambda$. Elles servent à traduire les objectifs pratiques des utilisateurs. Elles délimitent un intervalle autour de la valeur de référence. Le plus souvent, ces limites sont réglementaires ou issues de la réglementation.

La proportion β . Elle représente la proportion de futurs résultats qui seront en moyenne compris dans les intervalles de tolérance. La valeur choisie pour β dépend largement du champ d'application de la méthode.

L'interprétation du graphique est visuelle, directe des résultats donc il faut que les limites de l'intervalle de tolérance soit inclus dans les limites d'acceptabilités pour conclure que la méthode est validée. Dès que l'intervalle de tolérance sort de l'intervalle d'acceptabilité, on peut conclure que la méthode n'est plus capable de fournir suffisamment de résultats.

C. Etude comparative des deux normes

Les deux protocoles les plus couramment utilisés par les laboratoires pour la validation analytique sont les normes NF T90-210 et la norme NF V03-110 présentent des similitudes et différences significatives.

Il existe des points communs entre les deux normes telles que le fait de :

- Travailler sur les grandeurs retrouvées (par exemple la concentration) plutôt que les valeurs d'informations (par exemple une aire de pic ou une absorbance),
- Réaliser les essais dans des conditions de fidélité intermédiaire plutôt que dans des conditions de répétabilité.
- Introduire une nouvelle approche plus globale basée sur l'exactitude qui prend en compte à la fois la justesse et la fidélité de la méthode pour conclure sur son acceptabilité par rapport au besoin.

Les domaines d'application annoncés dans les deux référentiels constituent une première différence. La norme NF T90-210 s'applique plus particulièrement aux méthodes d'analyse physico-chimiques dans le domaine de l'eau alors que la norme NF V03-110 a été rédigée pour les méthodes d'analyse quantitatives dans le domaine agroalimentaire.

L'approche dans la validation des différentes caractéristiques de la méthode est globalement différente. Le protocole NF T90-210 présente plusieurs plans d'expérience permettant de valider les caractéristiques de la méthode une à une, à savoir la fonction d'étalonnage, la limite de quantification et l'exactitude de la méthode. Contrairement le protocole NF V03-110 permet un plan d'expérience organisés sous la forme d'une gamme d'étalonnage et gamme de validation afin de construire un graphique qui s'appelle profil d'exactitude qui permet une interprétation visuelle pour juger la validité de la méthode.

III. Matériel et méthodes

Le laboratoire d'analyse et de contrôle qualité (LACQ) participe activement à l'accréditation ISO 17025 qui exige dans son côté technique la validation de toute méthode analytique utilisée en routine, c'est l'objectif principale de mon projet de fin d'étude.

Le laboratoire réalise des analyses sur différents matrice à savoir la matrice sol, la matrice eau, compost ...

Dans cette période de stage nous étions basée sur la validation de trois méthodes analytiques de matrice différents selon la norme française NF T90-210 comme un référentiel de validation applicable par la majorité des laboratoires accrédités en ISO 17025. La première méthode décrit le dosage des oligo-éléments (Cuivre, Manganèse , Zinc, Fer) par spectroscopie d'émission atomique ICP-AES dans la matrice sol selon la norme NF X 31-121, la deuxième méthode traite le dosage des cations (calcium, potassium, magnésium et sodium) dans la matrice eau par ICP-AES selon la norme NF EN ISO 11885, et la troisième méthode traite le dosage du carbone organique par oxydation sulfochromiques dans la matrice sol, à l'aide d'un spectromètre UV-visible selon la norme ISO 14235. Dans cette partie on va décrire le principe de fonctionnement de chaque système d'analyse ainsi le mode opératoire normalisé suivi pour chaque méthode.

1. La méthode de dosage des oligo-éléments Cuivre, Manganèse, Zinc et le Fer par spectroscopie d'émission atomique ICP-AES dans la matrice sol

La présente méthode utilise un système d'analyse très puissant entièrement automatique permettant de doser la quasi-totalité des éléments simultanément (l'analyse prend quelques minutes, hors préparation)



Figure 6 : système d'analyse ICP-AES

a. Principe de fonctionnement du système ICP-AES

La méthode consiste à ioniser l'échantillon en l'injectant dans un plasma d'argon, ou parfois d'hélium, c'est-à-dire que les atomes de la matière à analyser sont transformés en ions par une sorte de flamme extrêmement chaude : jusqu'à 8 000 K, mais en générale autour de 6 000 K pour les applications géochimiques. Certains appareils sont cependant dotés d'une option dite « à plasma froid », qui chauffent à plusieurs centaines de K tout de même, permettant l'analyse de molécules organiques qui seraient autrement détruites. L'échantillon pénètre généralement dans le plasma sous une forme condensée (liquide ou solide), et doit donc subir les changements d'états suivants : fusion (pour les solides), vaporisation, ionisation. L'introduction a lieu au centre du plasma, parallèlement au flux de gaz plasmagène.

L'échantillon doit être introduit dans le plasma sous une forme finement divisée, car les puissances utilisées (généralement inférieures à 2000 watts de puissance incidente) ne permettent pas de traiter des particules de taille supérieure au micromètre durant leur temps de résidence au sein du plasma ; si l'on veut analyser un solide, il faut donc d'abord le transformer en une suspension de fines particules, portées par un courant de gaz plasmagène.

Type d'analyseur utilisé

La spectrométrie d'émission optique l'analyseur qui utilise le fait que les atomes excités (ionisés), lorsqu'ils quittent le plasma, se recombinent avec un électron, en émettant un photon dont l'énergie (longueur d'onde) est caractéristique de l'élément. La lumière émise par le plasma est en ce cas analysée par un ou plusieurs monochromateurs, par un réseau polychromatique, ou encore une combinaison des deux.

La lumière émise par l'élément recherché est alors détectée et mesurée, et son intensité comparée à celle émise par le même élément contenu dans un échantillon de concentration connue (étalon, standard en anglais), analysé dans les mêmes conditions.

La sensibilité intrinsèque de la méthode et la présence de très nombreuses raies adjacentes (les bandes passantes des monochromateurs sont de l'ordre du millièème de nm), parfois peu ou pas séparées par les mono- et poly-chromateurs, font que cette technique est appliquée essentiellement pour l'obtention rapide et précise des compositions en éléments majeurs (concentrations supérieures au pour cent en poids) des échantillons minéraux.

La figure 7 présente un schéma descriptif des différentes composantes de l'ICP-AES

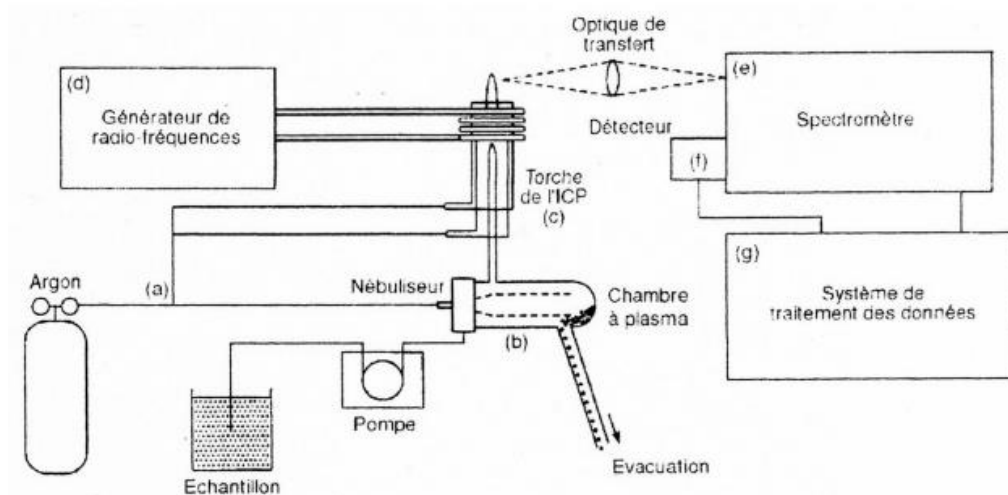


Figure 7 : schéma descriptif des différentes composantes de l'ICP-AES

b. Mode opératoire

Le but de cette méthode est d'estimer la quantité des oligo-éléments : cuivre, manganèse, zinc et le fer dans la matrice sol selon la norme NF X 31-121.

- **Principe**

La présente méthode est basée sur une extraction sous agitation des formes solubles des oligo-éléments dans une solution d'extraction mixte de triéthanolamine, de chlorure de calcium et d'acide diéthylétriamine-pentaacétique à pH=7.3. Une filtration est nécessaire pour la lecture des résultats à l'aide d'une spectrométrie d'émission atomique ICP-AES.

- **Préparation de la solution d'essai**

Introduire une prise d'essai de 10g de sol préparé dans un flacon de 100 ml ainsi que 20 ml de la solution d'extraction puis porter sur un agitateur pendant 2 heures.

- **Préparation de des solutions étalons**

La préparation des solutions étalons est fait à l'aide d'une solutions quadri élément de concentration connu ($C_{Cu}= 0.1 \text{ g/l}$, $C_{Mn}= 0.1 \text{ g/l}$, $C_{Zn}= 0.05 \text{ g/l}$, $C_{Fe}=0.1\text{g/l}$).

La préparation de la gamme d'étalonnage avec 5 niveaux de concentrations à partir du solution quadri élément est présenter dans le tableau 7 :

Projet de fin d'études

Tableau 7 : préparations des solutions étalons

Indice	constituants				Concentrations		
	T.E.A (g)	DTPA (g)	CaCl ₂ , 2H ₂ O (g)	solutions quadriélément (ml)	Eau distillée (ml)	Cu, Mg, Fe (mg/l)	Zn (mg/l)
T0	14,92	1,967	1,47	0	1000	0	0
T1				5		0,5	0,25
T2				10		1	0,5
T3				25		2,5	1,25
T4				50		5	2,5

- **Mesurage spectrométrique**

La lecture se fait à l'aide d'une spectroscopie d'émission atomique ICP-AES dans les longueurs d'onde suivantes : Cu : 324.7 nm, Zn : 213.9 nm, Mn : 279.5 nm, Fe : 248.3 nm.

Tracer la gamme d'étalonnage puis déterminer la concentration de chaque élément dans la solution d'essai.

Les résultats sont exprimés en ppm (mg/l).

2. La méthode de dosage des cations : Calcium, sodium, Magnésium et potassium dans la matrice eau par ICP-AES

Le but de cette méthode est le dosage des éléments en traces métalliques dans l'eau selon la Norme NF EN ISO 11885.

a. Mode opératoire

- **Préparation des étalons**

La préparation des étalons se décompose en deux, la préparation des éléments mineurs d'une part et la préparation des éléments majeurs d'autre part.

Dans une fiole jaugée de 100 ml, préparer la solution standard des éléments majeurs et mineurs, en suivant les volumes décrits dans le tableau 8 :

Cette méthode est appliquée pour le dosage de plusieurs éléments de traces métalliques dans un échantillon de compost, ainsi il est destiné à la détermination du calcium, sodium, magnésium et potassium (éléments majeurs) dans un échantillon d'eau (l'objet de la validation)

Projet de fin d'études

Tableau 8 : préparations des solutions étalons

Solution standard à 1000 mg/l	Volume en ml	Solution standard à 1000 mg/l	Volume en ml
P	10	B	2
K	10	Cu	2
Fe	10	Mn	2
Ca	10	Mo	2
Mg	10	Zn	2
Na	10	CoI	2
Acide nitrique 1%	1	Ni	2
Compléter jusqu'à 100ml à 100 mg/l		Compléter jusqu'à 100ml à 20 mg/L	

A partir des deux solution préparées (éléments majeurs et mineurs), on prépare les étalons comme suit :

Tableau 9 : gamme d'étalonnage

	Standard (S0)	Standard (S1)	Standard (S2)	Standard (S3)
Concentration des éléments Majeurs en mg/l	0	5	20	91,74
Prélèvement dans 50 ml	0	2,5 ml	10 ml	50 ml
Concentration des éléments mineurs mg/l	0	0,05	0,2	0,917
Prélèvement dans 50 ml	0	0,125 ml	0,5 ml	2,5 ml
Acide nitrique 1%	0,5	0,5	0,5	0,5
HCl 3%	1,5	1,5	1,5	1,5

- **Préparation des échantillons**

- Filtrer l'échantillon sur une membrane filtrante de 0,45 µm.
- Utiliser plusieurs volumes de l'échantillon pour rincer le filtre.

Récupérer le volume requis de filtrat.

- Ajouter 0,5 ml de l'acide nitrique (1,4g/ml) par portion de 100 ml d'échantillon. S'assurer que le pH est inférieur à 2, en ajoutant éventuellement de l'acide chlorhydrique.

- **Lecture spectrophotométrie**

Dans des tubes de 15ml propres et secs :

- Mettre presque 10ml des étalons préparés (chaque étalon dans un tube).
- Remplir les échantillons à analyser dans les tubes + un témoin (eau distillée).
- Passer à l'analyse ICP-AES, les éléments sont analysés dans les longueurs d'ondes suivants : Ca :317.93nm, K :766.49nm, Mg : 285.21nm, Na : 589.59nm

Les résultats sont exprimés en ppm (mg/l).

3. La méthode de dosage du carbone organique dans le sol par oxydation sulfochromique

La présente méthode décrit la détermination par Spectroscopie d'absorption dans l'UV Visible de la teneur en carbone organique, après oxydation dans un milieu sulfochromique. La présente méthode est applicable à tous les types d'échantillons de sol (y compris les sédiments), de matières utilisées sur ou dans les sols et de déchets séchés à l'air.



Figure 8 : spectromètre UV visible

a. Principe de fonctionnement du spectroscopie UV-visible

La spectroscopie d'absorption dans l'UV et le visible est une méthode très commune dans les laboratoires. Elle est basée sur la propriété des molécules d'absorber des radiations lumineuses de longueur d'onde déterminée.

- **Domaine spectrale :**

Les différents domaines spectraux dans l'UV visible sont :

- ✓ Visible : 800 nm - 400 nm
- ✓ Proche-UV : 400 nm - 200 nm
- ✓ UV-lointain : 200 nm - 10 nm

- **Principe**

Dans une molécule, les transitions électroniques UV-visibles mettent en jeu les énergies les plus importantes de la chimie (environ de 13000 à 50000 cm^{-1} soit 160 à 665 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$). L'ordre de grandeur des énergies mises en jeu est celui des énergies de liaison des molécules et ces rayonnements peuvent parfois provoquer des ruptures de liaisons. Plus généralement, ils provoquent des transitions électroniques entre les différents niveaux d'énergie des molécules.

• **Loi d'absorption de lumière-loi de B er Lambert**

Soit une lumière monochromatique traversant une solution absorbante de concentration C contenue dans une cuve d'épaisseur l.

Une partie de ce rayonnement sera absorbée par l'échantillon et une partie sera transmise. Bouguer, Lambert et Beer ont étudié les relations qui existent entre I₀ et I l'intensité d'une lumière monochromatique traversant un milieu où elle est absorbée décroît de façon exponentielle : $I = I_0 * K * L * C$

I₀ : est l'intensité de la lumière incidente

I : est l'intensité après passage à travers la cuve contenant la solution (intensité transmise)

L : est la distance traversée par la lumière ( paisseur de la cuve) (en cm)

C : est la concentration des espèces absorbantes

K : est une constante caractéristique de l'échantillon.

Cette équation peut se réecrire : $\log\left(\frac{I_0}{I}\right) = \epsilon * L * C$

Log(I/I₀) est appelé absorbance (A)

I/I₀ = T est la transmission T ou la transmittance

  est le coefficient d'extinction molaire ; c'est une caractéristique de la substance étudiée à une longueur d'onde donnée. Si C est la molarité, à est en L.mol⁻¹.cm⁻¹. On obtient alors la relation connue sous le nom de loi de Beer-Lambert : $A = -\log T = \epsilon * L * C$

b. Mode opératoire :

L'efficacité de l'oxydation dépend de la masse de la prise d'essai et de sa teneur en carbone, même s'il reste un excès de bichromate de potassium. L'expérience a montré que, dans les conditions décrites dans la présente méthode, la masse de carbone dans la prise d'essai ne doit pas excéder 20 mg.

Oxydation : transférer la prise d'essai dans un tube de minéralisation, ajouter d'abord 5 ml de la solution de bichromate, puis 7,5 ml d'acide sulfurique, homogénéiser soigneusement, ensuite placer les tubes dans le bloc chauffant, préchauffé à une température de 135°C ± 2°C pendant 30 minutes, puis les retirer et les refroidir à température ambiante en utilisant un bain d'eau après transférer quantitativement le contenu du tube dans une fiole jaugée de 100 ml.

Projet de fin d'études

Ajuster au trait avec de l'eau et bien mélanger et laisser reposer la suspension pendant 1 heure puis passer à la filtration.

- **Préparation des solutions étalons :**

Préparer une gamme de solutions étalons conformément au tableau 10 en dissolvant la masse indiquée de glucose dans la solution de bichromate, dans une série de fioles jaugées de 100 ml, et mélanger jusqu'à dissolution complète. Puis on va prélever 5 ml des solutions 1 à 5, les introduire dans un tube de minéralisation, ajouter 7,5 ml d'acide sulfurique et poursuivre les étapes de digestion.

Tableau 10 : Solutions étalons de glucose dans une solution de bichromate

Numéro	Masse de glucose g	Teneur en carbone dans 5 ml de solution mg
1	0.00	
2	0.25	5
3	0.50	10
4	0.75	15
5	1.00	20

- **Mesure spectrométrique**

A l'aide d'un spectrophotomètre, mesurer l'absorbance des solutions à 585 nm, dans l'ordre suivant : solutions étalons, blanc et échantillons. S'assurer de l'absence de contamination croisée entre les différents échantillons mesurés.

Tracer la courbe d'étalonnage et déterminer la masse de carbone organique présente dans le blanc et dans les échantillons.

Les résultats sont exprimés en %.

Chapitre 3 : Partie expérimentale

I. La méthode de dosage des oligo-éléments (Cu, Mn, Zn, Fe) par spectroscopie d'émission atomique ICP-AES dans la matrice sol

Afin de valider cette méthode, nous avons utilisé la norme française NF T90-210. Ce référentiel permet de vérifier si une méthode répond aux exigences fixées. En effectuant plusieurs analyses sur plusieurs jours, on détermine les paramètres pris en compte pour la validation de méthode tels que la vérification de la gamme d'étalonnage pour les méthodes indirectes, détermination et vérification de la limite de quantification et la vérification de l'exactitude de la méthode.

1. Étude de la fonction d'étalonnage

1.1. Données expérimentales

La méthode de dosage des oligo-éléments utilise la fonction linéaire comme fonction d'étalonnage en routine.

L'évaluation de la gamme d'étalonnage pour chaque élément analyser est faite sur cinq solutions étalons avec cinq niveaux de concentrations, pendant cinq jours dans les conditions de fidélité intermédiaire.

Les tableaux 11, 12, 13 et 14 présente le signal obtenu (intensité de pique) sur des étalons à des jours différents pour l'évaluation d'une fonction linéaire de type $Y = a_0 + a_1X$ pour chaque élément analyser.

Tableau 11 : Tableau du signal obtenu sur des étalons à des jours différents pour l'évaluation d'une fonction linéaire de cuivre

Séries différentes	niv1	niv2	niv3	niv4	y = a0 + a1 x	
	0,5	1	2,5	5	a0	a1
7-sept.	3348,11	6991,01	17087,71	33847,91	118,65	6755,57
9-sept.	3747,25	7386,60	18265,47	36167,68	185,04	7202,98
13-sept.	3102,01	6714,27	17202,40	34242,30	-231,90	6909,84
27-sept.	3321,76	7048,32	17561,59	35701,60	-245,09	7179,29
30-sept.	3356,65	6605,85	16628,01	33555,21	-80,33	6718,56

Projet de fin d'études

Tableau 12 : Tableau du signal obtenu sur des étalons à des jours différents pour l'évaluation d'une fonction linéaire de Fer

Séries différentes	niv1	niv2	niv3	niv4	y = a0 + a1 x	
	0,5 mg/l	1 mg/l	2,5 mg/l	5 mg/l	a0	a1
7-sept.	3939,42	8160,46	20001,58	39417,44	191,27	7861,53
9-sept.	4179,23	8258,24	20280,89	39960,47	293,68	7944,90
13-sept.	3749,94	7937,94	19666,41	40095,36	-265,06	8056,65
27-sept.	3554,49	7658,61	19542,00	38748,89	-192,61	7808,27
30-sept.	3802,22	7554,30	19063,91	38339,74	-94,27	7681,92

Tableau 13 : Tableau du signal obtenu sur des étalons à des jours différents pour l'évaluation d'une fonction linéaire de manganèse

Séries différentes	niv1	niv2	niv3	niv4	y = a0 + a1 x	
	0,5 mg/l	1 mg/l	2,5 mg/l	5 mg/l	a0	a1
7-sept.	546,35	1143,05	2829,56	5599,01	9,54	1119,98
9-sept.	615,16	1215,97	3019,01	5978,47	25,69	1191,76
13-sept.	558,81	1195,06	2962,65	6052,84	-47,01	1217,49
27-sept.	517,07	1128,06	2894,51	5777,72	-46,71	1167,14
30-sept.	552,97	1086,90	2760,80	5576,79	-21,97	1118,37

Tableau 14 : Tableau du signal obtenu sur des étalons à des jours différents pour l'évaluation d'une fonction linéaire du Zinc

Séries différentes	niv1	niv2	niv3	niv4	y = a0 + a1 x	
	0,25 mg/l	0,5 mg/l	1,25 mg/l	2,5 mg/l	a0	a1
7-sept.	2452,09	5073,05	12291,67	24282,21	148,25	9668,00
9-sept.	2586,96	5102,10	12481,41	24725,67	164,85	9830,39
13-sept.	2304,62	4893,31	12424,84	24529,70	-58,18	9863,37
27-sept.	2367,47	5009,42	12384,97	25067,77	-111,98	10061,68
30-sept.	2334,13	4643,18	11651,66	23380,00	-25,78	9358,24

L'ordonnée à l'origine a_0 et la pente a_1 sont estimées lors de chaque jour d'étalonnage et permettent de calculer les grandeurs retrouvées de chaque étalon qui sont présentés dans les tableaux 15 et 16 pour les quatre éléments :

Tableau 15 : tableau des grandeurs retrouvées pour les éléments Cuivre et le Fer

élément	Cuivre				Fer			
	niv1	niv2	niv3	niv4	niv1	niv2	niv3	niv4
Séries différentes	0,5	1	2,5	5	0,5	1	2,5	5
13-mars	0,48	1,02	2,51	4,99	0,48	1,01	2,52	4,99
21-mars	0,49	1,00	2,51	5,00	0,49	1,00	2,52	4,99
21-mars	0,48	1,01	2,52	4,99	0,50	1,02	2,47	5,01
22-mars	0,50	1,02	2,48	5,01	0,48	1,01	2,53	4,99
3-av.	0,51	1,00	2,49	5,01	0,51	1,00	2,49	5,00

Projet de fin d'études

Tableau 16 : tableau des grandeurs retrouvées pour les éléments manganèse et Zinc

élément	Manganèse				Zinc			
	niv1	niv2	niv3	niv4	niv1	niv2	niv3	niv4
Séries différentes	0,5	1	2,5	5	0,25 mg/l	0,5 mg/l	1,25 mg/l	2,5 mg/l
13-mars	0,48	1,01	2,52	4,99	0,24	0,51	1,26	2,50
21-mars	0,49	1,00	2,51	4,99	0,25	0,50	1,25	2,50
21-mars	0,50	1,02	2,47	5,01	0,24	0,50	1,27	2,49
22-mars	0,48	1,01	2,52	4,99	0,25	0,51	1,24	2,50
3-avr.	0,51	0,99	2,49	5,01	0,25	0,50	1,25	2,50

Les biais relatifs entre chaque grandeur théorique et chaque grandeur retrouvée sont calculés ils sont présentés dans les tableaux 17 et 18 :

Tableau 17 : Tableau des biais relatifs par rapport aux valeurs théoriques pour le Cuivre et le Fer

élément	Cuivre				Fer			
	niv1	niv2	niv3	niv4	niv1	niv2	niv3	niv4
Séries différentes	0,5	1	2,5	5	0,5	1	2,5	5
13-mars	-4,4%	1,7%	0,5%	-0,1%	-4,6%	1,4%	0,8%	-0,2%
21-mars	-1,1%	0,0%	0,4%	-0,1%	-2,2%	0,2%	0,6%	-0,1%
21-mars	-3,5%	0,5%	0,9%	-0,2%	-0,3%	1,8%	-1,0%	0,2%
22-mars	-0,6%	1,6%	-0,8%	0,1%	-4,0%	0,6%	1,1%	-0,3%
3-avr.	2,3%	-0,5%	-0,5%	0,1%	1,4%	-0,4%	-0,2%	0,1%

Tableau 18 : Tableau des biais relatifs par rapport aux valeurs théoriques pour le manganèse et le Zinc

élément	Manganèse				Zinc			
	niv1	niv2	niv3	niv4	niv1	niv2	niv3	niv4
Séries différentes	0,5	1	2,5	5	0,25 mg/l	0,5 mg/l	1,25 mg/l	2,5 mg/l
13-mars	-4,1%	1,2%	0,7%	-0,2%	-4,7%	1,9%	0,5%	-0,1%
21-mars	-1,1%	-0,1%	0,5%	-0,1%	-1,4%	0,4%	0,2%	-0,1%
21-mars	-0,5%	2,0%	-1,1%	0,2%	-4,2%	0,4%	1,2%	-0,3%
22-mars	-3,4%	0,7%	0,8%	-0,2%	-1,4%	1,8%	-0,6%	0,1%
3-avr.	2,8%	-0,8%	-0,5%	0,1%	0,9%	-0,2%	-0,2%	0,0%

1.2. Étude de la fonction d'étalonnage de la méthode d'analyse avec un test d'adéquation

Les tableaux 19, 20, 21 et 22 présentent les critères statistiques calculés de Fisher pour évaluer l'adéquation du modèle d'étalonnage utilisé pour les quatre éléments :

Tableau 19 : Test d'adéquation au modèle d'étalonnage du Cuivre

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Variance estimée	F	Valeur critique
Erreur due au modèle	0,00054	4	0,000134	0,81	4,77
Erreur expérimentale	0,00264	16	0,000165		
Totale	0,00318	20			

Projet de fin d'études

Tableau 20 : Test d'adéquation au modèle d'étalonnage de Fer

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Variance estimée	F	Valeur critique
Erreur due au modèle	0,00098	4	0,000245	1,21	4,77
Erreur expérimentale	0,00325	16	0,000203		
Totale	0,00423	20			

Tableau 21 : Test d'adéquation au modèle d'étalonnage du manganèse

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Variance estimée	F	Valeur critique
Erreur due au modèle	0,00040	4	0,000099	0,47	4,77
Erreur expérimentale	0,00335	16	0,000209		
Totale	0,00375	20			

Tableau 22 : Test d'adéquation au modèle d'étalonnage du Zinc

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Variance estimée	F	Valeur critique
Erreur due au modèle	0,00029745	4	0,000074	2,02	4,77
Erreur expérimentale	0,00059006	16	0,000037		
Totale	0,00088751	20			

• Interprétation

Le critère de Fisher calculé pour les éléments Cuivre, Fer, Manganèse et le Zinc sont successivement 0.81, 1.21, 0.47, 2.02. La valeur critique de Fisher avec un risque de 1 % est égale à F (5 ; 20 ; 1 %) correspondant à 4,77.

En conclusion, la fonction d'étalonnage pour les quatre éléments est validée sur le domaine étudié avec un risque de 1 % car l'erreur de modèle est significativement négligeable par rapport à l'erreur expérimentale observée car le critère observé est inférieur à la valeur critique.

1.3. Étude de l'étalonnage de la méthode d'analyse avec des EMAétalonnage

L'expérimentateur fixe par niveau d'étalonnage un EMAétalonnage qu'il souhaite accepter dans les prochains contrôles des gammes d'étalonnage.

L'écart maximale acceptable fixée pour le Cuivre, Fer et le Zinc est de 5% pour le niveau bas et 2% pour les autres niveaux de la gamme d'étalonnage, et pour le manganèse 5% pour le niveau bas et 3% pour les autres niveaux de la gamme d'étalonnage.

La figure 9 présente la répartition des biais en % en fonctions des niveaux par rapport à un EMA définies par le laboratoire

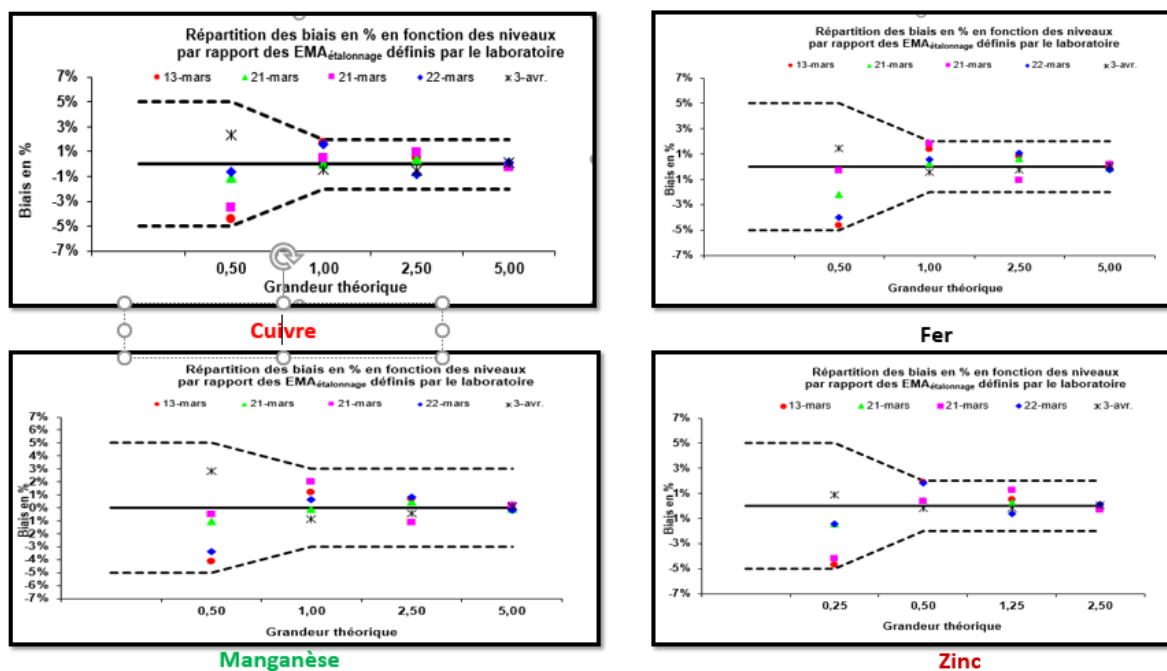


Figure 9 : répartition des biais en % par rapport à des EMA pour les quatre éléments à analyser

- **Interprétation**

La répartition des biais relatif observé est conforme aux écarts maximaux acceptable que l'utilisateur s'est fixé donc la fonction d'étalonnage est considérée comme acceptable dans le domaine étudié.

1.4. Conclusion

L'évaluation de la gamme d'étalonnage par l'approche d'EMA est vérifié pour les quatre éléments puisque tous les biais relatif observé est conforme à l'écart maximal acceptable fixé.

Le test d'adéquation du modèle montre que la fonction d'étalonnage est validée sur le domaine étudié avec un risque de 1% pour les quatre éléments analysés.

2. Étude de la limite quantification présumposée

1.1. Détermination de la limite de quantification

La détermination de la limite de quantification des éléments : Cuivre, Fer, Manganèse, et le Zinc, nécessite une matrice représentative exempt de ces éléments pour faire des dilutions sur le matériau de référence jusqu'à l'instrument (ICP-AES) n'arrive pas à quantifier ces éléments.

On a pensé à utiliser le sable de la rivière comme matériau de dilution mais ce dernier contient un pourcentage des oligo-éléments, puis on à faire plusieurs extractions de ces éléments par la

solution d'extraction mais à chaque fois la concentration des oligo-éléments diminue à un certain temps reste stable. On a pensé une autre fois à utiliser le sable de mer on a fait le même chose que le sable de la rivière mais on a trouvé le même problème, la concentration des oligo-éléments reste constante.

A cause de la période de stage qui reste très courte on a passer à la validation de la méthode de dosage des cations (K, Mg, Na, Ca) dans la matrice eau, en attendant de trouver une solution pour déterminer la limite de quantification des oligo-éléments pour lancer la vérification de l'exactitude de la méthode.

II. La méthode de dosage des cations (K, Mg, Na et Ca) par ICP-AES dans la matrice eau

Afin de valider cette méthode normalisée, nous avons utilisé la norme française NF T90-210.

La validation de cette méthode porte sur l'évaluation de trois paramètres statistiques à savoir la gamme d'étalonnage, limite de quantification et l'exactitude de la méthode.

1. Étude de la fonction d'étalonnage

1.1. Données expérimentales

La présente méthode normalisée exige la fonction linéaire comme choix de fonction d'étalonnage en routine.

L'évaluation de la gamme d'étalonnage pour chaque élément analyser est faite sur cinq solutions étalons avec quatre niveaux de concentrations, pendant cinq jours dans les conditions de fidélité intermédiaire.

Les tableaux 23, 24, 25 et 26 présentent le signal obtenu (intensité de pique) sur des étalons à des jours différents pour l'évaluation d'une fonction linéaire de type $y = a_0 + a_1x$ pour les éléments étudiés :

Projet de fin d'études

Tableau 23 : Tableau du signal obtenu sur des étalons à des jours différents pour l'évaluation d'une fonction linéaire pour le calcium

Séries différentes	niv 1	niv 2	niv 3	niv 4	y = a0 + a1 x	
	0 mg/l	5 mg/l	20 mg/l	91,7 mg/l	a0	a1
26-avr.	2063,75	39109,26	147727,12	653598,39	3731,90	7089,01
2-mai	451,93	35406,31	136900,19	612599,99	1953,03	6660,50
3-mai	2167,15	37608,19	136426,05	605710,80	3937,42	6562,98
4-mai	2383,81	38301,09	139806,94	620555,10	4024,75	6723,90
5-mai	2019,33	38551,75	140133,41	663777,94	353,98	7221,75

Tableau 24 : Tableau du signal obtenu sur des étalons à des jours différents pour l'évaluation d'une fonction linéaire du manganèse

Séries différentes	niv 1	niv 2	niv 3	niv 4	y = a0 + a1 x	
	0 mg/l	5 mg/l	20 mg/l	91,7 mg/l	a0	a1
26-avr.	211,32	46759,96	189269,54	758395,26	9311,31	8201,05
2-mai	452,68	43686,24	160271,44	696866,18	4850,91	7554,16
3-mai	164,02	40641,24	157167,00	686000,53	3581,50	7449,43
4-mai	488,44	42785,54	155565,61	686338,66	4019,65	7444,75
5-mai	388,29	45456,54	170689,95	733215,2	5491,21	7947,45

Tableau 25 : Tableau du signal obtenu sur des étalons à des jours différents pour l'évaluation d'une fonction linéaire du sodium

Séries différentes	niv 1	niv 2	niv 3	niv 4	y = a0 + a1 x	
	0 mg/l	5 mg/l	20 mg/l	91,7 mg/l	a0	a1
26-avr.	17783,39	58692,43	192496,02	749780,22	22697,96	7948,95
2-mai	16020,48	52563,03	171588,23	673405,42	19959,34	7141,85
3-mai	14793,33	50156,40	154270,34	660770,22	14448,33	7042,98
4-mai	16302,64	55661,68	168771,51	718830,62	16503,34	7654,22
5-mai	15749,23	54761,74	160783,04	686845,64	16294,63	7306,50

Tableau 26 : Tableau du signal obtenu sur des étalons à des jours différents pour l'évaluation d'une fonction linéaire pour le potassium

Séries différentes	niv 1	niv 2	niv 3	niv 4	y = a0 + a1 x	
	0 mg/l	5 mg/l	20 mg/l	91,7 mg/l	a0	a1
26-avr.	0,00	5954,42	25404,78	109050,84	492,33	1185,89
2-mai	32,81	6190,47	23582,48	108697,44	80,26	1183,67
3-mai	34,27	6453,72	27401,71	116463,38	656,50	1265,44
4-mai	0,00	6139,47	24379,36	111538,83	41,82	1215,44
5-mai	31,53	5573,76	22617,48	105324,74	-153,48	1149,23

L'ordonnée à l'origine a_0 et la pente a_1 sont estimées lors de chaque jour d'étalonnage et permettent de calculer les grandeurs retrouvées de chaque étalon

Les tableaux 27 et 28 présente les grandeurs retrouvées pour chaque niveau et chaque élément à analyser.

Projet de fin d'études

Tableau 27 : Tableau des grandeurs retrouvées pour le calcium et le magnésium

élément	calcium				magnésium				
	Séries différentes	niv 1	niv 2	niv 3	niv 4	niv 1	niv 2	niv 3	niv 4
		0 mg/l	5 mg/l	20 mg/l	91,7 mg/l	0 mg/l	5 mg/l	20 mg/l	91,7 mg/l
26-avr.		-0,24	4,99	20,31	91,67	-1,11	4,57	21,94	91,34
2-mai		-0,23	5,02	20,26	91,68	-0,58	5,14	20,57	91,61
3-mai		-0,27	5,13	20,19	91,69	-0,46	4,97	20,62	91,61
4-mai		-0,24	5,10	20,19	91,69	-0,47	5,21	20,36	91,65
5-mai		0,23	5,29	19,36	91,86	-0,64	5,03	20,79	91,57

Tableau 28 : Tableau des grandeurs retrouvées pour le sodium et le potassium

élément	sodium				potassium				
	Séries différentes	niv 1	niv 2	niv 3	niv 4	niv 1	niv 2	niv 3	niv 4
		0 mg/l	5 mg/l	20 mg/l	91,7 mg/l	0 mg/l	5 mg/l	20 mg/l	91,7 mg/l
26-avr.		-0,62	4,53	21,36	91,47	-0,42	4,61	21,01	91,54
2-mai		-0,55	4,57	21,23	91,50	-0,04	5,16	19,86	91,76
3-mai		0,05	5,07	19,85	91,77	-0,49	4,58	21,14	91,52
4-mai		-0,03	5,12	19,89	91,76	-0,03	5,02	20,02	91,73
5-mai		-0,07	5,26	19,78	91,77	0,16	4,98	19,81	91,78

Les biais relatifs entre chaque grandeur théorique et chaque grandeur retrouvée sont calculés et présentées dans les tableaux 29 et 30 :

Tableau 29 : Tableau des biais relatifs par rapport aux valeurs théoriques du calcium et de magnésium

élément	calcium				magnésium				
	Séries différentes	niv 1	niv 2	niv 3	niv 4	niv 1	niv 2	niv 3	niv 4
		0 mg/l	5 mg/l	20 mg/l	91,7 mg/l	0 mg/l	5 mg/l	20 mg/l	91,7 mg/l
26-avr.		-	-0,2%	1,6%	-0,1%	-	-8,7%	9,7%	-0,4%
2-mai		-	0,5%	1,3%	-0,1%	-	2,8%	2,9%	-0,1%
3-mai		-	2,6%	0,9%	-0,1%	-	-0,5%	3,1%	-0,1%
4-mai		-	2,0%	1,0%	-0,1%	-	4,1%	1,8%	-0,1%
5-mai		-	5,8%	-3,2%	0,1%	-	0,6%	3,9%	-0,2%

Tableau 30 : Tableau des biais relatifs par rapport aux valeurs théoriques du sodium et potassium

élément	sodium				potassium				
	Séries différentes	niv 1	niv 2	niv 3	niv 4	niv 1	niv 2	niv 3	niv 4
		0 mg/l	5 mg/l	20 mg/l	91,7 mg/l	0 mg/l	5 mg/l	20 mg/l	91,7 mg/l
26-avr.		-	-9,4%	6,8%	-0,3%	-	-7,9%	5,0%	-0,2%
2-mai		-	-8,7%	6,2%	-0,3%	-	3,2%	-0,7%	0,0%
3-mai		-	1,4%	-0,7%	0,0%	-	-8,4%	5,7%	-0,2%
4-mai		-	2,3%	-0,5%	0,0%	-	0,3%	0,1%	0,0%
5-mai		-	5,3%	-1,1%	0,0%	-	-0,3%	-0,9%	0,0%

1.2. Étude de la fonction d'étalonnage de la méthode d'analyse avec un test d'adéquation

Les tableaux 31, 32, 33 et 34 présentent les tests d'adéquation du modèle d'étalonnage pour chaque élément étudié

Tableau 31 : Test d'adéquation au modèle d'étalonnage du calcium

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Variance estimée	F	Valeur critique
Erreur due au modèle	0,150	4	0,038	0,67	4,77
Erreur expérimentale	0,896	16	0,056		
Totale	1,084	20			

Tableau 32 : Test d'adéquation au modèle d'étalonnage du manganèse

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Variance estimée	F	Valeur critique
Erreur due au modèle	3,99	4	0,997	4,38	5,67
Erreur expérimentale	2,50	11	0,227		
Totale	5,72	15			

Tableau 33 : Test d'adéquation au modèle d'étalonnage du sodium

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Variance estimée	F	Valeur critique
Erreur due au modèle	1,27	4	0,32	1,45	4,77
Erreur expérimentale	3,51	16	0,22		
Totale	4,78	20			

Tableau 34 : Test d'adéquation au modèle d'étalonnage du potassium

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Variance estimée	F	Valeur critique
Erreur due au modèle	0,92	4	0,23	1,58	4,77
Erreur expérimentale	2,33	16	0,15		
Totale	3,25	20			

- Interprétation**

Le test d'adéquation au modèle d'étalonnage pour les différents éléments étudiés selon la présente méthode montre que le critère de Fisher calculé est inférieur à la valeur critique théorique.

La fonction d'étalonnage pour les quatre éléments est validée sur le domaine étudié avec un risque de 1 % car l'erreur de modèle est significativement négligeable par rapport à l'erreur expérimentale observée car le critère observé est supérieur à la valeur critique.

1.3. Étude de l'étalonnage de la méthode d'analyse avec des EMAétalonnage

On a fixé par niveau d'étalonnage un EMAétalonnage en cohérence avec l'incertitude due à l'étalonnage qu'il souhaite accepter dans les prochains contrôles des gammes d'étalonnage.

L'EMA est fixé à 20% pour les différents niveaux et pour les différents éléments.

La figure 10 présente la répartition des biais en % en fonctions des niveaux par rapport à un EMA définies par le laboratoire pour les quatre éléments étudiés :

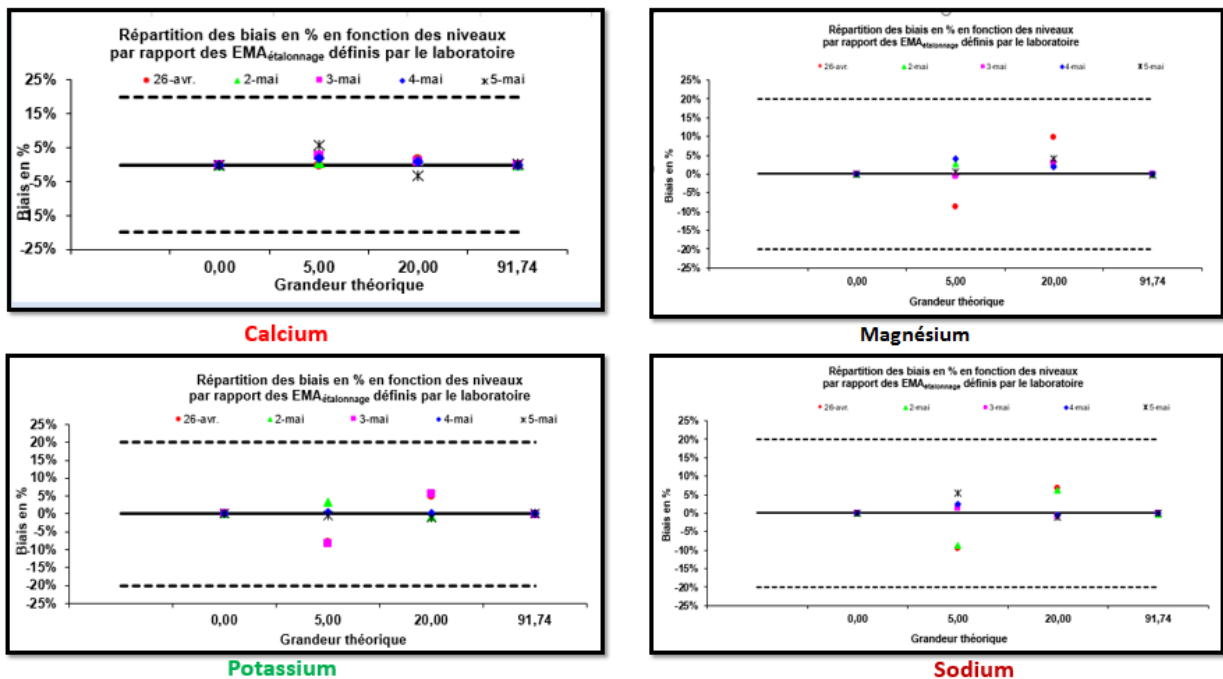


Figure 10 : Graphique des biais relatifs par rapport aux grandeurs théoriques pour les éléments étudiés

Le figure 10 montre que chaque biais relatif observé pour les quatre éléments est conforme à l'écart maximal acceptable que l'utilisateur s'est fixé ce qui traduit que la fonction d'étalonnage est considérée comme acceptable dans le domaine étudié.

1.4. Conclusion

L'évaluation de la gamme d'étalonnage par l'approche d'EMA pour les quatre éléments est vérifiés puisque tous les biais relatif observé est conforme à l'écart maximal acceptable fixé.

Le test d'adéquation du modèle montre que la fonction d'étalonnage pour les quatre éléments est validée sur le domaine étudié avec un risque de 1%.

2. Étude de la limite quantification présumée

2.1. Détermination de la limite de quantification

Afin de déterminer la limite de quantification de la méthode pour chaque élément on a procédé à des dilutions successives du matériau de référence à l'aide d'une eau ultra pure ne contenant pas les éléments étudiés jusqu'au la méthode n'arrive pas à quantifier exactement l'élément étudiés.

Les résultats de dilution du matériau de référence sont présentés dans le tableau 35 :

Tableau 35 : résultats de détermination de la limite de quantification

solutions	valeurs mesurés mg/l			
	Ca	K	Mg	Na
matériau de référence	123,9	10,88	25,14	11,4
dilution 2 fois	60,5	5,1	12,1	5,3
dilution 10 fois	12,39	0,91	2,514	-
dilution 50 fois	2,42	-	0,53	-
dilution 100 fois	-	-	-	-

Les résultats de dilutions obtenus montrent que la limite de quantification présumée pour les quatre éléments est montrée dans le tableau 36 :

Tableau 36 : valeurs de références de la limite de quantification assignés à chaque élément

solutions	valeurs mesurés mg/l			
	Ca	K	Mg	Na
facteurs de dilution	50	10	50	2
limite de quantification	2,478	1,088	0,503	5,7

2.2. Vérification de la limite de quantification

Cinq échantillons d'eau ultra pure ne contenant pas les éléments à analyser sont préparés à chaque valeur de la LQ présumée puis ils sont analysés dans des conditions de fidélité intermédiaire pendant cinq jours avec deux répétitions dans le même jours (conditions de répétabilité), et les résultats sont présentés dans le tableau 37 :

Projet de fin d'études

Tableau 37 : tableau des résultats de la limite de quantifications pour les quatre éléments

Conditions de fidélité intermédiaire des séries	Résultats du matériau de référence dans une série							
	Mg (mg/l)		Na (mg/l)		Ca (mg/l)		K (mg/l)	
Série	n°1	n°2	n°1	n°2	n°1	n°2	n°1	n°2
26-avr	0,53	0,53	4,79	4,81	2,36	2,38	0,63	0,61
02-mai	0,56	0,51	5,20	5,23	2,37	2,41	0,90	0,88
03-mai	0,56	0,55	5,03	4,99	2,17	2,20	0,82	0,77
04-mai	0,55	0,56	5,10	5,33	2,20	2,20	0,81	0,74
05-mai	0,46	0,46	4,86	4,86	2,03	2,02	0,95	0,98

Le calcul des paramètres d'exactitude de la limite de quantification présumées sont présentés dans le tableau 38 :

Tableau 38 : Paramètres d'exactitude de la limite de quantification présumée pour les quatre éléments

éléments	Mg	Na	Ca	K
Nombre de séries n	5	5	5	5
Nombre de répétitions par série r	2	2	2	2
Variance de répétabilité : S_r	0,0003	0,0056	0,0003	0,0009
Variance des moyennes : $s(\bar{z}_i)^2$	0,0015	0,0375	0,0225	0,0170
Variance inter-séries : S_B	0,0014	0,0347	0,0224	0,0165
Variance de fidélité intermédiaire S_{FI}	0,0017	0,0403	0,0227	0,0174
Moyenne générale	0,527	5,02	2,234	0,809
Ecart-type de fidélité intermédiaire : s_{FI}	0,041	0,201	0,151	0,132
CV de fidélité intermédiaire CV_{FI} en %	0,077	0,040	0,067	0,163
valeurs de Référence	0,503	5,7000	2,470	1,088
EMA	0,302	3,4200	1,482	0,653
Limite haute d'acceptabilité	0,804	9,1200	3,952	1,741
$\bar{z} + 2 \times s_{FI}$	0,609	5,4216	2,535	1,073
$\bar{z} - 2 \times s_{FI}$	0,445	4,6184	1,933	0,545
Limite basse d'acceptabilité	0,201	2,2800	0,988	0,435

Le Tableau 38 montre que les deux inégalités $Z_{LQ} - 2 \times S_{LQ} > LQ - 60 \% \times LQ$ et $Z_{LQ} + 2 \times S_{LQ} < LQ + 60 \% \times LQ$ sont vérifiées pour les quatre éléments étudiés, ce qui traduit que l'exactitude de la limite de quantification présumée est vérifiée.

3. Étude de l'exactitude de la méthode pour les quatre éléments

L'exactitude de la méthode est étudiée sur le matériau de référence pour les quatre éléments étudiés avec trois niveaux de concentrations.

Les valeurs expérimentales utilisées de la vérification de la limite de quantification sont utilisées pour la vérification de l'exactitude avec une série d'analyse effectuée pour les deux

Projet de fin d'études

autres niveaux au bout de cinq jours dans les conditions de fidélité intermédiaire avec deux répétitions dans le même jour dans les conditions de répétabilité.

Les résultats d'exactitude obtenue sur les trois niveaux du matériau de référence sur les quatre éléments sont présentés dans les tableaux 39, 40, 41, et 42 :

Tableau 39 : tableau des résultats de l'exactitude de la méthode de sodium

Matériau / Série	niveau 1 (5,7 mg/l)		niveau 2 (7,6 mg/l)		niveau 3 (11,4 mg/l)	
	n°1	n°2	n°1	n°2	n°1	n°2
26-avr	4,79	4,81	7,19	7,20	11,33	11,20
02-mai	5,20	5,23	7,23	7,16	11,04	10,92
03-mai	5,03	4,99	7,05	7,03	11,32	11,32
04-mai	5,10	5,33	7,10	7,06	10,76	10,94
05-mai	4,86	4,86	7,18	7,29	10,26	10,21

Tableau 40 : tableau des résultats de l'exactitude de la méthode du manganèse

Matériau / Série	niveau 1 (0,503 mg/l)		niveau 2 (5,028 mg/l)		niveau 3 (25,14 mg/l)	
	n°1	n°2	n°1	n°2	n°1	n°2
26-avr	0,53	0,53	4,93	4,90	25,35	25,68
02-mai	0,56	0,51	4,59	4,58	23,62	23,36
03-mai	0,56	0,55	4,98	4,93	26,29	26,61
04-mai	0,55	0,56	5,01	5,13	24,09	24,06
05-mai	0,46	0,46	4,97	5,01	24,90	24,74

Tableau 41 : tableau des résultats de l'exactitude de la méthode du potassium

Matériau / Série	niveau 1 (1,088 mg/l)		niveau 2 (2,176 mg/l)		niveau 3 (10,88 mg/l)	
	n°1	n°2	n°1	n°2	n°1	n°2
26-avr	0,63	0,61	2,02	1,98	11,66	11,69
02-mai	0,90	0,88	2,14	2,20	11,50	11,36
03-mai	0,82	0,77	1,95	1,90	10,91	10,77
04-mai	0,81	0,74	1,99	1,84	11,26	11,24
05-mai	0,95	0,98	1,99	1,99	11,17	11,13

Tableau 42 : tableau des résultats de l'exactitude de la méthode du calcium

Matériau / Série	niveau 1 (2,47 mg/l)		niveau 2 (24,78 mg/l)		niveau 3 (123,9 mg/l)	
	n°1	n°2	n°1	n°2	n°1	n°2
26-avr	2,36	2,38	27,23	26,48	128,38	128,68
02-mai	2,37	2,41	26,24	26,18	127,71	127,77
03-mai	2,17	2,20	24,77	24,77	124,68	125,55
04-mai	2,20	2,20	23,75	23,56	123,38	122,96
05-mai	2,03	2,02	24,67	25,12	104,24	104,49

Projet de fin d'études

Les résultats sont interprétés pour la vérification de la justesse et de l'exactitude de la méthode par rapport à un écart maximal acceptable autour de chaque valeur de référence fixé par le laboratoire.

L'estimation des paramètres d'exactitude de la méthode sont montrés dans les tableaux 43 et 44 :

Tableau 43 : estimation des paramètres d'exactitude du manganèse et sodium

Elément	manganèse			sodium		
	niveau 1	niveau 2	niveau 3	niveau 1	niveau 2	niveau 3
valeur de référence	0,503	5,028	25,140	5,7	7,6	11,4
Uréf	0,17	0,17	0,17	0,6	0,6	0,6
EMA en %	60%	20%	20%	60%	20%	20%
nombre de série	5	5	5	5	5	5
moyenne	0,527	4,903	24,870	5,020	7,149	10,930
Écart-type de fidélité	0,041	0,189	1,174	0,201	0,090	0,439
CV de fidélité	7,75%	3,86%	4,72%	4,00%	1,25%	4,01%
Écart normalisé EN	0,14	0,66	0,49	1,12	0,75	0,74
Critère	2,00			2,00		
Réf + EMA	0,80	6,03	30,17	9,12	9,12	13,68
z + 2× SLQ	0,61	5,28	27,22	5,42	7,33	11,81
z - 2× SLQ	0,45	4,52	22,52	4,62	6,97	10,05
Réf - EMA	0,20	4,02	20,11	2,28	6,08	9,12

Tableau 44 : estimation des paramètres d'exactitude du potassium et calcium

Elément	potassium			calcium		
	niveau 1	niveau 2	niveau 3	niveau 1	niveau 2	niveau 3
valeur de référence	1,088	2,176	10,880	2,470	24,780	123,900
Uréf	0,58	0,58	0,58	0,8	0,8	0,8
EMA en %	60%	20%	20%	60%	20%	20%
nombre de série	5	5	5	5	5	5
moyenne	0,809	2,000	11,269	2,234	25,277	121,784
Écart-type de fidélité	0,132	0,109	0,315	0,151	1,280	9,970
CV de fidélité	16,33%	5,47%	2,80%	6,74%	5,06%	8,19%
Écart normalisé EN	0,48	0,302	0,65	0,29	0,51	0,47
Critère	2,00			2,00		
Réf + EMA	1,74	2,61	13,06	3,95	29,74	148,68
z + 2× SLQ	1,07	2,22	11,90	2,54	27,84	141,72
z - 2× SLQ	0,54	1,78	10,64	1,93	22,72	101,84
Réf - EMA	0,44	1,74	8,70	0,99	19,82	99,12

- Interprétation :**

La vérification de la justesse de la méthode montre que l'écart normalisé pour les trois niveaux de référence sont inférieure à 2 donc la justesse de la méthode est vérifiée.

Projet de fin d'études

Les deux inégalités présentées dans la norme T90-210 sont vérifiées pour chaque niveau donc l'exactitude de la méthode est vérifiée

4. Suivi de la méthode de dosage des cations par ICP-AES par la carte de contrôle

Le suivi de la méthode à l'aide d'une carte de contrôle est une procédure réalisée au sein du laboratoire pour évaluer si le système analytique opère correctement en fonction des limites de contrôle.

La façon du calcul des limites de contrôle, est montré dans l'annexe A

Les mesures sur le matériau de référence pour les quatre éléments analyser sont présentés dans le tableau 45 :

Tableau 45 : tableau des résultats de la carte de contrôle des éléments (K, Na, Mg, Ca)

Potassium	Sodium	Magnésium	Calcium
11,50	11,33	25,35	128,38
10,91	11,04	23,62	127,71
11,26	11,32	26,29	124,68
11,17	10,76	24,09	123,38
11,36	10,26	24,90	104,24
10,77	11,20	25,68	128,68
11,24	10,92	23,36	127,77
11,13	11,32	26,61	125,55
11,08	10,94	24,06	122,96
11,23	10,21	24,74	104,49
11,13	10,51	27,91	129,9
10,98	10,17	24,02	104,44
11,05	10,87	24,90	104,35
11,17	10,76	24,74	104,32
11,33	10,87	25,08	100,43
11,26	11,32	23,45	114,86
11,24	11,32	23,35	114,84
10,96	11,08	25,45	130,25
10,96	10,82	25,64	128,38
10,92	10,53	25,88	128,68

Les cartes de contrôles des quatre éléments sont montrées dans la figure 11 :

Projet de fin d'études

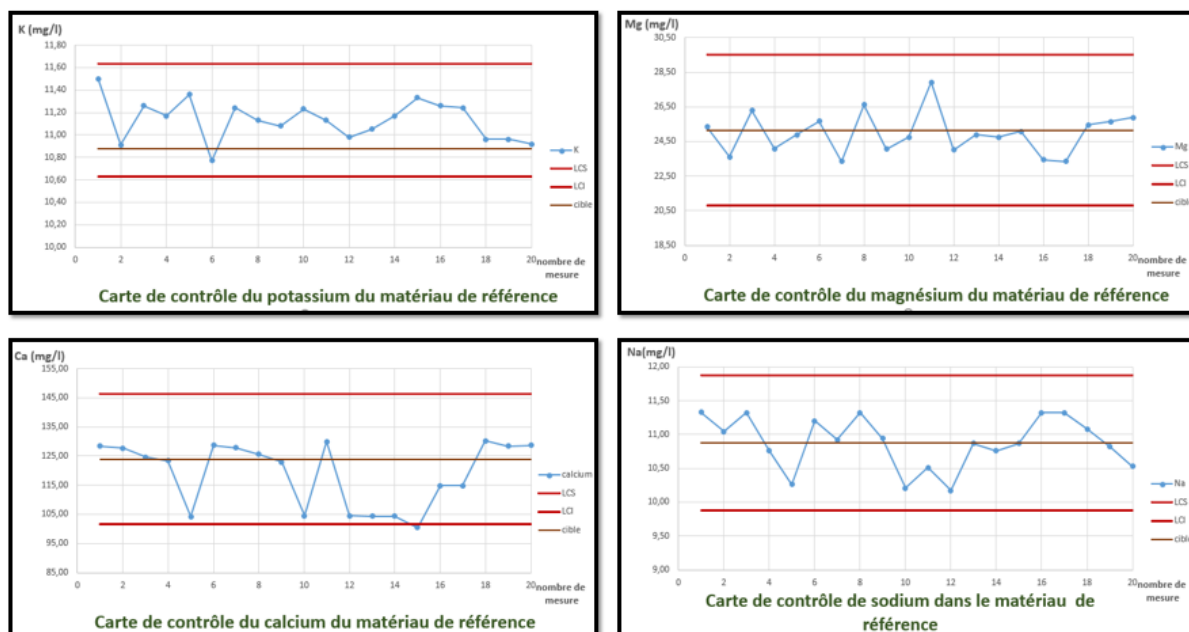


Figure 11 : cartes de contrôle des éléments (K, Mg, Ca, Na)

• Interprétation

La carte de contrôle du magnésium et sodium montre une distribution aléatoire par rapport à la valeur de référence et toutes les points sont conformes aux limites de contrôle calculés. Le potassium présente une sur estimation des mesures par rapport à la valeur de référence mais toutes les points sont conformes aux limites de contrôle calculés.

La carte de contrôle du calcium présente une distribution aléatoire des valeurs mesurés avec une point qui sort de la limite inférieure de contrôle dans le 15ème mesure mais après les mesures qui suivent restent conformes aux limites de contrôle.

En conclusion les cartes de contrôles des quatre éléments analyser est sous contrôle statistique.

III. Dosage du carbone organique dans le sol par oxydation sulfochromique :

La validation de cette méthode porte sur l'évaluation de trois paramètres statistiques à savoir la gamme d'étalonnage, limite de quantification et l'exactitude de la méthode

1. Étude de la fonction d'étalonnage

1.1. Données expérimentales

L'évaluation de la fonction d'étalonnage en tenant compte une fonction linéaire présentée dans la méthode normalisée repose sur la préparation de cinq étalons indépendants au jour 1 puis au jour 2, ..., au jour 5 : $p = 5$ et $n = 5$ (p : nombre de répétitions, n : nombre de niveaux).

Le tableau 46 présente le signal obtenu sur des étalons à des jours différents pour l'évaluation d'une fonction linéaire de type $y = a_0 + a_1 x$

Tableau 46 : Tableau du signal obtenu sur des étalons à des jours différents pour l'évaluation d'une fonction linéaire

Séries différentes	niv 1 0,50%	niv 2 1%	niv 3 2%	niv 4 3%	niv 5 4%	$y = a_0 + a_1 x$	
						a_0	a_1
28-févr.	0,0608	0,1158	0,2228	0,3348	0,4398	0,0069	0,1085
1-mars	0,0613	0,1161	0,2233	0,3293	0,4403	0,0075	0,1079
2-mars	0,0614	0,1171	0,2261	0,3279	0,4401	0,0087	0,1075
7-mars	0,0627	0,1155	0,2214	0,3221	0,4247	0,0123	0,1033
8-mars	0,0610	0,1153	0,2244	0,3329	0,4355	0,0084	0,1073

L'ordonnée à l'origine a_0 et la pente a_1 sont estimées lors de chaque jour d'étalonnage et permettent de calculer les grandeurs retrouvées de chaque étalon

Tableau 47 : Tableau des grandeurs retrouvées

Séries différentes	niv 1 0,50%	niv 2 1%	niv 3 2%	niv 4 3%	niv 5 4%
28-févr.	0,50	1,00	1,99	3,02	3,99
1-mars	0,50	1,01	2,00	2,98	4,01
2-mars	0,49	1,01	2,02	2,97	4,01
7-mars	0,49	1,00	2,02	3,00	3,99
8-mars	0,49	1,00	2,01	3,02	3,98

Les biais relatifs entre chaque grandeur théorique et chaque grandeur retrouvée sont calculés ils sont présentés dans le tableau 48 :

Tableau 48 : Tableau des biais relatifs par rapport aux valeurs théoriques

Séries différentes	niv 1 0,50%	niv 2 1%	niv 3 2%	niv 4 3%	niv 5 4%
28-févr.	-0,6%	0,4%	-0,5%	0,7%	-0,3%
1-mars	-0,2%	0,7%	0,0%	-0,6%	0,3%
2-mars	-2,0%	0,8%	1,1%	-1,0%	0,3%
7-mars	-2,4%	-0,1%	1,2%	-0,1%	-0,2%
8-mars	-2,0%	-0,4%	0,6%	0,8%	-0,5%

1.2. Étude de la fonction d'étalonnage de la méthode d'analyse avec un test d'adéquation

Le tableau 49 présente les critères statistiques calculés de Fisher pour évaluer l'adéquation du modèle d'étalonnage utilisé :

Tableau 49 : Test d'adéquation au modèle d'étalonnage de la méthode

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Variance estimée	F	Valeur critique
Erreur due au modèle	0,00082	5	0,00016	0,78	4,10
Erreur expérimentale	0,00418	20	0,00021		
Totale	0,00500	25			

Le critère de Fisher calculé est égal à 0.78. La valeur critique de Fisher avec un risque de 1 % est égale à F (5 ; 20 ; 1 %) correspondant à 4,10.

En conclusion, la fonction d'étalonnage est validée sur le domaine étudié avec un risque de 1 % car l'erreur de modèle est significativement négligeable par rapport à l'erreur expérimentale observée car le critère observé est inférieur à la valeur critique.

1.3. Étude de l'étalonnage de la méthode d'analyse avec des EMAétalonnage

L'utilisateur se fixe par niveau d'étalonnage un EMAétalonnage en cohérence avec l'incertitude due à l'étalonnage qu'il souhaite accepter dans les prochains contrôles des gammes d'étalonnage.

L'écart maximale acceptable fixée est de 5% pour le niveau bas et 2% pour les autres niveaux de la gamme d'étalonnage.

La figure 12 présente la répartition des biais en % en fonctions des niveaux par rapport à un EMA définies par le laboratoire.

Projet de fin d'études

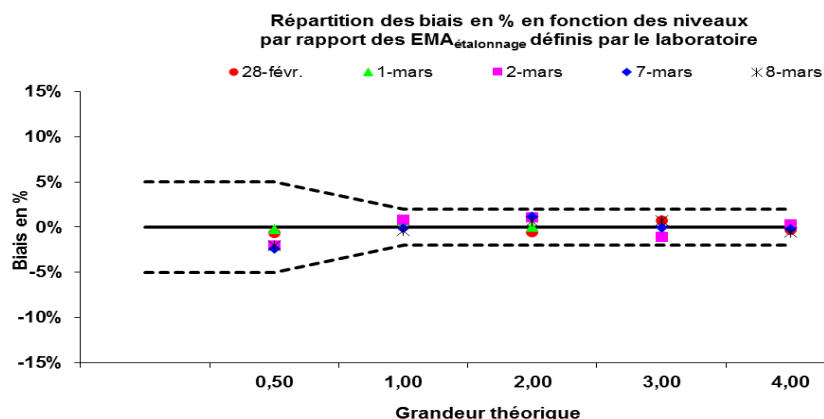


Figure 12 : répartition des biais en % par rapport à des EMA définie par le laboratoire

La figure 12 montre que chaque biais relatif observé est conforme à l'écart maximal acceptable que l'utilisateur s'est fixé. La fonction d'étalonnage est considérée comme acceptable dans le domaine étudié.

• Conclusion

L'évaluation de la fonction d'étalonnage par l'approche d'EMA est vérifiée puisque tous les biais relatifs observés sont conformes à l'écart maximal acceptable fixé.

Le test d'adéquation du modèle montre que la fonction d'étalonnage est validée sur le domaine étudié avec un risque de 1%.

2. Étude de la limite de quantification présumée

2.1. Détermination de la limite de quantification

Afin de déterminer la limite de quantification de la méthode de dosage du carbone organique, on a procédé à des dilutions successives du matériau de référence à l'aide du sable de mer qui ne contient pas l'élément à analyser, jusqu'à ce que la méthode n'arrive pas à quantifier exactement l'élément étudié.

Les résultats de dilution du matériau de référence sont présentés dans le tableau 50 :

Tableau 50 : résultats de dilution du matériau de référence

Concentration de référence %	Concentrations mesurées %
0,4	0,456
0,3	0,356
0,2	0,247
0,1	-

Projet de fin d'études

Les résultats de dilutions obtenus montrent que la limite de quantification présumée est de 0.2 %.

2.2. Vérification de la limite de quantifications

Cinq échantillons de sable de mer ne contenant pas de carbone organique sont préparés à une valeur de la LQ présumée à 0.2% puis sont analysés dans des conditions de fidélité intermédiaire pendant 5 jours avec deux répétitions dans le même jours (conditions de répétabilité).

Les résultats d'analyse sont présentés dans le tableau 51 :

Tableau 51 : tableau des résultats de la limite de quantification

Conditions de fidélité intermédiaire des séries	Résultats du matériau de référence dans une série en %		Moyenne	Variance des séries
	n°1	n°2	\bar{z}_i	S_i^2
Série				
15-mai	0,24	0,25	0,25	0,000
16-mai	0,26	0,25	0,26	0,000
17-mai	0,25	0,26	0,25	0,000
18-mai	0,28	0,27	0,27	0,000
19-mai	0,222	0,204	0,21	0,000

Le calcul des paramètres d'exactitude de la limite de quantification présumées sont présentés dans le tableau 52 :

Tableau 52 : Paramètres d'exactitude de la limite de quantification présumée

Nombre de séries n	5
Nombre de répétitions par série r	2
Variance de répétabilité : S_r	0,00008
Variance des moyennes : $s(z_i)^2$	0,00046
Variance inter-séries : S_{B2}	0,00042
Variance de fidélité intermédiaire S_{F2}	0,00050
Moyenne générale	0,25
Ecart-type de fidélité intermédiaire : S_{F1}	0,022
CV de fidélité intermédiaire CVFI en %	0,090
Référence	0,200
EMA	0,120
Limite haute d'acceptabilité	0,320
$\bar{z} + 2 \times s_{F1}$	0,293
$\bar{z} - 2 \times s_{F1}$	0,204
Limite basse d'acceptabilité	0,080

Interprétation

Le Tableau 52 montre que les deux inégalités $Z_{LQ} - 2 \times S_{LQ} > LQ - 60 \% \times LQ$ et $Z_{LQ} + 2 \times S_{LQ} < LQ + 60 \% \times LQ$ sont vérifiées, alors l'exactitude de la limite de quantification présumée à 0.2% est vérifiée.

3. Étude de l'exactitude de la méthode pour un niveau à 0.2%, 0.8% et 1.6%

L'exactitude de la méthode est étudiée sur des matériaux de valeur de référence 0.2%, 0.8% et 1.6%. Les valeurs expérimentales utilisées pour la vérification de la limite de quantification sont utilisées pour la vérification de l'exactitude avec une série d'analyse effectuée pour les deux autres niveaux au bout de cinq jours dans les conditions de fidélité intermédiaire avec deux répétitions (même jour) dans les conditions de répétabilité.

Les résultats d'exactitude obtenue sont présentés dans le tableau 53 :

Tableau 53 : tableau des résultats de l'exactitude de la méthode

Matériau / Série	niveau 1 (0,2 %)		niveau 2 (0,8 %)		niveau 1 (1,6 %)	
	n°1	n°2	n°1	n°2	n°1	n°2
15-mai	0,244	0,255	0,849	0,814	1,566	1,663
16-mai	0,264	0,251	0,791	0,796	1,515	1,472
17-mai	0,246	0,257	0,818	0,804	1,572	1,546
18-mai	0,275	0,267	0,792	0,791	1,610	1,535
19-mai	0,222	0,204	0,829	0,806	1,51	1,57

Les résultats sont interprétés pour la vérification de la justesse et de l'exactitude de la méthode par rapport à un EMA autour de chaque valeur de référence fixé par le laboratoire. L'estimation des paramètres d'exactitude de la méthode sont montrés dans le tableau 54 :

Tableau 54 : Estimation des paramètres d'exactitude de la méthode pour trois niveaux

niveaux	niveau 1	niveau 2	niveau 3
Valeur de référence (Réf)	0,2	0,8	1,6
Incertitude-type sur la valeur de référence ($u_{réf}$)	0,2	0,2	0,2
Ecart Maximal Acceptable	60%	20%	20%
Nombre de série (n)	5	5	5
moyenne	0,248	0,809	1,556
Écart-type de fidélité (sFI)	0,022	0,019	0,055
Coefficient de variation de fidélité (CVFI)	9,02%	2,39%	3,55%
Ecart normalisé EN	0,242	0,046	0,220
critère	2	2	2
Limite haute d'acceptabilité	0,3200	0,9600	1,9200
Limite haute de tolérance	0,2933	0,8478	1,6662
Limite basse de tolérance	0,2036	0,7704	1,4452
Limite basse d'acceptabilité	0,0800	0,6400	1,2800

Interprétation des paramètres d'exactitude

Les résultats obtenus montrent que l'écart normalisé pour les trois niveaux de référence sont inférieur à 2 donc la justesse de la méthode est vérifiée.

Les deux inégalités présentées dans la norme T90-210 sont vérifiées pour chaque niveau donc l'exactitude de la méthode est vérifiée.

4. Suivi de la méthode de dosage du carbone organique avec la carte de contrôle

Le suivi de la méthode de dosage du carbone organique à l'aide d'une carte de contrôle nécessite une 20 mesure sur un sol de référence. Ils sont présentés dans le tableau 55 :

Tableau 55 : tableau des résultats de la carte de contrôle du carbone organique

1,31	1,31	1,36	1,29	1,30
1,30	1,30	1,31	1,31	1,36
1,36	1,36	1,33	1,30	1,31
1,27	1,26	1,34	1,37	1,35

La carte de contrôle du carbone organique est présentée dans la figure 13 :

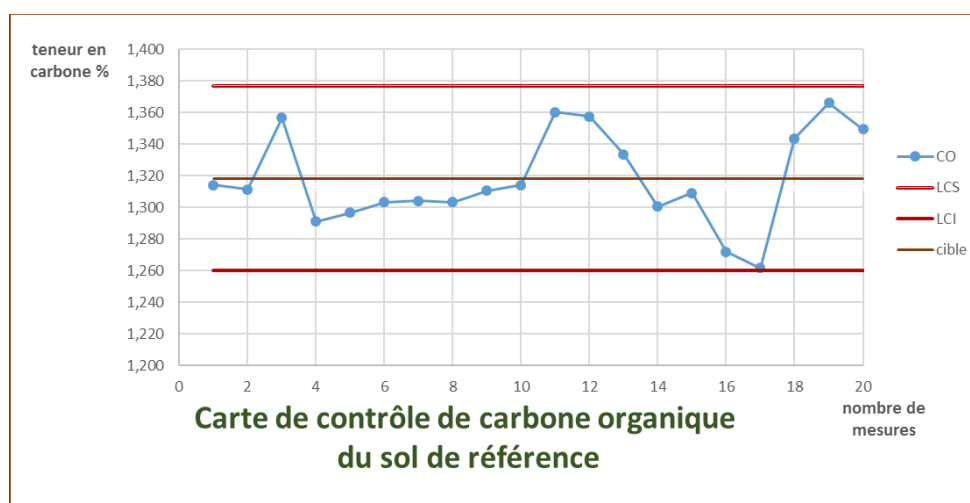


Figure 13 : carte de contrôle du carbone organique sur le sol de référence

- **Interprétation**

La construction de la carte de contrôle du carbone organique indique une distribution aléatoire par rapport à la moyenne ce que traduit que la méthode est sous contrôle statistique puisque toutes les points sont conformes aux limites de contrôle calculés.

Conclusion générale

Pour un laboratoire, il est important d'avoir confiance dans la validité des résultats analytiques qui sont rendus aux clients. C'est vrai dans le sens inverse : le client a besoin d'avoir confiance dans les résultats qu'il a sous-traités. La reconnaissance de la **compétence** des laboratoires est notamment attestée par leur accréditation par le COFRAC selon les normes ISO 17025.

À ce propos, le laboratoire d'analyse et de contrôle qualité doit être accrédités selon la norme ISO 17025, qui prévoit de manière explicite la validation des méthodes analytiques.

L'objectif globale de stage est fondé sur la validation de trois méthodes analytiques à savoir la méthode de dosage des oligo-éléments (Cu, Mn, Zn, Fe) dans le sol par ICP-AES, la méthode de dosage des éléments de traces métalliques dans l'eau par ICP-AES et la méthode de dosage de carbone organique dans le sol par spectroscopie UV-visible selon la norme de validation NF T90-210.

La première méthode on a vérifié le paramètre concernant la fonction d'étalonnage et pour la détermination de la limite de quantification on a pas trouver une matrice représentative exempt des éléments analyser pour l'utiliser dans la dilution du matériau de référence. On a passé à la validation de la méthode de dosage des éléments de traces métalliques dans l'eau, l'expérience à montrer que la fonction d'étalonnage, la limite de quantification et l'exactitude de la méthode sont vérifiés, ainsi le suivi de la méthode à l'aide de la carte contrôle confirme que la méthode est sous contrôle statistique.

La troisième méthode étudiée de dosage du carbone organique dans le sol nous donne des résultats suffisant pour la vérification des trois paramètres de validation avec la confirmation que la méthode est sous contrôle statistique grâce à la carte de contrôle de la méthode.

Références

- [1] BORIS GEYNET, Quel protocole pour valider ses méthodes : NF T90-210 ou NF V03-110 ? 2013, 10.1051/metrology/201312007, pp. 1-6. Disponible sur : http://cfmetrologie.edpsciences.org/articles/metrology/pdf/2013/01/metrology_metr2013_120_07.pdf (consulté le 20.02.2017)
- [2] MAX FEINBERG et MICHEL LAURENTIE. Validation des méthodes d'analyse quantitative par le profil d'exactitude, Numéro spécial 2010, Cahier des Techniques de l'Inra. Disponible sur : https://www6.inra.fr/cahier_des_techniques/Les-Cahiers-parus/Les-N-Speciaux/Validation-des-methodes. (Consulté le 05-02-2017)
- [3] M CAILLAUD. Qualité de l'eau, Protocole d'évaluation initiale des performances d'une méthode dans un laboratoire. NF T90-210, Mai 2009, 43 p.
- [4] M FREMY. Analyse des produits agricoles et alimentaires, Protocole de caractérisation en vue de la validation d'une méthode d'analyse quantitative par construction du profil d'exactitude. NF V03-110, Mai 2010, 57 p.
- [5] MOUKHALISS MEHDI. La validation analytique de la méthode de dosage d'acétate de flécainide avec HPLC par le concept de l'erreur totale. Rapport de stage : Master Sciences et Techniques CACagiq. Fès : FST, 2016, 55 p. disponible sur : www.memoirepfe.fst-usmba.ac.ma/get/pdf/3234 (consulté le 05-02-2017)
- [6] Mr. Abderrahim Bouabidi. Etude Critique des Différentes Approches de Validation des Méthodes Analytiques [en ligne] Thèse SP. Casablanca : Université de Liège/ Faculté de Médecine/ Faculté des Sciences Ben M'Sik Casablanca, 2013, 182p. Disponible sur <http://bictel.ulg.ac.be/ETD-db/collection/available/ULgetd-07292014182950/unrestricted/THESEFINALE.pdf> (consulté le 22-04-2017)
- [7] ETRE, COFRAC, démarche ISO 17025, (2016), disponible sur : http://www.demarcheiso17025.com/fiches_techniques/fiches_techniques.html

Annexe A

Conduite de calcul des limites de carte de contrôle

La première étape consiste à faire au moins 20 mesures sur un même échantillon de référence, puis déterminer la moyenne des valeurs individuelles

La deuxième étape consiste à calculer les limites de contrôle en utilisant les plages mobiles.

Les plages mobiles sont la différence entre les valeurs successives cependant par convention, les plages mobiles sont toujours positives.

La méthode la plus courante pour la détermination des limites de contrôle pour la carte des moyennes : \bar{X} , et d'utiliser les étendues mobiles moyennes, ce qui est communément désigné par le symbole \bar{R} .

Les limites de la carte de contrôle déterminées en multipliant l'étendue mobile moyenne par la constante 2.66, puis en ajoutant et en soustrayant ce produit à partir de la moyenne.

$LCS = \bar{X} + 2.66 \times \bar{R}$: limite supérieur de contrôle

$LCS = \bar{X} - 2.66 \times \bar{R}$: limite inférieur de contrôle

Annexe B

Participation au test inter laboratoire pour la méthode de dosage du carbone organique dans la matrice sol

Le laboratoire d'analyse et de contrôle qualité participe à l'essai de comparaison inter laboratoire organisé par l'organisme BIPEA, ces essais complètent la validation interne de la méthode pour la mise en place de l'ISO 17025.

La figure suivante présente les laboratoires participants aux essais de comparaison inter laboratoire ainsi le laboratoire LACQ

Le laboratoire LACQ prend le code 4448

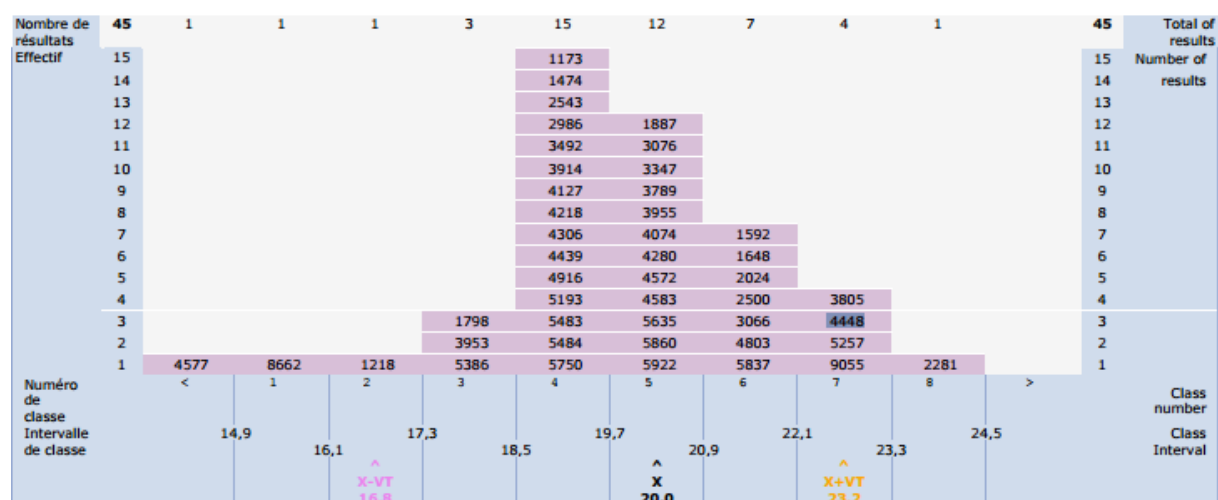


Figure 14 : essais de comparaison inter laboratoire pour le carbone organique

La valeur de référence du carbone organique de l'échantillon test est de 20 g/kg avec une incertitude de 0.3

La valeur mesurée du carbone organique sur l'échantillon test par le laboratoire LACQ est de 22.5 g/kg, cette valeur est juger comme juste par rapport à l'intervalle de tolérance assignée par l'organisateur ce qui traduit que le test inter laboratoire pour la méthode do dosage du carbone organique est vérifié.

Annexe C

Participation aux essais de comparaison inter laboratoire pour la méthode de dosage des cations (Mn, Ca, Na, K) par ICP-AES dans la matrice eau

Les figures suivantes présentent les laboratoires participants aux essais de comparaison inter laboratoire ainsi le laboratoire LACQ pour la présente méthode.

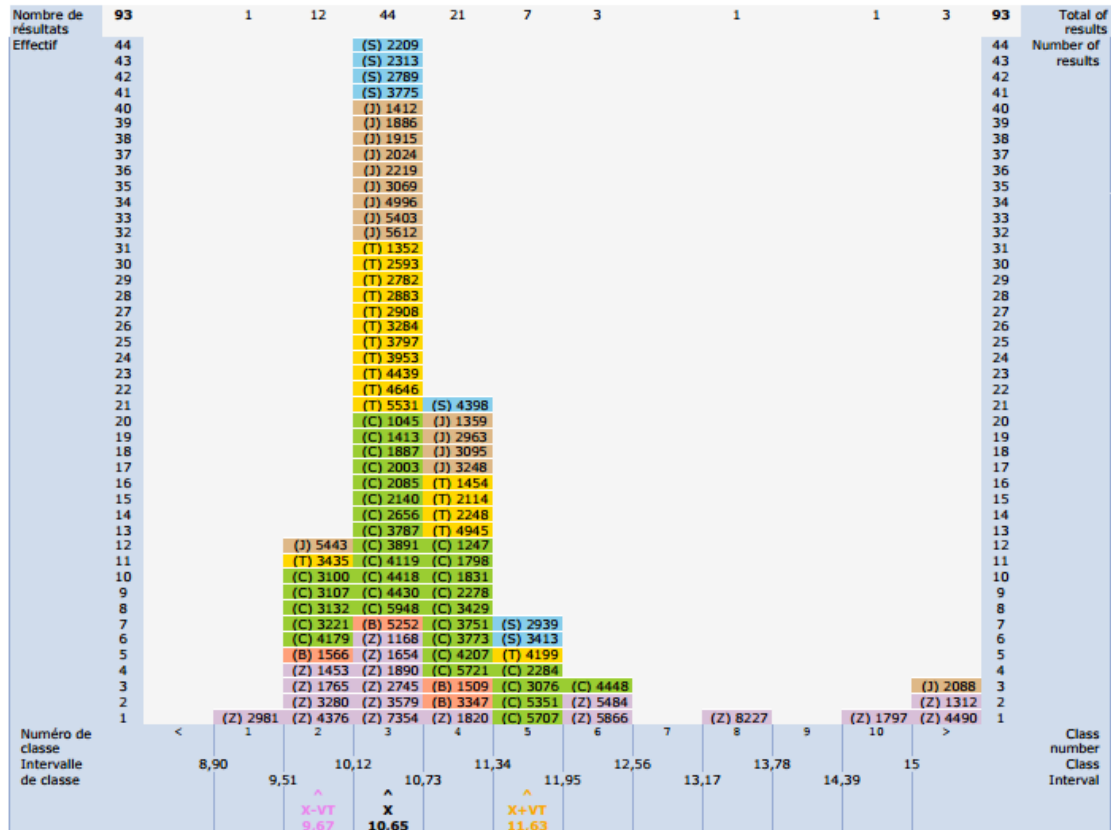


Figure 15 : essais de comparaison inter laboratoire pour le magnésium

Projet de fin d'études

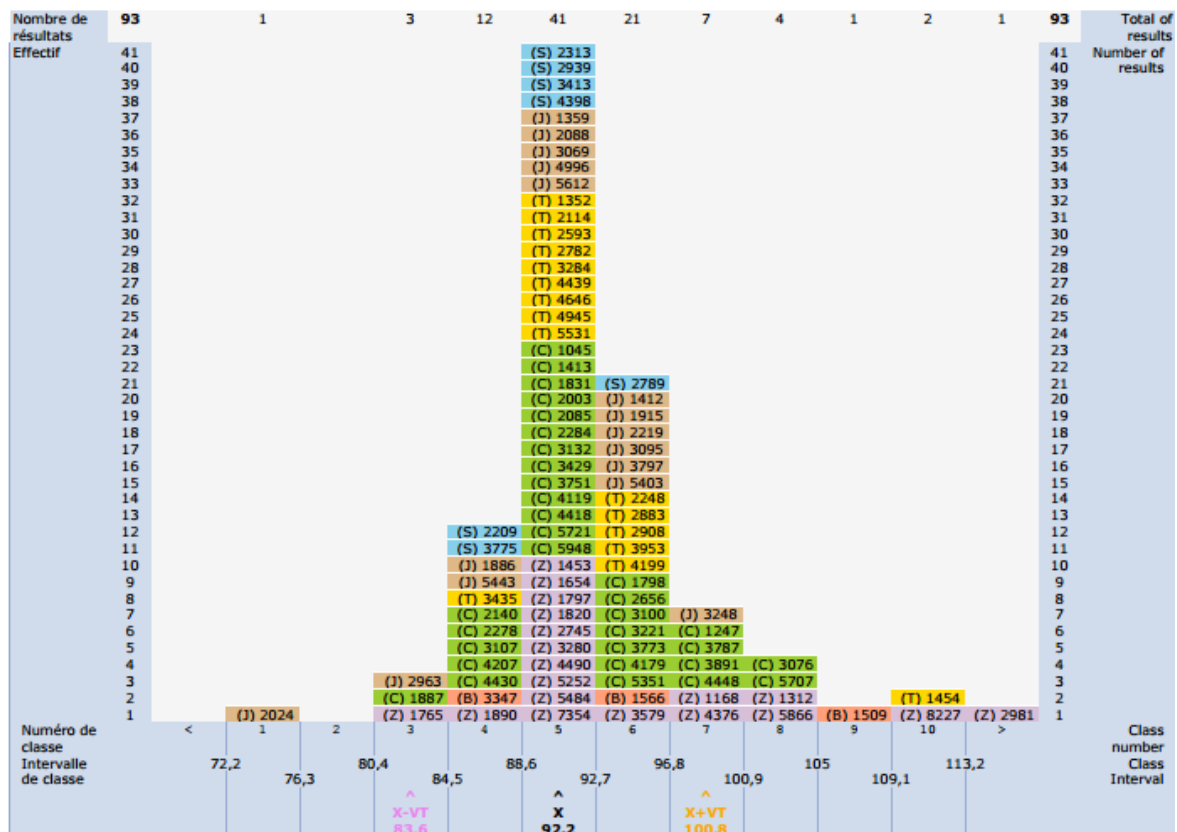
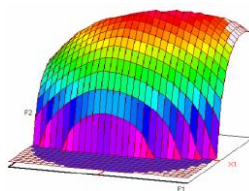


Figure 18 : essai de comparaison inter laboratoire pour le calcium

Les valeurs de références assignées par l'organisateur des essais de comparaison inter laboratoire pour les éléments étudiés par la présente méthode sont successivement : $C_k=6.07\text{mg/l}$, $C_{Na}=13.4\text{mg/l}$, $C_{Mg}=10.65\text{mg/l}$ et $C_{Ca}=92.2\text{mg/l}$.

Les valeurs mesurées par le laboratoire LACQ pour les éléments étudiés sont : $C_k=6.34\text{mg/l}$, $C_{Na}=12.6\text{mg/l}$, $C_{Mg}=11.99\text{mg/l}$ et $C_{Ca}=100.5\text{mg/l}$.

Les valeurs mesurées sont jugées comme juste par rapport à l'intervalle de tolérance assignée par l'organisateur pour les éléments potassium, calcium et sodium mais pour le magnésium n'est pas incluse dans l'intervalle de tolérance alors n'est pas vérifié.



Master ST CAC Ageq

Mémoire de fin d'études pour l'obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques

AMZAD Mohamed

Année Universitaire : 2016/2017

Titre : Validation des méthodes analytique selon la norme française NF T90-210

Résumé

L'objectif du projet de fin d'étude repose sur la validation analytique de trois méthodes de dosage selon la norme française NF T90-210, à savoir la méthode de dosage des oligo-éléments (Mn, Zn, Cu, Fe) dans la matrice sol par ICP-AES, la méthode de dosage des cations (Mg, Na, Ca, K) dans la matrice eau par le même système d'analyse et la méthode de dosage du carbone organique dans l'UV-visible dans la matrice sol.

Mots clés : Validation, NF T90-210, fonction d'étalonnage, limite de quantification, exactitude