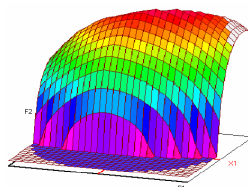




Année Universitaire : 2012-2013



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 de la méthode d'analyse des nitrites dans l'eau
potable par spectrométrie U.V-visible basée sur le profil

Présenté par:

TRIBAK ZINEB

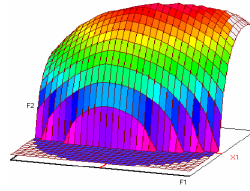
Encadré par:

- | | |
|-------------------------|--------|
| - Mme . OUZZANI Rachida | RADEEF |
| - Mr . SAFFAJ Taoufq | USMBA |

Soutenu Le 20 Juin 2013 devant le jury composé de:

- | | |
|-----------------------|-----------|
| - Mr. EL GHEDRAOUI | Examineur |
| - Mr .IHSSAN | Examineur |
| - Mm. OUZZANI Rachida | Encadrant |
| - Mr . SAFFAJ Taoufq | Encadrant |

**Stage effectué à : la RADEEF (régie autonome de distribution d'eau et
d'électricité de fès)**



Master ST CAC Agiq

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

Nom et prénom: TRIBAK ZINEB

Année Universitaire : 2012/2013

Titre: Validation de la méthode d'analyse des nitrites dans l'eau par Spectrométrie U,V-visible

Résumé

Mon stage de fin d'étude, s'est effectué au sein du laboratoire de contrôle qualité de l'eau potable à la RADEEF, Fès

Aujourd'hui Le principe de la validation des procédures analytiques quantitatives est répandu dans tous les domaines d'activités où des mesures sont réalisées, et surtout dans le système qualité

La validation est fondée sur une analyse statistique basée sur un certain nombre de critères aboutissant à des méthodes analytiques permettant de donner des résultats fiables.

L'objectif de mon travail au sein du laboratoire de contrôle qualité de l'eau potable vise à valider la méthode d'analyse des nitrites dans l'eau par Spectrométrie U,V-visible par l'utilisation du profil d'exactitude basé sur l'erreur totale (justesse + fidélité) .

Mots clés: validation statistique, profil d'exactitude, nitrites, spectrométrie U.V-visible, eau....



SOMMAIRE

Introduction générale	1
Présentation de la société	2
I. Présentation générale de la R.A.D.E.EF :	3
I. 1. Historique	3
I. 2. Missions et domaines d'activité	3
I. Présentation du laboratoire de contrôle de la qualité de la R.A.D.E.E.F	3
II. 1. Historique	3
II. 2. Missions du Laboratoire	4
II. 3. Organigramme général du Laboratoire	4
Partie bibliographique	5
Chapitre 1 : les analyses de l'eau potable	6
I. Analyses bactériologiques	6
II. Analyses physico-chimiques	6
III. Nitrites.....	7
III. 1. Définition.....	7
III. 2. La toxicité	7
III. 3. La réaction de la diazotation	7
III. 4. Le mécanisme de la réaction de diazotation	9
III. 5. Réaction de couplage du sel de diazonium	10
III. La spectrophotométrie dans l'ultraviolet et le visible.....	10
IV. 1. Principe	10
IV. 2. Loi de Beer et Lambert	11
Chapitre 2 : la validation statistique d'une méthode analytique quantitative	13
I. Validation d'une méthode analytique quantitative	13
II. <i>Validation d'une procédure analytique selon la nouvelle approche du profil d'exactitude</i>	13
II. 1. Introduction	13



II. .2.Plan d'expérience	14
II. .3.La fonction de réponse	14
II. .4.les critères de validation.....	14
1) Exactitude	14
2) la justesse	15
3) La fidélité	15
4) L'intervalle de tolérance	16
II. 5. Construire le profil d'exactitude	18
II. 6. Limite de quantification	18
Partie expérimentale.....	19
I. Méthode de réactifs de Zambelli	20
I. .1.Principe	20
I. .2.Matériels et appareillage	20
I. .3.Réactifs	20
I. .4.Mode opératoire	21
II.Optimisation de la gamme d'étalonnage par la loi de beer Lambert	22
III.Préparations des standards d'étalonnage et les standards de validation	24
III. .1.Standards d'étalonnages	24
III. .2.Standards de validation	25
IV. Validation de la méthode d'analyse des nitrites par le profil d'exactitude	26
IV. .1.Objectif	26
IV. 2. <i>Contexte d'application</i>	26
IV. 3. Plan d'expérience	27
IV. 4. La fonction de réponse	27
IV. .5.Les critères de validation	28
1) la justesse	28



2) la fidélité.....	29
3) l'intervalle de tolérance	29
4) linéarité	30
IV. 6. Construction du profil d'exactitude	31
Interprétations	33
IV. 7. Limites de quantification.....	33
Conclusion générale.....	34
Annexe	35
Annex1.....	36
Annex2	38
Annex3.....	45

LISTE DES ACRONYMES :

RADEEF : Régie Autonome de Distribution d'Eau et d'Electricité Fès

NO_2^- : Nitrite

NO_3^- : Nitrate

LQ : Limite de Quantification

LD : Limite de Détection

LAH : Limite d'Acceptabilité Haute

LAB : Limite d'Acceptabilité Basse

pH : Potentiel Hydrogène

SCE : Somme des Carrés des Ecart



S^2 : Ecart Type
S : Variance
ED : Eau Distillée
EQ : Equation

Dédicace

Je voudrais dédier ce travail à mon cher père : tu vivras toujours dans mon cœur, à ma très chère ma mère : pour tes prières, à mes très chères sœurs : sara, Fatima et soukayna, ainsi que tous ceux et celles qui m'ont aidé à réaliser ce travail, et plus particulièrement à:

Mon encadrant Pr. SAFFAJ Taoufiq

*Mes encadrantes de stage Mme MEKKOUDI Zahra et
Mme OUAZZANI Rachida*

Et à tout le personnel de la RADEEF son exception.



Remerciement :

Il m'est agréable de saisir l'occasion pour remercier Mr Najib LAHLOU le Directeur de la RADEEF pour m'avoir accepté de son établissement.

A l'échéance de ma période de stage je tiens à remercier mon encadrant

P r. SAFFAJ Taoufiq; qui m'a apporté le soutien dont j'avais besoin le long de déroulement de ce stage.

Je tiens également à remercier Mme EL OTHMANI Nadia la responsable du laboratoire de contrôle de qualité de l'eau potable et Mes encadrantes de stage Mme MEKKOUDI Zahra et Mme OUZZANI Rachida pour les renseignements qu'elles m'ont donnés, je les remercie pour leur coopération, leur encouragement et leur patience tout le long de ce stage.

Un grand merci à tout le personnel du laboratoire, chacun avec son nom qui m'ont aidé dans la collecte des informations.

Je remercie forcément mes professeurs Mr IHSSAN et EL GHEDRAOUI pour leurs informations et leurs conseils durant tout la période de ma formation à la FST.

Mes remerciements les plus chaleureux et mon profond respect d'adressent aux membres du jury qui ont accepté de bien vouloir juger ce travail et l'enrichir par leurs remarque et critique

Je remercie tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Liste des tableaux :

Tableau 1 : les normes des facteurs physico-chimiques.....	6
Tableau 2: principales fonctions de réponse utilisables pour un étalonnage.....	14
Tableau 3: résumé des différents éléments qui serviront au profil d'exactitude.....	17



Tableau 4 : la gamme d'étalonnage	21
Tableau 5 : la gamme d'étalonnage.....	23
Tableau 6 : la gamme d'étalonnage	24
Tableau 7 : la gamme d'étalonnage.....	25
Tableau 9 : les fonctions de réponse et leurs paramètres.....	27
Tableau 10: résultats de la justesse de la méthode de dosage des nitrites.....	28
Tableau 11: résultats de la fidélité de la méthode de dosage des nitrites.....	29
Tableau 12 : les résultats de l'intervalle de tolérance de la méthode de dosage des nitrites....	30
Tableau 13 : résultats de la linéarité de la méthode de dosage des nitrites.....	30

Liste des figures :

Figure 1 : Organigramme du laboratoire de contrôle de la qualité de l'eau potable.....	4
Figure 2 : Domaine spectral du rayonnement électromagnétique.....	11
Figure 3 : Schéma d'une cellule d'absorption.....	12
Figure 4 : courbe d'étalonnage	22
Figure 5, 6, 7 : courbe d'étalonnage	23
Figure 8 : courbe d'étalonnage	25



Figure 9 : la courbe d'étalonnage.....	26
Figure 10: graphique de la linéarité de la méthode de dosage des nitrites.....	31
Figure 11, 12, 13, 14,15 : les profils d'exactitude des modèles A, B, C, D, E	32



introduction générale

La validation des méthodes est devenue une évidence pour les laboratoires d'analyse, c'est pourquoi, ils ont souvent acquis une certaine expérience dans ce domaine.

Le principe de la validation des procédures analytiques quantitatives est, aujourd'hui largement, répandu dans tous les domaines d'activités où des mesures sont réalisées

La validation est fondée sur une analyse statistique basée sur un certain nombre de critères aboutissant à des méthodes analytiques permettant de donner des résultats fiables, c'est une composante essentielle des mesures qu'un laboratoire devrait mettre en œuvre pour lui permettre de produire des données analytiques fiables.

Dans ce travail au sien du laboratoire de contrôle de la qualité d'eau potable, nous procédons à la validation statistique de la méthode d'analyse des nitrites par la spectrométrie d'absorption dans l'U.V-visible, en utilisant la nouvelle stratégie du profil d'exactitude

Pour appliquer cette approche du profil d'exactitude sur notre méthode de dosage en commençant par la détermination du domaine d'application ainsi que le plan de validation, et on procède à un calcul statistique sur les critères de validation : justesse, fidélité, intervalle de tolérance, qui vont servir à construire un profil d'exactitude à fin de visualiser la validité de la méthode d'analyse en rapport avec les résultats fournis et en considérant des limites d'acceptation prédéfinies.

De ce fait, l'utilisation de cette approche se trouve être en accord avec l'objectif d'une méthode qui peut être résumé en sa capacité à quantifier le plus exactement possible chacune des quantités inconnues devant être déterminées par le laboratoire.



présentation générale de la société



II. Présentation générale de la R.A.D.E.E F :

La Régie Autonome intercommunale de Distribution d'Eau et d'Electricité de la wilaya de Fès (R.A.D.E.E.F) est un établissement semi-public à caractère industriel et commercial, doté de la personnalité morale et de l'autonomie financière, elle est chargée de la gestion des services publics d'eau, d'électricité et de l'assainissement liquide. elle joue un rôle important dans le développement du tissu économique de la ville de Fès, elle est tenue de satisfaire de façon continue, dans les meilleures conditions aux besoins croissantes en eau potable et en énergie électrique de la population de la ville de Fès.

I. 1 .Historique :

La RADEEF a été créée par délibération du conseil municipal de la ville de Fès en date du 30 avril 1969 en vertu du Dahir n° 1.59.315 du 23 Juin 1960 relatif à l'Organisation communale.

I. 2. Missions et domaines d'activité :

La régie assure la distribution de l'eau et de l'électricité ainsi que la gestion du réseau d'assainissement liquide à l'intérieur de la ville de Fès et de la commune Ain Chkef.

Elle a pour mission de répondre aux besoins de la population en matière d'eau potable, d'électricité et d'assainissement dans les meilleures conditions et au moindre coût.

La R.A.D.E.E.F assure l'alimentation en l'eau potable pour une population dépassant les 1 .204 .000 personnes à l'intérieur des villes de FES, SF-FROU, BHALIL, ainsi que des communes rurales ; BIR TAM-TAM, RAS TABOUDA, SIDI HRAZEIVI, AIN TIMGNAI, OULAD TAIB, DOUAR AIT TALEB, et douar AIN ALQUADI.

III. Présentation du laboratoire de contrôle de la qualité de la R.A.D.E.E.F :

II. 1. Historique :

Le laboratoire de contrôle et surveillance de la qualité de l'eau potable de la R.A.D.E.E.F a été créé en 1976 à son siège, puis a été transféré près du réservoir sud en 1993.



II. 2. Missions du Laboratoire :

Le rôle du Laboratoire est de veiller sur la qualité de l'eau livrée par la RADEEF aux consommateurs, ses différentes missions sont essentiellement :

- Contrôler et réaliser des enquêtes sur la qualité de l'eau.
- Contrôler les opérations de nettoyage et de désinfestation des réservoirs et des conduites.
- Contrôler quotidiennement la qualité de l'eau par des analyses physico-chimique et bactériologiques.
- Détecter la source d'une fuite au niveau du réseau de distribution.
- Réaliser des enquêtes sur la qualité de l'eau lors des réclamations d'abonnés.

II. 3. Organigramme général du Laboratoire :

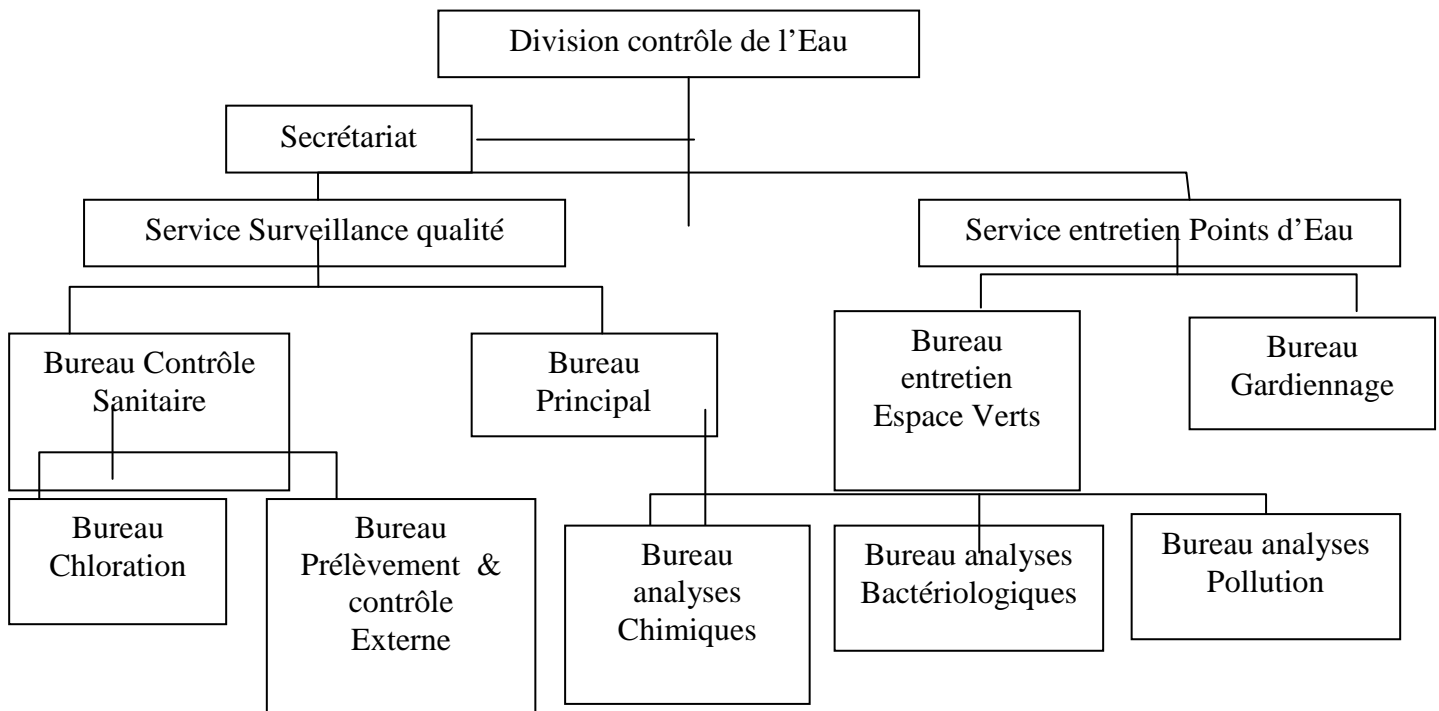


Figure 1 : Organigramme du laboratoire de contrôle de la qualité de l'eau potable



PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE



Chapitre 1 : les analyses de l'eau potable

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

I. Analyses bactériologiques :

Les analyses bactériologiques de l'eau ont pour but de mettre en évidence la présence ou non des bactéries (comme les *Escherichia coli*) qui modifient l'aptitude d'une eau à une utilisation donnée.

II. Analyses physico-chimiques :

Les analyses physico-chimique de l'eau comprennent les paramètres de la qualité suivantes : le *pH* , conductivité, Ammonium, chlorures, sulfates, nitrates, nitrites.

Les normes marocaines concernant ces facteurs physico-chimiques sont regroupés dans le tableau ci-dessous :

paramètres	unités	Valeur maximum ajoutés
conductivité	$\mu\text{S/cm}$ à 20°C	>180 et <1000
Ammonium	NH_4^+ : mg/l	0,1
sulfates	SO_4^{2-} : mg/l	250
chlorures	Cl^- : mg/l	250
nitrites	NO_2^- : mg/l	0,5
nitrates	NO_3^- : mg/l	50
Potentiel hydrogène		$6,5 < \text{pH} < 8,5$



Tableau 1 : les normes des facteurs physico-chimiques

III. Nitrites :

III. 1 .Définition :

le composé nitrite est de [formule chimique](#) NO_2^- sont les [sels](#) de l'[acide nitreux](#) ,qui est un acide instable de formule HNO_2 .

III. 2. La toxicité :

Les nitrites constituent une forme moléculaire toxique de l'azote dans l'eau. Chez l'homme et les mammifères la présence des nitrites dans le sang peut provoquer l'oxydation du fer qui contient l'hémoglobine, cette dernière se transforme en méthémoglobine et ne peut plus assurer le transport de l'oxygène vers les organes. L'hémoglobine du sang.

III. 3.La réaction de la diazotation :

C'est une des principales réactions des amines, qui conduit à la synthèse de nombreux composés industriels (colorants, etc...) il s'agit de l'action de l'acide nitreux HNO_2 avec une amine aromatique pour donner l'ion diazonium :



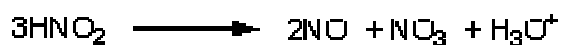
une amine aromatique

un sel de diazonium

Nous pouvons relever trois éléments sur cette réaction de diazotation :

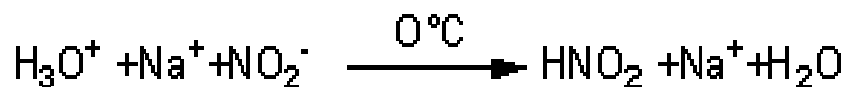
➤ Remarque 1:

L'acide nitreux est instable à température ordinaire, il se décompose par une réaction de dismutation:





Il faut donc le préparer au moment de son utilisation par action de l'acide chlorhydrique sur le nitrite de sodium:

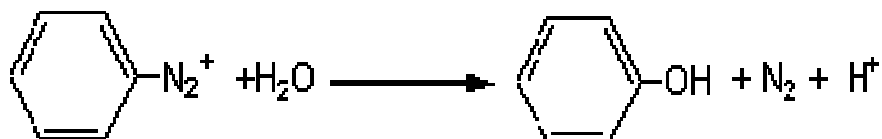


et le conserver à froid : cela diminue la vitesse de décomposition par dismutation.

➤ Remarque 2:

Le sel de diazonium doit aussi être utilisé rapidement après son obtention et conservé à

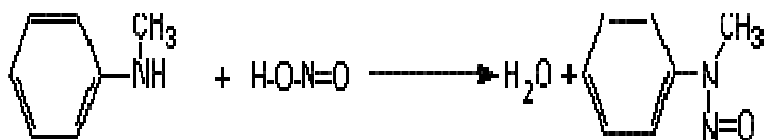
0°C pendant le temps de la réaction. Sa décomposition conduit au phénol:



➤ Remarque 3:

Avec l'acide nitreux, HNO_2 , les amines secondaires et tertiaires, ne donnent pas de sels de diazonium, mais des nitrosamines:

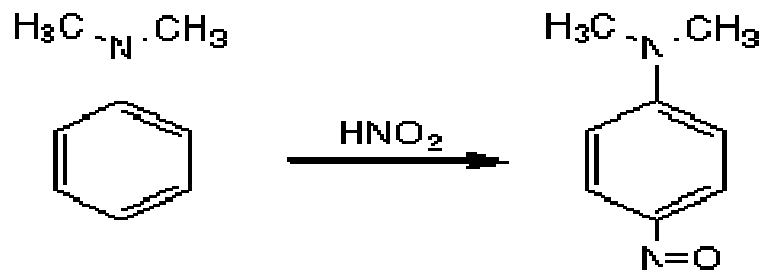
- Amines(II)



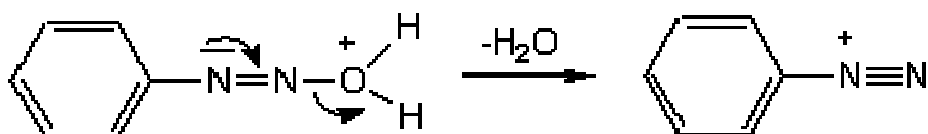
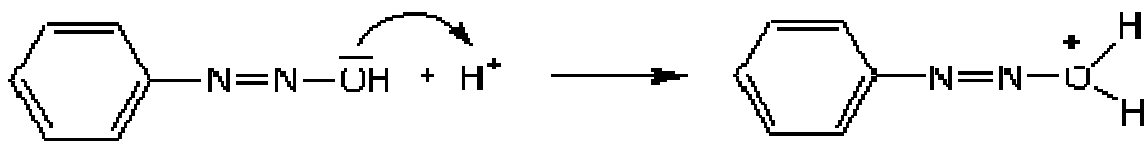
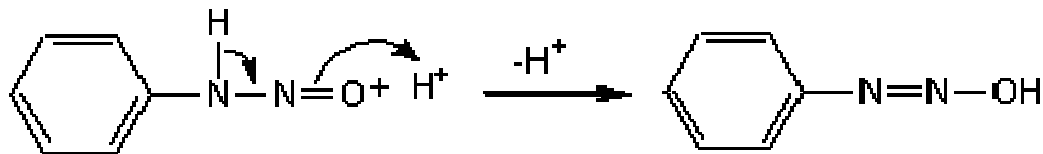
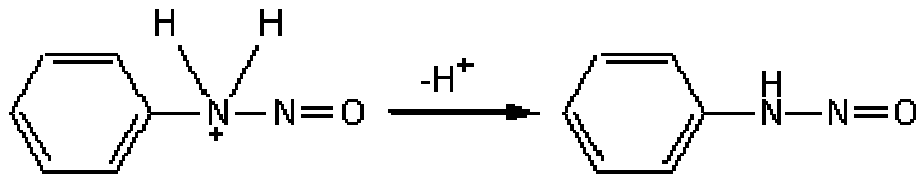
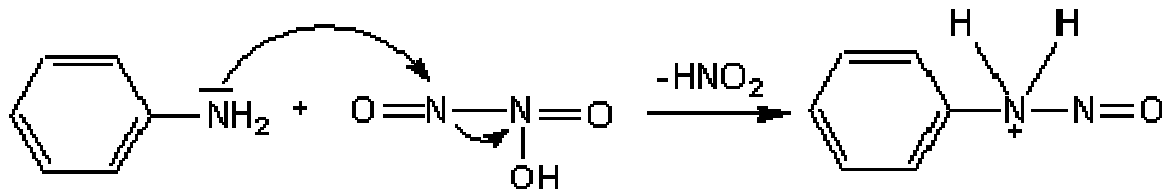
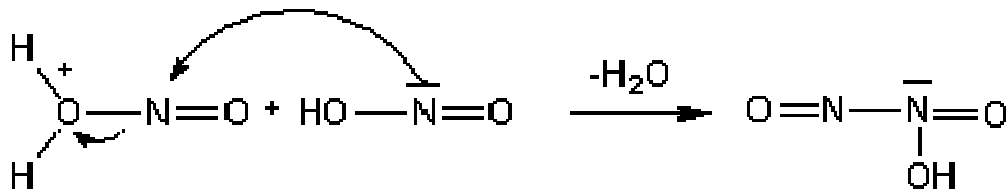
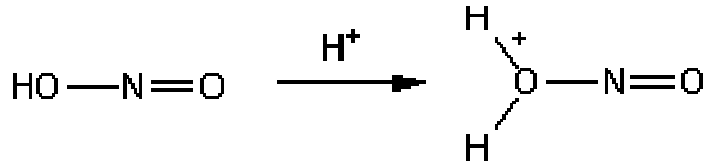
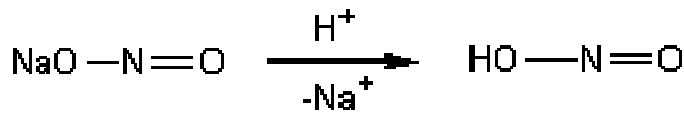
-Amines(III)



La réaction est identique, mais elle est suivie d'une transposition avec fixation du groupement nitroso en para.



III. 4. Le mécanisme de la réaction de diazotation :



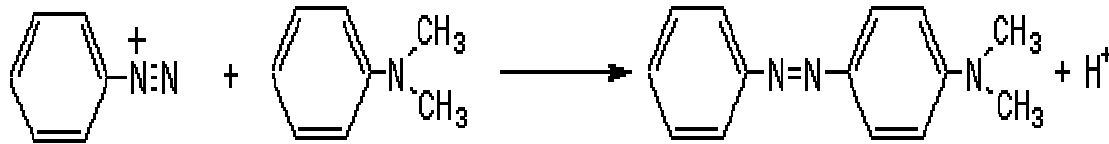


Dans le cadre de notre travail, le sel de diazonium obtenu sera associé à une autre réactif, un couplant pour réaliser une réaction de couplage, ce qui va donner naissance à un complexe coloré qui absorbe dans le visible

IV. 5. Réaction de couplage du sel de diazonium :

L'ion diazonium peut réagir soit avec une amine aromatique soit avec un phénol, on obtient un composé coloré : un azoïque amine ou un azoïque phénol

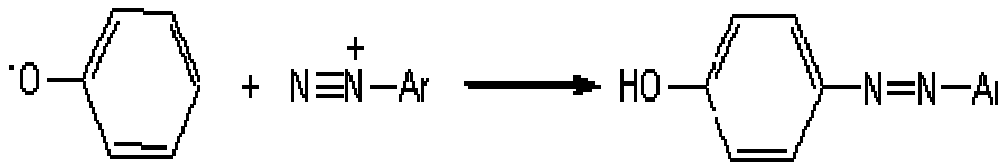
1) La copulation avec un amine aromatique sur l'ion de diazonium :



Ion diazonium

un azoïque amine

2) La copulation avec un phénol a lieu en milieu basique; c'est l'ion phénoxy qui réagit sur l'ion diazonium:



l'ion phénoxy

un azoïque phénol

IV. La spectrophotométrie dans l'ultraviolet et le visible :

La spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible (UV-VIS) est une technique d'un âge respectable encore très utilisée dans les laboratoires et dans l'industrie.

IV. 1. Principe :

Le principe de la spectrométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible repose sur l'**absorption du rayonnement par les molécules** dans le domaine allant de 190 à 800 nm, ce qui correspond à l'ultraviolet (190-400 nm) et au visible (400-800 nm), ce domaine est illustré dans la figure 2 :

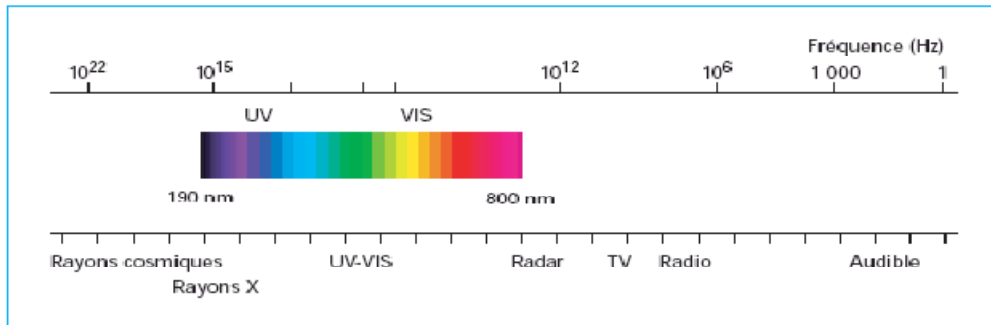


Figure 2 : Domaine spectral du rayonnement électromagnétique

IV. 2. Loi de Beer et Lambert :

Pierre Bouguer a émis son postulat en 1729 selon le quel « si une certaine épaisseur d'un verre coloré absorbe la moitié de la lumière issue de la source, une épaisseur de verre double réduit cette lumière au quart de sa valeur initiale»

Trente années plus tard, Jean-Henri Lambert en a fait la traduction mathématique : le logarithme de la diminution de lumière (on dirait maintenant l'inverse de la transmittance) est égale au produit de l'opacité du milieu par son milieu.

Enfin en 1850, Auguste Beer, physicien allemand, a établi la relation entre concentration et densité optique (expression remplacée maintenant par le terme absorbance)

Il en résulte, par association des travaux de ces deux mathématiciens, la Loi de Beer et Lambert que l'on présente par la formule suivante :

$$A_{\lambda} = \lg \frac{I_{\lambda}^0}{I_{\lambda}} = \epsilon_{\lambda} l c \quad \text{EQ(1)}$$

Avec, A_{λ} désigne l'absorbance, paramètre optique sans unités, accessible au moyen du spectrophotomètre.

$\lg \frac{I_{\lambda}^0}{I_{\lambda}}$: est logarithme de base 10

l : est l'épaisseur (en cm) de la solution traversée,

C : la concentration molaire

ϵ_{λ} : le coefficient spécifique d'absorption molaire ($\text{l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) à la longueur d'onde à laquelle on fait la mesure.

En désignant par m , la masse de composé par litre et par M la masse molaire (exprimée en g), l'équation (I) devient :

$$A = \epsilon l \frac{m}{M} \quad \text{EQ.(2)}$$

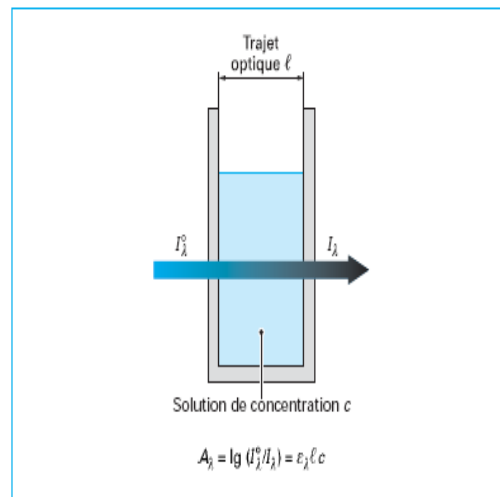


Figure 3 : Schéma d'une cellule d'absorption

L'absorption du rayonnement UV-VIS par les molécules permet de mesurer le nombre (ou plutôt la concentration) de ces molécules présentes dans le trajet du rayonnement. On ne mesure pas directement ce nombre, mais on procède à un étalonnage en utilisant des mélanges étalons de concentrations connues des molécules que l'on veut doser, ces étalons sont placés dans des cellules d'absorption traversées par le rayonnement UV-VIS, la quantité de rayonnement absorbée dans les zones d'absorption spécifiques des molécules à doser est déterminée par le spectrophotomètre, à une longueur d'onde où la molécule absorbe.

chapitre 2 : la validation statistique d'une méthode analytique quantitative

III. Validation d'une méthode analytique quantitative:

La validation d'une méthode analytique quantitative est l'ensemble des opérations effectuées en vue de prouver qu'une procédure est suffisamment exacte et fiable pour avoir confiance dans les résultats fournis pour l'usage prévu



Traditionnellement, selon la démarche classique, ceci est accompli en examinant deux critères statistiques inhérents à la performance de la méthode analytique qui sont habituellement mesurés séparément: le biais ou justesse et la précision de la méthode.

Cette approche suppose que si la méthode est bonne, alors les mesures qu'elle fournit seront aussi bonnes; cependant ce n'est pas toujours le cas, en fait, au lieu de mesurer ces critères statistiques séparément, il est possible d'évaluer l'exactitude d'une manière globale selon la nouvelle stratégie de validation basée sur le profil d'exactitude

Cette nouvelle approche est en parfait accord avec l'objectif d'une méthode analytique, à savoir sa capacité de quantifier le plus exactement possible chacune des quantités inconnues qu'un laboratoire aura à déterminer.

IV. Validation d'une procédure analytique selon la nouvelle approche du profil d'exactitude :

II. 1.Introduction :

Le profil d'exactitude est un outil pour décider et diagnostiquer la validité d'une méthode analytique, basé sur l'erreur totale (erreur systématique + erreur aléatoire), l'intérêt de cette nouvelle approche est de déboucher sur un mode d'interprétation graphique des résultats particulièrement parlant pour le non-statisticien.

Les résultats collectés sous les conditions de la fidélité intermédiaire permettent de calculer l'intervalle de tolérance d'espérance β qui contient une proportion $\beta\%$ de futurs résultats Quand les limites de cet nouvel intervalle est compris dans les limites d'acceptation $\pm \lambda$, la méthode est déclarée valide et fiable pour quantifier les échantillons d'une manière exacte et fidèle que le laboratoire aura à analyser, à ce stade il es important de décrire la démarche statistique de cette nouvelle approche .

III. 2.Plan d'expérience :

Deux plans d'expériences sont nécessaires, l'un dit le plan d'étalonnage (PE) sert à calculer la fonction de réponse de la méthode, l'autre dit la plan de validation (PV) sert à calculer les caractéristiques de validation, pour réaliser ce plan, prévoir :

- I séries de mesures ($1 \leq i \leq I$)
- pour chaque série, effectuer J répétitions ($1 \leq j \leq J$)



– K niveaux de concentration ($1 \leq k \leq K$) couvrant le domaine d'application de la méthode.

III. 3. La fonction de réponse :

La fonction de réponse d'une procédure d'analyse traduit, à l'intérieur de l'intervalle de dosage, la relation existant entre la réponse Y (signal) et la concentration X (quantité) en substance à examiner dans l'échantillon, à l'aide d'un modèle mathématique f de la forme : $Y = f(x)$, Le tableau 3 suivant présente les principales fonctions de réponse utilisées :

type	Équation	Souhaitable pour k'	Minimum pour k'
Droite passant par l'origine	$Y = a_1 x$	2	1
Droite	$Y = a_0 + a_1 x$	3	2
Fonction quadratique	$Y = a_0 + a_1 x + a_2 x^2$	4	3

Tableau 2: principales fonctions de réponse utilisables pour un étalonnage

NB : avec k' le nombre de niveau

III. 4. les critères de validation :

1) Exactitude :

L'exactitude se réfère à l'étroitesse d'accord entre le résultat obtenu et la valeur de référence acceptée notamment par convention ou « la vraie valeur ». L'exactitude tient compte de l'erreur totale liée au résultat, c'est-à-dire des erreurs systématique et aléatoire.

2) la justesse :

La justesse d'une méthode analytique exprime l'étroitesse de l'accord entre la moyenne des résultats d'essai et la valeur de référence acceptée, elle donne une indication sur les erreurs systématiques.

La justesse (ou le biais) de la méthode au niveau de concentration est obtenue en calculant la différence entre la moyenne arithmétique des concentrations introduites et la moyenne des concentrations calculées. Le biais peut s'exprimer en termes absolu, relatif ou de recouvrement par rapport aux quantités introduites, comme suit:

$$b_{ijk} = \bar{Z}_{ijk} - \bar{x}_{ijk}$$



Biais absolu :

Biais relatif :
$$b_{ijk} \% = \frac{\bar{Z}_{ijk} - \bar{x}_{ijk}}{\bar{x}_{ijk}} * 100$$

Recouvrement :
$$R\% = \frac{\bar{Z}_{ijk}}{\bar{x}_{ijk}} * 100$$

Avec :

\bar{x}_{ijk} : La moyenne de la concertation introduite

\bar{Z}_{ijk} : La moyenne de la concentration retrouvée

3) La fidélité :

La fidélité exprime l'étroitesse de l'accord entre une série de mesures provenant de multiples prises d'un même échantillon homogène dans des conditions prescrites.

La fidélité peut être évaluée à trois niveaux : la répétabilité, la fidélité intermédiaire (intra-laboratoire) et la reproductibilité (inter-laboratoire).

Pour calculer les écarts-types de répétabilité, inter-séries et de fidélité intermédiaire en effectuant l'analyse de la variance (ANOVA) d'un modèle à effet aléatoire, selon une décomposition de la somme des carrés des écarts totale en deux sommes des carrés d'écarts : une somme des carrés de répétition SCE_r et une somme des carrés inter-séries SCE_B

$$\sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J (Z_{ij} - \bar{Z})^2 = \sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J (Z_{ij} - \bar{Z}_i)^2 + \sum_{i=1}^I J * (\bar{Z}_i - \bar{Z})^2$$

\downarrow SCE_t \downarrow SCE_r \downarrow SCE_B

Calculer la variance de répétabilité du niveau, à partir des répétitions z_{ij} : $S^2_r = \frac{SCE_r}{I(J-1)}$

Calculer la variance inter-séries notée S^2_B comme suit : $S^2_B = \frac{SCE_B - S^2_r}{I-1}$

Finalement, calculer l'écart-type de fidélité intermédiaire du niveau : $S_{FI} = \sqrt{S^2_B + S^2_r}$

D'où, le Coefficient de variation de la fidélité intermédiaire : $\frac{S_{FI}}{\bar{x}} * 100$

Avec : Z_{ij} : La concentration retrouvée

\bar{Z} : La moyenne des concentrations retrouvée par niveau

\bar{x} : La moyenne des concentrations introduites

I : nombre de série (jour)

J : nombre de répétition

4) L'intervalle de tolérance :



À partir de l'écart-type de fidélité intermédiaire ou de reproductibilité calculée, on construit un intervalle de tolérance d'espérance β qui contient une proportion $\beta\%$ de futurs résultats.

L'intervalle de tolérance exprime comme un intervalle symétrique autour de la concentration retrouvée moyenne \bar{z} du niveau :

$$\bar{z} \pm K_{tol} * S_{IT}$$

Calculer l'écart-type de l'intervalle de tolérance S_{IT} selon la formule : $S_{IT} = S_{FI} \left(\sqrt{1 + \frac{1}{I * J * B^2}} \right)$

Avec: $B = \sqrt{\frac{R+1}{J * (R+1)}}$ et $R = \frac{S^2_B}{S^2_r}$

La quantité est appelé K_{tol} **facteur de couverture de l'intervalle de tolérance** et vaut : $K_{tol} = t_{v, \frac{1+\beta}{2}}$

$K_{tol} = t_{v, \frac{1+\beta}{2}}$ est le quantile de la distribution t 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 :

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

Pour chaque niveau k , calculer 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 un tableau de la forme du **tableau 3**.

Critères	symbole
Valeur de référence moyenne x	\bar{x}
Limite de tolérance basse	$\bar{z} - K_{tol} * S_{IT}$
Limite de tolérance haute	$\bar{z} + K_{tol} * S_{IT}$
Limite de tolérance basse relative	$\left(\frac{\bar{z} - K_{tol} * S_{IT}}{\bar{x}} \right) * 100$
Limite de tolérance haute relative	$\left(\frac{\bar{z} + K_{tol} * S_{IT}}{\bar{x}} \right) * 100$
Limite d'acceptabilité basse relative	$(1 - \lambda) \times 100$
Limite d'acceptabilité haute relative	$(1 + \lambda) \times 100$

Tableau 3: résumé des différents éléments qui serviront au profil d'exactitude



III. 5. 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.

Pour construire le profil d'exactitude, sélectionner dans le **tableau 3**, les lignes suivantes :

- à reporter sur l'axe horizontal
- 1) Les valeurs de référence moyennes ;
- à reporter sur l'axe vertical
- 2) Les limites de tolérance basses relatives ;
- 3) Les limites de tolérance hautes relatives ;
- 4) Les taux de recouvrement moyens ;
- 5) Les limites d'acceptabilité basses relatives ;
- 6) Les limites d'acceptabilité hautes relatives.

III. 6. Limite de quantification :

La limite de quantification (LQ) est la plus petite quantité de la substance ciblée dans un échantillon qui peut être déterminée dans des conditions expérimentales prescrites avec une exactitude bien définie

Par définition quand il existe une intersection entre au moins une des bornes de l'intervalle de tolérance et une des limites d'acceptabilité, tout naturellement, on peut proposer de définir ce seuil comme la limite de quantification (LQ) de la méthode.



PARTIE EXPERIMENTALE

Dans cette partie, nous avons appliqué la stratégie basée sur le profil d'exactitude récemment introduite pour valider la méthode d'analyse des nitrites dans l'eau potable par spectrométrie U.V-visible.

I. Méthode de réactifs de Zambelli:



I. 1. Principe :

L'acide sulfanilique en milieu chlorhydrique, en présence d'ion ammonium et de phénol forme avec les ions NO_2^- un complexe coloré en jaune dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en NO_2^- .

I. 2. Matériels et appareillage :

- Béchers
- Erlenmeyers
- Fiole jaugée : 1L
- Fiole jaugée de 250ml
- Eprouvettes
- Pipettes
- Spectrométrie UV –visible mono faisceau DR 5000
- Cuve de 1.0 cm d'épaisseur

I. 3. Réactifs :

Solution 1 : ammoniacale pure ($d=0,928$)

Solution 2 : Réactif de Zambelli préparé à partir de :

- 5g d'acide sulfanilique
- 7,5g du phénol cristallisé
- 260ml d'acide chlorhydrique pur ($d=1,19$)
- 135g de chlorure d'ammonium
- 625ml d'eau distillée

I. 4. Mode opératoire :

➤ Préparation du réactif de Zambelli :



- Introduire dans une fiole d'un litre l'acide chloridrique 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 l'eau distillée

➤ **Préparation de la solution mère ($[NO_2^-]=0,23mg/l$):**

Dans une fiole jaugée de 1L dissoudre 0,345 g de nitrite de sodium ($NaNO_2$) et ajouter de l'eau distillée, ajuster jusqu'à 1000ml.

➤ **Préparation de la solution fille ($[NO_2^-]=0,0023mg/l$):**

Dans une fiole jaugée de 100ml introduire 1ml de la solution mère de nitrites de sodium et ajuster avec l'eau distillée

➤ **Courbe d'étalonnage :**

Dans une série des **erlenmeyers** numérotés introduire successivement les réactifs en agitant après chaque addition :

Numéros de fioles	témoin	1	2	3	4	5
Solution étalon fille (ml)	0	1	5	10	15	20
Eau distillée (ml)	50	49	45	40	35	30
Réactif de Zambelli (ml)	2	2	2	2	2	2
Ammoniac pur	2	2	2	2	2	2
Correspondance mg/l de NO_2	0	0,046	0,23	0,46	0,69	0,92

Tableau 4 : la gamme d'étalonnage

N.B : attention après 10min on ajoute 2 ml de l'ammoniac pur

➤ **Expression des résultats :**

On effectue la lecture au spectromètre U.V-visible à une longueur d'onde $\lambda= 435nm$ et construire la courbe d'étalonnage.

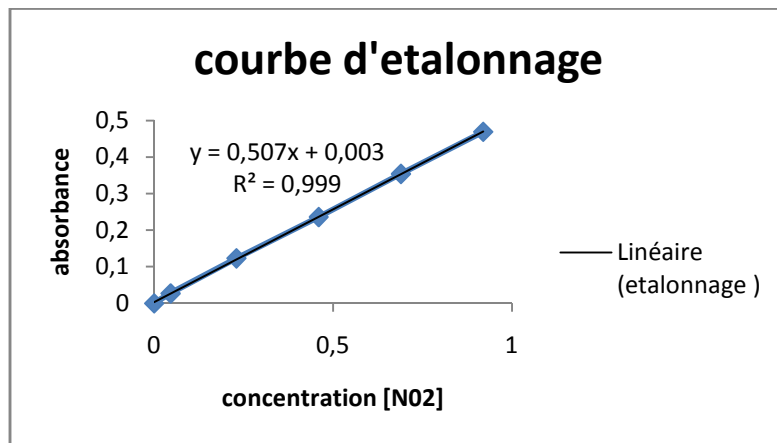


Figure 4: la courbe d'étalonnage

➤ **Déduction :**

La droite a une pente de 0,516 et une ordonnée de 0,009 et un coefficient de détermination vaut 99,9%

On observe que les absorbances en fonction des concentrations de la gamme d'étalonnage obtenues par le spectromètre UV- visible donnent une courbe linéaire.

II. Optimisation de la gamme d'étalonnage par la loi de Beer Lambert :

Pour déterminer le domaine de validation de notre méthode d'analyse on procède à augmenter la concentration de la solution fille d'étalon d'ion NO_2^- successivement :

$[NO_2^-]_1 = 0,0023\text{mg/l}$, $[NO_2^-]_2 = 0,023\text{mg/l}$, $[NO_2^-]_3 = 0,0345\text{mg/l}$, on effectue trois essais d'étalonnage, comme suit :

Dans une série des erlenmeyers numérotés introduire successivement les réactifs en agitant après chaque addition :

Numéros d'erlenmeyers	témoin	1	2	3	4	5
Solution étalon fille de NO_2^- (ml)	0	1	5	10	15	20
Eau distillée (ml)	50	49	45	40	35	30
Réactif de Zambelli (ml)	2	2	2	2	2	2



Ammoniac pur (ml)	2	2	2	2	2	2
-------------------	---	---	---	---	---	---

Tableau 5 : la gamme d'étalonnage

On effectue la lecture de l'absorbance au spectromètre d'absorption UV-visible à une longueur d'onde $\lambda = 435\text{nm}$ et construire les courbes d'étalonnages pour les trois essais :

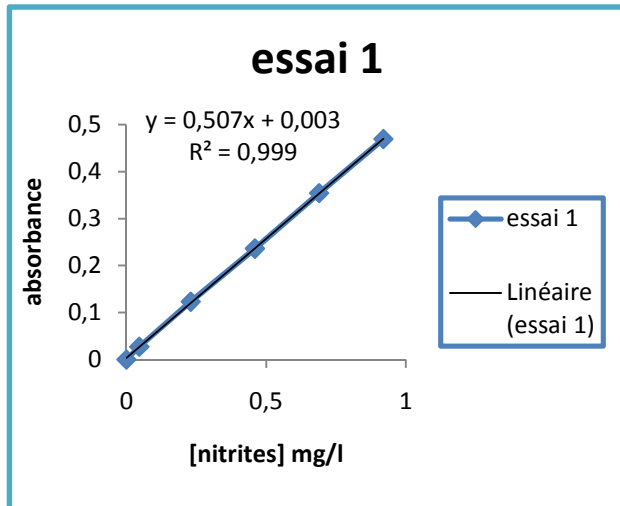


Figure 5 : la courbe d'étalonnage 1

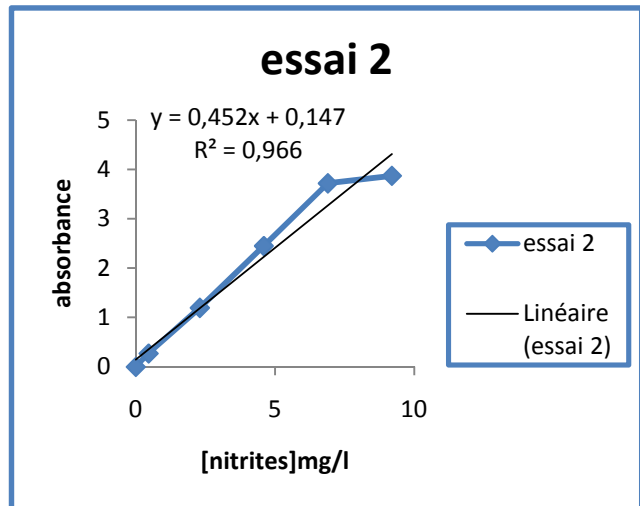


figure 6: la courbe d'étalonnage 2

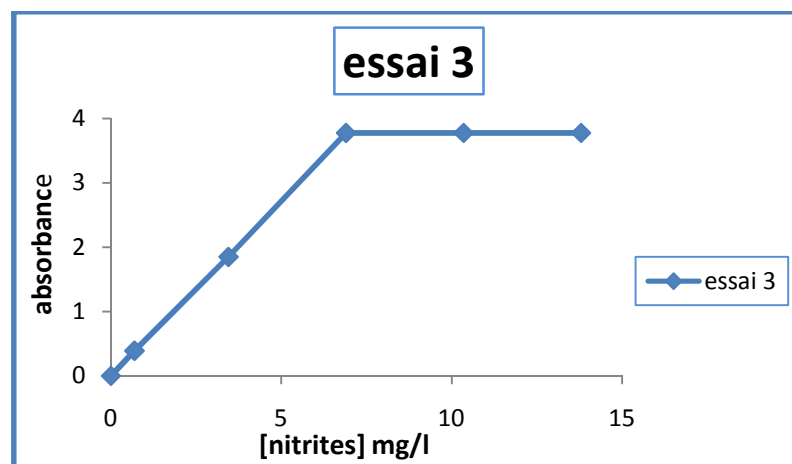


Figure 7: courbe d'étalonnage 3

➤ **interprétation :**

Les figures ci-dessus illustrent la variation des absorbances en fonction des concentrations



On observe que la linéarité de ces courbes change en augmentant la concentration des solutions fille d'étalon des nitrites

On constate que la linéarité s'arrête à la concentration 6,9mg/l, à ce stade on a décidé de travailler dans un domaine de validation qui va de 0,23 à 6,9 mg/l.

III. Préparations des standards d'étalonnage et les standards de validation :

III. 1. Standards d'étalonnages :

Dans une série des erlenmeyers numérotés introduire successivement les réactifs en agitant après chaque addition :

Numéros des erlenmeyers	Témoin	1	2	3	4	5	6	7	8
Solutions étalons filles de NO_2^- (ml)	0	5	10	15	20	25	30	50	10
Eau distillée (ml)	50	45	40	35	30	25	20	0	40
Réactif de Zambelli (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Ammoniac pur (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Correspondance mg/l de NO_2^-	0	0,23	0,46	0,69	0,92	1,15	1,38	2,3	6,9

Tableau 6 : la gamme d'étalonnage

➤ Remarque :

on utilise deux solutions étalons filles de NO_2^- de concentrations différentes, $[C1]=0,0023$ mg/l et $[C2]=0,0345$ mg/l

On effectue la lecture de l'absorbance au spectromètre à la longueur d'onde de 435nm et construire la courbe suivante :

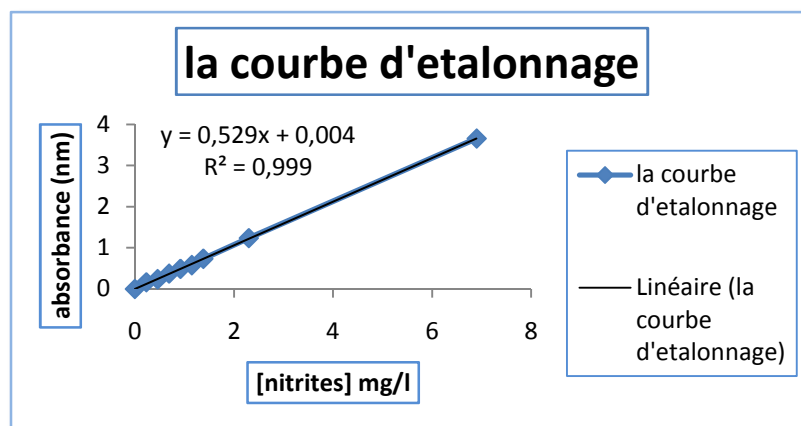




Figure 8: la courbe d'étalonnage

➤ **Déduction :**

On observe que les mesures de la concentration en fonction de l'absorbance obtenues par le spectromètre U.V- visible donnent une courbe linéaire

III. 2. Standards de validation :

Dans une série des erlenmeyers numérotés introduire successivement les réactifs en agitant après chaque addition

Numéros des erlenmeyers	Témoin	1	2	3	4	5	6	7	8
Solutions étalons filles de NO_2^- (ml)	0	5	10	15	20	25	30	50	10
Eau potable (ml)	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Réactif de zambelli (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Ammoniac pur (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2

Tableau 7 : la gamme d'étalonnage

On effectue la lecture au spectromètre à la longueur d'onde de 435nm et construire la courbe suivante :

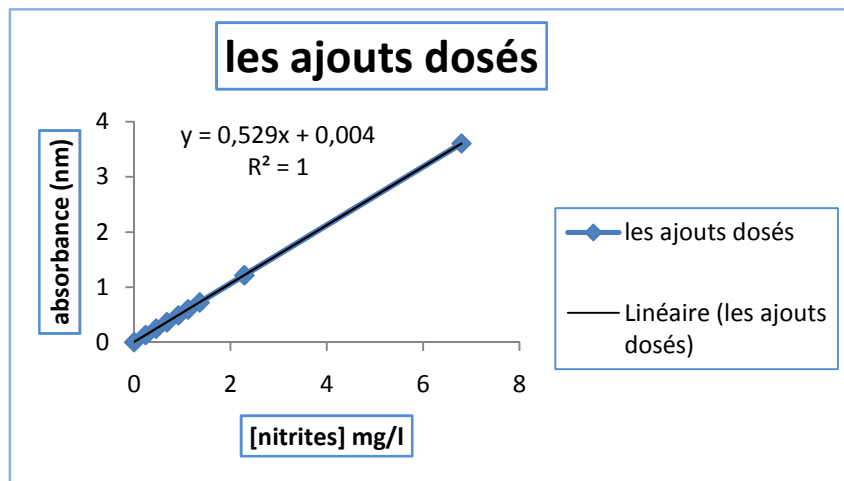


Figure 9 : La courbe des ajouts dosés

➤ **Déduction :**



On observe que les résultats des absorbances en fonction des concentrations de la gamme d'étalonnage obtenues par le spectromètre UV- visible donnent une courbe linéaire.

IV. Validation de la méthode d'analyse des nitrites par le profil d'exactitude :

IV. .1.Objectif :

L'objectif de cette étude est d'effectuer une validation statistique de la méthode d'analyse des nitrites par spectrométrie U.V-visible en appliquant la nouvelle approche du profil d'exactitude basée sur l'erreur totale

IV. 2. Contexte d'application : (domaine et des limites d'acceptabilité)

Afin de couvrir un domaine d'application raisonnable, la validation a été étendue entre 0,23 et 6,9 mg/l.

Les limites d'acceptabilité ont été fixées à $\pm 5\%$ et $\pm 10\%$ autour de la valeur cible et choisies après discussion avec l'utilisateur du laboratoire de la RADEEF, la proportion β est égale à 95 % choisie de la même façon.

IV. 3. Plan d'expérience :

Deux plans d'expériences sont nécessaires : un plan d'étalonnage et un plan de validation, la même structure de plan a été choisie pour les deux: $I = 3$ jours (séries) avec $K = 8$ niveaux de concentration et $J = 3$ répétitions par jour et par niveau, ce qui fait un total de $3 \times 3 \times 8 = 72$ essais. Les concentrations des valeurs de référence sont exprimées en mg/L et les réponses en nm. Les niveaux varient de 1 à K et sont codés 1, 2, 3, 4, 5,6, 7, et 8 et les séries de 1 à I et sont codées, Jour1, Jour 2 et Jour 3 (voir annexe 1).

IV. 4. La fonction de réponse :

On a choisi de travailler sur quatre modèles de fonction de réponse , le tableau suivant présente ces différentes fonctions de réponse utilisées ainsi que leurs paramètres (ordonnée à l'origine et la pente) :



Tableau 9 : les fonctions de réponse et leurs paramètres
A
partie de ces coefficients

		Ordonnée à l'origine	Pente	Terme quadratique
Linéaire simple	Série n°1	0,013	0,518	
	Série n°2	0,013	0,511	
	Série n°3	0,0192	0,505	
linéaire 0 - max	Série n°1	0 ,000	0,522	
	Série n°2	0 ,000	0,51	
	Série n°3	0 ,000	0,509	
Linéaire simple pondérée 1/X	Série n°1	0,0181	0,515	
	Série n°2	0,0101	0,513	
	Série n°3	0,0224	0,503	
quadratique	Série n°1	0,0113	0,52	-0,00029
	Série n°2	0,0106	0,514	-0,00041
	Série n°3	0,0315	0,489	0,00214

des fonctions de réponse et les mesures des absorbances des échantillons de validation rassemblées dans le tableau 9, on calcule les concentrations prédites inverses de chaque répétition pour chaque modèle (les tableaux des résultats : voir Annexe), qui vont servir à calculer les critères de validation et construire le profil d'exactitude

IV. 5. Les critères de validation (la justesse, la fidélité et l'intervalle de tolérance) :

On calcule les critères de la justesse, fidélité et les limites de l'intervalle de tolérance selon la méthode décrite dans le chapitre 2, on rassemble les valeurs trouvée dans les tableaux récapitulatifs organisé pour le cas de la fonction linéaire simple :

1) Justesse :

La justesse fournit une indication sur les erreurs systématiques de la procédure analytique. Elle est exprimée en termes absolu, relatif ou de recouvrement :

Niveaux de concentration	Justesse		
	Biais (mg/l)	Biais (%)	Recouvrement (%)
0,23	0,0009	0,43	100,43
0,46	-0,0005	-0,12	99,87



0,69	-0,0131	-1,90	98,09
0,92	-0,0064	-0,70	99,29
1,15	-0,0219	-1,91	98,08
1,38	-0,0151	-1,09	98,9
2,3	-0,0024	-0,10	99,89
6,9	0,0119	0,17	100,17

Tableau 10: résultats de la justesse de la méthode de dosage des nitrites

➤ **Déduction :**

La justesse varie en fonction de la concentration puisque le biais (%) varie de + 0,43% à -1,91 %, les biais relatifs de la méthode développée sont trouvés acceptables puisqu'ils sont relativement proches de zéro et que les taux de recouvrements sont comprises entre 90% et 110 %.

2) Fidélité :

La fidélité fournit une indication sur les erreurs dues au hasard. Elle est réalisée en calculant la répétabilité et la fidélité intermédiaire à chaque niveau de concentration utilisé en validation.

Niveaux de concentration	Fidélité		
	écart-type de répétabilité S_r	écart-type de fidélité intermédiaire S_B	coefficient de variation de fidélité (%)
0,23	0,00325	0,00219	1,70
0,46	0,00454	0,00024	0,98
0,69	0,00372	0,00372	0,76
0,92	0,01052	0,00213	1,16
1,15	0,00625	0,00620	0,76
1,38	0,01386	0,00725	1,13
2,3	0,03310	0,01291	1,54
6,9	0,11070	0,02598	1,64

Tableau 11: résultats de la fidélité de la méthode de dosage des nitrites

➤ **Déduction :**



- On voit que la fidélité varie en fonction de la concentration puisque son coefficient de variation passe de 1,70 % à 0,76 %.
- Cette variation des coefficients démontre l'excellence de la fidélité de la méthode colorimétrique développée dans l'intervalle de concentration [0,23 à 6,9] mg/l.

3) Intervalle de tolérance :

À partir de l'écart-type de fidélité intermédiaire calculée, on construit un intervalle de tolérance d'espérance β qui contient une proportion $\beta\%$ de futurs résultats

Au vu des résultats présentés dans le tableau **12**, la méthode de dosage des nitrites proposée est exacte dans l'intervalle de concentration compris entre [0,23 à 6,9] mg/l, puisqu'à chaque niveau de concentration, les différentes limites de tolérance des résultats incluses dans les limites d'acceptation de $\pm 10\%$.

Niveaux de concentration	Limite d'acceptabilité haute en (%)	IC tolérance supérieure (%)	IC tolérance Inférieure (%)	Limite d'acceptabilité basse en (%)
0,23	110	105,50	95,36	90
0,46	110	102,58	97,17	90
0,69	110	100,54	95,64	90
0,92	110	102,48	96,10	90
1,15	110	100,54	95,63	90
1,38	110	102,10	95,70	90
2,3	110	104,25	95,52	90
6,9	110	104,67	95,67	90

Tableau12 : les résultats de l'intervalle de tolérance de la méthode de dosage des nitrites

4) Linéarité :

La linéarité d'une procédure analytique est sa capacité à obtenir, à l'intérieure d'un certain intervalle de dosage, des résultats directement proportionnels à la concentration (quantité) de la substance à examiner dans l'échantillon



En appliquant le modèle de régression linéaire simple au quel une droite de régression a été ajustée sur les concentrations calculées par rapport aux concentrations introduites, le tableau suivant présent, le coefficient de détermination (R^2), la pente et l'ordonnée à l'origine :

Intervalle de dosage	Pente	Ordonnée à l'origine	R^2
[0,23- 6,9]	1,002	-0,011	1

Tableau 13 : résultats de la linéarité de la méthode de dosage des nitrites

Puisque les limites de tolérance absolues telles qu'illustrées dans la figure 20.3 sont comprises dans les limites d'acceptation de $\pm 5\%$, la linéarité de la méthode colorimétrique développée est ainsi démontrée dans un intervalle de concentration en nitrites [0,23-6,9] mg /l

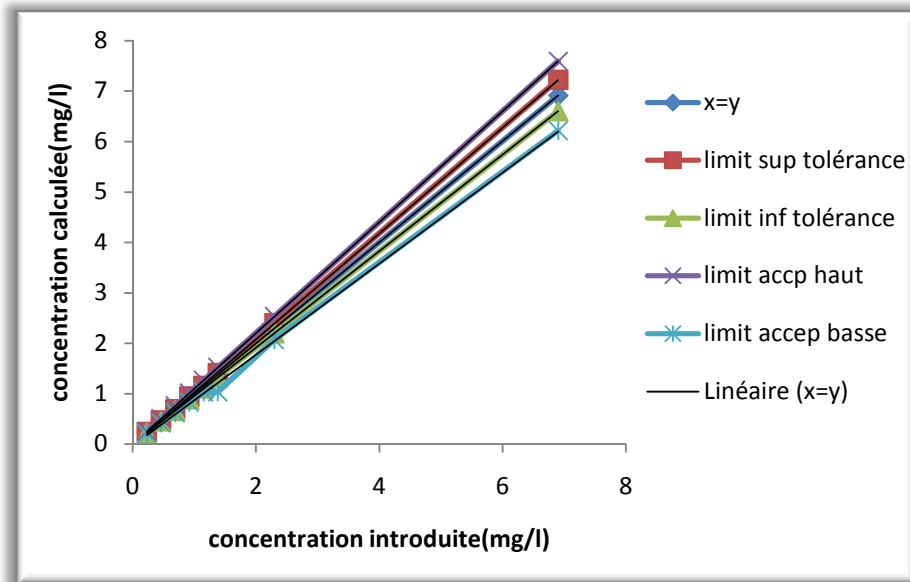


Figure 10: graphique de la linéarité de la méthode de dosage des nitrites

IV. 6. Construction du profil d'exactitude :

Pour Construire le graphique correspondant au profil on sélectionne :

-à reporter sur l'axe des abscisses :

1- les valeurs de la ligne «Concentration moyenne introduite »

-à reporter sur l'axe des ordonnées :

2) Recouvrement en % ,

3) Limite intervalle tolérance basse en % ,

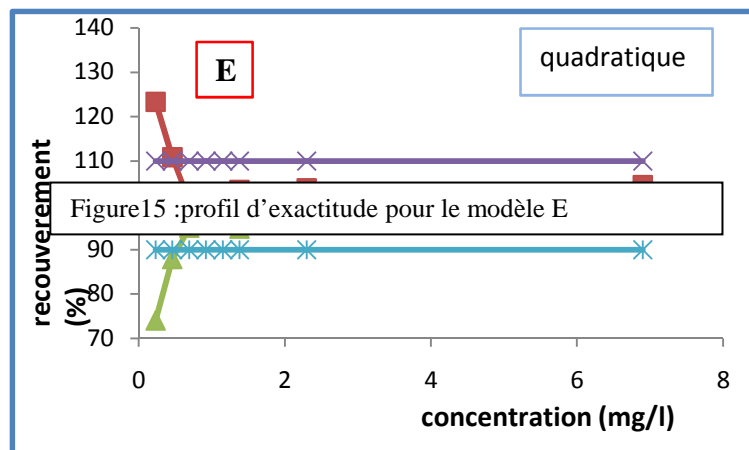
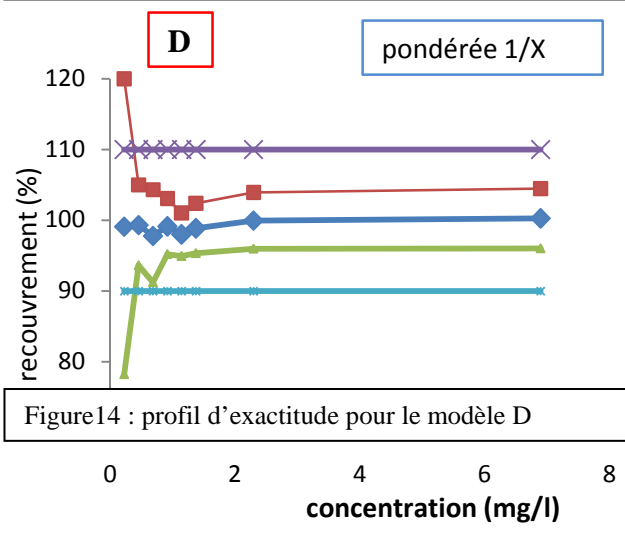
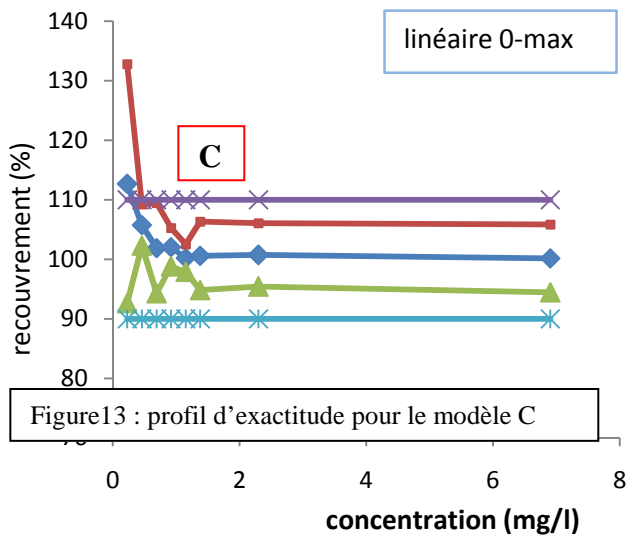
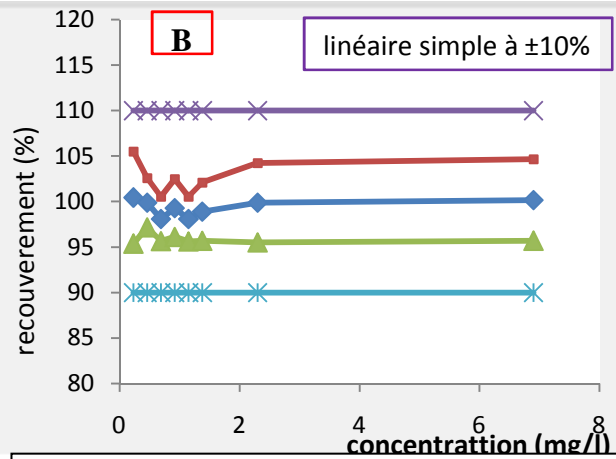
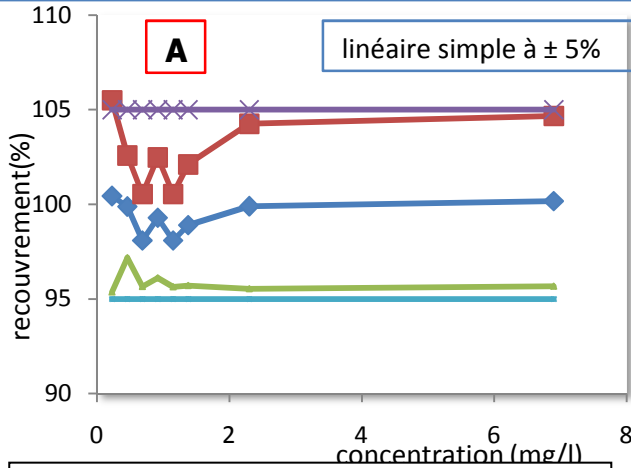
4) Limite intervalle tolérance haute en % ,

5) Limite d'acceptabilité basse en % ,

6) Limite d'acceptabilité haute en % ,



sous le titre « Profil d'exactitude » On obtient ainsi Les différents profils d'exactitude correspondent aux différentes fonctions de réponse sont illustrés dans les figures suivantes :



- ◆ recouvrement (%)
- ▲ Limite intervalle tolérance basse en %
- ◆ limite d'acceptabilité basse en %
- Limite intervalle tolérance haute en %
- ✕ limite d'acceptabilité haute en %



- Sur les deux profils d'exactitude A et B, nous avons observés que les limites de l'intervalle de tolérance (**IT**) à 95%, se trouvent dans les limites d'acceptations $\pm 5\%$ et $\pm 10\%$.
- On constate que pour le modèle linéaire simple à $\pm 10\%$, la méthode est parfaitement valide dans un domaine de validité s'étend de 0,23 mg/l environ à 6,9 mg/l (profil d'exactitude B).
- Dans les autres modèles (C, D, E,), on observe que les différentes limites de tolérance à 95% des résultats restent incluses dans les limites d'acceptation de $\pm 10\%$, donc la méthode est valide dans des intervalles de concentration différentes dépendent de chaque fonction.
- Pour les modèles C et D la méthode est valide dans les domaines de validité successivement compris entre [0,92 et 6,9] mg/l, et [0,46 et 6,9] mg/l, tandis que le modèle E est validé dans le domaine [0,69 et 6,9] mg/l.
- en conséquence, nous avons choisis le modèle linéaire simple (B) à $\pm 10\%$ comme modèle approprié qui, d'une part valide la méthode sur l'ensemble de l'intervalle de dosage, et d'autre part répond aux objectifs de notre étude.

V. 7. Limites de quantification :

- La LQ est définie par l'intersection entre le profil d'exactitude et les limites d'acceptation.
- Considérant, le modèle linéaire simple à $\pm 5\%$, on observe que la borne supérieure de l'intervalle de tolérance coupe la limite d'acceptabilité haute, ceci nécessite traduit par une limite de quantification qui vaut **0,25 mg/l** dépend des valeurs choisies des limites d'acceptabilité et de la proportion β .



conclusion générale

Nous avons mis en point un protocole de dosage spectrométrique des nitrites dans l'eau potable à travers une réaction de diazotation en utilisant le réactif Zambelli

Dans un premier temps, nous avons déterminé le domaine de linéarité de la loi de Beer Lambert entre 0,23 et 6,9ppm avec un coefficient de détermination de 99,9%.

Par ailleurs, la validation analytique basée sur la nouvelle approche du profil d'exactitude s'est faite par la détermination des standards d'étalonnage et des standards de validation, ainsi que des calculs sur les critères de la validation : la justesse, la fidélité, l'intervalle de tolérance, la linéarité et les limites de quantifications.

Nous avons constaté que pour un modèle linéaire simple les deux limites de l'intervalle de tolérance à une proportion de 95%, sont comprises entre les limites d'acceptabilité à $\pm 10\%$, dans un domaine de validité qui va de 0,23mg/l à 6,9mg/l.

A la lumière de ce qui précède, nous pouvons dire que, notre méthode de dosage des nitrites par spectrométrie U.V-visible est parfaitement valide.

En conséquence, notre procédure peut être appliquée sans problème pour le contrôle routine des nitrites dans l'eau potable.



Annexes

Annexe 1 : les tableaux statistiques du plan d'expérience (données brutes)

► *Le plan d'étalonnage :*

niveau	série	Concentration (mg/l)	Réponse analytique		
			répétition n°1	répétition n°2	répétition n°3
1	jour1		0,128	0,161	0,142
	jour2	0,23	0,129	0,12	0,121
	jour3		0,125	0,169	0,121
2	jour1		0,223	0,237	0,28
	jour2	0,46	0,222	0,29	0,23



	jour3		0,229	0,277	0,228
	jour1		0,384	0,372	0,393
3	jour2	0,69	0,385	0,359	0,397
	jour3		0,398	0,388	0,389
	jour1		0,491	0,488	0,477
4	jour2	0,92	0,49	0,462	0,497
	jour3		0,496	0,487	0,488
	jour1		0,596	0,578	0,577
5	jour2	1,15	0,597	0,587	0,592
	jour3		0,599	0,582	0,585
	jour1		0,703	0,735	0,717
6	jour2	1,38	0,731	0,711	0,709
	jour3		0,707	0,712	0,713
	jour1		1,237	1,237	1,204
7	jour2	2,3	1,244	1,161	1,176
	jour3		1,172	1,16	1,16
	jour1		3,56	3,657	3,54
8	jour2	6,9	3,576	3,536	3,506
	jour3		3,505	3,482	3,536

► *Le plan de validation :*

niveau	série	Concentration (mg/l)	Réponse analytique (nm)		
			répétition n°1	répétition n°2	répétition n°3
	jour1		0,128	0,132	0,131
1	jour2	0,23	0,132	0,132	0,131
	jour3		0,136	0,137	0,135
	jour1		0,251	0,25	0,255
2	jour2	0,46	0,248	0,248	0,247



	jour3		0,251	0,251	0,246
	jour1		0,359	0,363	0,359
3	jour2	0,69	0,363	0,358	0,359
	jour3		0,361	0,361	0,362
	jour1		0,483	0,49	0,487
4	jour2	0,92	0,487	0,486	0,473
	jour3		0,474	0,481	0,475
	jour1		0,602	0,596	0,599
5	jour2	1,15	0,596	0,588	0,589
	jour3		0,585	0,585	0,582
	jour1		0,705	0,723	0,711
6	jour2	1,38	0,715	0,71	0,716
	jour3		0,702	0,715	0,715
	jour1		1,195	1,215	1,191
7	jour2	2,3	1,197	1,174	1,227
	jour3		1,167	1,169	1,17
	jour1		3,569	3,601	3,486
8	jour2	6,9	3,631	3,526	3,544
	jour3		3,535	3,47	3,576

Annexe 2 : tableaux des critères de validation pour les trois fonctions de réponse (linéaire simple pondérée, quadratique et linéaire 0-Max)

► **Justesse**

▪ **Modèle 1 : fonction linéaire pondérée**

Niveaux de concentration	Justesse		
	Biais (mg/l)	Biais (%)	Recouvrement (%)
0,23	-0,002	-0,910	99,08



0,46	-0,003	-0,693	99,30
0,69	-0,015	-2,227	97,77
0,92	-0,008	-0,896	99,10
1,15	-0,023	-2,027	97,97
1,38	-0,015	-1,159	98,84
2,3	-0,001	-0,066	99,93
6,9	0,016	0,235	100,23

▪ *Modèle 2 : fonction quadratique*

Niveaux de concentration	Justesse		
	Biais (mg/l)	Biais (%)	Recouvrement (%)
0,23	-0,003	-0,651	99,349
0,46	-0,014	-2,048	97,952
0,69	-0,002	-0,183	99,817
0,92	-0,020	-1,739	98,261
1,15	-0,012	-0,889	99,111
1,38	0,004	0,168	100,168
2,3	0,011	0,159	100,159
6,9	-0,003	-0,651	99,349

▪ *Modèle 3 : fonction linéaire 0-max*

Niveaux de concentration	Justesse		
	Biais (mg/l)	Biais (%)	Recouvrement (%)
0,23	0,029	12,70	112,71
0,46	0,027	5,77	105,77
0,69	0,013	1,90	101,90
0,92	0,019	2,02	102,03
1,15	0,002	0,20	100,20



1,38	0,008	0,58	100,59
2,3	0,017	0,72	100,72
6,9	0,010	0,14	100,15

► **Fidélité :**

- **Modèle 1 : fonction linéaire pondérée**

Niveaux de concentration	Fidélité		
	écart-type de fidélité intermédiaire S_B	écart-type répétabilité S_r	coefficient de variation de fidélité (%)
0,23	0,009	0,003	4,206
0,46	0,005	0,005	1,554
0,69	0,008	0,004	1,322
0,92	0,006	0,011	1,326
1,15	0,007	0,006	0,827
1,38	0,009	0,014	1,191
2,3	0,005	0,033	1,454
6,9	0,019	0,105	1,545

- **Modèle 2 : fonction quadratique**

Niveaux de concentration	Fidélité		
	écart-type de fidélité intermédiaire S_B	écart-type répétabilité S_r	coefficient de variation de fidélité (%)
0,23	0,011	0,003	4,959
0,46	0,010	0,005	2,312
0,69	0,004	0,004	0,810
0,92	0,005	0,007	0,920



1,15	0,002	0,006	0,523
1,38	0,013	0,014	1,367
2,3	0,015	0,026	1,304
6,9	0,018	0,110	1,618

▪ **Modèle 3 : fonction linéaire 0-max**

Niveaux de concentration	Fidélité		
	écart-type de fidélité intermédiaire S_B	écart-type répétabilité S_r	coefficient de variation de fidélité (%)
0,23	0,009	0,003	4,038
0,46	0,003	0,005	1,162
0,69	0,010	0,004	1,526
0,92	0,002	0,011	1,183
1,15	0,006	0,006	0,720
1,38	0,017	0,014	1,562
2,3	0,025	0,033	1,794
6,9	0,073	0,110	1,914

► **Intervalle de tolérance :**

▪ **Modèle 1 : fonction linéaire pondérée**

Niveaux de concentration	Limite d'acceptabilité haute en (%)	IC tolérance supérieure (%)	IC tolérance Inférieure (%)	Limite d'acceptabilité basse en (%)
0,23	110	119,98	78,19	90
0,46	110	105,02	93,60	90
0,69	110	104,34	91,20	90
0,92	110	103,04	95,17	90



1,15	110	101,01	94,93	90
1,38	110	102,38	95,31	90
2,3	110	103,90	95,96	90
6,9	110	104,45	96,02	90

▪ *Modèle 2: fonction quadratique*

Niveaux de concentration	Limite d'acceptabilité haute en (%)	IC tolérance supérieure (%)	IC tolérance Inférieure (%)	Limite d'acceptabilité basse en (%)
0,23	110	123,34	74,06	90
0,46	110	110,83	87,86	90
0,69	110	100,93	94,98	90
0,92	110	102,55	97,09	90
1,15	110	99,69	96,83	90
1,38	110	103,49	94,73	90
2,3	110	103,85	96,48	90
6,9	110	104,58	95,74	90

▪ *Modèle 3: fonction linéaire 0-max*

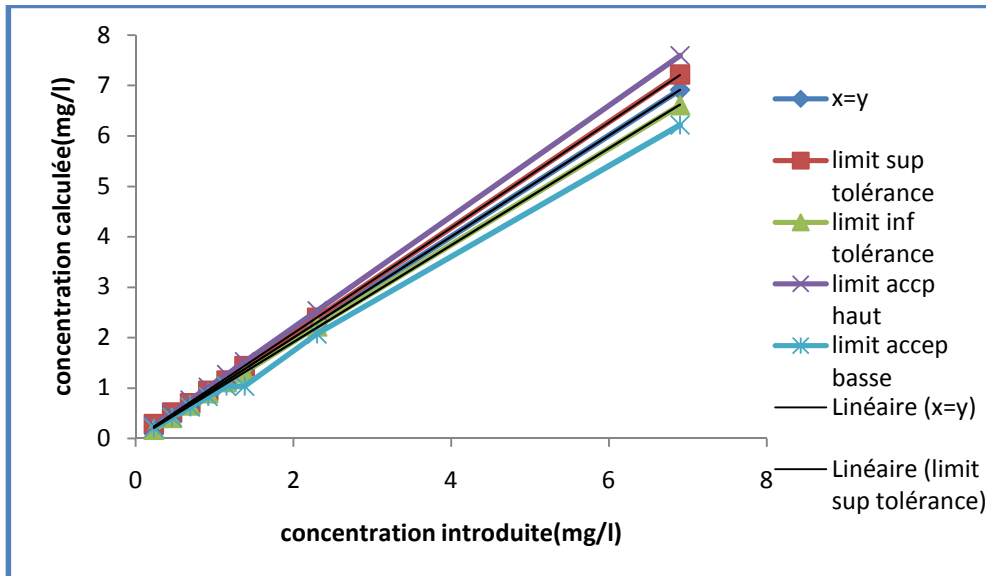
Niveaux de concentration	Limite d'acceptabilité haute en (%)	IC tolérance supérieure (%)	IC tolérance Inférieure (%)	Limite d'acceptabilité basse en (%)
0,23	110	132,77	92,64	90
0,46	110	109,22	102,32	90
0,69	110	109,48	94,32	90
0,92	110	105,26	98,80	90
1,15	110	102,51	97,90	90



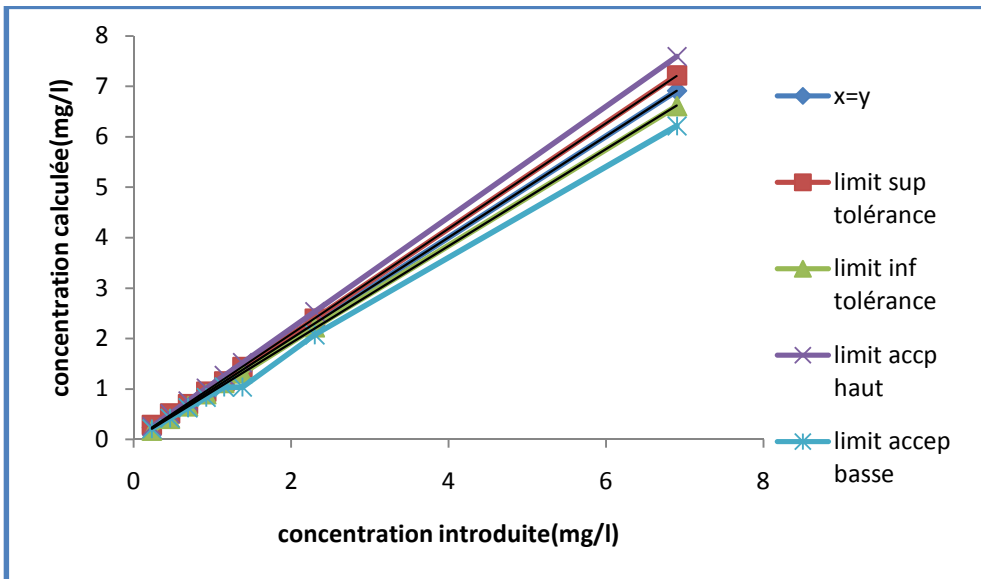
1,38	110	106,33	94,85	90
2,3	110	106,05	95,40	90
6,9	110	105,83	94,46	90

► **Linéarité :**

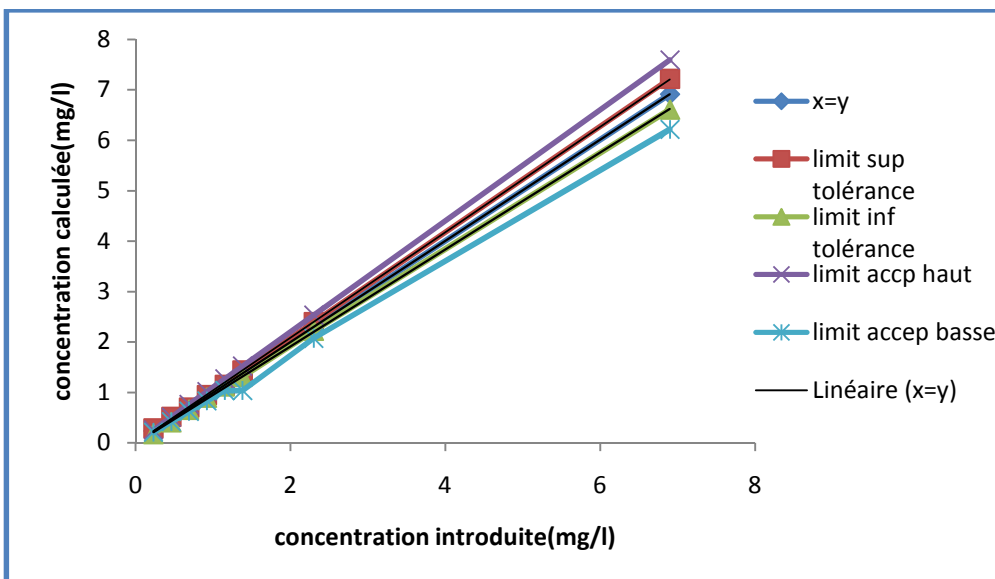
▪ **Modèle 1 : fonction linéaire pondérée**



▪ **Modèle 2: fonction quadratique**



■ *Modèle 3: fonction linéaire 0-max*



► *Les limites de quantification :*

	Limite de quantification haute (mg/l)	Limite de quantification basse (mg/l)
Fonction linéaire pondérée	0,34	0,37



Fonction quadratique	0,47	0,51
Fonction linéaire 0- max	0,90	

Annexe 3: références bibliographique et webographique

<http://tpe-leaupotable.e-monsite.com/pages/bibliographie>

www.radeef.ma



<http://www.memoireonline.com/02/09/1994/traitement-des-eaux-quot-traitement-de-de-leau-de-source-bousfer-ORAN.html#SHAPE>

<http://culturesciences.chimie.ens.fr/content/introduction-%C3%A0-la-spectroscopie-uv-visible>

<http://forums.futura-sciences.com/chimie/394769-etalonnage-spectrophotometre.html>

<http://www.sciences->

[enligne.com/DIST/Data/Ressources/lic2/chimie/chi_exp/absorptiometrie/sommaire.htm](http://www.sciences-enligne.com/DIST/Data/Ressources/lic2/chimie/chi_exp/absorptiometrie/sommaire.htm)

<http://forums.futura-sciences.com/chimie/572592-methode-ajouts-doses-spectrometrie-d-absorption-atomique.html> ajouts dosé

<http://www.molecularstation.com/forum/forum-de-chimie/49335-dosage-par-m%E9thode-des-ajouts-doses.html>

http://www.memoireonline.com/02/09/1994/m_traitement-des-eaux-quot-traitement-de-de-leau-de-source-bousfer-ORAN6.htm

<http://www2.ggl.ulaval.ca/personnel/bourque/s3/cycle.azote.html>

<http://webpeda.ac-montpellier.fr/wspc/ABCDORGA/Famille/QOREACDEBASE2.html>

<http://webpeda.ac-montpellier.fr/wspc/ABCDORGA/Famille/AMINESAROMATIQUES.html>

<http://webpeda.ac-montpellier.fr/wspc/ABCDORGA/Famille/AMINESAROMATIQUES.html>

[http://revues.imist.ma/index.php?journal=technolab&page=article&op=view&path\[\]=361](http://revues.imist.ma/index.php?journal=technolab&page=article&op=view&path[]=361)

<http://www.ansespro.fr/euroreference/numero3/index.htm>

<http://www.adneurope.com/index.php?id=241>

<http://www.afssa.fr/euroreference/numero3/index.htm>

<http://www.lavoisier.fr/livre/notice.asp?ouvrage=2130800>

Feinberg M., (2009) Labo-Stat : Guide de validation des méthodes d'analyse Lavoisier Tec&Doc, Paris