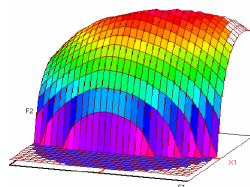




Année Universitaire : 2011-2012



Master Sciences et Techniques CAC Agiq
Chimométrie et Analyse Chimique : Application à la gestion
industrielle de la qualité

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

validation statistique de la méthode d'analyse des nitrites par
Spectrophotométrie U.V-Visible

Présenté par:

IDRISSI Nisrine

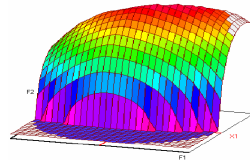
Encadré par:

Mme. OUAZZANI Rachida RADEEF.
Mme. KANDRI RODI Adiba FST Fès.

Soutenu Le 19 Juin 2012 devant le jury composé de:

- **M^r**. EL HADRAMI EL Mustapha Examineur.
- **M^{me}**. SQALLI Ouafae Examineur.
- **M^r**. SAFFAJ Taoufiq Examineur.
- **M^{me}**. OUAZZANI Rachida Encadrant.
- **M^{me}**. KANDRI RODI Adiba Encadrant.

Stage effectué à : La R.A.D.E.E.F (Régie Autonome de Distribution d'Eau & Electricité de Fès.)



Master ST CAC Agiq

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

Nom et prénom: IDRISSI Nisrine

Année Universitaire : 2011/2012

Titre: Validation statistique de la méthode d'analyse des nitrites par Spectrophotométrie U.V-Visible.

Résumé

Mon stage, s'est effectué au sein du laboratoire de contrôle de la qualité de l'eau potable de Fès.

De nos jours la validation occupe une place centrale dans le système qualité, pour assurer la fiabilité des résultats et cela en se servant des outils statistiques qui sont des outils de diagnostic indispensable pour caractériser une méthode et la valider.

Actuellement le laboratoire de contrôle de la qualité de l'eau potable de Fès accorde une grande importance à ces méthodes, par utilisation des procédures de contrôle interne de qualité et à l'évaluation des méthodes d'analyses, et ce afin d'obtenir une accréditation selon une norme internationale ISO /CEI 17025.

L'objectif de ce travail au sein du laboratoire de Contrôle de la qualité de l'eau potable vise à valider la technique de dosage des nitrites dans l'eau par spectromètre UV-Visible, en vérifiant :

- La linéarité
- La fidélité
- La justesse
- La sensibilité
- La limite de détection et de quantification

Mots clés: Validation statistique, Tests statistiques, Linéarité, limite de détection et de quantification, Fidélité, Justesse...



Table des Matières

Introduction générale

I. Présentation générale de la R.A.D.E.E .F	3
A. Historique	3
B. Missions et domaines d'activité	3
II. Présentation du laboratoire de contrôle de la qualité de la R.A.D.E.E .F	3
A. Historique	3
B. Missions du Laboratoire	3
C. Ressources en Eau	4
D. Organigramme général du Laboratoire	4
Partie I : Eau et Analyses physico-chimiques.	
I. Approche théorique de L'EAU et sa composition chimique.....	5
II. Différents types d'eau.....	5
A. Eaux météoriques	5
B. Eaux de surface.....	5
C. Eaux souterraines.....	5
III. Prétraitement et traitement des eaux.....	6
IV. Echantillonnage et prélèvement des eaux.....	6
V. Types d'analyses	7
A. Analyses bactériologiques	7
B. Analyses physico-chimiques	7
1. Paramètres physiques	7
2. Paramètres chimiques	9
VI. Nitrites	10
A. Définition	10
B. Description& origine	10
C. Cycle d'azote	10
D. Toxicité	11
E. Voie d'absorption	11
VII. Spectrophotomètre U.V-visible	11

Partie III : Protocole de la validation *Bibliographique*

I. Norme internationale ISO17025/2005	12
II. Accréditation d'un laboratoire d'analyse selon la norme ISO 17025/2005	12
A. Définition	13
B. Processus de l'accréditation	14
III. Validation d'une méthode d'analyse	14
A. Définitions des termes statistiques	15
B. Tests des valeurs aberrantes	16
IV. Protocole de validation d'une méthode d'analyse	17
A. Définition	17
B. Protocole de la validation	17
a. Linéarité	19



b. Limites de détection et de quantification.....	20
c. Fidélité.....	21
d. Justesse.....	22

Étude expérimentale

Etude I : Validation

Partie IV : Procédure de la validation.

I. Etablissement de la courbe d'étalonnage.....	24
A. Préparations des solutions étalons.....	24
B. Méthode de réactif de Zambelli.....	24
II. Validation de la méthode d'analyse des nitrites.....	25
A. Validation de la courbe d'étalonnage: Linéarité.....	25
B. Limite de détection (LD) et limite de quantification (LQ).....	32
III. Tests de détection des valeurs aberrantes.....	25
A. Test de DIXON.....	33
B. Test de Student.....	34
IV. Fidélité.....	34
V. Justesse.....	35

Etude II : Cartes de contrôle

Partie V : Cartes de contrôle.

I. Mise en assurance qualité des méthodes de mesure de pH et de conductivité.....	36
A. Test de normalité.....	36
B. Cartes de contrôle.....	37
Conclusion générale.....	39
Liste des tableaux.....	40
Liste des figures.....	40
ANNEXE I.....	41
ANNEXE II.....	43
ANNEXE III.....	44
ANNEXE IV.....	45



Introduction générale

L'EAU est un élément essentiel pour la survie de tous les êtres vivants. Sans la présence de cette ressource naturelle précieuse et vitale, la vie serait extrêmement réduite car les êtres vivants sont composés en grande partie d'eau.



En raison de ses propriétés acido-basiques, ce composé chimique est l'un des principaux solvants qui a besoin d'être protégé contre les effets tordus de la pollution, car un grand pourcentage des maladies enregistrées dans les pays en voie de développement, sont manifestement liées à la consommation de l'eau. « *L'eau y étant un vecteur de maladies graves voire mortelles* ». [1]

Cependant, le MAROC est considéré parmi les pays qui donnent une grande importance à la surveillance, la protection et le traitement de l'EAU, car de nos jours cela constitue une nécessité absolue qui vise à produire une eau saine ne contenant ni micro-organisme, ni substances chimiques nocifs.

Pour cela, il est primordial de se doter d'outils d'analyse très précis et fiables et de techniques très fines pour assurer aux citoyens une eau saine conforme aux réglementations nationales et internationales, chose qui ne peut être atteinte qu'à travers l'utilisation des méthodes statistiques de la validation. Ceci permettra en effet d'adapter une démarche qualifiée, visant à assurer des résultats de qualité.

C'est ainsi que le laboratoire du contrôle de la qualité de l'eau potable de Fès accorde actuellement une grande importance à ces méthodes, par utilisation des procédures de contrôle interne de qualité, et ce afin d'obtenir une accréditation selon une norme internationale ISO /CEI 17025.

C'est dans cette perspective qu'on essayera, à travers ce stage de fin d'étude de valider une méthode non normalisée d'analyse des nitrites, qui sont considérés comme une cause de contamination de l'eau potable s'ils dépassent la norme (0,5mg/l selon SNIMA)[2], et d'évaluer un certain nombre de paramètres caractérisant les propriétés physico-chimiques de l'eau destinée à la consommation humaine (pH et chlorures) par réalisation des cartes de contrôle, et ce afin de s'assurer que cette eau possède une bonne qualité hygiénique et quelle est exempte de toute substances chimique susceptibles de nuire à la santé humaine.

L'objectif de ce travail au sein du laboratoire de Contrôle de la qualité de l'eau potable vise à valider la technique de dosage des nitrites dans l'eau par spectromètre U.V-visible, via



le processus de la norme ISO17025 en déterminant : La linéarité, La fidélité, La justesse, La limite de détection et de quantification.

Le contenu du rapport couvre: Présentation de la société, revue bibliographique et résultats et discussions.



I. Approche théorique de L'EAU et sa composition chimique.

L'eau est un composé chimique essentiel pour tous les organismes vivants. Elle se trouve en général dans son état liquide, et possède sous forme dissoute ou en suspension, des substances minérales et organiques. Pour cette raison, l'eau n'est pas considérée comme un composé chimique pur. C'est ainsi que les chimistes utilisent de l'eau distillée pour leurs solutions.

➤ **Matières minérales** :

L'eau contient beaucoup d'ions dissous dont les principaux sont le calcium (Ca^{2+}), le sodium (Na^+), le potassium (K^+), les sulfates (SO_4^{2-}), les chlorures (Cl^-) et les nitrates (NO_3^-)... Ils proviennent essentiellement du lessivage des sols par les eaux de pluie. Aussi, leur teneur dépend directement de la nature des roches. Elle peut varier du milligramme par litre au gramme par litre pour les eaux les plus salées. D'autres éléments ne sont présents qu'à l'état de trace (de 0,1 à 100 microgrammes par litre), comme le cuivre, le fer, le zinc, ... Ils proviennent des roches mais aussi parfois des activités industrielles et domestiques.

➤ **Matières organiques** :

Les matières organiques peuvent être présentes sous forme dissoute (pigments et composés d'origine artificielle comme les hydrocarbures, ou les pesticides, ...), ou en suspension (déchets végétaux, ...). Elles proviennent essentiellement de la dégradation de la matière organique présente dans le milieu ou dans les sols lessivés par les pluies (décomposition des plantes et des animaux), mais aussi de composés issus de l'activité humaine. Leur concentration peut atteindre quelques dizaines de milligrammes par litre dans les eaux de surface.

II. Différents types d'eau.

En fonction de leur origine sur le globe, les eaux peuvent être classées en trois grands groupes : les eaux météoriques, les eaux de surface et les eaux souterraines :

A. Eaux météoriques

Il s'agit de l'eau liquide présente dans l'atmosphère et qui forme les nuages (eau de pluie). Les eaux météoriques sont chargées d'oxygène, et des gaz dissous présents dans l'atmosphère dont la concentration en sels minéraux est (10-100 ppm) et en substances organiques est faible.

B. Eaux de surface

L'eau de surface est l'eau qui se trouve à la surface ou proche de la surface du sol. Sa température varie en fonction du climat et de ses saisons. Ses matières en suspension sont variables selon la nature et relief des terres à son voisinage. Sa composition en sels minéraux est variable en fonction du terrain; elle retient peu de nitrates. Une eau de surface est ordinairement riche en oxygène et pauvre en dioxyde de carbone. [4]

C. Eaux souterraines

Les eaux souterraines sont toutes les eaux se trouvant sous la surface du sol, dans la zone de saturation et en contact direct avec le sol ou le sous-sol.



Ces eaux sont caractérisées par leur conductivité élevée, l'absence de matière en suspension et la présence d'espèces chimiques sous forme réduite. En général elles répondent aux normes de potabilité car elles sont moins sensibles aux pollutions accidentelles. [5]

III. Prétraitement et traitement des eaux.

Il existe plusieurs filières de traitement selon la nature de l'eau à traiter et selon sa composition, dont l'objectif final est d'avoir une eau qui répond aux exigences de la norme marocaine relative à la qualité des eaux d'alimentation humaine. [6]

Une fois prélevée, l'eau est soumise à plusieurs types de traitements :

- **Dégrillage et tamisage.** L'eau est d'abord filtrée à travers une grille afin d'arrêter les plus gros déchets, puis elle passe dans des tamis à mailles fines retenant des déchets plus petits. [7]
- **Floculation et décantation.** Un coagulant est ajouté à l'eau pour rassembler en flocons les déchets encore présents (poussières, particules de terre, etc.). Ces flocons se déposent au fond du bassin de décantation ; 90 % des matières en suspension sont ainsi éliminées.
- **Filtration.** L'eau traverse un filtre, lit de sable fin et/ou un filtre à charbon actif. La filtration sur sable élimine les matières encore visibles à l'œil nu.
- **Chloration.** Le chlore est ajouté sur différents points du réseau de distribution afin d'éviter le développement de bactéries et de maintenir la qualité de l'eau tout au long de son parcours dans les canalisations. [8]

IV. Echantillonnage et prélèvement des eaux.

A. Définition

L'échantillonnage représente l'ensemble des opérations ayant pour but de prélever un certain nombre d'individus dans une population donnée.

Il permet aux statisticiens de tirer des conclusions au sujet d'un « tout » en examinant qu'une « partie ». [9]

B. Méthode

Les prélèvements d'eau ont été réalisés par les techniciens du milieu selon la technique décrite dans la norme (NM.03. 7. 059), [10], et qui consiste à :

- Se laver très soigneusement les mains et avant bras avec un produit désinfectant, et les rincer abondamment avec de l'eau.
- Flamber le robinet et laisser couler 3 à 5 minutes avant de faire le prélèvement durant cette attente et durant le prélèvement. Il est utile qu'un assistant maintient la lampe allumée un peu au dessus du robinet.
- S'il n'est pas possible de prélever l'eau par pompage il faut disposer d'un panier métallique. A l'intérieur du quel se loge le flacon de prélèvement permettant d'entraîner celui-ci en dessous de la surface de l'eau ; le panier est muni d'une anse permettant de l'attacher à une corde pour le descendre au fond d'un puits et il est conçu de manière à permettre l'évacuation de l'eau entourant le flacon lors de la remontée au dessus de la surface.



- Le panier et la corde qui lui est attachée, sont stérilisés, comme les flacons, à l'étuve avant emploi. Le prélèvement est à effectuer à environ 50 cm en dessous de la surface.
- Prélévés aseptiquement dans des flacons stériles en verre à large ouverture de capacité d'environ 500ml, les échantillons sont acheminés rapidement au laboratoire dans des glacières à 4°C et analysés immédiatement ou à défaut dans les 6 heures qui suivent le prélèvement.

V. Types d'analyses

Les échantillons d'eau reçus par le laboratoire de contrôle de la qualité de la RADEEF subissent deux types d'analyses :

A. Analyses bactériologiques

Les analyses bactériologiques de l'eau ont pour but de mettre en évidence la présence ou non des bactéries qui modifient l'aptitude d'une eau à une utilisation donnée. L'existence de bactéries ne saurait être tolérée, car elle présente des risques pour la santé de l'homme. L'unité d'hygiène chargée de ces types d'analyses est indispensable d'apprécier la pollution en recherchant la présence de certains micro-organismes de l'eau tels que coliformes totaux, coliformes fécaux, les Escherichia coli, et les streptocoques....

B. Analyses physico-chimiques

1. Paramètres physiques

a) Potentiel hydrogène : pH

➤ Définition

Le pH d'une solution est le logarithme décimal négatif de l'activité des ions hydrogène ;

$$\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$$

C'est un paramètre important qui donne une idée sur la qualité d'une eau, car il nous permet de mesurer l'acidité, l'alcalinité ou la basicité d'une eau, comme il est présenté dans le tableau ci-dessous. [11]

Tableau 1 : Classes usuelles de pH

pH = 7	pH neutre
7 < pH < 8	neutralité approchée, majorité des eaux de surfaces
5.5 < pH < 8	eaux souterraines
pH > 8	alcalinité, évaporation intense

➤ Principe

Le principe de base de cette mesure est la détermination de l'activité des ions hydrogènes en utilisant une électrode d'hydrogène et une électrode de référence. Dans la pratique on utilise généralement une électrode de verre associée à une électrode de référence ou encore une électrode combinée. La différence de potentiel existant entre l'électrode de verre et l'électrode de référence plongeant dans la même eau est une fonction linéaire du pH selon la norme (NM 03.7.009). [12]

L'étalonnage de l'appareil se fait par des solutions tampons de références de pH connus.



➤ Matériels

- Marque Hach, model Sens ION2.
- Electrode combiné qui réunit l'électrode de verre et l'électrode de référence.
- Thermomètre intégré.
- Matériel courant du Laboratoire.

➤ Réactifs

Les réactifs utilisés pour l'étalonnage de l'appareil sont des solutions tampon de pH mesuré à 20°C :

- Buffer solution pH $4 \pm 0,05$, quantité suffisante pour 500ml d'eau distillée.
- Buffer solution pH $7 \pm 0,05$, quantité suffisante pour 500ml d'eau distillée.
- Buffer solution pH $10 \pm 0,05$, quantité suffisante pour 500ml d'eau distillée.

➤ Mode opératoire

- Introduire l'électrode dans l'échantillon à examiner.
- Lire le pH affiché sur l'écran du pH-mètre après stabilisation.
- Rincer la sonde à l'eau distillée après chaque mesure.
- Vérifier le pH nouveau de la solution Buffer de pH =7.

SNIMA préconise pour l'eau destinée à la consommation humaine un pH compris entre 6,5 et 8,5. [13]

b) Conductivité

➤ Définition

La conductivité électrique d'une eau est la conductance d'une colonne d'eau comprise entre deux électrodes métalliques de 1 cm² de surface et séparé l'un de l'autre de 1cm. L'unité de la conductivité est le Siemens par mètre (S/m). (Loi N° 200-01). [14]

➤ Principe

La conductivité mesure la capacité de l'eau à conduire le courant entre deux électrodes. La plupart des matières dissoutes dans l'eau se trouvent sous forme d'ions chargés électriquement. La mesure de la conductivité permet donc d'apprécier la quantité de sels dissous dans l'eau. C'est une fonction de la concentration totale en ions, de leur mobilité, de leurs valences, de leur concentration relatives. Les appareils de mesure utilisés sur le terrain font généralement la conversion automatiquement. [15]

La procédure est facile, et permet de caractériser l'eau (χ à 25°C).

Tableau 2 : Classes usuelles de conductivités

$c = 0.005 \text{ mS/cm}$	eau déminéralisée
$10 < c < 80 \text{ mS/cm}$	eau de pluie
$30 < c < 100 \text{ mS/cm}$	eau peu minéralisée
$300 < c < 500 \text{ mS/cm}$	eau moyennement minéralisée
$500 < c < 1000 \text{ mS/cm}$	eau très minéralisée, saumâtre ou saline
$c > 30000 \text{ mS/cm}$	eau de mer

➤ Matériels



- Marque WTW, model inoLab cond720.
- Sonde marque WTW.

➤ Réactifs

- Solution de calibration : KCl de concentration 0,01 mol/l et de conductivité connue $1408\mu\text{s}/\text{cm} \pm 0,5\%$ - à 25°C ;
- Eau distillée de conductivité inférieure à $2\mu\text{s}/\text{cm}$.

➤ Mode opératoire

- Mettre l'appareil en marche et le calibrer avec la solution de KCl.
- Plonger l'électrode dans votre échantillon et lire la valeur directement sur l'appareil en ($\mu\text{s}/\text{cm}$).
- Rincer l'électrode après chaque mesure, les lectures se font à une température constante de 25°C .

c) Turbidité

➤ Définition

La turbidité d'une eau est due à la présence des matières en suspension finement divisées : Argiles, Matières Organiques, etc....

L'appréciation de l'abondance de ces matières mesure son degré de turbidité, celui-ci sera d'autant plus faible que le traitement de l'eau aura été plus efficace, il est recommandé d'effectuer la mesure de turbidité aussi rapidement que possible après le prélèvement.

Tableau 3 : Classes usuelles de turbidité

NTU < 5	eau incolore
5 < NTU < 30	eau légèrement colorée
NTU > 50	eau colorée
NTU > 200	eau de surface "Africaine"

➤ Principe

On mesure la turbidité par la réflexion d'un rayon lumineux dans l'eau. Cella consiste à mesurer l'intensité de la lumière diffractée à 90° par rapport aux faisceaux lumineux incidents, dans les mêmes conditions de longueurs d'onde, et d'angle entre le rayon incident et le rayon diffracté.

La turbidité est une méthode de mesure néphélométrique qui s'exprime en unité NTU. [16]

➤ Matériels

- Marque HACH, model 2100N Turbidimètre, gamme d'étalonnage < 0,1; 20-200 ; 1000 et 4000 NTU.

➤ Réactifs

- Etalon de turbidité : HACH solution de 1000 NTU à la Formazine.

➤ Mode opératoire

- Mettre l'appareil en marche et le calibrer avec la solution étalon.
- Remplir le tube avec l'échantillon à analyser.
- Essuyer le tube avant chaque analyse.
- Lire la valeur affichée sur l'appareil.



2. Paramètres chimiques

a) Chlorures

➤ Principe la Méthode de Mohr

On détermine les chlorures présents dans l'eau par la méthode volumétrique de MOHR, qui consiste à doser les ions chlorures en milieu neutre (pH=7) par une solution titrée de nitrates d'argent (AgNO_3) en présence de chromate de potassium K_2CrO_4 . [17]

➤ Matériels

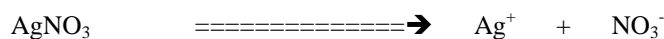
- Indicateur coloré (Solution de chromate de potassium K_2CrO_4).
- Solution de nitrate d'argent AgNO_3 à (0.1N).
- Eau distillée.
- Erlenmeyer de 250ml
- Burette.
- Echantillon d'eau.

➤ Mode opératoire

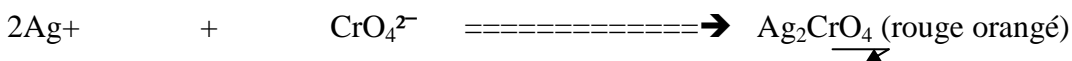
- Introduire dans l'erlenmeyer 50 ml d'échantillon d'eau à analyser.
- Ajouter 2 à 3 gouttes d'indicateur coloré (chromate de potassium K_2CrO_4).
- Remplir la burette par AgNO_3 à 0.1N.
- Verser à l'aide d'une burette la solution de nitrate d'argent jusqu'à apparition d'une teinte orange.
- Noter le volume de titration. [18]

➤ Réaction de dosage

Les ions chlorures se précipitent sous forme d' AgCl (les ions Ag^+ sont issus d'une solution d' AgNO_3), selon les réactions suivantes :



Lorsque le milieu est épuisé en Cl^- , les ions Ag^+ réagissent avec CrO_4^{2-} pour donner un complexe coloré (rouge brique) qui caractérise la formation de chromate d'argent qui nous indique le point d'équivalence, selon la réaction suivant :



VI. Nitrites

A. Définition

Les nitrites sont les sels de l'acide nitreux. L'acide nitreux est un acide instable de formule HNO_2 . La formule de l'ion nitrite est NO_2^- son poids moléculaire est proche de 46 g/mol.



Fig. 2 : Structure de l'ion nitrite

B. Description & origine

La minéralisation de la matière organique présente dans le sol est réalisée par des micro-organismes. L'azote minéral ainsi produit est ensuite transformé par une oxydation bactérienne en nitrates, et par une réduction bactérienne en nitrites.

L'apport de nitrites dans le sol, puis dans les eaux, est donc fortement lié à la quantité de matières organiques présentes et aux conditions de milieu. Au niveau des eaux naturelles, l'azote provient essentiellement des pluies et du drainage des sols.

En effet seul 25 à 30% de l'azote utilisé pour l'agriculture est assimilé par les plantes, le reste par lessivage des sols, se retrouve dans les eaux de surfaces ou souterraines. [2]

C. Cycle d'azote

Les nitrites entrent dans le cycle de l'azote présenté schématiquement ci-dessous. Ils sont le résultat d'une nitrification de l'ion ammonium (NH_4^+), présent dans l'eau et le sol, et qui est oxydé en nitrites par les bactéries du genre *Nitrosomonas*, ensuite en nitrate par les bactéries du genre *Nitrobacter*. [19]

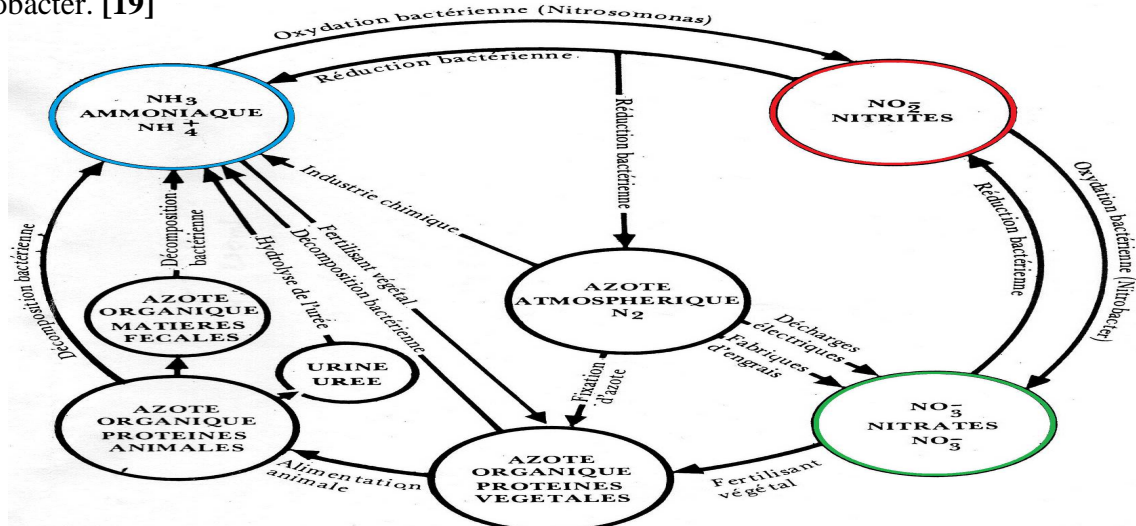


Fig. 3 : Cycle de l'azote

La figure ci-dessus montre que les nitrites sont des composés intermédiaires de l'azote entre l'ammoniac et les nitrates, apparaissant lors de la dégradation des substances azotées par les bactéries.

D. Toxicité

Les nitrites constituent une forme moléculaire toxique de l'azote dans l'eau.

Il est donc primordial de mettre au point des systèmes permettant de surveiller la qualité de l'eau par la mesure de toutes les espèces azotées.

Chez l'homme et les mammifères, la présence de nitrites dans le sang empêche l'hémoglobine de fixer convenablement l'oxygène. C'est l'une des causes de la « maladie bleue du nourrisson », appelée aussi « méthémoglobinémie » qui touche plus particulièrement les nourrissons.

C'est pourquoi la teneur en nitrites dans l'eau potable est réglementée (NM 03.7.013) et, indirectement celle des nitrates en raison de leur capacité à se transformer en nitrites.

E. Voie d'absorption



Les nitrites existent dans l'environnement sous forme ionique, non volatils ; il est donc très peu probable qu'ils soient absorbés par inhalation. Concernant l'absorption par voie cutanée, aucune information à ce sujet n'a été trouvée dans la littérature. Par conséquent la principale voie d'absorption de ces substances, lorsqu'elles sont présentes dans l'eau de consommation, est l'ingestion. [20]

VII. Le Spectrophotomètre U.V-visible

La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée, généralement en solution. Plus l'échantillon est concentré, plus il absorbe la lumière dans les limites de proportionnalité énoncées par la loi de Beer-Lambert.

➤ Remarque :

Toutes les mesures ont été réalisées avec le spectrophotomètre UV/visible mono-faisceau DR 5000 UV-VIS HACH LANGE avec écran tactile, avec détection automatique des erreurs pour une évaluation fiable. (Fig. 4, 5).



Fig. 4, 5: spectrophotomètre DR 5000

A. Principe de fonctionnement

Lorsqu'une lumière d'intensité I_0 passe à travers une solution, une partie de celle-ci est absorbée par le(s) soluté(s). L'intensité I de la lumière transmise est donc inférieure à I_0 . On définit l'absorbance de la solution comme :

$$A = \log \left(\frac{I_0}{I} \right)$$

On parle aussi de la transmittance définie par la relation suivante :

$$T = \frac{I}{I_0} \quad \text{C'est-à-dire que :} \quad A = -\log T$$

L'absorbance est une valeur positive, sans unité. Elle est d'autant plus grande que l'intensité transmise est faible.

La relation de Beer-Lambert décrit que, à une longueur d'onde λ donnée, l'absorbance d'une solution est proportionnelle à sa concentration, et à la longueur du trajet optique (distance sur laquelle la lumière traverse la solution).

Alors, pour une solution limpide contenant une seule substance absorbante :



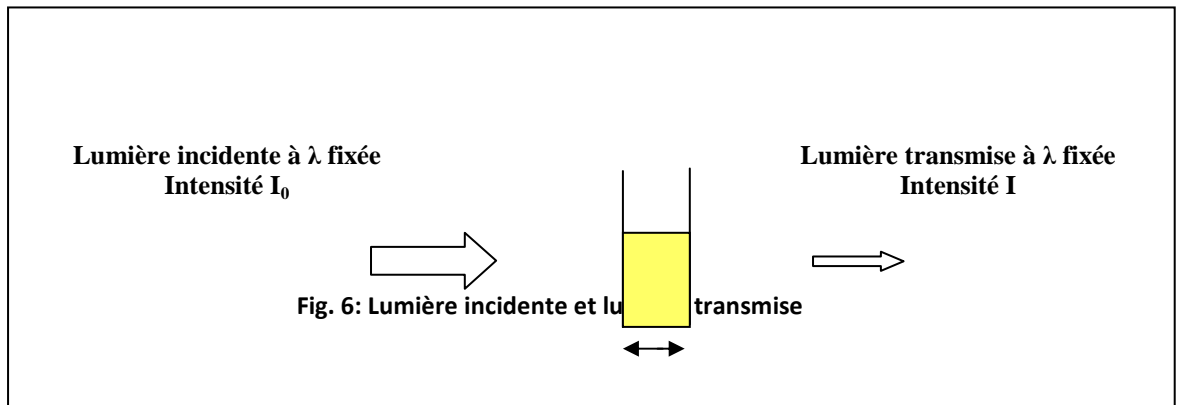
Avec :

A_λ : L'absorbance ou la densité optique (sans unité) de la solution pour une longueur d'onde λ ;

C : La concentration de la substance colorée et absorbée dans la solution (en mol.m^{-3}) ;

l : La longueur du trajet optique traversée par le faisceau lumineux. (en m) ;

ϵ_λ : Le coefficient d'extinction molaire de la substance absorbante en solution. Il rend compte de la capacité de cette substance à absorber la lumière, à la longueur d'onde λ (en $\text{mol}^{-1}.\text{m}^2$).





VIII. Norme internationale ISO17025/2005

La norme est un document établi par consensus et approuvé par un organisme reconnu (exemple ISO/CEI) qui fournit pour des usages communs et répétées, des règles, des lignes directives ou des caractéristiques pour des activités ou des résultats garantissant un niveau d'ordre optimale de la communauté dans son ensemble. [9]

La norme internationale ISO17025/2005 représente les prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires, des étalonnages et des essais.

Cette norme (ISO 17025) contient toutes les exigences que doivent satisfaire les laboratoires des essais et des étalonnages s'ils veulent apporter la preuve qu'ils gèrent bien un système de qualité, et qu'ils sont capables de produire des résultats techniquement valables. [22]

Elle est constituée de :

- Prescriptions relatives au management :
 - Organisation.
 - Système qualité.
 - Actions préventives.
 - Actions correctives.
 - Audits internes.
 - Achats des fournitures.
 - Maîtrise des documents et des enregistrements.

- Prescriptions techniques :
 - Personnels.
 - Méthodes / validation des méthodes.
 - Equipements.
 - Traçabilité du mesurage.
 - Échantillonnage.
 - Assurance qualité des résultats.

IX. Accréditation d'un laboratoire d'analyse selon la norme ISO 17025/2005

A. Définition

L'accréditation est un acte par lequel une autorité reconnaît formellement la compétence d'une entité pour mener à bien des tâches spécifiques. Autrement dit, l'accréditation est une évaluation de la validation systématique du fonctionnement du laboratoire par rapport à une norme de qualité spécifique à celui-ci. Elle est traditionnellement réalisée par un organisme indépendant, qui évalue le fonctionnement du laboratoire en fonction d'un nombre d'éléments clefs qui couvrent les domaines suivants :

- L'organisation et la gestion.
- Les systèmes de qualité.
- L'audit.
- La conception du laboratoire et l'hygiène.
- La manipulation des échantillons.
- Les méthodes d'analyse et d'étalonnage.
- La maîtrise de la qualité.



- Les enregistrements et les rapports.

L'accréditation s'appuie sur l'évaluation de :

- La compétence du personnel.
- L'adéquation des équipements de l'organisme et des conditions d'environnement.
- Les méthodes d'analyses utilisées.

B. Processus de l'accréditation [23]

Tout organisme ou entreprise ayant un laboratoire des essais travaillant pour ses besoins propres peut demander une accréditation auprès d'un organisme accréditeur.

Au Maroc, l'accréditation correspond à la reconnaissance par le **Ministère chargé du Commerce et de l'Industrie (MCI)** de l'aptitude d'un laboratoire à effectuer des essais déterminés ou d'un organisme d'inspection technique spécifique. Pour cela, le laboratoire doit faire une demande officielle précisant l'unité et les essais concernés.

Un audit est réalisé par un auditeur qualitatif et un ou plusieurs auditeurs techniques permettant d'évaluer la conformité du laboratoire aux exigences du référentiel NM ISO 17025. Lorsque les conclusions sont satisfaisantes, une attestation d'accréditation signée par le MCI est remise au laboratoire, qui au bout de chaque année, subit un audit de qualité de suivi, le renouvellement de cette attestation s'effectue chaque trois ans.

Dans le cas du laboratoire de la RADEEF, il a déjà lancé une demande d'accréditation selon la norme ISO 17025, afin de donner plus de confiance aux consommateurs, et actuellement ils cherchent à valider les méthodes d'analyse effectuées au sein du laboratoire.

X. Validation d'une méthode d'analyse

Selon la norme internationale ISO 17025 : « Lorsque le recours à des méthodes qui ne sont pas normalisées est nécessaire, ces méthodes doivent faire l'objet d'un accord préalable avec le client et inclure une spécification claire des exigences du client et de l'objet de l'essai. La méthode élaborée doit être validée avant emploi ».

La norme internationale ISO 17025, précise que les laboratoires accrédités doivent, lorsqu'ils mettent en œuvre une méthode analytique usuelle, s'assurer de la qualité des résultats obtenus. Pour cela, elle indique les étapes suivantes :

- Définir les exigences de la clientèle concernant le paramètre considéré, afin de déterminer, par la suite, si la méthode utilisée répond bien à celles-ci.
- Pour les méthodes non normalisées, modifiées ou développées par le laboratoire, une validation initiale. Une fois la méthode mise en application, les laboratoires doivent employer des moyens de contrôle statistique et de raccordement qui permettent de surveiller la qualité des résultats obtenus. [24]

A. Définitions des termes statistiques

Parmi les termes essentiels pour le traitement statistique des données, on peut citer les suivants:

a) Indicateurs de position [9]

Permettent de définir une valeur autour de laquelle les autres se répartissent.

i. La Moyenne



Dans le cas où une analyse sur un échantillon est répétée un certain nombre de fois (n), la valeur moyenne de ces mesures est un nombre important, elle se calcule de la manière suivante :

$$\bar{X} = \frac{\sum x_i}{n}$$

Avec :

$\sum x_i$: somme des valeurs trouvées par les mesures

n : nombre de mesures

\bar{x} : la moyenne.

ii. Le mode

La valeur, du caractère, la plus fréquente ou dominante dans la série de mesure est appelée mode. S'il n'y a pas de valeur qui se répète plus qu'une fois ou s'il y a deux valeurs ayant la même occurrence, la série de mesures est dite série sans mode.

iii. La médiane

Pour une série de mesures, la valeur centrale qui partage la série en deux parties de même effectif est appelée médiane.

Si le nombre de valeurs est impair la médiane est la valeur centrale.

Si le nombre est pair, la médiane sera la moyenne des deux valeurs centrales.

b) Indicateurs de dispersion [9]

Ces paramètres ont pour objectif, dans le cas d'un caractère quantitatif, de caractériser la variabilité des données dans l'échantillon par rapport aux individus de tendance centrale, en particulier la moyenne.

i. La variance

C'est le terme le plus significatif statistiquement pour exprimer la qualité des données, elle est définie par la relation suivante :

$$s^2 = \frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{(n - 1)}$$

ii. L'Ecart type

Le calcul de la dispersion des mesures autour de la moyenne pour un nombre limité d'échantillons, c'est la racine carrée de la variance, il est donné par la formule suivante :

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}{n - 1}}$$

Avec : \bar{y} est la moyenne des mesures, n est le nombre de degré de liberté.

iii. Le coefficient de variation

Le coefficient de variation est un nombre sans dimension qui permet de comparer deux variables statistiques de nature différente, donnant le pourcentage que représente S par rapport à la moyenne multipliant par 100.

$$CV = s / m * 100$$

c) L'intervalle de confiance [9]

Pour s'assurer que la moyenne déterminée est la vraie, des limites de confiance doivent être fixées en relation avec le degré de confiance que l'analyste souhaite avoir pour son analyse.

C'est un ensemble de valeurs parmi lesquels, il y a un faible risque de ne pas trouver la valeur



vraie.

Ce risque est appelé risque d'erreur noté α , il est compris entre 0 et 1 ou 0% et 100%.

Dans notre cas on va travailler avec $\alpha = 0,05$ c'est-à-dire qu'on a :

- 5% de chance de ne pas trouver la vraie valeur dans l'intervalle de confiance, (5% d'erreur).
- 95% de chance que la vraie valeur sera à l'intérieur de l'intervalle de confiance.

L'intervalle de confiance de la moyenne vraie (m), est déduit à partir de la relation :

$$m = \bar{y} \pm 1.96 \frac{S}{\sqrt{n}} \quad \text{à } 95 \%$$

➤ **Remarque :**

- Pour faciliter les calculs il paraît que si le nombre de répétitions est supérieur à cinq, on peut utiliser une valeur constante pour $t_{1-\alpha/2}$ exemple :
 Pour $\alpha=0.05$, ($1-\alpha/2 = 0,975$) on prend $t_{1-\alpha/2} = 2$.
- L'intervalle de confiance présente une grande utilité pratique, on pourra s'en servir pour encadrer les résultats d'analyse.

B. Tests des valeurs aberrantes [25]

La valeur aberrante est une valeur qui diffère de façon significative de la tendance globale des autres observations pour un ensemble de données ayant des caractéristiques communes. Deux alternatives existent :

- La valeur aberrante est l'expression des causes aléatoires affectant la mesure, celle-ci ayant un niveau extrême. Dans un tel cas, il convient de conserver la mesure comme faisant partie intégrante de la distribution statistique.
- La valeur aberrante est le résultat de gros écarts par rapport au mode opératoire habituel, ou provient d'erreurs de calcul ou d'enregistrement. Dans ce cas il faut rejeter l'observation comme ne faisant pas partie de la population, ou la remplacer par la valeur corrigée.

Les tests qui suivent ne permettent pas de décider entre les deux alternatives. Ils indiquent seulement qu'une enquête est nécessaire et en tout état de cause c'est l'expérimentateur qui décide de l'attitude à observer selon les cas : rejet, correction ou conservation telle quelle.

Parmi les tests utilisés pour la détection des valeurs aberrantes on cite :

- Droite de Henry pour $N < 21$
- Test de Student pour N quelconque
- Test de DIXON pour $N < 30 \dots$

a) Test de DIXON [9]

Le test de DIXON permet de tester si les extrêmes sont aberrants. Ce test fonctionne de la manière suivante :

- On classe la distribution observée par valeurs croissantes :
 $y_1 \leq y_2 \leq \dots \leq y_{n-1} \leq y_n$
- En fonction du nombre d'observations, on calcule les ratios suivants :

(1)	$3 \leq n \leq 7$	$r_{10} = \frac{y_n - y_{n-1}}{y_n - y_1}$
(2)	$8 \leq n \leq 10$	$r_{11} = \frac{y_n - y_{n-1}}{y_n - y_2}$
(3)	$11 \leq n \leq 13$	$r_{21} = \frac{y_n - y_{n-2}}{y_n - y_2}$
(4)	$14 \leq n \leq 30$	$r_{22} = \frac{y_n - y_{n-2}}{y_n - y_3}$



- La table de Dixon donne les valeurs critiques de ces ratios aux niveaux de risques de 10 %, 5 %, 1 %.
- **Interprétation statistique:** la valeur est aberrante si la valeur trouvée des ratios calculés est strictement supérieure à la valeur critique donnée par la table.

b) Test de STUDENT

Il s'applique à des échantillons de tailles quelconques et nécessite le calcul de la moyenne et de l'écart-type de l'échantillon.

Comme dans le cas précédent les valeurs sont supposées classées, par ordre croissant. Et pour tester si le maximum et/ou le minimum sont aberrants, on évalue les statistiques suivantes :

• Pour la valeur maximale :
$$T_n = \frac{y_n - \bar{y}}{s}$$

• Pour la valeur minimale :
$$T_1 = \frac{\bar{y} - y_1}{s}$$

Les tables de STUDENT donnent les seuils critiques aux différents niveaux de risque: 0,1 %, 0,5 %, 1 %, 2,5 %, 5% et 10 %.

Interprétation statistique :

- Si $T_{\text{observé}} < T_{\text{critique}}$ lu sur la table, la valeur n'est pas aberrante.
- Si $T_{\text{obs}} > T_{\text{crit}}$ la valeur est aberrante.

XI. Protocole de validation d'une méthode d'analyse

A. Définition

« Lorsque le recours à des méthodes qui ne sont pas normalisées est nécessaire, ces méthodes doivent faire l'objet d'un accord préalable avec le client et inclure une spécification claire des exigences du client et de l'objet de l'essai...la méthode élaborée doit être validée avant emploi » **Paragraphe 5.4.4 de la norme internationale ISO 17025.**

Si un laboratoire effectue des analyses, naturellement c'est dans le but d'obtenir des résultats qui seront utiles pour une prise de décision, il faut donc que ces résultats soient valides et reflètent réellement l'état de la qualité du système analysé, ceci fait apparaître clairement le lien étroit existant entre la qualité d'une analyse et la validation de la méthode qui permet de la faire.

Le mot méthode dans les paragraphes précédents ne signifie pas, seulement, la méthode instrumentale mais, toutes les procédures analytiques utilisées de l'échantillonnage jusqu'à l'obtention des résultats, tout doit être validé : la façon avec laquelle l'échantillonnage est effectué, la méthode permettant le traitement de cet échantillon, la méthode instrumentale choisie pour l'analyse, la méthode d'étalonnage et la méthode de traitement des données pour avoir le résultat final.



B. Protocole de la validation

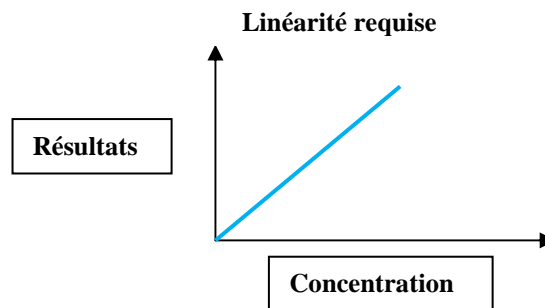
Il existe plusieurs définitions et façons de calculer les différents paramètres liés à la validation d'une méthode. A l'intérieur du suivi de la qualité des activités de laboratoire, il devient essentiel d'uniformiser ces définitions ainsi que les méthodes de calcul utilisées. [26]

La validation entraîne la détermination de plusieurs paramètres :

- Le Test de linéarité.
- La limite de détection de la méthode LD.
- La limite de quantification LQ.
- La fidélité.
- La justesse.

a) Test de linéarité de la courbe d'étalonnage [26]

La linéarité d'une procédure analytique est sa capacité, à l'intérieur de l'intervalle de dosage, à fournir des **résultats** (quantité mesurée) directement proportionnels à la **concentration** (quantité introduite) en substance présente dans l'échantillon (exemple : nitrites).



La droite résultant de cet ajustement s'appelle une droite de régression.

La courbe d'étalonnage est un graphique fonctionnel traduisant une relation entre une grandeur à estimer et un signal mesuré à l'aide d'un appareil de mesure. Elle est déterminée au moyen de grandeurs de référence bien précisée (étalons).

Les notions développées ci-dessous s'appliquent à tout type de modèle fonctionnel reliant le signal observé Y et la grandeur à mesurer X :

$$Y = F(X)$$

La plupart du temps, la fonction F est un polynôme du premier degré en X :

$$Y = a_0 + a_1 X$$

Pour dire que la courbe d'étalonnage est linéaire, il faut s'assurer que la relation permet de prévoir correctement Y connaissant X et le principe repose sur la comparaison des deux estimations :

- l'écart-type de mesure S_0 sur le signal que l'on estime en répétant plusieurs fois la mesure de Y pour une même valeur de X, il est estimé par la formule suivante :

$$S_0 = \frac{S^*}{\sqrt{k}} \text{ avec } S^* = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{S_i^2}{n}} \text{ à } v^* = n(k-1) \text{ ddl}$$

Avec :

Si : l'écart type de chaque série de répétitions.

n : le nombre de niveaux de concentration choisi pour les étalons



k : désigne le nombre de répétitions du signal pour chaque niveau de concentration.

- L'écart-type résiduel S_r du modèle, traduisant l'adéquation du modèle avec les points expérimentaux, est estimé par la formule suivante :

$$S_r = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n e_i^2}{n-2}} \quad \text{à } \nu = n-2 \text{ ddl Et} \quad e_i = y_i - y_{\text{préd}}$$

Avec :

e_i : la valeur observée

$Y_{\text{préd}}$: la valeur théorique fournie par le modèle, elle est prédite mais non mesurée.

La statistique calculée est : $F_{\text{OBS}} = \left(\frac{S_r}{S_0} \right)^2$

Les deux hypothèses en concurrence sont :

- H_0 : les S_r et S_0 sont de même ordre de grandeur.
- H_1 : les S_r et S_0 sont significativement différents.

Interprétation statistique : lire dans la table de FISHER (voir annexe) le F_{crit} :

- Si $F_{\text{obs}} < F_{\text{crit}}$, donc S_r et S_0 sont de même ordre de grandeur.
- Si $F_{\text{obs}} \geq F_{\text{crit}}$, on conclut que S_r et S_0 sont différents et donc on rejette la validité du modèle linéaire.

Remarque :

Pour tester la linéarité de la courbe d'étalonnage, on effectue tous les tests expliqués ci-dessous ;

Remarque : Cette partie sera détaillée par la suite dans la partie expérimentale.

i. Comparaison de deux écarts types (Test de FISHER) [26]

Il s'agit de comparer deux écart-type, les deux hypothèses en concurrence pour lesquelles on suppose : $s_1 > s_2$.

- H_0 : Les deux écarts-types observés s_1 et s_2 sont du même ordre de grandeur.
- H_1 : L'écart-type s_1 est significativement plus grand que l'écart-type s_2 .

On utilise la loi de Fisher, elle régit la distribution du rapport des carrés des écarts types et elle se base sur le calcul de la statistique suivante :

On lit $F_{\text{critique}}(\nu_1, \nu_2)$ dans la table de Fisher pour un risque α ;

$$F_{\text{obs}} = \frac{S_1^2}{S_2^2}$$

Avec :

ν_1 : degré de liberté relatif à S_1 .

ν_2 : degré de liberté relatif à S_2 .

Interprétation statistique : si $F_{\text{calculé}} < F_{\text{critique}}$, les écarts-types sont de même ordre de grandeur on accepte H_0 sinon, ils sont différents.

ii. Test de COCHRAN [26]

Ce test est utilisé pour vérifier et confirmer l'homogénéité des variances des niveaux, il va nous permettre de détecter les variances aberrantes, c'est-à-dire qui sont très élevées et qui vont fausser les résultats, il y a deux hypothèses en concurrence :



- H_0 : les variances sont de même ordre de grandeur.
- H_1 : le maximum des variances est significativement plus grand que les autres.

Interprétation statistique: La valeur C_0 calculée est inférieure à $C_{\text{tabulé}}$, valeur lue sur la table de COCHRAN avec un risque de 5% ; on retient l'hypothèse nulle H_0 , donc l'ensemble des variances des différents niveaux est considéré comme homogène.

b) Limites de détection et de quantification d'une méthode

La limite de détection (LD) : est la plus basse concentration pour un composé analysé dans une matrice réelle, qui lorsqu'il subit toutes les étapes d'une méthode complète, produit un signal détectable avec une fiabilité définie statistiquement différent de celui produit par un « blanc » dans les mêmes conditions. [30]

La limite de quantification (LQ) : est la concentration minimale qui peut être quantifiée à l'aide d'une méthode d'analyse avec une fiabilité définie.

La détermination de ces limites s'effectue selon l'une des façons suivantes :

- **Courbe d'étalonnage :** Selon la constante a_0 de la courbe d'étalonnage $Y = a_0 + a_1 X$, lorsque la concentration X est nul
- **Méthode de Blanc :** la concentration correspondante à la moyenne plus 3 fois l'écart type d'un blanc à bas niveau dans un solvant approprié.

➤ La méthode du blanc

Elle suppose avoir estimé les paramètres de la courbe d'étalonnage : $Y = a_0 + a_1 X$

Et d'autre part elle nécessite la possibilité de disposer d'un échantillon blanc ne contenant pas l'analyse à doser. On répète la mesure du signal n_B fois sur le blanc et on désigne par :

\bar{y}_B = moyenne des n_B valeurs obtenues et S_B = écart-type à $(n_B - 1)$ ddl de ces n_B valeurs ;

Les limites de détection et de quantification sont données comme suite :

$$LD = \frac{\bar{y}_B + 3S_B - a_0}{a_1} \quad \text{et} \quad LQ = 3,33 LD$$

➤ La méthode de la courbe d'étalonnage

Cette méthode, en plus des coefficients de la courbe d'étalonnage, elle tient compte aussi de la linéarité de la courbe. On a les relations suivantes : $LD = (b + 3 \cdot Sb) / a$ et $LQ = (b + 10 \cdot Sb) / a$

Avec :

a : la pente de la courbe d'étalonnage et b : l'ordonnée à l'origine de la courbe d'étalonnage.

c) Fidélité [9]

La fidélité est la mesure du degré de dispersion entre les résultats quand on répète la mesure.

C'est-à-dire, l'étroitesse de l'accord (degré de dispersion) entre une série de mesures obtenues dans des conditions bien établies. La fidélité d'une méthode comporte deux aspects : reproductibilité et répétabilité pour une méthode d'analyse.

i. Répétabilité



La répétabilité, à un niveau donné, correspond à l'étroitesse de l'accord entre les résultats individuels successifs obtenus sur le même échantillon soumis à l'essai dans le même laboratoire et dans les mêmes conditions suivantes : même analyste, même appareil, même jour.

ii. Reproductibilité

La reproductibilité, à un niveau donné, correspond à l'étroitesse de l'accord entre les résultats individuels obtenus sur le même échantillon soumis à l'essai dans le même laboratoire et dont au moins, l'un des éléments suivants est différent : l'opérateur, l'appareil, le jour.

Lorsque Pour $n < 30$, il faut se référer à une table statistique de la distribution de Fisher.

Le calcul de la fidélité sera détaillé par la suite dans la partie expérimentale.

d) Justesse

La justesse à un niveau donné correspond à l'étroitesse de l'accord entre la valeur certifiée par un organisme reconnu et le résultat moyen qui serait obtenu. La justesse se mesure, à un niveau donné de concentration, dans la zone quantifiable pratique de la méthode, elle s'exprime par l'erreur relative.

Le calcul de la justesse sera détaillé par la suite dans la partie expérimentale.

XII. Mise en assurance qualité des méthodes de mesure du pH et de Conductivité

Il convient de mettre en place un certain nombre de dispositions pratiques pour garantir le maintien dans le temps de ces performances évaluées par : utilisation des cartes de contrôle.

A. Carte de contrôle [26]

La carte de contrôle est l'un des outils de base utilisé pour la maîtrise statistique des procédés. C'est une représentation graphique qui permet de suivre l'évolution des résultats pour une méthode d'analyse donnée en distinguant les causes aléatoires des causes assignables. (Figure 9) Elle se compose:

- d'une ligne droite (au centre) qui correspond à la valeur cible \bar{x} .
- de deux droites correspondant aux limites de contrôle - situées à $m \pm 3 S_{CT}$.
- de deux droites correspondant aux limites de surveillance - situées à $m \pm 2 S_{CT}$.
- de la courbe des résultats individuels obtenus lors des points de contrôle.

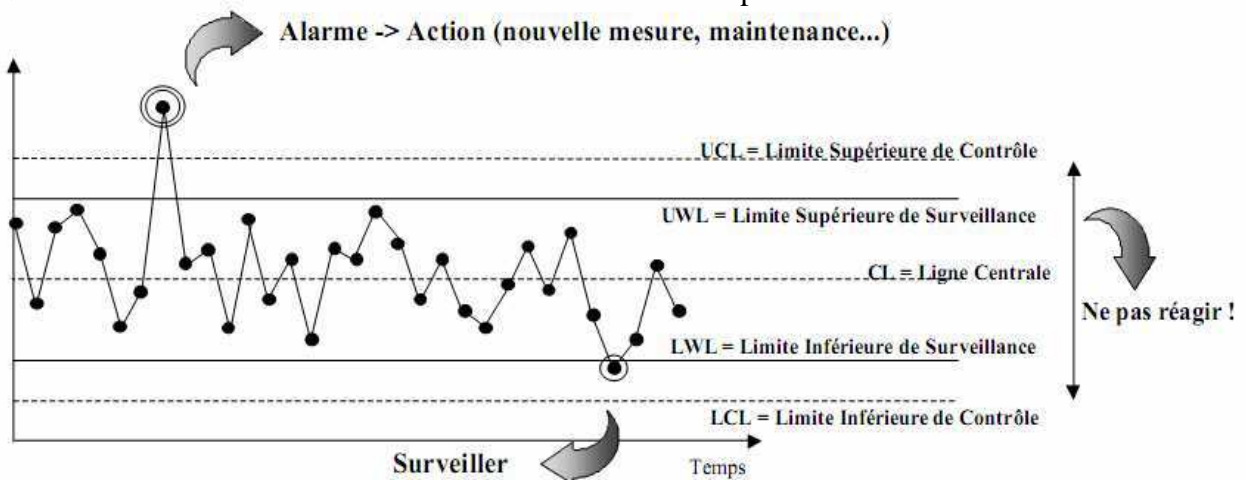




Figure 7 : Principe d'une carte de contrôle

Il existe plusieurs types de cartes de contrôle, les cartes de contrôle utilisées dans ce travail sont les cartes de contrôle aux mesures.

L'objectif d'une carte de contrôle aux mesures est de détecter la présence de causes assignables de dérèglement du processus en se basant sur la fixation des exigences et le calcul des intervalles des limites selon Les formules suivantes :

a) Méthodes pour fixer la cible :

La moyenne observée sur une période "normale" m :

$m = \bar{x}$: c'est une valeur fixée par le procédé ou un étalon

- S'il y a des spécifications bilatérales: $m = (T_s + T_i) / 2$
- S'il y a des spécifications unilatérales : $m = T_i + 4 * S_{CT}$ ou $m = T_s - 4 * S_{CT}$

Avec : S_{CT} = l'écart-type à court terme

T_s, T_i : les tolérances supérieures et inférieures

b) Méthodes pour fixer les limites de surveillance et contrôle :

Les limites de surveillance sont les limites à l'intérieur desquelles on se trouve 95 fois sur 100 si le procédé est normal. Les limites de contrôle sont les valeurs à l'intérieur desquelles on se trouve 99.7 fois sur 100 si le procédé est normal.

- **1^{ère} méthode** : avec l'écart type de valeurs des échantillons (S)

$$LS = m \pm 2*S \quad \text{et} \quad LC = m \pm 3*S$$

Avec :
$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{y})^2}{n - 1}}$$

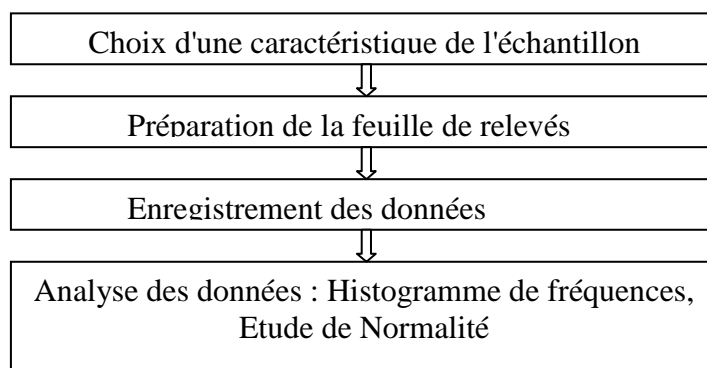
- **2^{ème} méthode** (cas utilisé) : l'écart-type à court terme (S_{CT})

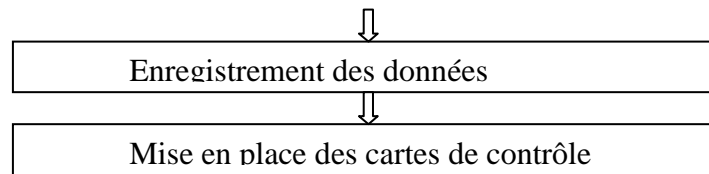
si il y a des tolérances on pose : $S_{CT} = (T_s - T_i) / 8$

$$LS = m \pm 2* S_{CT} \quad \text{et} \quad LC = m \pm 3* S_{CT}$$

c) Etapes de réalisation des cartes de contrôle :

La mise en place des cartes de contrôle s'effectue selon les étapes suivantes :





Remarque : Ces étapes seront détaillées et réalisées par la suite dans la partie expérimentale.



Les étapes et les tests de validation réalisés, dans cette partie, permettent de mesurer le degré de fiabilité des conclusions expérimentales. Ils permettent d'évaluer si des résultats d'expérience sont dus aux variables expérimentales ou à d'autres facteurs.

Le calcul des différentes valeurs statistique sera évalué à l'aide d'EXCEL et d'un Logiciel statistique.

I. Etablissement de la courbe d'étalonnage

A. Préparations des solutions étalons

Elle est sélectionnée de façon régulière sur le domaine, en vue de détecter les zones ou l'hypothèse de linéarité réellement applicable.

B. Méthode de réactif de Zambelli :

❖ Principe :

Le dosage des nitrites se fait par spectrophotométrie U.V-visible à l'aide d'un réactif de Zambelli qui, en présence d'acide sulfanilique en milieu chlorhydrique forme en présence de ces ions et des ions NH_4^+ un complexe coloré en jaune, dont l'intensité de couleur produite du test est proportionnelle à la concentration des nitrites.



Fig.8 : Coloration jaune lors de la préparation des solutions de la gamme d'étalonnage des nitrites. Tous les réactifs doivent être exempts de composés, et l'eau utilisée doit être de l'eau distillée.

❖ Matériels

- Bêchers.
- Cuves en verre capacité 10 ml.
- Fiole jaugée : 1L.
- Fioles jaugées : 100 ml.
- Eprouvettes.
- Pipettes.

❖ Réactifs

- Ammoniac pur ($d=0,19$).
- Réactifs de Zambelli, préparé à partir de : (Phénol cristallisé : 7,5g ; Acide sulfanilique : 5g ; Acide chlorhydrique pur ($d=1,19$) : 260ml ; NH_4Cl : 135g ; Eau distillée : 625ml).

❖ Mode opératoire

➤ Préparation du réactif de Zambelli :

- Introduire dans une fiole d'un litre l'acide chlorhydrique et l'eau distillée, puis y dissoudre l'acide sulfanilique et le phénol en chauffant légèrement au bain marie ;
- Après dissolution complète, ajouter le NH_4Cl , agiter jusqu'à la dissolution ;
- Après refroidissement, ajuster le volume à un litre avec de l'eau distillée.

➤ Préparation de la solution mère :



-Solution mère étalon de nitrite de sodium (NO_2^- à 0,23g /l).

➤ **Préparation de la solution fille :**

-Solution fille étalon d'ion NO_2^- à 0,0023g /l : ramener 1ml de solution mère à 100 ml avec l'eau distillée.

➤ **Courbe d'étalonnage:**

Dans une série de fioles jaugées numérotés, introduire successivement les réactifs en agitant après chaque addition :

Tableau 4: Gamme d'étalonnage

Numéro de fiole	Témoin	1	2	3	4	5
Solution étalon fille (ml)	0	1	5	10	15	20
Eau distillée (ml)	20	19	15	10	5	0
Réactif de Zambelli (ml)	2	2	2	2	2	2

Attendre 10 minutes et ajouter:

Ammoniac pur (ml)	2	2	2	2	2	2
Correspondance mg /l de NO_2^-	0	0,046	0,23	0,46	0,69	0,92

➤ **Expression des résultats :**

Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde 435 nm et construire la courbe d'étalonnage, après le spectromètre U.V-visible donne directement la teneur en nitrites NO_2^- exprimée en mg/l.

➤ **Courbe d'étalonnage :**

Les mesures des concentrations de la gamme d'étalonnage par le spectromètre U.V-visible, donnent directement les teneurs en nitrites exprimées en mg/l, comme il est montré dans la courbe d'étalonnage ci-dessous :

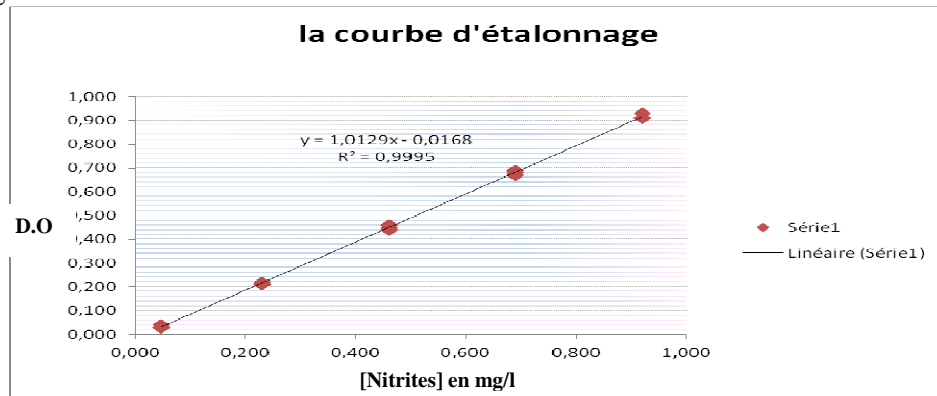


Fig.9 : Courbe d'étalonnage

➤ **Déduction:** D'après la figure ci-dessus, on observe que les mesures des concentrations de la gamme d'étalonnage obtenues par le spectromètre U.V-visible, donnent une courbe linéaire.

II. Validation de la méthode d'analyse des nitrites, basée sur la courbe d'étalonnage

Lorsqu'il s'agit de déterminer en interne les caractéristiques d'une méthode, il est important que le laboratoire définisse précisément, les caractéristiques à évaluer.

Dans ce présent sujet les caractéristiques à évaluer sont les suivantes:



- La linéarité
- La fidélité
- La justesse
- Les limites de détection et de quantification.

A. Validation de la courbe d'étalonnage: Linéarité

La régression linéaire ou la méthode des moindres carrés permet d'établir la droite d'étalonnage et de calculer les incertitudes. Pour pouvoir disposer des données suffisantes pour estimer correctement les coefficients de la courbe d'étalonnage et tester la linéarité de la mesure sur le domaine, il est nécessaire d'utiliser au moins les valeurs suivantes :

- n = nombre de niveaux ≥ 4 .
- K = nombre de répétition ≥ 3 .

Dans notre cas nous avons travaillé avec :

- n = 5 niveaux de concentration.
- p = 5 répétition pour chaque niveau de concentration.

La réalisation de la linéarité linéarité

Afin de s'assurer de la fiabilité des résultats on effectue un étalonnage, qui s'opère par l'analyse des solutions standards, avec cinq concentrations connues (n=5) :

0,046 mg/l - 0,230 mg/l - 0,460 mg/l - 0,690 mg/l - 0,9200 mg/l

La mesure de chaque étalon donne lieu à cinq répétitions (p=5).

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 5 : Application de la linéarité (régression linéaire)

niveaux	répétitions	Concentration des étalons (x _{ij}) en (mg/l)	Concentration mesurée (y _{ij}) en (mg/l)	(x _{ij} - \bar{x}) ²	(y _{ij} - \bar{y}) ²	(X _{ij} - \bar{X})(Y _{ij} - \bar{Y})	Si ²
1	1/1	0,046	0,03	0,179	0,184	0,181	0,00002
	2/1	0,046	0,03	0,179	0,175	0,177	
	3/1	0,046	0,03	0,179	0,184	0,181	
	4/1	0,046	0,03	0,179	0,184	0,181	
	5/1	0,046	0,04	0,179	0,184	0,181	
2	1/2	0,23	0,22	0,057	0,062	0,059	0,00002
	2/2	0,23	0,21	0,057	0,057	0,057	
	3/2	0,23	0,21	0,057	0,062	0,059	
	4/2	0,23	0,21	0,057	0,062	0,059	
	5/2	0,23	0,21	0,057	0,062	0,059	
3	1/3	0,46	0,44	-0,018	0,0003	0,0002	0,0001
	2/3	0,46	0,45	-0,008	0,00007	0,0001	
	3/3	0,46	0,44	-0,018	0,0003	0,0002	
	4/3	0,46	0,46	0,002	0,00003	-0,00001	
	5/3	0,46	0,46	0,002	0,00003	-0,00001	
4	1/4	0,69	0,68	0,049	0,049	0,049	0,0001
	2/4	0,69	0,69	0,049	0,054	0,051	
	3/4	0,69	0,67	0,049	0,045	0,047	



	4/4	0,69	0,69	0,049	0,054	0,051	
	5/4	0,69	0,69	0,049	0,054	0,051	
5	1/5	0,92	0,93	0,203	0,222	0,213	0,0001
	2/5	0,92	0,91	0,203	0,204	0,204	
	3/5	0,92	0,91	0,203	0,204	0,204	
	4/5	0,92	0,91	0,203	0,204	0,204	
	5/5	0,92	0,91	0,203	0,204	0,204	
	\bar{X}	\bar{Y}	SCE _x	SCE _y	SPE _{xy}		
	0,469	0,458	2,442	2,507	2,473		

Avec :

x_{ij}: Concentration en mg /l de NO₂- des solutions étalons de travail (quantité introduite).

y_{ij} : Concentration en mg /l lue dans le spectrophotomètre (quantité mesurée).

\bar{y}_i : la moyenne.

s_i^2 : la variance.

$\bar{\bar{x}}$: la moyenne des moyennes.

SCE_x: Somme des Carrés et d'Ecarts des x_{ij}.

$$SCE_x = \sum \sum (x_{ij} - \bar{x})^2$$

SCE_y : Somme des Carrés et d'Ecarts des y_{ij}.

$$SCE_y = \sum \sum (y_{ij} - \bar{y})^2$$

SPE_{xy} : Produit des Sommes des Carrés et d'Ecarts des y_{ij}, x_{ij}.

$$SPE_{xy} = \sum \sum (x_{ij} - \bar{x})(y_{ij} - \bar{y})$$

Pour effectuer la régression linéaire, il convient de:

- Vérifier l'homogénéité des variances entre les différents niveaux selon le test de Cochran.
- Déterminer les intervalles de confiance.
- Déterminer les paramètres de la courbe d'étalonnage.
- Réaliser le test d'adéquation du modèle par analyse de variance (ANOVA).
- Valider la droite de régression par application du test de Fisher.

a) Test de vérification d'homogénéité des variances

Ce test permet de vérifier (à un risque α choisi, $\alpha=5\%$) l'homogénéité des variances des valeurs individuelles obtenus par l'analyse des solutions standards des concentrations connues, c'est-à-dire vérifier que ces valeurs ont une variance peu différente entre elles.

Le test de **Cochran** va nous permettre cette analyse.

i. Test des COCHRAN

Les résultats sont obtenus à partir des relations du test de COHRAN. Ainsi la valeur C (α , n, p) critique est lue sur la table de COCHRAN en fonction du risque $\alpha = 5\%$ et du nombre de répétitions (P=5) et du nombre de niveau (n=5).

Tableau 6 : Teste de COCHRAN



TEST DE COCHRAN			
s_{\max}^2	$\sum si^2$	C_0 calculé	$C_{(5\%,5,5)}$
0,0001	0,0003	0,3333	0.544

Avec :

s_{\max}^2 : Variance maximale.

$\sum si^2$: Somme des variances.

C_0 calculé : C de COCHRAN calculée.

$C_{(5\%, 5,5)}$: C de COCHRAN lue sur la table.

► **Interprétation statistique:** La valeur C_0 calculée est inférieure à 0,544 valeur lue sur la table de COCHRAN avec un risque de 5% ; on retient l'hypothèse nulle H_0 , donc l'ensemble des variances des différents niveaux est considéré comme homogène.

b) Intervalles de confiance

i. Calculs des paramètres de la courbe d'étalonnage

A partir des résultats déjà obtenus dans le tableau 5, on va calculer la moyenne des moyennes, la variance résiduelle, et le coefficient de variances pour chaque niveau, ce qui va nous permettre d'effectuer des tests statistiques pour tester la linéarité et s'assurer de la validation de la courbe d'étalonnage.

Tableau 7, 8 : Calculs des paramètres

\bar{x}	\bar{y}	SCE _x	SCE _y	SPE _{xy}	S_r^2	N
0,469	0,458	2.442	2.507	2.473	0.000058	25

a_1	Sa_1^2	b_1	Sb_1^2	r_1
1,0129	0,000024	-0,01685	0,0000076	0,9997

Avec :

N : Nombre total des échantillons $N = n \cdot p$

S_r^2 : Variance résiduelle $S_r = \sqrt{\frac{SCE_y - a^2 SCE_x}{N - 2}}$

Sa_1^2 : variance de la pente $Sa = \sqrt{S^2 / SCE_x}$

Sb_1^2 : variance de l'ordonnée à l'origine $Sb = \sqrt{S_r \left(\frac{1}{N} + \frac{\bar{x}^2}{SCE_x} \right)}$

a_1 : Pente

r_1 : Coefficient de corrélation

b_1 : Ordonnée à l'origine

$$a_1 = \frac{SPE_{xy}}{SCE_x}$$

$$b_1 = \frac{SPE_{xy} - a_1 SCE_x}{SCE_x}$$

$$b = \bar{Y} - a\bar{X}$$



Remarque: Le calcul de ces paramètres sa_1^2 , sb_1^2 , a_1 et b_1 , va nous permettre de déterminer les intervalles de confiance pour a et b.

ii. Détermination des intervalles de confiance pour a et b

Tableau 9: Intervalle de confiance sur la pente

a_1	Sa_1	N	$t_{(0,05, 23)}$	$t_{(0,05, 23)} * Sa_1$	$a_{1 \min}$	$a_{1 \max}$
1,0129	0,004882	25	2,069	0,0101	1,0028	1,023

Tbleau10 : Intervalle de confiance sur l'ordonné à l'origine

b_1	Sb_1	N	$t_{(0,05, 23)}$	$t_{(0,05, 23)} * Sb_1$	$b_{1 \min}$	$b_{1 \max}$
-0,0168	0,0027523	25	2,069	0,006	-0,023	-0,011

Avec :

$a_{1 \min}, a_{1 \max}$: Bornes d'Intervalle de confiance sur la pente $IC=a+t(95\%, N-2)*Sa$

$b_{1 \min}, b_{1 \max}$: Bornes d'Intervalle de confiance sur l'ordonné à l'origine $IC=b+t(95\%, N-2)*Sb$

$t_{(0,05, 23)}$: est le coefficient de student lue sur la table pour ($\alpha = 5\%$, ddl = N-2).

► **Interprétation:** La pente et l'ordonné à l'origine sont significatifs, car ils se retrouvent à l'intérieur de l'intervalle de confiance, cela signifie qu'ils ne résultent pas d'une dispersion des résultats.

iii. Courbe d'étalonnage

Après avoir calculé les coefficients statistiques et vérifié les réponses, on passe à la réalisation de la courbe d'étalonnage.

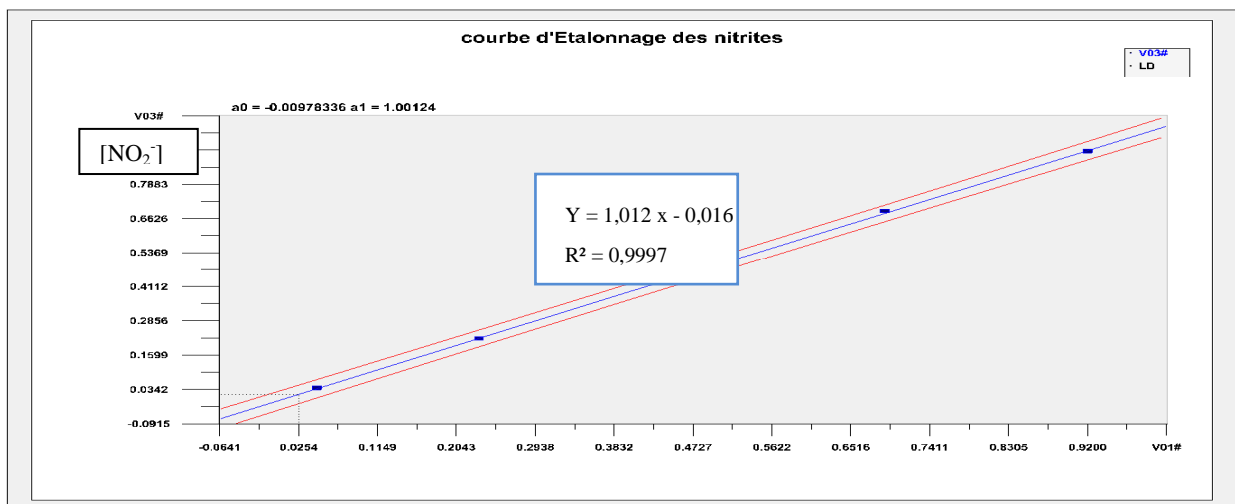


Fig. 10 : courbe d'étalonnage

► **Interprétation:** Les résultats obtenus à partir des différents points de la gamme d'étalonnage montre la linéarité de la courbe et qu'il existe une bonne corrélation entre la pente et l'ordonné à l'origine.



c) Test d'adéquation du modèle par analyse de variance (ANOVA):

Ce test consiste à tester la validité du modèle linéaire et de vérifier l'existence d'une pente significative (s'assurer que la pente provient de la régression et non pas des erreurs résiduelles). Par conséquent tester la validité, de la droite sur toute la gamme, du modèle linéaire par les tests de Fisher.

Tableau 11 : Résultats pour la vérification de l'existence d'une pente significative

niveaux	x _{ij}	y _{ij}	\widehat{y}_{ij} de la pente	$(y_{ij} - \widehat{y}_{ij})^2$	$(\widehat{y}_{ij} - \bar{y})^2$
1	0,046	0,03	0,03	0,0000	0,1837
	0,046	0,03	0,03	0,0001	0,1837
	0,046	0,04	0,03	0,0000	0,1837
	0,046	0,03	0,03	0,0000	0,1837
	0,046	0,03	0,03	0,0000	0,1837
2	0,23	0,21	0,216	0,0000	0,0587
	0,23	0,22	0,216	0,0000	0,0587
	0,23	0,21	0,216	0,0000	0,0587
	0,23	0,21	0,216	0,0000	0,0587
	0,23	0,21	0,216	0,0000	0,0587
3	0,46	0,44	0,449	0,0001	0,0001
	0,46	0,45	0,449	0,0000	0,0001
	0,46	0,44	0,449	0,0001	0,0001
	0,46	0,46	0,449	0,0001	0,0001
	0,46	0,46	0,449	0,0001	0,0001
4	0,69	0,68	0,682	0,0000	0,0500
	0,69	0,69	0,682	0,0001	0,0500
	0,69	0,67	0,682	0,0001	0,0500
	0,69	0,69	0,682	0,0001	0,0500
	0,69	0,69	0,682	0,0001	0,0500
5	0,92	0,91	0,915	0,0002	0,2085
	0,92	0,91	0,915	0,0000	0,2085
	0,92	0,91	0,915	0,0000	0,2085
	0,92	0,91	0,915	0,0000	0,2085
	0,92	0,93	0,915	0,0000	0,2085
		y		SCE _r	SCE _l
		0,458		0,001339	2,505

Avec :

\widehat{y}_{ij} : y Estimée calculée à partir de la pente

SCE_r : somme des carrés des écarts résiduels

SCE_l : somme des carrés des écarts dus à la régression linéaire

$$\widehat{Y} = a_1 * X_{ij} + b_1$$

$$SCE_r = \sum \sum (y_{ij} - \widehat{y}_{ij})^2$$

$$SCE_l = \sum (\widehat{y}_{ij} - \bar{y})^2$$



i. Comparaison des écarts-type résiduels de Mesure

Tableau 12 : Test de Fisher pour validité de la régression

sources de variation	DDL	SCE	DDL	Variances	F1	F (0,05, 1,23)
résiduelle	N-2	0,001339	23	0,000058	43045,309	4,28
régression linéaire	1	2,505197	1	2,5051974		
totale	(N-2)+1=24	2,506536	24			

Avec :

SP^2 : variance de régression linéaire

SCE_T : Somme totale des écarts à la moyenne $SCE_T = SCE_r + SCE_l$

$F(0,05, 1,23)$: lu dans la table de Fisher

$F1$: F de régression linéaire calculé de Fisher $F1 = \frac{SP^2}{S_r^2}$

► **Interprétation statistique:** D'après le tableau 7.9, on observe que la valeur de Fisher observée F_1 est bien supérieure à la valeur critique $F(0,05, 1,23)$ lue sur la table donc le test est significatif. On conclut l'existence d'une pente, donc une dépendance linéaire au seuil de probabilité considéré $\alpha=5\%$.

ii. Vérification de la validité de la droite de régression

Pour s'assurer que la variance caractérisant l'erreur due à une erreur de modèle est bien inférieure à l'erreur expérimentale (que la droite de régression est bien une droite dans tout le domaine choisi). On réalise le tableau suivant :

Tableau 13 : Test de Fisher pour la validité du domaine de linéarité

sources de variation	SCE	DDL	Variance	F_{nl}	F (0,05;3;20)	DDL F (α ; P-2;N-P)
S^2_e : expérimentale SCE_e	0,0012	20	0,00006	0,77	3,1	N-P
S^2_{nL} : erreur modèle non linéaire	0,0001386	3	0,0000462			P-2
erreur Totale	2,506536	24	0,104439			N-1

Avec :

S^2_{nL} : variance due à l'erreur du modèle (non linéaire).

F_{nl} : F de l'erreur du modèle (non linéaire).calculé de Fisher

$$F_{nl} = \frac{S_{nl}^2}{S_e^2}$$

S^2_e : variance expérimentale

$F(\alpha; P-2;N-P)$: lu dans la table de Fisher



N : nombre total de résultats d'analyse

P : nombre de niveau

SCE_e : somme des carrés et des écarts dus à une erreur expérimentale $SCE_e = \sum (y_{ij} - \bar{y})^2$

SCE_{nl} : somme des carrés des écarts dus à la régression linéaire $SCE_{nl} = \sum (\bar{y}_{ij} - \bar{y})^2$

Erreur résiduelle = Erreur expérimentale + Erreur du modèle (non linéaire)

$$SCE_r = SCE_e + SCE_{nl}$$

➤ **Interprétation statistique:** On a $F_{nl} < F_{tab}$: le test est non significatif, l'erreur du modèle est négligeable, donc le domaine de linéarité **est considéré comme valide** au seuil de probabilité considéré $\alpha=5\%$.

B. Limite de détection (LD) et limite de quantification (LQ)

La détermination de la LD et de la LQ s'effectue selon l'une des deux approches suivantes :

- Méthode issue de l'étude du blanc;
- Méthode issue de l'étude de la courbe d'étalonnage.

a) Méthode issue de l'étude de la courbe d'étalonnage :

La détermination de la limite de détection et de quantification selon la méthode de la courbe d'étalonnage, donne les résultats suivants (tableau 14):

Tableau 14 : LD et LQ obtenus par la courbe d'étalonnage

LD (mg/l)	LQ (mg/l)
0,00811	0,02713

Avec :

LD : limite de détection $LD = (b+3*Sb)/a$

LQ: limite de quantification $LQ = b+10*Sb)/a$

➤ **Déduction** : la limite de détection obtenue est très faible 0.00811 (mg/l), il est donc possible de déterminer des quantités très faibles des nitrites par le spectromètre U.V-visible.

La limite de quantification est la plus petite valeur à partir de la quelle un résultat d'analyse peut être donné avec une fidélité satisfaisante, elle est toujours supérieure à la limite de détection.

b) Méthode issue de l'étude du blanc de matrice :

Préparer un volume suffisant d'une solution assimilée à un blanc, qui est le solvant de préparation des solutions standard de nitrites. Fractionner ce volume en 10 prises d'essai identiques. Réaliser une analyse complète sur chacune des prises d'essai dans des conditions préétablies (tableau 15).

Tableau15 : Concentrations du blanc

Réponses du blanc	0,0001	-0,0081	-0,0092	-0,0077	-0,0085	-0,0062	-0,0082	-0,009	-0,008	-0,0078
--------------------------	--------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	--------	--------	---------

A partir des résultats obtenus, on calcule la moyenne arithmétique de la série de mesure, l'écart



type s, La limite de détection et limite de quantification.

Tableau 16: LD et LQ obtenus par la méthode du blanc

Moyenne	Ecart-type	D.D.L	LD	LQ
-0,00720	0,00287	9,00000	0,01011	0,03100

Avec :

LD : limite de détection

LQ: limite de quantification

D.D.L : degré de liberté (N-1).

$$LD = \frac{\bar{y}_B + 3s_B - a_0}{a_1}$$

$$LQ = 3,33 LD$$

➤ **Interprétation statistique:**

D'après les résultats obtenus par les deux méthodes, on remarque qu'il y a une faible différence entre la LD et la LQ déterminées par la méthode du blanc et celle déterminée par la courbe d'étalonnage.

Cette différence est prévue par le modèle quand la concentration est nulle. Cela prouve que la courbe d'étalonnage n'est pas linéaire au voisinage des concentrations proches de 0.

III. Tests de détection des valeurs aberrantes:

Pour la détection des valeurs aberrantes on a réalisé le test de DIXON et Student.

A. Test de DIXON

Les calculs de ce test seront effectués à l'aide d'ECXEL et d'un logiciel statistique.

-Avec ECXEL :

La statistique qu'on va utiliser nous permettra d'annoncer si la valeur minimale ou maximale est aberrante ou pas.

-on calcule r_{13} si on veut tester Y_1 aberrante

-on calcule r_{23} si on veut tester Y_n aberrante

Pour $14 < n < 30$ on trouve les résultats donnés dans le tableau suivant :

Tableau 17 : CALCUL des valeurs aberrantes selon Dixon

r_{13}	r_{23}	Valeur critique $r(n,\alpha)$
0,11	0,22	0.406

Avec :

r_{13} et r_{24} : valeurs de DIXON calculées pour $14 < n < 30$: $r_{10} = Y_3 - Y_1 / Y_{n-2} - Y_1$ et $r_{11} = Y_n - Y_{n-2} / Y_n - Y_3$

$r(n,\alpha)$: valeur lue sur la table de DIXON avec n est le nombre de données et α le risque d'erreur à 5%.(ANNEXE 5).

-Avec le logiciel statistique :

Tableau 18 : CALCUL des valeurs aberrantes selon Dixon



Stat. Minimum	Stat. Maximum	D.D.L	Moyenne	N	Ecart-Type	Confiance %	Seuil
0	0,0222						
Minimum	Maximum						
0,03	0,093	24	0,458	25	24	95	0,406

➤ **Interprétation statistique:** Le test de DIXON, réalisé soit à l'ECXEL soit au le Logiciel statistique, nous confirme qu'aucun extrême n'est aberrant, puisque les ratios observés sont inférieurs au ratio critique lu sur la table de DIXON.

B. Test de Student :

L'utilisation du test de Student est dans un souci de confirmer les résultats obtenus par le test de Dixon.

Tableau 19: Test des valeurs aberrantes selon Student sur les 5 répétitions d'étalonnage

Minimum	Maximum	Confiance %	Seuil	moyenne	DDL	N	Ecart-type
0,03	0,93						
Stat. Minimum	Stat. Maximum						
1,3256	1,4593	95	2,663	0,45	24	25	0,3232

Avec :

Minimum: $T_1 = y_m - y_1 / S$ Maximum: $T_n = y_n - y_m / S$

➤ **Interprétation statistique:** Les résultats, obtenus par le tableau des valeurs aberrantes selon Student, montrent que toutes les valeurs de T de student calculées sont inférieures à la valeur critique observée par le tableau de Student à 95% de confiance, le test de student nous permet de constater également l'absence des valeurs aberrantes.

IV. Fidélité (reproductibilité et répétabilité)

Pour l'étude de la fidélité, nous avons effectué des analyses sur la solution N° 5 préparée de la gamme d'étalonnage, déjà utilisée, au cours de la même journée. Avec trois opérateurs différents participant aux essais de la répétabilité ($p = 3$) chacun d'eux réalise le même nombre de répétition ($n = 5$) sur l'échantillon sujet d'étude.

Les résultats obtenus de la répétabilité et de la reproductibilité sont représentées dans le tableau 20.

Tableau 20 : Calcul des paramètres de la Fidélité.

Opérateurs	répétitions	Qté I.(mg)	Qté R.(mg)	R (%)	\bar{y}_i	s^2
1	1/1	0,92	0,97	105,43	104,35	1,18
	2/1	0,92	0,97	105,43		
	3/1	0,92	0,95	103,26		
	4/1	0,92	0,96	104,35		



	5/1	0,92	0,95	103,26		
2	1/2	0,92	0,95	103,26	103,91	0,95
	2/2	0,92	0,95	103,26		
	3/2	0,92	0,96	104,35		
	4/2	0,92	0,97	105,43		
	5/2	0,92	0,95	103,26		
3	1/3	0,92	0,96	104,35	104,13	0,83
	2/3	0,92	0,96	104,35		
	3/3	0,92	0,95	103,26		
	4/3	0,92	0,97	105,43		
	5/3	0,92	0,95	103,26		

Avec :

Qté I : Quantité introduite (Concentration en mg /l de NO₂- des solutions étalons de travail).

Qté R : Quantité retrouvée (Concentration en mg /l lue dans le spectrophotomètre).

R : Recouvrement expliqué en % **R% = Qté retrouvé /Qté intro *100**

Les paramètres calculés dans le tableau ci-dessus, vont nous permettre de réaliser les tests qui se suivent :

a) Vérification de l'homogénéité des variances et des moyennes des niveaux

Tableau 21 : teste de COCHRAN

TEST DE COCHRAN			
s^2_{max}	$\sum_{i=1}^2 s_i^2$	C_0 calculé	$C_{(5\%, 3,5)}$
1,1814745	2,953686	0,400	0,684

Avec :

s^2_{max} : Variance maximale

$\sum s_i^2$: Somme des variances

C_0 calculé : C de COCHRAN calculée

$C_{(5\%, 5,5)}$: C de COCHRAN lue sur la table

- On a :
- H₀ : les variances sont de même ordre de grandeur.
 - H₁ : le maximum des variances est significativement plus grand que les autres.

➤ **Interprétation statistique:** La valeur C_0 calculée est inférieure à **0,684** valeur lue sur la table de **COCHRAN** avec un risque de 5% ; on retient l'hypothèse nulle H₀, donc l'ensemble des variances des différents niveaux est considéré comme homogène.

b) Vérification de l'homogénéité des moyennes des niveaux (test de GRUBBS)



Tableau 22 : Test de GRUBBS

TEST DE GRUBBS	Test des moyennes		G _a calculé	G _{table} (5%, 3)
	MAX[y _i moy]	104,35	1,00	1,155
	MIN[y _i moy]	103,91	1,00	
	Test des valeurs suspectes		G _b calculé	G _{table} (5%, 5)
	MAX [y _i]	105,43	1,00	1,715
	MIN [y _i]	103,26	1,00	

Avec :

[9] G_a calculé, G_b calculé : valeurs de GRUBBS calculées $G_a = \frac{X_n - \bar{X}}{s}$ $G_b = \frac{X - X_1}{s}$ et

➤ **Interprétation statistique:** Les valeurs G_a trouvées sont inférieures à la valeur lue sur la table de GRUBBS, alors les moyennes testées sont considérées comme correctes au seuil de probabilité de 5%.

Les valeurs G_b trouvées sont inférieures à la valeur lue sur la table de GRUBBS, alors les résultats sont considérés homogènes au seuil de probabilité de 5%.

Tableau 23 : Calcul de répétabilité et de réplabilité selon le test de Fisher

Répétabilité	Variance (S _r ²)	t (95%, DDL)	Seuil de répétabilité (r)	F _{calculé}
		0,282	2,14	1,62

Reproductibilité	n	p	N	Variance (S _R ²)	F _{tabulé} (α,ddl 1, ddl2)
	5	3	15	0,31	3,89
	t (95%, DDL)		Seuil de reproductibilité (R)		
	2,14		1,674		

Avec :

t (95%, DDL) : t de Student lue sur la table,

$$DDL = 15 - 1 = 14$$

S_r² : variance de Répétabilité,

$$S_r = \sqrt{\frac{\sum s_i^2}{P}}$$

$$S_R = \sqrt{s^2(y) + (N - \frac{1}{N}) S_r^2}$$

S_R² : variance de Reproductibilité,

r : Seuil de Répétabilité,

$$r = t(95\%, DDL) * \sqrt{2} * S_r$$

R : Seuil de Reproductibilité,

$$R = t(95\%, DDL) * \sqrt{2} * S_R$$

F_{calculé} : F de test de Fisher calculé,

$$F_{obs} = x = \frac{S_R^2}{S_r^2}$$

F_{tabulé} : F de test de Fisher lue sur la table,

$$\alpha = 5\%, \text{ ddl1} = p - 1, \text{ ddl2} = N - P.$$

➤ **Interprétation statistique:** D'après les résultats obtenus on a trouvé F_{calculé} < F_{tabulé}, donc les deux écart-types de répétabilité et de réplabilité sont de même ordre de grandeur, la méthode est fidèle.



V. Justesse

1)- Dans le cas de présence de la valeur certifiée, la justesse est calculée de la manière suivante :

$$T = \frac{\bar{y} - m}{\frac{S}{\sqrt{n}}}$$

Avec :

\bar{y} : la moyenne des mesures

m : la valeur certifiée ou conventionnelle

S : l'écart-type des mesures

n : le nombre de mesures

Interprétation : La méthode est dite juste, si la valeur calculée est inférieure ou égale à la valeur critique lue dans la table de Student.

2)- Dans le cas où on ne dispose pas de matériau de référence, on peut adapter deux démarches :

-Des essais intra-Laboratoires : les mêmes données expérimentales que pour la linéarité.

-Des essais inter-Laboratoires : Pour cela on donne des échantillons d'un même produits à plusieurs laboratoires et l'on compare les résultats en faisant la moyenne et l'écart-type pour chaque laboratoire (Comparaison par un test de Student et de Fisher).

- Dans notre cas (absence de matériaux de référence) on a travaillé sur es essais intra-Laboratoires. [30]

Tableau 24 : Calcul des paramètres de la justesse



niveaux	répétitions	Qté I	Qté R	R% (R _{ij})	Moyenne \bar{y}	s _i ²	(y _{ij} - y) ²	(y _{ij} - y _i) ²
1	1/1	0,046	0,030	65,217	65,6522	0,9452	1183,510	0,084
	2/1	0,046	0,030	65,217			10010,873	4348,351
	3/1	0,046	0,031	67,391			10010,873	4348,351
	4/1	0,046	0,030	65,217			10010,873	4348,351
	5/1	0,046	0,030	65,217			10010,873	4348,351
2	1/2	0,230	0,210	91,304	92,1739	3,7807	62,101	0,336
	2/2	0,230	0,220	95,652			10010,873	8603,235
	3/2	0,230	0,210	91,304			10010,873	8603,235
	4/2	0,230	0,210	91,304			10010,873	8603,235
	5/2	0,230	0,210	91,304			10010,873	8603,235
3	1/3	0,460	0,440	95,652	97,8261	4,7259	4,965	0,525
	2/3	0,460	0,450	97,826			10010,873	9712,245
	3/3	0,460	0,440	95,652			10010,873	9712,245
	4/3	0,460	0,460	100,000			10010,873	9712,245
	5/3	0,460	0,460	100,000			10010,873	9712,245
				100,054			121381,05	90656,27
Avec :				$R_m(\bar{y})$			SCE_t	SCE_e

Qté I : Quantité introduite (Concentration en mg /l de NO₂- des solutions étalons de travail).

n : nombre de niveaux **n=3**

P : nombre de répétition **P = 5**

Qté R : Quantité retrouvée (Concentration en mg /l lue dans le spectrophotomètre).

R : Recouvrement expliqué en % **R% = Qté retrouvé /Qté intro *100**

SCE_t : somme des carrés des écarts totale **SCE_t = ΣΣ (Rij - \bar{y})²**

\bar{y} : moyenne des moyennes

SCE_e : somme des carrés des écarts expérimentale **SCE_e = ΣΣ (Rij - y)²**

R_m (\bar{y}) : moyenne des recouvrements.

a) Test des COCHRAN

Pour vérifier et confirmer l'homogénéité des variances des niveaux, ce test va nous permettre de détecter les variances aberrantes, c'est-à-dire qui sont très élevées et qui vont fausser les résultats, il y a deux hypothèses en concurrence :

- H₀ : les variances sont de même ordre de grandeur.
- H₁ : le maximum des variances est significativement plus grand que les autres.

Les résultats sont obtenus à partir des relations du test de COHRAN. Ainsi la valeur C (α, n, p) critique est lue sur la table de COCHRAN en fonction du risque α = 5% du nombre de répétitions P=5 et du nombre de niveau n= 3.

Tableau 25: Teste de COCHRAN

TEST DE COCHRAN			
s ² _{max}	Σs ² _i	C ₀ calculé	C (5%,3,5)
4,726	9,452	0,500	0,684

Avec :



s^2_{\max} : Variance maximale

$\sum si^2$: Somme des variances

C_0 calculé : C de COCHRAN calculée

$C(5\%, 5,5)$: C de COCHRAN lue sur la table

➤ **Interprétation statistique:** La valeur C_0 calculée est inférieure à 0,684 valeur lue sur la table de COCHRAN avec un risque de 5% ; on retient l'hypothèse nulle H_0 , donc l'ensemble des variances des différents niveaux est considéré comme homogène.

b) Application du test de Fisher

Pour évaluer la justesse on applique un test de Fisher ; la statistique à calculer est présentée dans le tableau 8.

Tableau 26 : Calcul de LA justesse selon le test de Fisher

Source de variation	SCE	DDL	Variances(S^2)	$F_{\text{calculé}}$	$F_{\text{observé}}(5\%, p-1, N-p)$	N	n	P
Expérimentale	42,533	2	21,267	24,484	3,48	15	5	3
Factorielle	6248,156	12	520,680					
Totale	6290,689	14						

Avec :

$F_{\text{calculé}}$: F de test de Fisher calculé

$$F_I = \frac{Sf^2}{Se^2}$$

n : nombre de niveaux $n=3$

P : nombre de répétition $P = 5$

$F_{\text{tabulé}}$: F de test de Fisher lue sur la table,

$\alpha=5\%$, $ddl1 = p-1$, $ddl2 = N-P$

SCE_f : somme des carrés des écarts totale

$$SCE_f = SCE_t - SCE_e$$

➤ **Interprétation statistique:** D'après les résultats obtenus on a trouvé $F_{\text{calculé}} > F_{\text{tabulé}}$, donc les différents niveaux ne sont pas homogènes entre eux, il faut déterminer l'intervalle de confiance pour chaque niveau.

c) Estimation du recouvrement moyen et de son intervalle de confiance

Pour évaluer la justesse on applique le test de Student :

Tableau 27 : Test de Student

N	Rm(\bar{y})	S_T	t (5%, 14)	IRM	
				min	max
15	100,05	14,6108	2,145	91,96	108,15

Avec :

IRM : intervalle de confiance du recouvrement moyen

S_T : écart-type totale de la série

Rm(\bar{y}) : recouvrement moyen

➤ **Interprétation statistique:** On constate que l'intervalle de confiance du recouvrement moyen des nitrites est bien inclus dans l'intervalle de tolérance donné par les essais du laboratoire qui correspond à [91,96%, 108,15%]. Donc d'après les résultats ci-dessus on peut conclure que la méthode est juste.

Conclusion

On se basant sur les différents tests effectués sur les paramètres de validation à savoir ; la linéarité de la courbe d'étalonnage, la limite de détection et de quantification, la fidélité et la justesse, nous pouvons déduire que la méthode d'analyse des nitrites par spectromètre U.V- visible est validée.



Remarque : En parallèle de ce travail nous avons entamé une autre étude ; il s'agit de la mise en assurance qualité des méthodes de mesure du pH et de la conductivité, par réalisation d'un suivi chronologique durant un mois.

I. Mise en assurance qualité des méthodes de mesure du pH et de Conductivité

A. Test de normalité pour pH et conductivité

Pour étudier la normalité graphiquement, et vu que le nombre de mesures est supérieur à 21 (n=30), on utilise les histogrammes donnés par le logiciel Lumière présentés dans les figure suivantes :

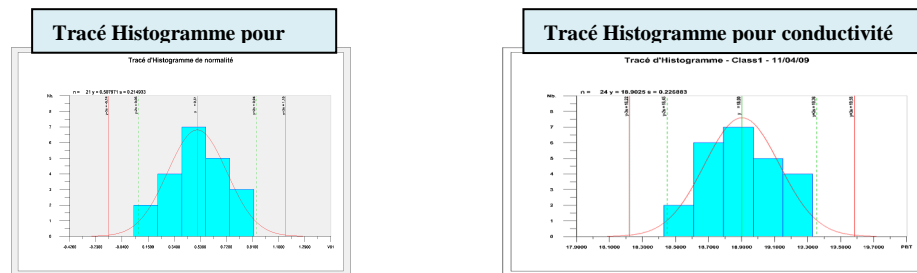


Fig. 13, 14: Tracé Histogramme, pH et conductivité

➤ **Interprétation :**

Les allures visuelles des deux histogrammes laissent supposer qu'il s'agit des distributions normales, sous forme d'une cloche.

B. Cartes de contrôle:

a) tableau récapitulatif des paramètres pH et conductivité

Afin de réaliser les cartes de contrôle, Les mesures des paramètres pH et conductivité ont été fait sur cinq échantillons d'eau, quotidiennement et durant un mois.

Le tableau ci-dessous regroupe les valeurs de différentes mesures du pH et de la conductivité.

Tableau 27 : Tableaux récapitulatif du calcul des différents paramètres

jours	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Moyenne (pH)	7,11	7,47	7,62	7,51	7,26	7,48	7,42	7,71	7,65	7,33
Moyenne (conductivité)	888	1102	1205	1327	1106	987	723	605	685	803

jours	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Moyenne (pH)	7,16	7,34	7,88	7,56	7,63	7,2	7,37	7,42	7,29	7,51
Moyenne (conductivité)	956	1134	1087	1076	1204	1365	1143	1006	943	910

jours	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Moyenne (pH)	7,8	7,54	7,21	7,39	7,56	7,77	7,43	7,26	7,61	7,52
Moyenne (conductivité)	1205	1366	1349	1101	1009	986	882	739	694	612

➤ **Remarque**

Les tolérances exigées selon la norme marocaine SNIMA :



pH : $T_i = 6,5$
 $= 8,5$.

conductivité : $T_s =$
 $\mu\text{s/cm}$.

La réalisation des
 contrôle demande le
 paramètres présentés
 tableau suivant :

paramètres	pH	Conductivité ($\mu\text{s/cm}$)
T_s	8,5	2700
T_i	6,5	—
\bar{x}	7,5	1350
S_{CT}	0,25	337,5
LCS	8,25	2362,5
LSS	8	2025
LCI	6,75	—
LSI	7	—

Pour le
 et T_s

Pour la
 2700

cartes de
 calcul des
 dans le

Tableau 28: Calcul des paramètres des cartes de contrôle

Avec :

T_s, T_i : les tolérances supérieures et inférieures exigées par la norme marocaine SNIMA [28]

\bar{x} : la valeur centrale $\bar{x}_{pH} = \frac{T_i + T_s}{2}$ et $\bar{x}_{conductivité} = T_s - 4$

LCS, LCI: contrôle $LC = \bar{x} \pm 3 \cdot S_{CT}$

LSS, LSI: les limites de surveillance $LS = \bar{x} \pm 2 \cdot S_{CT}$

S_{CT} : Ecart-type à court terme $S_{pH} = T_s - T_i/8$ et $S_{conductivité} = T_s/8$

b) Réalisation des cartes de contrôle

La réalisation des cartes de contrôle manuellement est présentée dans les figures ci-dessous :

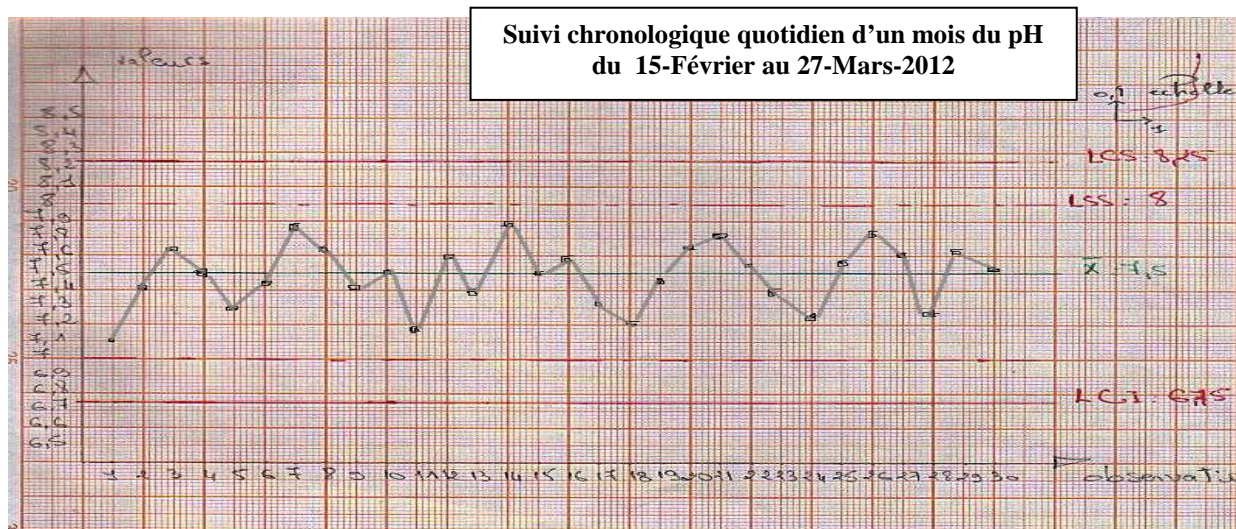
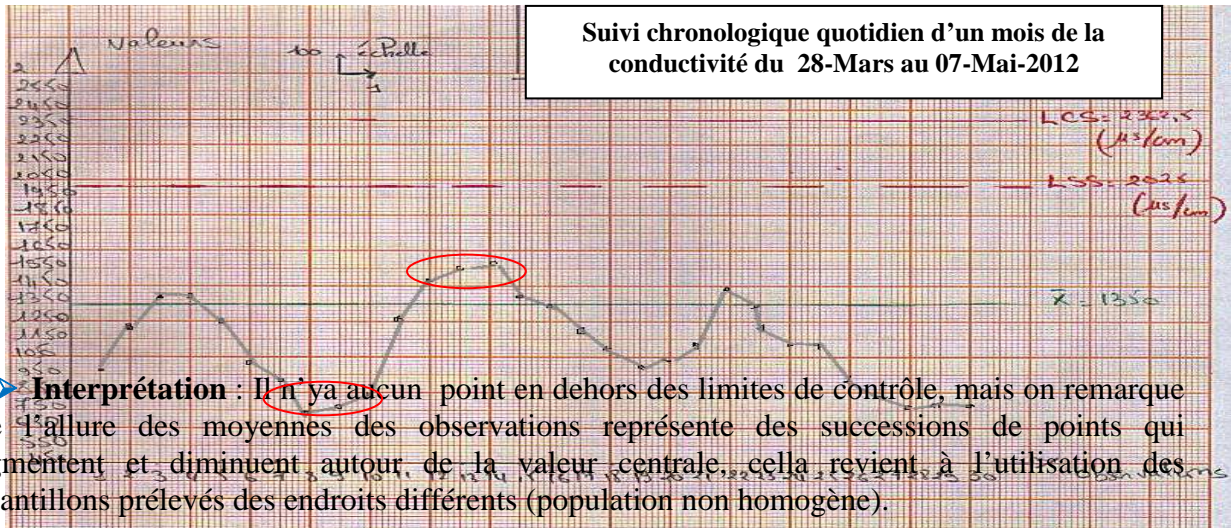


Fig. 15 : Carte de contrôle d'un mois du pH

➤ **Interprétation :** Aucun point n'est en dehors des limites et il n'y a pas de succession de points qui pourraient indiquer la présence des causes assignables.

Fig. 16 : Carte de contrôle d'un mois de la conductivité



➤ **Interprétation :** Il n'y a aucun point en dehors des limites de contrôle, mais on remarque que l'allure des moyennes des observations représente des successions de points qui augmentent et diminuent autour de la valeur centrale, cela revient à l'utilisation des échantillons prélevés des endroits différents (population non homogène).

Conclusion

Les cartes de contrôle du pH et de la conductivité, permettent de conclure que le processus d'étalonnage de ces deux appareils, au cours d'un mois, est sous contrôle.

Conclusion générale

Avec la mise en place des systèmes d'assurance qualité dans les laboratoires, la validation des méthodes d'analyse est devenue aujourd'hui une obligation qui engage tous les promoteurs afin de convaincre le consommateur sur la fiabilité du produit. Elle est perçue comme un moyen de justification qui fait appel à des démarches expérimentales et statistiques bien maîtrisées par les analystes, connaisseurs en la matière. Il faudrait que ceux qui croient le contraire changent d'attitude, car le laboratoire a toujours été conçu comme un moyen de certification qui régit un rapport de confiance entre consommateur et producteur.

Une évaluation de ces performances, étape la plus importante, a été présentée en termes de valeurs statistiques, ce qui aide à prendre des décisions correctes.

Les objectifs tracés dans le contexte de ce projet, visant la mise au point et la validation de la méthode d'analyse des nitrites par spectrométrie U.V-visible, les différents tests effectués sur les paramètres de validation à savoir : la courbe d'étalonnage, la limite de détection et de quantification, la fidélité et la justesse. Nous pouvons déduire que :



- L'étude de la fidélité et la justesse montre que la méthode d'analyse est fidèle et juste.
- Le domaine de linéarité est considéré comme valide au seuil de probabilité considéré $\alpha=5\%$.
- La limite de quantification atteint par cette méthode est de l'ordre de 0,02mg/l.
- Les tests de la détection des valeurs aberrantes confirment qu'aucun extrême n'est aberrant,
- La réalisation des tests de validation montre que la méthode est validée.

Cependant, il serait plus important d'étudier la justesse à l'aide d'un matériel de référence, ou même de participer à des essais inter-laboratoire, pour assurer la maîtrise dans le temps de la méthode.

En plus de l'étude de la validation, on a réalisé les cartes de contrôle du pH et de la conductivité, qui ont montré que le processus d'étalonnage de ces appareils, au cours du mois Mars, est sous contrôle.

Mon stage de fin d'étude m'a permis de :

- Appliquer les connaissances que j'ai acquises durant ma formation en Master.
- Avoir une idée pratique sur la démarche de la validation, le contrôle de la qualité qui se base sur l'analyse quantitative et qualitative.
- Réaliser des cartes de contrôle, dans le cadre des règles d'assurance qualité.