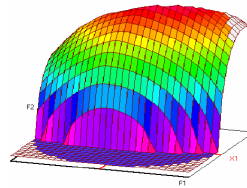




Année Universitaire : 2013-2014



Master Sciences et Techniques CAC Agiq
**Chimiométrie 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

**Etude de la contamination en métaux lourds, Pb & Cd,
dans les produits de la pêche au Maroc**

Présenté par:

OUARHACH Aicha

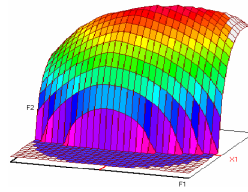
Encadré par:

- Dr. RACHIDI Abderrazzak (ONSSA de Casablanca)
- Pr. MELIANI Abdeslam (FST de Fès)

Soutenu Le 17 Juin 2014 devant le jury composé de:

- Pr. O. SQALI
- Pr. A. MELIANI
- Pr. M. EL ASRI

Stage effectué à : L'Office National de Sécurité Sanitaire des Aliments



Master ST CAC Agiq

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

Nom et prénom: OUARHACH Aicha

Année Universitaire : 2013/2014

Titre: Etude de contamination en métaux lourds, Pb & Cd, dans les produits de la pêche au Maroc.

Résumé

Ce travail à été effectué au sein du Laboratoire Régional d'Analyse et de Recherche de Casablanca (LRARC) filiale L'ONSSA, le laboratoire accorde une nette importance à la fiabilité de ses résultats d'analyses en validant ses méthodes d'analyses. La mission première et essentiel du LRARC et de contrôler les produits alimentaires dans le souci de fournir aux consommateurs des produits salubres. Parmi ces contrôles on peut citer la recherche des contaminants chimiques tels que les résidus de métaux lourds, les HAP, les amines biogènes....

Mon stage a pour but d'étudier la contamination en métaux lourds, Plomb et Cadmium, dans les produits de la pêche au Maroc destinés à la consommation humaine, suivie d'une estimation de l'incertitude de mesure, basé sur les résultats de validation (fonction d'étalonnage, limite de quantification, Exactitude), et de contrôle qualité selon la NF ISO 11352 & T90-220. Les analyses sont effectuées par la technique de Spectrométrie d'Absorption Atomique à Four Graphite et les équipements qui sont utilisés dans le laboratoire.

Mots clés: Métaux lourds, Plomb, Cadmium, NF ISO 11352 & T90-220, Incertitude de mesure, SAA-FG.



Dédicaces	
Remerciements	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux et des figures	
Introduction	1
Chapitre I : Description de l'Office National de Sécurité Sanitaires des Aliments & présentation de service de stage :	3
1) Généralité	4
2) Organigramme	4
3) Activité et positionnement du LRARVC l'unité de stage	5
Chapitre II : Etude bibliographique :	9
I) Les métaux lourds "plomb & cadmium" :	10
1) Définition	10
2) Caractéristique physico-chimique du Pb& Cd	11
3) Sources de production	12
4) Risques toxicologiques des métaux lourds	14
5) Réglementation	14
II) La spectroscopie d'absorption atomique :	17
1) Généralité et principe	17
2) Appareillage et fonctionnement	18
3) Application de la SAA à l'analyse	20
III) Outils statistiques : Validation et estimation de l'incertitude de mesure :	20
1) Définition et réglementation	20
2) Normes de l'estimation de l'incertitude de mesure	22
3) Critères de l'estimation de l'incertitude de mesure	22
Chapitre III: Etude de contamination en métaux lourds « Pb et Cd » dans les produits de la pêche au Maroc	25
I) Matériels et méthodes :	26
1) Méthode de travail	26
2) Matériels (Echantillons utilisés)	27
II) Résultats et discussions :	28
1) Résultats	28
2) Discussions	45
Conclusion	46
Annexe	
Références bibliographiques, Normatives et web-graphiques	



SOMMAIRE



Dédicace



 Je dédie ce modeste travail :

A **ALLAH** le Tout Puissant, le Clément le Très Miséricordieux qui a guidé mes pas depuis l'aube de ma vie, loué soit **ALLAH**.

A ma très chère mère, source de ma vie, d'amour et de tendresse qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Vous m'avez toujours aidé par vos conseils et vos sacrifices. Puisse Dieu le tout puissant t'accorder meilleure santé et longue vie.

A mon très cher père, le premier et le dernier homme de ma vie, source d'amour, de générosité et de sacrifices. Tu étais toujours là près de moi pour me soutenir, m'encourager. Puisse Dieu le tout puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie.

A mes frères, que Dieu vous garde, je vous souhaite tout le bonheur que vous méritez.

A tous mes meilleur(e)s ami(e)s, les plus proches de mon cœur, et mes collègues du master CAC :
Agiq, avec qui j'ai passé des moments agréables.





Remerciement

Avant de développer le sujet de cette expérience professionnelle, il apparait opportun de débiter ce mémoire de projet de fin d'étude par des remerciements aux personnes qui m'ont beaucoup aidé au cours de ce mémoire.

Mes premiers remerciements à ALLAH le Tout Puissant

Je tiens tout d'abord à remercier très chaleureusement mon respectueux encadrant Monsieur MELIANI Abdeslam Professeur à la faculté des sciences et techniques de Fès pour les conseils précieux, la disponibilité et la patience dont j'ai bénéficié pour mener à bien ce travail.

Pour la même occasion je tiens à remercier mon maitre de stage Mr. Abderrazzak RACHIDI chef de l'unité de chimie et bromatologie au Laboratoire Régional d'Analyse et de Recherche de Casablanca de m'avoir accueillie au sein de son service et de m'avoir confiée des tâches diversifiées et intéressantes.

Sans oublier la précieuse aide de mon très cher professeur Mr. EL HADERAMI qui est toujours présent pour nous aider et nous encourager durant les deux années du Master sciences et technique CAC :agiq.

Je remercie tous mes professeurs pour leurs aides et leurs encouragements en particulier Mr. Le professeur Chouaib IHSSANE.

Je veux remercier aussi tout le personnel du LRARC, surtout les personnels de l'unité de chimie et de Bromatologie pour leur disponibilité et leur collaboration durant toute la période de stage.

Enfin, Je tiens à remercier également les membres du jury Mme le professeur Ouafae SQALI et Mr. Le professeur Mohammed EL ASRI d'avoir accepté de juger mon travail.



Liste des abréviations

ONSSA : Office national de sécurité sanitaire.

LRARC : laboratoire régional des analyses et recherches de Casablanca

ML : Métaux lourds.

ETM : élément en traces métalliques

SAA-FG : Spectrométrie d'Absorption Atomique à Four Graphite.

Cd: Cadmium.

Pb: Plomb

MRC : Matériels de référence conforme

EILA : Echantillon Inter-laboratoire d'Aptitude.

CV: Coefficient de variation.

LD: Limite de détection.

LQ : Limite de quantification

S : Ecart type

ND : Non détecter.

EMA : Ecart maximal acceptable.

AFNOR : Association Française de Normalisation.

ISO : Organisation Internationale de Normalisation «*International Organization for Standardization*».

CE : Commission européenne.

NF : Norme française.

ppm: mg/kg

ppb: µg/kg



Liste des tableaux et des figures

Liste des tableaux

Tableau 1: Le tableau périodique des éléments ^[5]	23
Tableau 2: Propriétés physiques et chimiques du Plomb et de Cadmium ^[6]	24
Tableau 3: Teneurs maximales retenues pour le Cadmium et le Plomb dans les produits de la pêche selon le règlement (CE) n° 629/2008 ^[9]	28
Tableau 4: Limite maximale dans les produits de la pêche selon le Règlement 466/2001 (CE) portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires ^[10]	29
Tableau 5: Programme thermique du plomb et Cadmium	32
Tableau 6: Tableau des concentrations des étalons utilisés lors d'étalonnage du Pb en ppm.....	43
Tableau 7: Tableau des concentrations des étalons utilisés lors d'étalonnage du Cd en ppm.....	43
Tableau 8: Des valeurs des réponses observées sur les étalons utilisés lors d'étalonnage du Pb.....	43
Tableau 9: Tableau des paramètres statistiques pour le Pb.....	44
Tableau 10: Des valeurs des réponses observées sur les étalons utilisés lors d'étalonnage du Cd en ppm.....	44
Tableau 11 : les paramètres statistiques pour le Cd	44
Tableau 12: Les concentrations retrouvées lors d'étalonnage en ppb « Pb ».....	45
Tableau 13 : Des grandeurs retrouvées lors d'étalonnage en ppb « Cd »	45
Tableau 14 : Les valeurs des biais relatifs du Pb	46
Tableau 15: Les valeurs des biais relatifs du Cd.....	46
Tableau 16 : Des résultats d'étude de la limite de quantification du Pb.....	48
Tableau 17: Paramètres d'exactitude de la LQ présumées du Pb 0.004mg/kg	49
Tableau 18 : Des résultats d'étude de la limite de quantification du Cd	49
Tableau 19: Paramètres d'exactitude de la LQ présumées de Cadmium à 0.006mg/kg	50
Tableau 20 : Bilan d'étude de l'exactitude de Plomb	51
Tableau 21: Bilan d'étude de l'exactitude de Cd	53
Tableau 22: Les échantillons utilisés pour l'expérience et les provenances.....	55
Tableau 23 : Les résultats des moyennes des teneurs en métaux lourds Cd et Pb classés selon leurs provenances ppm.....	56
Tableau 24: Les résultats des moyennes des teneurs en métaux lourds Cd et Pb classés selon la nature des espèces.....	57
Tableau 25 : Estimation des incertitudes de mesure selon la norme NF ISO 11352 pour le paramètre Pb	60
Tableau 26: Estimation des incertitudes de mesure avec la norme NF ISO 11352 pour le paramètre Cd	60

Liste des figures



Figure 1: Organigramme de la direction générale de l'ONSSA.	17
Figure 2 : Principe de l'appareil	32
Figure 3: Principe et photographie d'une lampe à cathode creuse	33
Figure 4 : Principe du photomultiplicateur	34
Figure 5: Répartition des biais en % en fonction des niveaux par rapport des EMA_{étalonnage} définis par le laboratoire pour le Pb	47
Figure 6 : Répartition des biais en % en fonction des niveaux par rapport des EMA_{étalonnage} définis par le laboratoire pour le Cd.....	48
Figure 9: Représentation de l'intervalle de tolérance en % (T90-210) par rapport aux EMA % du Pb.....	52
Figure 8 : Représentation de l'intervalle de tolérance en % (T90-210) par rapport aux EMA % du Pb.....	54
Figure 9: Les teneurs des métaux lourds Pb et Cd selon les provenances en ppm.....	57
Figure 10: Les teneurs des métaux lourds Pb et Cd selon la nature des espèces en ppm.....	59

ANNEXE 1

Critères de la validation :

La validation analytique de la méthode de dosage des ML est réalisée pour la vérification des critères suivants :

a) Fidélité



Étroitesse d'accord entre des résultats d'essai indépendants obtenus sous des conditions stipulées.

[NF ISO 5725-1]

NOTE 1 : La fidélité dépend uniquement de la distribution des erreurs aléatoires et n'a aucune relation avec la valeur vraie ou spécifiée.

NOTE 2 : La mesure de fidélité est exprimée en termes d'infidélité et est calculée à partir de l'écart-type des résultats d'essais. Une fidélité moindre est reflétée par un plus grand écart-type.

NOTE 3 : Le terme « résultats d'essai indépendants » signifie des résultats obtenus d'une façon non influencée par un résultat précédent sur le même matériau d'essai ou similaire. Les mesures quantitatives de la fidélité dépendent de façon critique des conditions stipulées. Les conditions de répétabilité et de reproductibilité sont des ensembles particuliers de conditions extrêmes.

[NF ISO 5725-1]

↳ Conditions de répétabilité :

Conditions où les résultats d'essai indépendants sont obtenus par la même méthode sur des individus d'essai identiques dans le même laboratoire, par le même opérateur, utilisant le même équipement et pendant un court intervalle de temps.

↳ Fidélité intermédiaire :

Fidélité issue des répétitions de la détermination dans un laboratoire sur un même échantillon dans différentes conditions. Un échantillon doit être déterminé sur plusieurs jours au moins 6 à 10 fois dans des conditions changeantes (analystes, jours, charges de réactifs, solvants, appareils, conditions ambiantes, etc.). La fidélité intermédiaire peut également être définie par des valeurs moyennes de cartes de contrôle.

[NF ISO 5725-1]

↳ Conditions de reproductibilité :

Conditions où les résultats d'essai sont obtenus par la même méthode sur des individus d'essais identiques dans différents laboratoires, avec différents opérateurs et utilisant des équipements différents.

[NF ISO 5725-1]



b) Justesse :

Étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une large série de résultats d'essais et une valeur de référence acceptée (3.1.5).

[NF ISO 5725-1]

NOTE 1 : La mesure de la justesse est généralement exprimée en termes de biais.

NOTE 2 : La justesse a été également appelée «exactitude de la moyenne». Cet usage n'est pas recommandé.

c) Fonction d'étalonnage (Courbe d'étalonnage) :

La fonction d'étalonnage exprime la relation entre la grandeur mesurée, p. ex. l'extinction, et la teneur, p. ex. une concentration massique.

La fonction d'étalonnage peut être linéaire, linéarisée ou non linéaire. La linéarité est la capacité d'un procédé/méthode à générer des résultats de mesure dans une certaine plage de concentrations dont la dépendance par rapport à la concentration ou à la quantité d'analyte dans l'échantillon peut être décrite de manière statistiquement significative par une équation de droite (régression linéaire).

Lorsque l'on utilise une courbe d'étalonnage, il faut la déterminer avec au moins 5 solutions standard (mesures en triplicats) avec des concentrations réparties de manière équidistante sur la plage de mesures. En cas de doute à propos de la qualité de la fonction d'étalonnage, il faut procéder à des tests statistiques (p. ex. test d'ajustement de Mandel, analyse de résiduels).

d) Exactitude

Étroitesse d'accord entre des résultats et la valeur de référence acceptée. Le terme « exactitude », appliqué à un ensemble de résultats, implique une combinaison de composantes aléatoires (fidélité) et d'une erreur systématique commune ou d'une composante biais (justesse).

e) Limite de détection :

Plus petite quantité ou concentration d'un analyte dans l'échantillon d'essai qui peut être distinguée de manière fiable du zéro.

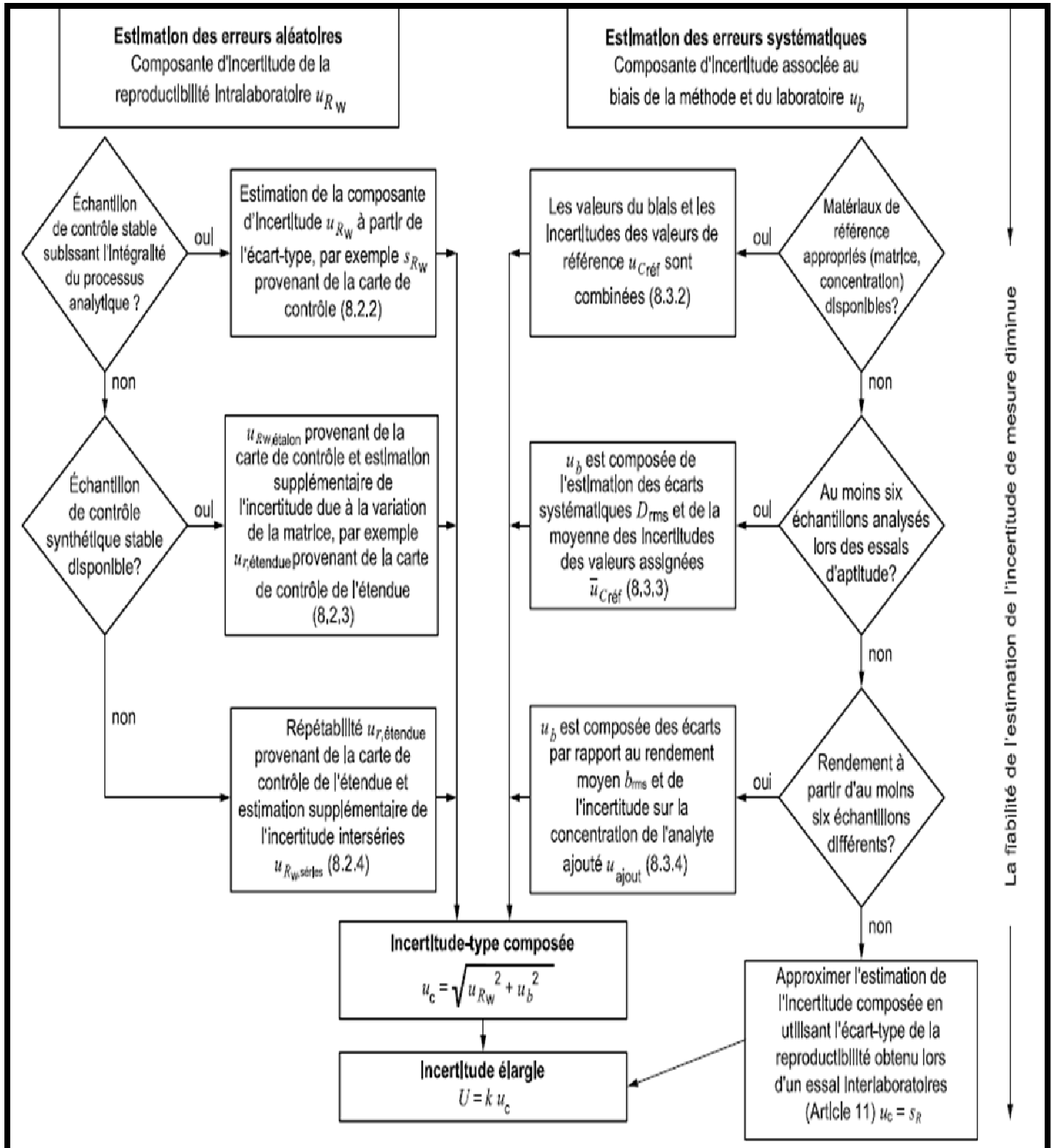
f) Limite de quantification :

Plus petite grandeur d'un analyte à examiner dans un échantillon pouvant être déterminée quantitativement dans des conditions expérimentales décrites dans la méthode avec une exactitude définie.

ANNEXE 2

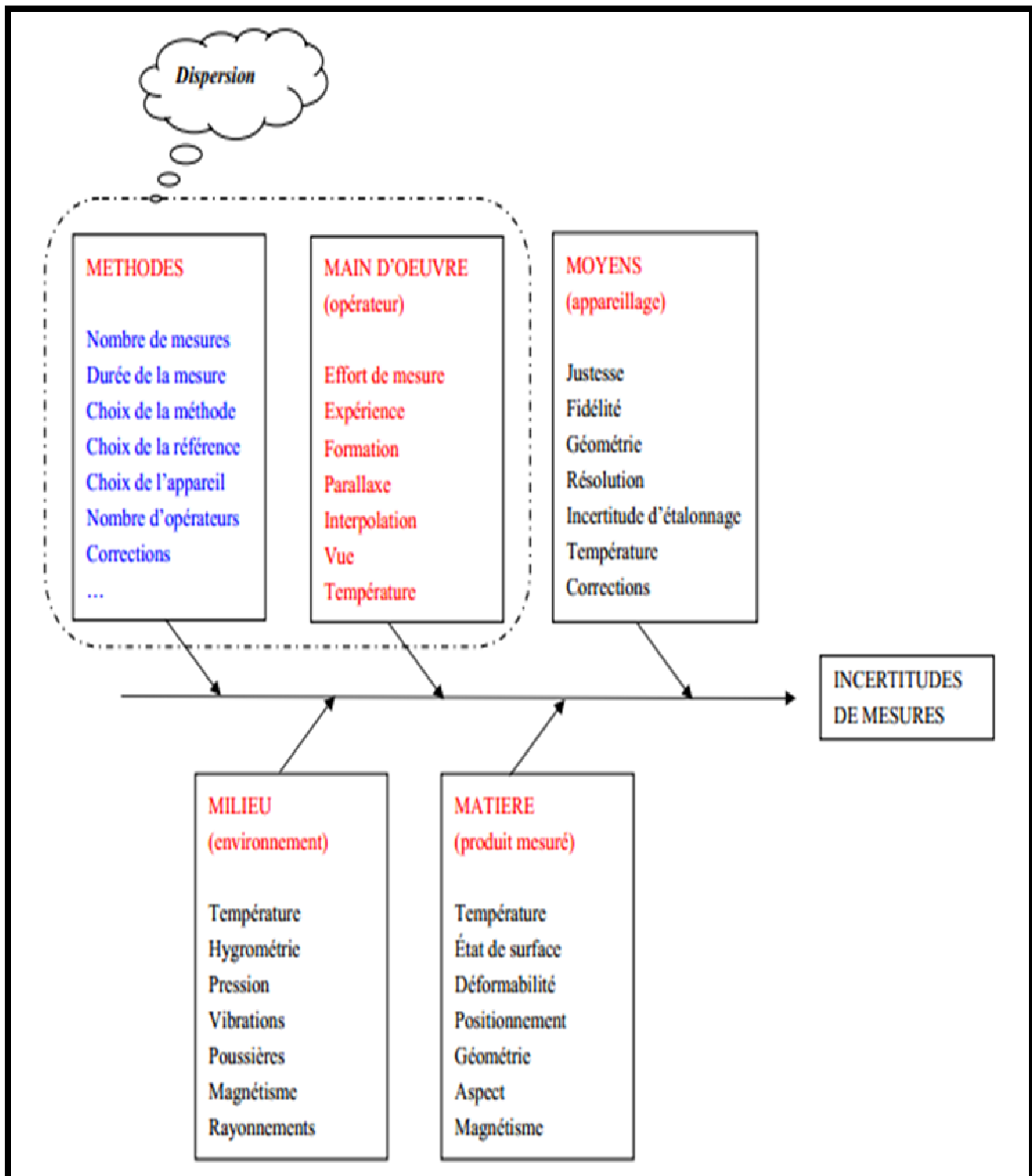


Schéma du protocole d'estimation de l'incertitude de mesure (avec références aux articles et paragraphes correspondants dans la présente Norme internationale)



ANNEXE 3

Diagramme cause à effet de l'incertitude de mesure





ANNEXE 4

Réactifs :

- ✗ Acide Nitrique
- ✗ Eau Oxygéné
- ✗ Eau distillé
- ✗ Solution titrisol

Appareillage :

- ✗ Broyeur (Ultra Turrax) avec tiges métalliques
- ✗ congélateur
- ✗ Pipettes de 5 mlet de 50 ml
- ✗ Eprouvette
- ✗ Digesteur à micro onde
- ✗ Balance avec une précision à 0,01 g et 0 ,0001 g
- ✗ Fiole jaugé 50ml
- ✗ Les godé
- ✗ Des bécher
- ✗ La spectrométrie d'absorption atomique
- ✗ Hacheur



Introduction

Les produits de la pêche sont nutritifs et tiennent une place importante dans l'alimentation et les moyens d'existence de millions de personnes au Maroc et partout dans le monde. Les produits de la pêche au Maroc est une ressource économique très importante après les secteurs de l'agriculture et du tourisme, et reste toujours un domaine qui augmente la richesse et l'économie marocaines. Le littoral s'étend sur une longueur de 3 600 km dans l'océan Atlantique et la mer Méditerranée^[1]. Pour toutes ces raisons il est indispensable d'évaluer des techniques de surveillance du littoral et de protection avant l'approvisionnement en produits de pêche ainsi que le suivi de ces produits au cours de leur transformation soit industrielle ou au cours de la consommation par différentes méthodes de cuisson car ils acquièrent de nouveaux composés ou subissent une transformation de leur composition et l'apparition d'autres composés qui peuvent présenter des dégâts néfastes sur la santé humaine et parmi ces produits dangereux on trouve les métaux lourds.

Les métaux lourds présents dans l'environnement aquatique proviennent de sources naturelles et de sources anthropogènes. Leur présence peut être le résultat soit de déversements effectués directement dans les écosystèmes marins et dans les eaux douces, soit d'un cheminement indirect comme dans le cas des décharges sèches et humides et du ruissellement agricole. Parmi les importantes sources naturelles, citons l'activité volcanique, l'altération des continents et les incendies de forêts. La contribution des volcans peut se présenter sous forme d'émissions volumineuses mais sporadiques dues à une activité explosive, ou d'émissions continues de faible volume, résultant notamment de l'activité géothermique et du dégazage du magma^[2].

L'objectif de ce travail est de doser par Spectrométrie d'Absorption Atomique (SAA) les Métaux lourds (Plomb et Cadmium) dans les produits de la pêche. Puis on va procéder par une estimation de l'incertitude de mesure de méthode de dosage des métaux lourds, on se basant sur les données de validation et sur les résultats du contrôle qualité analytique obtenus dans le domaine de l'analyse des ML, selon les normes internationales la NF ISO 11352 NF T90-220 c'est la validation qui est l'acte qui doit démontrer avec un degré de certitude et preuve, que ces résultats répondent au problème de manière satisfaisante pour l'utilisateur.



Dans cette étude, la méthodologie suivie est basée sur la rédaction d'un protocole d'analyse conforme à la minéralisation des ML et la réalisation de l'estimation de l'incertitude de la méthode de dosage.

Le premier chapitre de ce travail, sera consacré à la présentation de l'Office National de Sécurité Sanitaire des Aliments plus précisément le Laboratoire Régional d'Analyse et de Recherche de Casablanca, de ses missions et des différents types d'analyses effectuées. Dans le deuxième chapitre on va présenter des généralités et des bibliographies sur les Métaux Lourds et la technique de dosage, ainsi les outils statistiques.

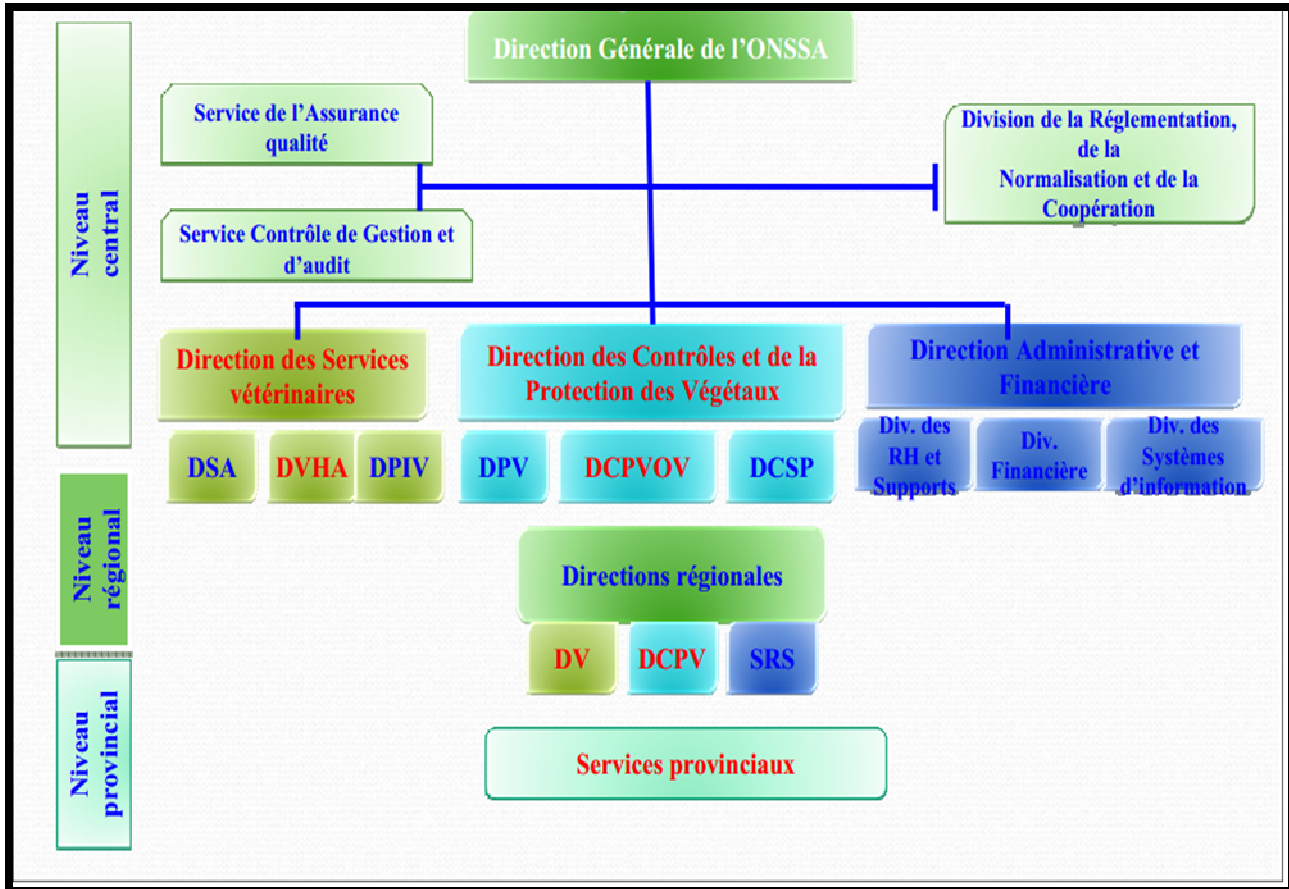
Le troisième chapitre sera consacré à l'étude de contamination en métaux lourds « Pb et Cd » dans les produits de la pêche au Maroc.



Description de l'Office National de Sécurité Sanitaires des Aliments & présentation de service de stage

1) Généralité

Office National de Sécurité Sanitaire des Produits Alimentaires (ONSSA) est un établissement public doté de la personnalité morale et de l'autonomie financière créé par la loi n° 25-08 et placé sous la tutelle de l'Etat. Il exerce pour le compte de l'Etat les attributions relatives à la protection de la santé du consommateur et à la préservation de la santé des animaux et des végétaux. Il est appelé à appliquer la politique du gouvernement en matière de sécurité sanitaire des végétaux, des animaux et des produits alimentaires depuis les matières premières jusqu'au consommateur final, y compris les aliments pour animaux.



2) Organigramme

Figure 1: Organigramme de la direction générale de l'ONSSA.

3) Activité et positionnement du LRARC l'unité de stage

Le Laboratoire Régional d'Analyses et de Recherches de Casablanca (LRARC), Créé en 1932, le LRARC fait partie d'un réseau de sept laboratoires régionaux, placés sous la tutelle de l'ONSSA. Il répond aux demandes d'essais de toute la zone centrale du Maroc et à celles du plus important port et aéroport du Royaume. Pour certaines analyses, sa compétence territoriale s'étend à l'ensemble du pays. C'est pourquoi il est considéré comme un outil privilégié de l'ONSSA, aussi bien en matière d'Hygiène Alimentaire qu'en matière de Santé Animale^[3].

a) Les Missions du LRARC



Les missions du laboratoire découlent des attributions générales de l'ONSSA, telles que définies par l'arrêté du MADRPM 3073/94 d'août 1994, à savoir :

- Le diagnostic des maladies animales.
- L'analyse des denrées animales et d'origine animale ainsi que l'alimentation du bétail.
- La réalisation d'analyses dans le cadre d'enquêtes épidémiologiques.

➤ Sur le plan technique :

Le laboratoire Régional d'Analyses et de Recherches de Casablanca est organisé en deux sections : Section Hygiène Alimentaire et Section Santé Animale. Tandis que la Section Hygiène Alimentaire réalise des essais physicochimiques, microbiologiques et toxicologiques concernant une vaste gamme de produits de consommation à caractère alimentaire et industriel, la Section Santé Animale propose les principaux services de bactériologie, de virologie et de sérologie intéressant une large gamme d'objets d'essais provenant de différentes espèces animales^[4].

b) Les différentes prestations analytiques fournies par le LRARC :

➤ En Hygiène alimentaire :

- ↻ Le dénombrement et la recherche de différents germes pathogènes dans les denrées alimentaires d'origine animale (produits de la pêche, produits laitiers, produits carnés,...).
- ↻ Le dosage d'histamine dans les échantillons de poissons.
- ↻ Le dosage des composants d'aliments pour animaux (protéines, cellulose, matières grasses, calcium...).
- ↻ La recherche de polluants chimiques (Mercure, plomb, cadmium, hydrocarbures).
- ↻ La recherche des Mycotoxines (Aflatoxines, Ochratoxines) dans les aliments pour animaux.

- ↻ La recherche des biotoxines marines (toxines paralytiques, toxines diarrhéiques, toxines amnésiques) dans les coquillages.

➤ En Santé Animale :

- ↻ Le diagnostic et le contrôle à l'importation et à l'exportation des maladies animales (Salmonellose, Mycoplasmoses, Rage, Brucellose, Artérite virale équine, Dourine, Morve,



Anémie Infectieuse, Influenza Aviaire, Métrite Contagieuse ...) à travers des tests microbiologiques ou sérologiques.

- ↳ La réalisation des essais lors d'enquêtes épidémiologiques pour le compte de la Direction de l'Elevage dans le cadre de la surveillance du cheptel national.

Les analyses officielles sont effectuées sur des prélèvements opérés par les médecins vétérinaires des services vétérinaires régionaux, communautaires ou municipaux et des postes frontières. Ces prélèvements sont réalisés soit à l'importation, soit à l'exportation ou au niveau de la distribution du produit.

Le LRARC procède à l'analyse des échantillons et à l'interprétation des résultats par rapport à la réglementation nationale. A défaut, il fait appel à la réglementation des pays importateurs pour les produits exportés ou à la réglementation internationale.

Des analyses privées sont également effectuées pour le compte des professionnels ou des particuliers. Il peut s'agir d'un autocontrôle de marchandise, de la vérification de la composition d'un produit (aliments de bétail), de la confirmation d'un diagnostic, etc...

Les diverses activités du laboratoire lui ont permis de s'ouvrir sur le monde professionnel et économique et génèrent de plus des recettes non négligeables. Le LRARC est donc au service à la fois des pouvoirs publics, des consommateurs et des professionnels.

b) Moyens humains et Matériels :

➤ Moyens humains :

L'ensemble du personnel travaillant au LRARC a un statut de fonctionnaire public. L'effectif est de 29 personnes (16 cadres supérieurs, 5 agents de maîtrise, 8 agents d'exécution) aux profils divers : Médecins Vétérinaires, Docteur d'Etat des Sciences, Docteurs Universitaires, Ingénieurs en Industrie Agroalimentaire, Universitaires Biologistes, Techniciens, Agents de services et Secrétaires.

Dans le cadre de la mise sous assurance qualité, le personnel du laboratoire est sensibilisé et conscient des exigences du client. Il veille donc, selon ses compétences et sa responsabilité, au respect et à l'application des procédures de travail, dans le cadre des tâches qui lui sont



confiées, l'organisation générale du laboratoire permet une bonne gestion de l'information entre la Direction et les Collaborateurs et assure une souplesse et une cohérence de fonctionnement.

➤ Matériels :

Le LRARC dispose de l'ensemble des équipements nécessaires à la réalisation des analyses pour lesquelles il est compétent. Il est pourvu de matériel de mesure, de matériel d'analyses et de matériel intermédiaire lui permettant une bonne exécution des analyses y compris la préparation des objets d'essai, le traitement et l'analyse des données d'essais.

Le LRARC est doté d'équipement de haute technologie : Chromatographe en Phase Gazeuse (CPG) couplée à la spectrométrie de masse, Chromatographe en Phase Liquide (HPLC), Spectrofluorimètre, Spectrophotomètre UV, Spectrophotomètre d'Absorption Atomique (SAA), ICP PCR conventionnelle et PCR en temps réel, Postes de Sécurité Microbiologique (PSM), incubateurs, congélateurs et réfrigérateurs ainsi que fours à mouffles, bains marie et balances.

d) Compétence et qualité :

Avec ses moyens humains et matériels, le LRARC propose des prestations de qualité dans ses différents domaines de compétence, de la microbiologie alimentaire à la biologie médicale et vétérinaire en passant par la chimie et la toxicologie.

Conscient de l'importance de ses missions, le Laboratoire Régional d'Analyses et de Recherches de Casablanca s'est engagé dans une politique volontariste de mise sous "Management Qualité" en vue de l'accréditation de ses activités d'analyse selon la norme ISO/CEI 17025. Le laboratoire travaille donc au quotidien à la maîtrise du système de management de la qualité et à l'amélioration continue de la qualité de ses services, pour la plus grande satisfaction de ses clients [4].



Chapitre II

Etude bibliographique



I. Les métaux lourds “plomb & cadmium”:

L'histoire des métaux lourds n'a pas été écrite. Et pourtant, ils paraissent étroitement liés à la civilisation. L'or, l'argent, le cuivre ont permis de fabriquer les premières pièces de monnaie. Sans métaux lourds, il n'y aurait pas eu de distribution d'eau potable à Rome par les canalisations en plomb. Ni peintures, car les peintures anciennes ont résisté au temps grâce aux métaux incorporés aux pigments, ni vitraux dans les cathédrales, ni miroirs, étamés d'un amalgame d'étain et de mercure... L'homme a utilisé les métaux lourds et continué à les utiliser. Parfois avec excès, souvent avec inconscience. Ou pire, en toute conscience. Si les métaux lourds ont fait la civilisation, ils peuvent aussi la défaire Car les métaux lourds sont aussi des toxiques puissants.

1) Définition :

On appelle métaux lourds en général les éléments métalliques naturels caractérisés par une masse volumique importante supérieure à 5 grammes par centimètre cube (cm^3), doté d'un éclat particulier, bon conducteurs de chaleur, ayant des caractéristiques de dureté et de malléabilité^[5]. Le terme ‘métaux lourds’ est abusif car il concerne aussi des éléments non métalliques (Arsenic et fluor par exemple) et/ou des éléments non spécifiquement lourds (le zinc par exemple). Le point commun entre éléments métalliques et éléments non métalliques trouvés au sein des aérosols est qu'ils sont présents en faible quantité, à l'état de trace. D'où le terme moins communément répandu mais plus approprié d'éléments traces métalliques' (ETM) ou ‘éléments traces’.

Dans le tableau périodique des éléments, on compte Quarante et un métaux correspondent à cette définition générale auxquels il faut ajouter cinq métalloïdes Ces métaux sont présentés dans le tableau ci-après. Tous ces métaux lourds ne sont pas surveillés et ne se doivent pas d'obéir en termes d'émission à une quelconque législation. Seuls 15 métaux sont règlementés sur les émissions atmosphériques, le plomb, le cadmium, l'aluminium, le chrome, le nickel, le mercure, le zinc, le fer etc.... pour n'en citer que quelques uns. En fonction des réservoirs environnementaux



surveillés(sols, nappes phréatiques, atmosphère ...), les métaux lourds surveillés et légiférés varient en nature et en nombre, rendant la terminologie de métaux lourds d'autant plus confuse.

Les éléments trace métalliques sont présents dans le milieu naturel au sein des réservoirs géologiques, dans les minerais. Ils y sont présentent très grande quantité. Parmi tous ces éléments traces, certains sont utiles à la vie en faible quantité, mais deviennent très nocifs à dose plus importante. Le plomb et le cadmium, quant à eux sont préjudiciables quelle que soit la dose. On trouve dans les aérosols les éléments trace métalliques soit sous forme d'alliage ou sous forme de sels métalliques (combinaison avec des anions de type nitrate, sulfate, chlorure ou hydroxyde après oxydation de l'élément métallique). Ces sels métalliques confèrent un caractère soluble aux ETM, rendant ainsi l'aérosol potentiellement condensable.

Tableau 1: Le tableau périodique des éléments^[5]

- Les éléments avec une bordure continue grise peuvent être trouvés naturellement sur Terre, sous la forme d'un ou plusieurs isotopes stables ou quasi-stables (demi-vie > 50 millions d'années).
- Les éléments avec une bordure en tirets noirs apparaissent naturellement lors de la désintégration d'autres éléments chimiques, mais n'ont pas d'isotope plus ancien que la Terre.
- Les éléments avec une bordure en pointillés bleus sont artificiels (éléments synthétiques).

Le cercle indique les éléments cités comme toxiques pour l'homme et l'environnement dans divers documents

1	H																	He
2	Li	Be											B	C	N	O	F	Ne
3	Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar
4	K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
5	Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
6	Cs	Ba	*	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn
7	Fr	Ra	**	Rf	Db	Sg	Bh	Hs	Mt	Ds	Rg	Cn	Uut	Fl	Uup	Lv	Uus	Uuo
* Lanthanides		57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71		
		La	Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu		
** Actinides		89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103		
		Ac	Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr		

Métalloïdes	Non-métaux	Halogènes	Gaz nobles
Métaux alcalins	Métaux alcalino-terreux	Métaux de transition	Métaux pauvres
	Lanthanides	Actinides	



2) Caractéristiques physico-chimique :

a) Cadmium :

Le cadmium est un métal bleuté, mou et malléable de couleur argentée avec des teintes de bleu, lustré. Il ternit au contact de l'air et réagit avec les acides et les bases. Lors de l'ébullition du Cadmium, il se dégage des vapeurs jaunes qui sont toxiques et dangereuses pour la santé. Le cadmium appartient au sous-groupe IIb (qui comprend également le zinc et le mercure) dans la série de transition du tableau périodique des éléments^[6].

L'état le plus stable dans la nature est le Cd^{+2} qui permet une grande solubilité des lipides, une importante bio accumulation et par conséquent un fort degré de toxicité qui résulte essentiellement de la ressemblance du métabolisme du Cd avec celui du Zn : le Cd remplace le Zn dans de nombreuses réactions^[7].

b) Plomb :

Le plomb est un métal gris bleuâtre malléable. Il en existe quatre isotopes naturels ^{204}Pb , ^{206}Pb , ^{207}Pb et ^{208}Pb . Leur abondance relative dans la nature est respectivement de 1,48 %, 23,6 %, 22,6 % et 53,6 %, mais leurs proportions dans les matériaux varient, en fonction de la source, ce qui peut être utilisé pour identifier l'origine d'une contamination par le plomb^[8].

Le plomb élémentaire a une faible conductivité électrique et sa masse élevée lui confère un important pouvoir d'absorption des rayonnements X, et électromagnétiques.

NB : Les principales propriétés physico-chimiques du plomb et de Cadmium sont résumées dans le Tableau suivant :

Tableau 2:
propriétés et
du Plomb et de
^[6]

	Plomb	cadmium
Masse atomique	270	112
Masse volumique	11,35 g/cm ³	8,6 g/cm ³
Température de fusion	327°	320,9°
Température d'ébullition	1.740°	765°
Symbole chimique	Pb	Cd
Minerai d'origine	Galène	Scories du zinc

**Propriétés
chimiques
Cadmium**



3) Sources de production :

Les sources des métaux lourds peuvent être d'origine naturelle et d'origine anthropique. En effet, laplupart des 'métaux lourds' sont des éléments constitutifs de la croûte terrestre présents au sein desminerais. Ils sont aussi très présents dans les sédiments océaniques. Les éléments métalliques sontfixés dans la roche sous deux formes : les oxydes et silicates qui sont très peu altérables et lessulfures et carbonates qui sont très altérables du fait de leur solubilité. Les éléments métalliques seretrouvent dans tous les compartiments de l'environnement du fait d'échanges permanents entre lesréservoirs. D'un point de vue atmosphérique, ils peuvent être mis en suspension en plus ou moinsgrande quantité soit par érosion éolienne soit au cours d'éruptions volcaniques, soit lors del'exploitation des minerais.

Les sources anthropiques les plus importantes sont les activités faisant appel à la combustion de fioullourd ou de combustibles minéraux, les incinérateurs de déchets, les industries manufacturières detype fonderie, usines métallurgiques pour les métaux ferreux et non ferreux, l'érosion des caténairedans le transport ferroviaire et l'érosion des plaquettes dans tout système de freinage. Les activités derecyclage de produits en fin de vie contenant des métaux lourds (comme les batteries automobiles parexemple) émettent aussi de grandes quantités d'ETM^[2].

Les 'métaux lourds' les plus règlementés sont le plomb, le cadmium, l'arsenic, le Mercure et le nickel enconséquence de quoi ils sont aussi les plus mesurés. Dans la suite, seules le plomb, et le Cadmium seront présentés et discutées.

a) Cadmium :

➤ Sources d'exposition

↳ Sources naturelles



Le cadmium est un élément naturel présent dans la croûte terrestre à concentration moyenne de 0.2 ppm. Il se trouve associé généralement avec le Zn dans les minerais des carbonates et des sulfures. Il peut se constituer suite à une altération et une érosion des roches cadmifères et constituer également un produit de raffinage des autres métaux ^[7]: Cu, Pb, Zn.

↳ Sources anthropogéniques :

Le cadmium est très utilisé en électronique : sa forte résistance contre la corrosion et son apparence brillante lui confèrent une large utilisation dans l'industrie des automobiles, des avions, des navires, dans le domaine des constructions et des moyens de communications...etc. Les sulfures de Cd sont utilisés comme colorants dans les diverses industries : plastiques, céramique, peintures et textiles. Le Cd est aussi un produit de base dans l'industrie des batteries grâce à sa parfaite réversibilité lors des réactions électrochimiques sur un large intervalle de température, sa faible vitesse d'autodécharge et sa récupération facile à partir des batteries usées.

b) Plomb :

Le plomb est, sans nul doute, l'un des métaux qui a été le plus anciennement et le plus largement utilisé par l'homme : c'est l'un des éléments des pigments retrouvés dans les tombes néandertaliennes moustériennes (40 000 ans avant Jésus-Christ) ; il est présent dans des objets décoratifs provenant de sites néolithiques anatoliens, 6 200 ans avant Jésus-Christ ; il était utilisé par les Égyptiens et les Hébreux, 4 000 ans avant Jésus-Christ et les Phéniciens ont commencé à l'extraire en Espagne environ 2 000 ans avant notre ère^[8].

➤ Sources d'exposition

↳ Sources naturelles

Le plomb est assez abondant dans la croûte terrestre où sa concentration moyenne est comprise entre 10 et 20 mg/kg. Les principaux minerais sont la galène (sulfure), la cérussite (carbonate) et l'anglésite (sulfate). Dans le minerai, le plomb est souvent associé à l'argent et au zinc. L'antimoine, l'arsenic, le bismuth et le cuivre sont d'autres éléments fréquemment présents dans les minerais de plomb. Les principales sources de ces minerais sont les émissions volcaniques. La production de plomb peut aussi résulter de la décomposition radioactive de l'Uranium, du Thorium et du Radon, mais c'est une source naturelle mineure de cet élément.



↳ Sources anthropogéniques :

La consommation mondiale de plomb n'a pas cessé d'augmenter depuis le Moyen Age. Depuis deux décennies, elle a tendance à se stabiliser dans les pays développés, mais elle augmente rapidement dans les pays en voie de développement.

Note :

Le Maroc est classé 9^{ème} producteur du plomb au niveau mondial, derrière l'Afrique du Sud et devant Kazakhstan. Le Maroc livre en moyenne 100 kilotonnes de concentrés et 70 kilotonnes de métal primaire par an. Les réserves ne présentent cependant que 0,5 million de tonnes, soit 0,77% des réserves mondiales^[5].

4) Les risques toxicologiques des métaux lourds :

Grâce à de nombreuses recherches scientifiques, l'exposition permanente et à petites doses de l'être humain à des métaux lourds tels que le cadmium, et le plomb est de plus en plus reconnue comme l'un des cofacteurs de certaines maladies neurologiques, cardio-vasculaires et auto-immunes.

- **Toxicité aiguë due au Pb:** elle se produit par inhalation ou par absorption du Pb dans des situations accidentelles et provoque : troubles digestifs, lésions tubulaires, atteintes hépatiques, atteintes cardio-vasculaires et lésions au niveau du système nerveux central se manifestant cliniquement par une encéphalopathie convulsive et un coma pouvant conduire à la mort.

- **Toxicité chronique au Pb :** engendre une diminution de la fertilité, la mortalité chez les fœtus et avortements spontanés, des atteintes neurologiques, des atteintes cardiovasculaires et peut présenter des pouvoirs mutagènes et cancérogènes.

- **Toxicité aiguë due au Cd :** Une exposition de courte durée à de fortes concentrations de poussières ou de fumées, de composés de cadmium est responsable de troubles gastro-intestinaux (nausées, vomissements, diarrhée...) Ces troubles peuvent, dans les cas sévères, se compliquer d'une déshydratation grave de l'organisme. De même qu'elle peut provoquer des troubles pulmonaires graves.



• **Toxicité chronique due au Cd** : Des expositions prolongées et à de faibles doses survenant suite à une ingestion du cadmium dans l'alimentation, le tabagisme ou l'exposition professionnelle engendrent l'accumulation de cadmium dans les reins et l'augmentation du risque de cancérogénicité des sels de cadmium.

5) Réglementation

La toxicité des métaux lourds a conduit les pouvoirs publics à réglementer les émissions en fixant des teneurs limites. Cette réglementation n'est cependant d'aucun secours pour déterminer sans ambiguïté une liste de métaux à surveiller car la liste varie selon les milieux considérés : émissions atmosphériques, rejets dans l'eau, règles sur l'épandage des boues ou la mise en décharge^[9] ...,

La concentration des ML augmente chez les animaux prédateurs, d'un maillon à l'autre de la chaîne alimentaire selon un phénomène de bioamplification.

Cette étude consiste à élucider l'effet de la pollution chimique marine sur les taux en métaux lourds, le plomb et le Cadmium, et issues de divers organismes marins et à les déterminer les niveaux de contamination tout le long de la côte marocaine méditerranéenne et atlantique.

Tableau 3: Teneurs maximales retenues pour le Cadmium et le Plomb dans les produits de la pêche selon le règlement (CE) n° 629/2008^[9]

Analyte recherche	Référence réglementaire	Matrice	Limite maximale de référence mg/kg (poid frais)
		Chair musculaire de poisson, l'exclusion des espèces de poissons répertoriées si après.	0,05



Cd	Réglementation 629/2008(CE)	Chair musculaire (25)de: bonite (Sarda sarda) sar à tête noire (Diplodus vulgaris) anguille (Anguilla anguilla) anchois (Engraulis encrasicolus) mullet lippu (Mugil labrosus labrosus) chinchard (Trachurus trachurus) louveteau (Luvarus imperialis) sardine (Sardina pilchardus) sardinops (Sardinops species) thon (Thunnus et Euthynnus species) céteau ou langue d'avocat (Dicologlossa cuneata).	0,1
		Crustacés, à l'exceptionde la chair brune de crabe et à l'exceptionde la tête et de la chair du thorax du homard et des crustacés de grande taille semblables (Nephropidae et Palinuridae)	0,5
		Mollusques bivalves	1,0
		Céphalopodes (sans viscères)	1,0
Pb	Réglementation 629/2008(CE)	Chair musculaire de poisson à l'exclusion des espèces de poissons répertoriées au point.	0,2
		Chair musculaire (25)de: bonite (Sarda sarda) sar à tête noire (Diplodus vulgaris) anguille (Anguilla anguilla) mullet lippu (Mugil labrosus labrosus) grondeur (Pomadasys benneti) chinchard (Trachurus trachurus) sardine (Sardina pilchardus) sardinops (Sardinops species) bar tacheté (Dicentrarchus punctatus) thon (Thunnus species et Euthynnus species) céteau ou langue d'avocat (Dicologlossa cuneata).	0,4
		Crustacés, à l'exceptionde la chair brune de crabe	0,5
		Mollusques bivalves	1,5
		Céphalopodes (sans viscères)	1,0

Tableau 4: Limite maximale dans les produits de la pêche selon le Règlement 466/2001 (CE) portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires^[10]

Analyte recherche	Référence réglementaire	Matrice	Limite maximale de référence
--------------------------	--------------------------------	----------------	-------------------------------------

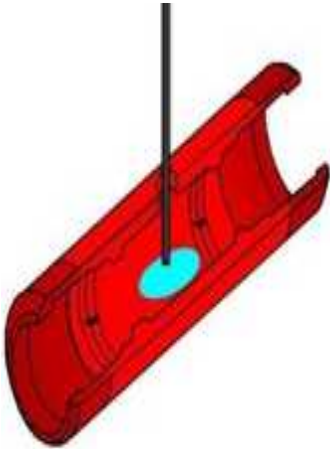


Cd	Réglementation 466/2001 (CE) portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires	Chair musculaire de poissons, à l'exclusion des espèces ci-dessous	0,05mg/kg (poidfrais)
		Anchois, bonite, sardine à tête noire, thon, céteau.	0,1 mg/Kg (poid frais)
		Espadon (<i>Xyphias gladius</i>)	0,3mg/Kg (poid frais)
		Céphalopodes éviscérés	1mg/Kg (poids frais)
Pb	Règlement 466/2001(CE) portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires	Produits de la pêche exceptés les poissons de la liste ci-dessous	0,2mg/Kg (poids frais)
		Sar à tête noire, chinchard, Sardine, bar tacheté.	0,4mg/Kg (poids frais)
		Crustacés (à l'exception de la chair brune de crabe et à l'exception de la tete et des crustacés de grande taille semblable).	0,5mg/Kg (poids frais)
		Céphalopodes éviscérés	1mg/Kg (poids frais)

II. La spectroscopie d'absorption atomique à four graphite:

1) Généralité et Principe:

a) Principe :



Cette technique complémentaire de la flamme est apparue dans les années 1970, mais a réellement été exploitée dans les laboratoires de routine après 1980. Afin d'améliorer sensiblement les limites de dosage de la technique flamme, l'atomiseur est remplacé par un micro-four en graphite chauffé par effet joule à l'aide d'un module de programmation en température. L'échantillon est déposé directement dans l'atomiseur sous forme liquide, en micro-quantité (5 à 50 μl selon sensibilité recherchée) comme le montre la figure ci-contre ; le programmeur de température va faire subir au tube, donc à l'échantillon, un cycle commençant par une dé-solvatation, puis une minéralisation ou calcination, et enfin une montée brutale à la température d'atomisation de l'élément analysé^[11]. La mesure du signal transitoire obtenu est une intégration (le plus souvent en surface) du pic. Le gain en sensibilité par rapport à la flamme s'explique par la très grande densité d'atomes obtenue, compte tenu de l'injection directe de l'échantillon dans un espace très confiné, contrairement à la flamme. Le revers de la médaille est le temps de mesure, qui passe au moins à 1mn 30, ce qui conduit à un résultat moyenné sur 3 lectures par échantillon à 4mn 30 au lieu de 30s pour la flamme ! La conséquence est qu'il est impossible d'imaginer d'analyser par exemple plus de 4 éléments sur 20 échantillons dans une même journée de 8 h....

❖ **Cette méthode présente de nombreux avantages:**

- Elle est très sélective, il n'y pas d'interférences spectrales ou alors elles sont connues.
- La technique est simple si on sait préparer les solutions initiales.
- Elle est très documentée : tous les pièges sont connus et répertoriés dans le COOK BOOK livré avec l'appareil!

❖ **Cependant, on peut noter un certain nombre de limites :**

- Pour des raisons technologiques et non de principe, certains éléments, comme les gaz rares, les halogènes... ne peuvent être analysés par spectrométrie, leur énergie d'absorption n'étant pas comprise entre 180 et 1000 nm).
- Les concentrations doivent être à l'échelle de traces afin de rester dans le domaine de linéarité de la loi de Beer-Lambert, car sa dynamique est limitée.

- L'existence d'interférences chimiques sévères complique parfois (exemple:calcium/phosphore).

2) Appareillage et fonctionnement :

L'appareil est schématisé ci-dessous :

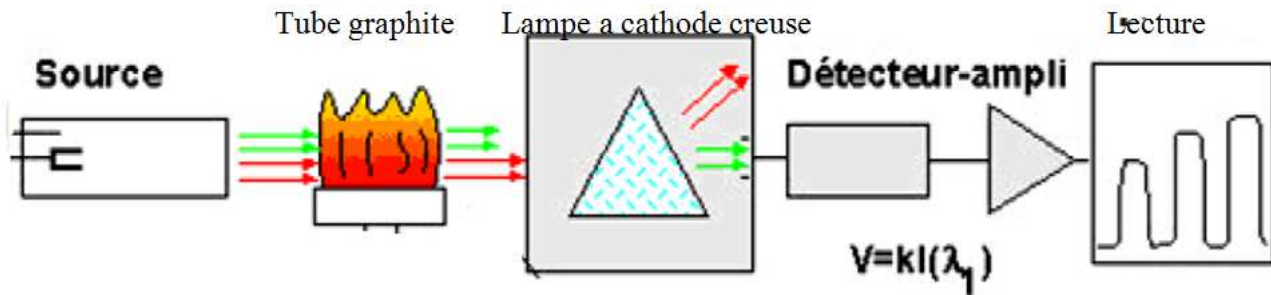


Figure 2 :Principe de l'appareil

• SAA four :

Un atomiseur électrothermique fournit une grande sensibilité parce qu'il atomise l'échantillon rapidement. L'atomisation se produit dans un four de graphite cylindrique, ouvert aux deux extrémités et qui contient un trou au centre pour la présentation des échantillons. Une fois que l'élément à doser est dissocié, on mesure alors son absorption sur des longueurs d'onde caractéristiques^[12].

Tableau 5: Programme thermique du plomb et Cadmium

Etapes	Température de travail (°C)	Temps (s)
Séchage	85	30
Séchage	120	60
Minéralisation (Calcination)	700	20
Atomisation	1700	3
Nettoyage	2000	10

- **La lampe à cathode creuse :**

La lampe à cathode creuse est constituée par une enveloppe de verre scellée et pourvue d'une fenêtre en verre ou en quartz contenant une cathode creuse cylindrique et une anode. La cathode est constituée de l'élément que l'on veut doser. Un vide poussé est réalisé à l'intérieur de l'ampoule qui est ensuite remplie d'un gaz rare (argon ou néon) sous une pression de quelques mm d'Hg.

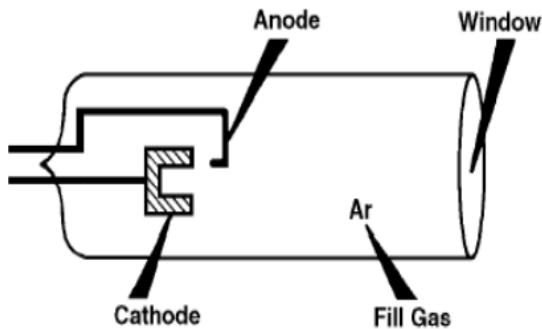


Figure 3: Principe et photographie d'une lampe à cathode creuse

Elle est constituée :

- ✓ D'un cylindre creusé à l'une de ses extrémités et fait du métal dont on veut produire le spectre d'émission ; la cathode.
- ✓ D'une anode.
- ✓ D'une enceinte scellée en verre avec une fenêtre la plus transparente possible aux Longueurs d'onde considérées; cette enceinte est remplie d'argon (Ar) ou de néon (Ne) à basse pression (Quelques Pa).

- **Détecteur photomultiplicateur :**

Permettant la détection de photons. Il se présente sous la forme d'un tube électronique. Sous l'action de la lumière, des électrons sont arrachés d'un métal, par effet photoélectrique, à une photocathode, le faible courant électrique ainsi généré est amplifié par une série de dynodes utilisant le phénomène d'émission secondaire pour obtenir un gain important. Ce détecteur permet de compter les photons individuellement. Il est sensible de l'ultraviolet à l'infrarouge proche, le temps de réponse est de l'ordre de la nanoseconde (10^{-9} seconde).

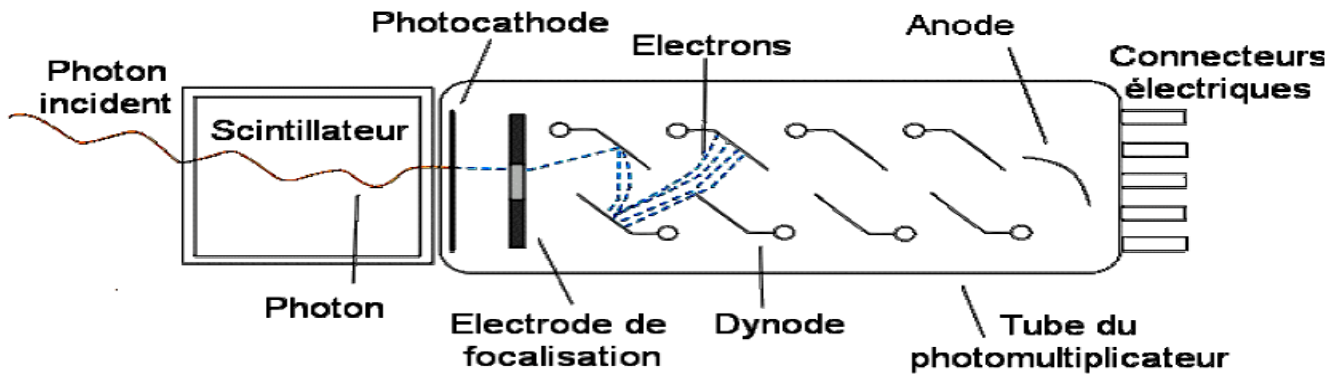


Figure 4 :Principe du photomultiplicateur

3) Application de la SAA-FG à l'analyse

- La loi d'absorption en absorption atomique :

L'intensité de l'absorption dépend directement du nombre de particules absorbant la lumière selon la loi de Beer-Lambert selon laquelle l'absorbance est proportionnelle au coefficient d'absorption spécifique, au trajet optique et à la concentration.

$$A_{\lambda} = CL\varepsilon_{\lambda} \text{ OÙ } A = \log I_0/I.$$

Avec :

A_{λ} : l'absorbance.

C : La concentration

L : La longueur de trajet optique dans la solution traversés.

ε_{λ} : Coefficient d'extinction molaire.

I = Intensité après absorption par les atomes

I_0 = Intensité initiale de la source lumineuse.

III. Outils statistiques : la Validation et l'estimation de l'incertitude de mesure :

1) Définition et réglementation :



a) La validation :

i. Définition :

L'objectif de la validation des méthodes d'essai est de prouver qu'une méthode d'essai donnée livre des résultats permettant ainsi de vérifier le respect de spécifications préétablies.

Dans le cadre de la validation des méthodes d'essai physico-chimiques, l'identification et l'élimination des erreurs systématiques (justesse) et la réduction de la dispersion des résultats des mesures (fidélité) sont au premier plan.

Une validation n'est pas une opération que l'on effectue une fois pour toutes. Plus une méthode est employée, plus le nombre d'échantillons étudiés augmente. Avec l'expérience, la dispersion des résultats diminue souvent, tout comme les intervalles de confiance des cartes de contrôle et l'incertitude de mesure. Les travaux de validation décrits dans ce document répondent aux exigences minimales de l'accréditation.

Plus les conséquences d'un résultat sont importantes, plus la rigueur de la validation doit être poussée ^[13].

ii) Réglementation Selon la NF ISO CEI 17025-2005:

- ❖ La validation est la confirmation par examen et l'apport de preuves objectives du fait que les exigences particulières en vue d'une utilisation prévue déterminée sont remplies.
- ❖ Le laboratoire doit valider les méthodes non normalisées, les méthodes conçues/développées par le laboratoire, les méthodes normalisées employées en dehors de leur domaine d'application prévu, ainsi que les amplifications ou modifications de méthodes normalisées, afin de confirmer que les méthodes sont aptes à l'emploi prévu. La validation doit être aussi étendue que l'impose la réponse aux besoins pour l'application ou le domaine d'application donné. Le laboratoire doit consigner les résultats obtenus, le mode opératoire utilisé pour la validation, ainsi qu'une déclaration sur l'aptitude de la méthode à l'emploi prévu ^[15].

iii) La nouvelle norme NF T90-210 (Mai 2009) :



La norme AFNOR NF T90-210 (Mai 2009) propose pour le domaine de la qualité de l'eau une nouvelle définition de la LQ à partir d'exigences de performances de la méthode à ce niveau. Les définitions suivantes sont proposées dans la norme :

- Exactitude : étroitesse d'accord entre des résultats et la valeur de référence acceptée. Le terme « exactitude » appliqué à un ensemble de résultats, implique une combinaison de composantes aléatoires (fidélité) et d'une erreur systématique commune ou d'une composante « biais » (justesse).
- Limite de quantification de la méthode : plus petite grandeur d'un analyte à examiner dans un échantillon pouvant être déterminée quantitativement dans des conditions expérimentales décrites dans la méthode avec une exactitude définie.

b) L'estimation de l'incertitude de mesure :

i) Définition :

L'incertitude de mesure est un « paramètre, associé au résultat d'un mesurage, qui caractérise la dispersion des valeurs qui pourraient raisonnablement être attribuées au mesurande »^[16].

ii) Réglementation :

L'estimation de l'incertitude de mesure associée à un résultat d'analyse commence par la description du processus d'analyse avec la définition du mesurande et la description de la méthode d'analyse quantitative, ensuite l'analyse du processus de mesure. Quelque soit l'approche utilisée, le laboratoire doit exprimer l'incertitude de mesure associée à un résultat d'essai en précisant l'approche utilisée. Dans notre cas l'approche utilisée pour estimer l'incertitude de mesure est « l'utilisation des valeurs de reproductibilité intra laboratoires issues du suivi du contrôle interne »^[16].

2) Normes de l'estimation de l'incertitude de mesure

La norme NF ISO 11532 [02 Fév. 2013] :

La présente Norme internationale spécifie des méthodes pour l'estimation de l'incertitude de mesure des méthodes chimiques et physicochimiques dans les laboratoires,



basée sur les données de validation et sur les résultats du contrôle qualité analytique obtenus dans le domaine de l'analyse de l'eau.

La norme NF T90-220 [Août. 2003] :

L'objectif de cette norme est de décrire quatre approches possibles pour estimer l'incertitude de mesure associée à un résultat d'analyse en les illustrant par des exemples concrets issus de différents laboratoires et en montrant l'exploitation complémentaire que l'on peut faire de ces différentes approches.

3) Critères de l'estimation de l'incertitude :

D'après la NF ISO 11352 & NF T90-220 on a trois approches permettant d'estimer l'incertitude associée au biais de la méthode et du laboratoire sont présentées:

- 1) Analyse de matériaux de référence appropriés.
- 2) Participation à des comparaisons inter laboratoires.
- 3) Etudes de rendement avec des échantillons appropriés.

Dans le présent travail on va procéder selon la première approche L'analyse de matériaux de référence appropriée pour l'estimation de l'incertitude associée au biais de la méthode et de laboratoire.

Les résultats obtenus lors de l'analyse régulière de matériaux de référence appropriés peuvent servir à estimer la composante d'incertitude associée au biais de la méthode et du laboratoire, u_b . Par conséquent, il convient que chaque matériau de référence ait été analysé dans au moins six séries d'analyses.

NOTE 1 : Il est reconnu que, bien que l'analyse des matériaux de référence dans au moins quatre séries d'analyses puisse être appropriée dans la majorité des cas, elle ne l'est pas dans certaines situations. Plus le nombre de résultats est élevé, plus le niveau de confiance dans l'estimation augmente.

Pour obtenir une estimation fiable de la composante d'incertitude associée au biais de la méthode et du laboratoire, u_b , il est conseillé d'utiliser plusieurs matériaux de référence couvrant le domaine d'application de la méthode analytique (différentes matrices et différents niveaux de concentration).



Si plusieurs matériaux de référence sont utilisés, des valeurs différentes sont obtenues pour le biais et sont utilisées pour calculer la composante d'incertitude b_{rms} . La

composante d'incertitude type composé u_c , est donnée par: $u_c = \sqrt{u_{R_w}^2 + u_b^2}$

Où

u_b^2 : Composante d'incertitude-type associée au biais de la méthode et du laboratoire

$u_{R_w}^2$: Composante d'incertitude-type de la reproductibilité intra laboratoire données par :

$$u_{R_w}^2 = \frac{S_{R_w}}{\bar{x}}$$

Dans laquelle

S_{R_w} : Ecart-type des résultats du contrôle qualité

\bar{x} : La moyenne des résultats du contrôle qualité.

Si les valeurs individuelles du biais et les incertitudes des valeurs de référence varient de façon significative, il peut être nécessaire d'estimer séparément les incertitudes correspondant aux différents cas.

Dans notre cas on a utilisé un seul matériau de référence, la composante d'incertitude associée au biais de la méthode et du laboratoire est donnée par:

$$u_b = \sqrt{b^2 + \left(\frac{S_b}{\sqrt{n_M}}\right)^2 + u_{C_{\text{réf}}}^2}$$

Où

b : Est la différence entre la valeur moyenne mesurée et une valeur consensuelle de référence;

S_b : Est l'écart-type des valeurs mesurées pour le matériau de référence;

n_M : Est le nombre de mesurages du biais sur le matériau de référence;

$u_{C_{\text{réf}}}$: Est l'incertitude sur la valeur de référence.





Chapitre III

Etude de contamination par les métaux lourds « Pb et Cd » dans les produits de la pêche au Maroc

Introduction :

L'objectif de cette étude est de doser par Spectrométrie d'Absorption Atomique à Four Graphite les Métaux lourds, Plomb et Cadmium, dans quelques espèces des produits de la pêche au Maroc.

Ensuite on a procédé par une estimation de l'incertitude de mesure de méthode de dosage des métaux lourds, en se basant sur les données de validation, et sur les résultats du contrôle qualité analytique obtenus dans le domaine de l'analyse des ML, selon les normes internationales la NF ISO 11352 NF T90-220.

C'est la validation qui doit démontrer avec un degré de certitude et preuve, que ces résultats répondent au problème de manière satisfaisante pour l'utilisateur.



Dans ce qui suit les calculs sont effectués sur une macro Excel développé par le président de la NF ISO 11352 & NF T90-220.

I. Matériels et méthodes :

1) Méthode de travail :

La validation analytique de la méthode de dosage des ML est réalisée par la vérification des critères suivants : la fonction d'étalonnage (linéarité), la justesse, l'exactitude, puis la détermination de la limite de détection et la limite de quantification. Ensuite une estimation de l'incertitude de mesure de la méthode de dosage, en se basant sur les données de validation et sur les résultats du contrôle qualité.

a) Méthode de minéralisation des métaux lourds :

D'après la méthode admise par le laboratoire il s'est avéré que la méthode de minéralisation des métaux lourds par un digesteur à micro-onde est préférable.

La minéralisation des métaux lourds passe par quatre étapes : l'homogénéisation, la minéralisation, la récupération et l'analyse par SAA-FG. Premièrement on procède par passé les échantillons dans un hachoir pour bien homogénéiser les fractions de l'échantillon (Les différentes parties du corps de poisson), puis on pèse 0.5g de la chair du poisson haché, puis on ajoute à ces PE 5ml de l'acide nitrique et 2ml de l'eau oxygénée pour une minéralisation totale de la matière organique puis on passe le mélange par un digesteur à micro-onde pendant 45min dans une température varie de 120°C à 140°C. Après 45min on récupère le mélange dans des fioles jaugées de 50 ml et on complète au trait de jauge par l'eau distillée. Enfin on passe les échantillons pour l'analyse par la Spectrométrie d'Absorption Atomique à Four Graphite pour la détermination de la teneur en métaux lourds déjà existante dans les fractions des échantillons.

b) La fonction d'étalonnage (Linéarité) :

La linéarité est étudiée durant 5 jours sur une échelle de concentration de 0 à 0,012 mg/kg dans le cas du plomb à partir d'une solution standard certifiée, et d'une échelle de concentration de 0 à 0,006 mg/kg (ppm) dans le cas du Cadmium à partir d'une solution standard certifiée.

Dans un premier temps, on a préparé une gamme d'étalon aux concentrations 0 ; 0,002 ; 0,004 ; 0,006 ; 0,012 ppm pour le Plomb et 0 ; 0,002 ; 0,003 ; 0,004 ; 0,006 ppm pour le



Cadmium afin de couvrir l'intervalle de détection du Pb, selon les normes internationales reconnues et pour déterminer la concentration de chaque éléments toutes en tenant compte de l'utilisation des performances de l'appareil.

c) La limite de quantification :

On a pris un échantillon dont dix séries avec deux répétitions par jour on a suivi le protocole cité précédant et on a déterminé la valeur de la limite de quantification puis on a déterminé la limite de détection par $LD = 3 \cdot \text{écart type}$.

d) L'exactitude et la Justesse :

On a pris deux échantillons (deux niveaux), et on a effectué cinq séries avec deux répétitions par jour pour le niveau 1, et cinq séries avec quatre répétitions par jour pour le niveau 2, on a suivi le protocole cité précédemment, puis on a injecté dans la SAA-FG. Les résultats obtenus seront utilisées pour déterminer l'exactitude, la justesse et la fidélité de la méthode.

2) Matériels (Les échantillons utilisés):

Les échantillons utilisés pour l'expérience de contrôle qualité et les zone de prélèvement et les teneurs en Métaux lourds, Plomb et Cadmium. Obtenu par spectrométrie d'absorption atomique à four graphite sont regroupé dans le tableau -22- suivant :

Les échantillons utilisés pour l'expérience de la méthode de validation sont :

- Un matériel de référence certifié (MRC : ERM CE278 Mussel tissue) et
- Un échantillon issu d'un EILA, (Essai inter laboratoire d'aptitude).

II. Résultats et discussions:

1) Résultats :

➔ Étude de la fonction d'étalonnage : plan d'expériences de type A (NF T 90-210)

Le plan d'expérience de type A permet d'évaluer une fonction d'étalonnage dans un domaine d'étalonnage par un test d'adéquation ou en comparant les biais relatifs observés à des Ecarts Maximum Acceptables (EMA). Notre plan est formé de Cinq niveaux de concentrations (étalons



indépendants) préparés pendant 5 jours : $p = 5$ et $n = 5$ avec deux répétitions par niveau et jour, ce qui fait un total de $5 \times 5 \times 2 = 50$ essais, pour le Plomb et 50 pour le cadmium.

Le laboratoire souhaite évaluer la fonction quadratique comme choix de fonction d'étalonnage en routine. Cinq étalons de plomb indépendants sont préparés au jour 1 puis au jour 2, ..., au jour 5 : $p = 5$ et $n = 5$.

Le tableau 9 et 10 présente les concentrations de standard certifié injecté dans SAA-FG afin de déterminer la fonction étalonnage des deux éléments Pb et Cd.

Tableau 6: Tableau des concentrations des étalons utilisés lors d'étalonnage du Pb en ppm

Séries	Concentration introduite (ppm)				
	niveau 1	niveau 2	niveau 3	niveau 4	niveau 5
Jour1	0	0,002	0,004	0,006	0,012
jour 2	0	0,002	0,004	0,006	0,012
Jour3	0	0,002	0,004	0,006	0,012
Jour4	0	0,002	0,004	0,006	0,012
Jour5	0	0,002	0,004	0,006	0,012

Tableau 7: Tableau des concentrations des étalons utilisés lors d'étalonnage du Cd en ppm

Séries	Concentration introduite (ppm)				
	niveau 1	niveau 2	niveau3	niveau 4	niveau 5
Jour 1	0	0,002	0,003	0,004	0,006
Jour 2	0	0,002	0,003	0,004	0,006
Jour 3	0	0,002	0,003	0,004	0,006
Jour 4	0	0,002	0,003	0,004	0,006
Jour 5	0	0,002	0,003	0,004	0,006

Les valeurs des réponses observées sur chaque étalon pendant 5 jours d'étalonnage sont indiqués dans les tableaux 8 et 10, ainsi que les paramètres statistiques de chaque éléments Pb et Cd, sont rassemblés dans les tableaux 9 et .

Tableau 8: Des valeurs des réponses observées sur les étalons utilisés lors d'étalonnage du Pb

les niveaux	concentration introduite (ppb)	Concentrations calculées en ppm				
		jour1	jour 2	jour 3	jour 4	jour 5



1	0	0,005	0,107	0,152	0,257	0,36
2	0,002	0,004	0,096	0,162	0,192	0,347
3	0,004	0,005	0,088	0,179	0,228	0,349
4	0,006	0,004	0,095	0,175	0,205	0,346
5	12	0,003	0,088	0,179	0,204	0,349

Tableau 9: Tableau des paramètres statistiques pour le Pb

	Paramètres statistiques			
	$y = a_0 + a_1 x + a_2 x^2$			coefficient de détermination
	a_0	a_1	a_2	
jour1	0,005	0,049	-0,001	0,988
jour 2	0,012	0,039	-0,001	0,991
jour 3	0,009	0,041	-0,001	0,992
jour 4	0,01	0,042	-0,001	0,992
jour 5	0,007	0,042	-0,001	0,992

Tableau 10: Des valeurs des réponses observées sur les étalons utilisés lors d'étalonnage du Cd en ppm

les niveaux	concentration introduite (ppb)	Concentrations calculées en ppm				
		jour1	jour 2	jour 3	jour 4	jour 5
1	0	0,018	0,229	0,293	0,372	0,485
2	2	0,016	0,214	0,295	0,366	0,486
3	3	0,017	0,204	0,32	0,368	0,491
4	4	0,016	0,236	0,279	0,371	0,489
5	6	0,019	0,238	0,292	0,378	0,489

Tableau 11 : les paramètres statistiques pour le Cd

	Paramètres statistiques			
	$y = a_0 + a_1 x + a_2 x^2$			coefficient de détermination
	a_0	a_1	a_2	
jour1	0,02	0,11	-0,005	0,998
jour 2	0,016	0,107	-0,004	0,999
jour 3	0,015	0,111	-0,005	0,995
jour 4	0,021	0,107	-0,004	0,993
jour 5	0,022	0,111	-0,005	0,996

Les concentrations retrouvées on utilisant la fonction d'étalonnage quadratiques linéaires sur chaque étalon lors de chaque étalonnage sont indiqués dans les tableaux12 et 13suivant:



Tableau 12: Les concentrations retrouvées lors d'étalonnage en ppb « Pb »

Séries	Concentration retrouvées en ppb				
	niveau 1	niveau 2	niveau 3	niveau 4	niveau 5
jour1	-0,01	2,24	3,37	6,53	11,86
Jour2	-0,19	2,25	4,4	5,44	12,15
jour3	-0,1	2,02	4,5	5,49	12,13
jour4	-0,14	2,14	4,42	5,48	12,16
jour5	-0,1	2,02	4,51	5,47	12,14

Tableau 13 : Des grandeurs retrouvées lors d'étalonnage en ppb « Cd »

Séries	Concentration retrouvées en ppb				
	niveau 1	niveau 2	niveau 3	niveau 4	niveau 5
Jour 1	-0,02	2,11	2,9	3,99	6,03
Jour 2	-0,01	2,02	3	3,97	6,01
Jour 3	0,02	1,86	3,24	3,89	6,01
Jour 4	-0,04	2,23	2,77	4,01	6,04
Jour 5	-0,03	2,17	2,83	4	6,04

A partir des valeurs trouvées dans les deux tableaux 9 et 11 surtout a_0 , a_1 et a_2 on a pu déterminer les concentrations du Plomb et du Cadmium qui sont proportionnelles à la quantité injectée au départ.

C'est la partie qui désigne l'écart entre la valeur mesurée expérimentalement et la valeur vraie qui dépend des erreurs systématiques (erreurs agissant toujours dans le même sens): défaut d'étalonnage, de calibrage, de zéro d'un appareil par exemple. Le terme biais peut être relié à la justesse autrement dit plus le biais est faible plus la méthode est fiable et juste. C'est la raison pour laquelle la valeur de biais doit être représentée par la moyenne des mesures expérimentales afin de minimiser l'influence des erreurs aléatoires.

Les biais relatifs mesurés sur chaque étalon lors de chaque étalonnage sont indiqués dans les tableaux 14 et 15 ci-après.



Tableau 14 : Les valeurs des biais relatifs du Pb

Séries	Les biais relatifs en %				
	niveau 0	niveau 2	niveau 4	niveau 6	niveau 12
jour 1	-	12,00	-15,80	8,90	-1,20
jour 2	-	12,50	9,90	-9,40	1,30
jour 3	-	1,10	12,50	-8,50	1,00
jour 4	-	7,20	10,40	-8,70	1,30
jour 5	-	1,20	12,80	-8,80	1,20
Moyenne	-	6,80	6,00	-5,30	0,70
écart-type	-	5,50	12,30	7,90	1,10
EMA% fixé	30	30	25	15	15

Tableau 15: Les valeurs des biais relatifs du Cd

Séries différentes	Les biais relatifs en %				
	niveau 0	niveau 2	niveau 3	niveau 4	niveau 6
Jour 1	-	5,70	-3,40	-0,40	0,50
Jour 2	-	1,00	0,10	-0,70	0,20
Jour 3	-	-7,20	7,90	-2,80	0,10
Jour 4	-	11,70	-7,80	0,20	0,70
Jour 5	-	8,70	-5,80	0,00	0,70
Moyenne	-	4,00	-1,80	-0,70	0,40
écart-type	-	7,40	6,20	1,20	0,30
EMA% fixé	30	30	15	15	15

D'après les résultats trouvés dans les tableaux 17 et 18, on constate que toutes les valeurs du biais relatifs sont petites et inférieurs à l'écart maximal acceptable fixé par le laboratoire, ce qui veut dire qu'il n'y a pas unedifférence entre les concentrations théoriques et retrouvés. De ce fait les erreurs aléatoires de la manipulation sont négligeables.

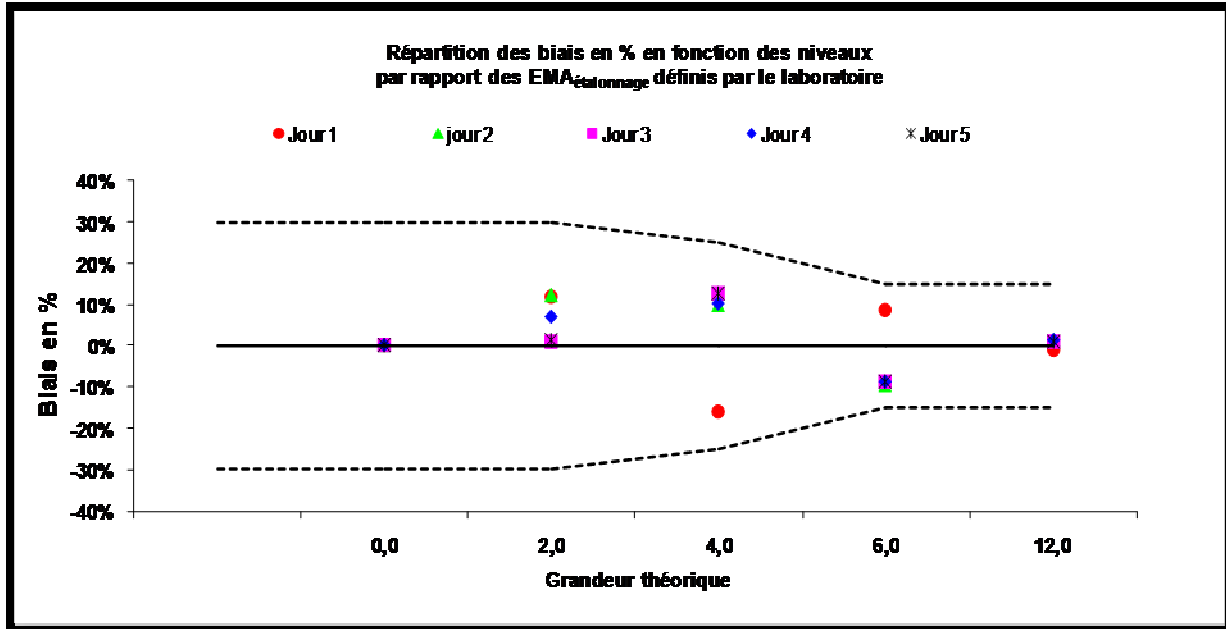


Figure 5: Répartition des biais en % en fonction des niveaux par rapport des EMA_{étalonnage} définis par le laboratoire pour le Pb

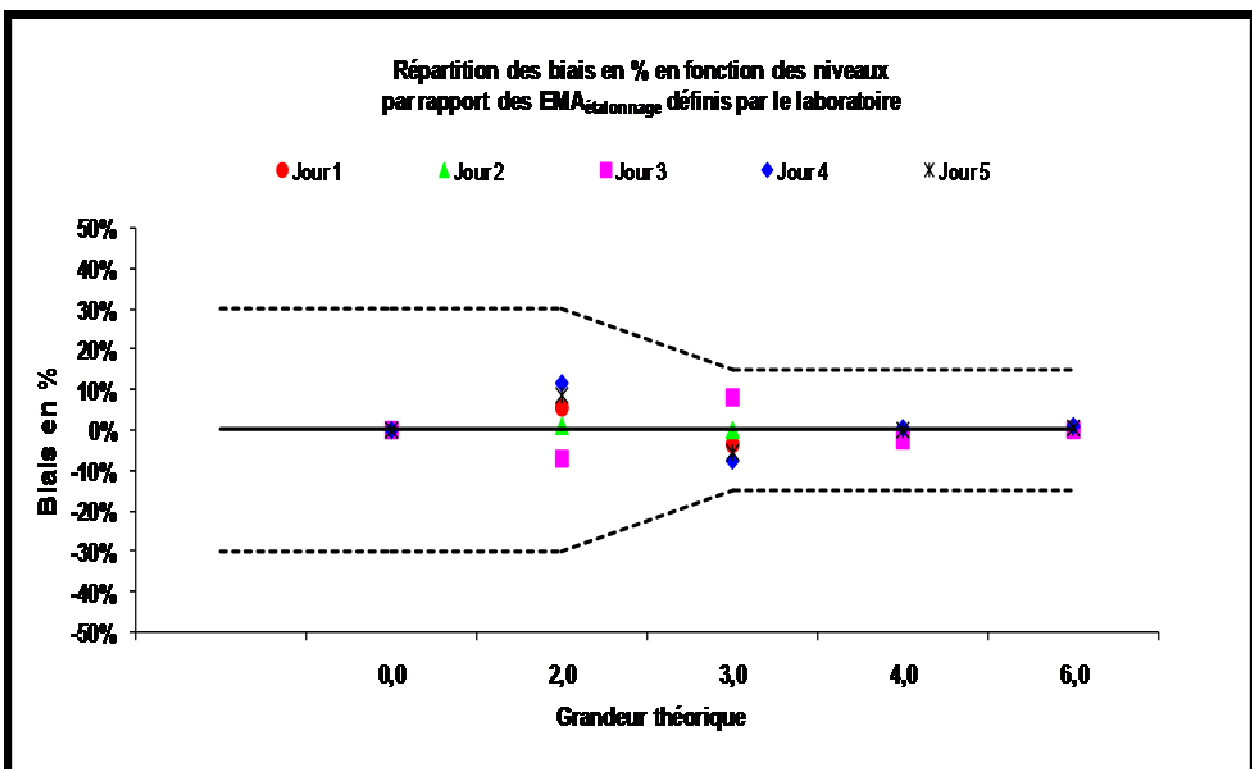




Figure 6 : Répartition des biais en % en fonction des niveaux par rapport des EMA_{étalonnage} définis par le laboratoire pour le Cd

L'ensemble des valeurs représenté dans les deux figures 7 et 8 ci-dessus des deux éléments Plomb et Cadmium, montre que les biais relatifs observés sur chaque étalon analysé sont acceptable (\pm Inférieurs) par rapport aux EMA fixés.

La fonction d'étalonnage quadratique linéaire est considérée acceptable dans le domaine étudié [0-12ppb] du plomb et [0-6ppb] du Cadmium avec l'approche EMA selon la NF T90-210 utilisé car les biais relatifs mesurés sont inférieurs à l'EMA fixé par le laboratoire.

➔ **La limite de quantification:**

Tableau 16 : Des résultats d'étude de la limite de quantification du Pb

Conditions de fidélité intermédiaire	Résultats d'un blanc dans une série en mg/kg		Nombre de répétitions	Moyenne	Variance des séries s_i^2
	N°1	N°2			
Séries					
J1	0,0051	0,0056	2	0,0054	1,25E-07
J2	0,0048	0,0045	2	0,0047	4,50E-08
J3	0,0057	0,0051	2	0,0054	1,80E-07
J4	0,0042	0,0043	2	0,0043	5,00E-09
J5	0,0046	0,0042	2	0,0044	8,00E-08
J6	0,0063	0,0042	2	0,0053	2,21E-06
J7	0,0043	0,0039	2	0,0041	8,00E-08
J8	0,0052	0,0048	2	0,005	8,00E-08
J9	0,0061	0,0052	2	0,0057	4,05E-07
J10	0,0027	0,0031	2	0,0029	8,00E-08



Tableau 17: Paramètres d'exactitude de la LQ présumées du Pb 0.004mg/kg

Nombre de séries n	10
Nombre de répétitions par série r	2
Variance de répétabilité : $s_{répét}^2$	0,0000003
Variance des moyennes :	0,0000007
Variance inter-séries : s_B^2	0,0000005
Variance de fidélité intermédiaire s_{FI}^2	0,0000008
Ecart-type de répétabilité : $s_{répét}$	0,0006
CV de répétabilité $CV_{répét}$ en %	0,122
Moyenne générale	0,0047
Ecart-type de fidélité intermédiaire : s_{FI}	0,0009
CV de fidélité intermédiaire CV_{FI} en %	0,195
Interprétation de la limite de quantification	
La moyenne générale X_{LQ}	0,0047
la valeur de référence	0,004
EMA=60%*Réf	0,24
LQ+60%*LQ	0,8479
$X_{LQ}+(2*S_{LQ})$	0,00656
$X_{LQ}-(2*S_{LQ})$	0,00288
LQ-60%*LQ	-0,8201
Limite de détection (mg/kg)	0,0074
Limite de quantification (mg/kg)	0,0139

La limite de quantification présumée est exacte, elle est vérifiée par les deux inégalités suivantes : $X_{LQ}-(2 \times S_{LQ}) > LQ - (60 \% \times LQ)$ et $X_{LQ} + (2 \times S_{LQ}) < LQ + (60 \% \times LQ)$ selon la norme de validation des méthodes physico-chimiques la NF V03-110.

Tableau 18 : Des résultats d'étude de la limite de quantification du Cd

Conditions de fidélité intermédiaire	Résultats d'un blanc dans une série en mg/kg		Nombre de répétitions	Moyenne	Variance des séries s_i^2	
	Séries	n°1				n°2
J1		0,0034	0,0042	2	0,0038	3,20E-07
J2		0,0077	0,0068	2	0,0073	4,05E-07
J3		0,0045	0,0052	2	0,0049	2,45E-07
J4		0,0028	0,0036	2	0,0032	3,20E-07
J5		0,0071	0,0065	2	0,0068	1,80E-07



J6	0,0045	0,0051	2	0,0048	1,80E-07
J7	0,0043	0,0052	2	0,0048	4,05E-07
J8	0,0078	0,0071	2	0,0075	2,45E-07
J9	0,0014	0,0021	2	0,0018	2,45E-07
J10	0,0027	0,0035	2	0,0031	3,20E-07

Tableau 19: Paramètres d'exactitude de la LQ présumées de Cadmium à 0.006mg/kg

Nombre de séries n	10
Nombre de répétitions par série r	2
Variance de répétabilité : $s_{répét}^2$	0,00000029
Variance des moyennes :	0,00000364
Variance inter-séries : s_B^2	0,0000035
Variance de fidélité intermédiaire s_{FI}^2	0,00000379
Ecart-type de répétabilité : $s_{répét}$	0,00054
CV de répétabilité $CV_{répét}$ en %	11,20%
Moyenne générale	0,00478
Ecart-type de fidélité intermédiaire : s_{FI}	0,00195
CV de fidélité intermédiaire CV_{FI} en %	40,70%
Interprétation de la limite de quantification	
La moyenne générale X_{LQ}	0,0048
la valeur de référence	0,006
$EMA=60\% * Réf$	0,36
$LQ+60\% * LQ$	1,4762
$X_{LQ}+(2 * S_{LQ})$	0,0087
$X_{LQ}-(2 * S_{LQ})$	0,0009
$LQ-60\% * LQ$	-1,4278
Limite de détection (mg/kg)	0,0106
Limite de quantification (mg/kg)	0,0242

La limite de quantification présumée est exacte, elle est vérifiée par les deux inégalités suivantes : $X_{LQ} - (2 \times S_{LQ}) > LQ - (60\% \times LQ)$ et $X_{LQ} + (2 \times S_{LQ}) < LQ + (60\% \times LQ)$ selon les normes de validation des méthodes physico-chimiques la NF V03-110.



➔ Bilan de l'étude de l'exactitude pour le paramètre Plomb et Cadmium:

Tableau 20 : Bilan d'étude de l'exactitude de Plomb

Niveaux	Niveau 1 ou LOQ	Niveau 2
Valeur de référence (Réf)	0,095	2
Incertitude-type sur la valeur de référence ($u_{réf}$)	0,004	0,04
Ecart Maximal Acceptable en %	+	40
	-	40
Plan d'expériences		
Nombre de série (p)	5	5
Nombre de répétitions (n)	2	4
Fidélité		
Écart-type de répétabilité ($S_{répét}$)	0,004	0,076
Écart-type de fidélité (S_{FI})	0,008	0,166
Coefficient de variation de répétabilité ($CV_{répét}$)	0,041	0,037
Coefficient de variation de fidélité (CV_{FI})	0,077	0,080
Justesse		
Valeur moyenne estimée	0,104	2,0542
Biais	0,009	0,0542
Ecart normalisé EN	1,703	0,642
Biais (%)	0,096	0,027
Conclusion sur le biais avec la NF T90-210	Négligeable	



Le tableau nous résume tous les résultats obtenu et cela nous montre qu'en général l'exactitude a été vérifiée selon les deux normes ainsi que la fidélité, et la justesse. le tableau nos montre aussi que le biais est négligeable car est inférieur à l'écart normalisé EN qui égale à 1,7 supérieur à 0,0092 du biais pour le niveaux 1 et 0,64 de EN supérieur à 0,0542 pour le niveau 2.

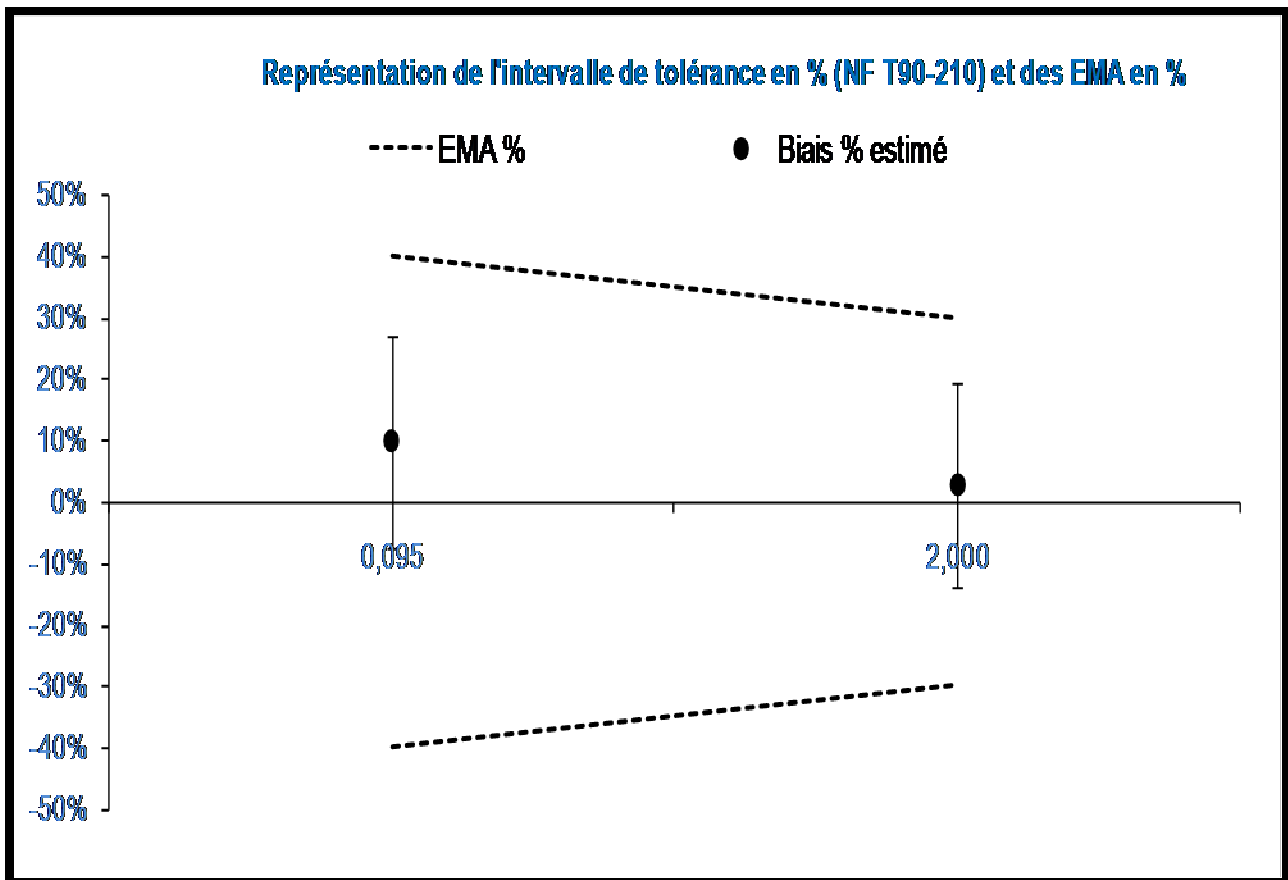


Figure 7: Représentation de l'intervalle de tolérance en % (T90-210) par rapport aux EMA % du Pb

D'après la figure 9 l'exactitude est vérifiée, selon la norme NF T90-210 dans l'intervalle de tolérance étudié de chaque niveau selon l'approche de l'écart maximal acceptable EMA fixé par le laboratoire pour chaque niveau, selon la norme NF T90-210.



Tableau 21: Bilan d'étude de l'exactitude de Cd

Niveaux	Niveau 1 ou LOQ	Niveau 2	
Valeur de référence (Réf)	0,2	0,348	
Incertitude-type sur la valeur de référence ($u_{\text{réf}}$)	0,006	0,007	
Ecart Maximal Acceptable en %	+	25	10
	-	25	10
Plan d'expériences			
Nombre de série (p)	5	5	
Nombre moyen de répétitions (n)	3	4	
Fidélité			
Écart-type de répétabilité ($s_{\text{répét}}$)	0,004	0,011	
Écart-type de fidélité (s_{FI})	0,014	0,012	
Coefficient de variation de répétabilité ($CV_{\text{répét}}$)	0,020	0,032	
Coefficient de variation de fidélité (CV_{FI})	0,071	0,034	
Justesse			
Valeur moyenne estimée	0,207	0,354	
Biais	0,007	0,007	
Ecart normalisé EN	0,791	0,779	
Biais (%)	0,035	0,019	



Conclusion sur le biais avec l	Négligeable
--------------------------------	-------------

Le tableau ci-dessus rassemble tous les résultats obtenus, cela nous montre que l'exactitude est vérifiée, ainsi que la fidélité et la justesse.

Ce tableau nous montre aussi que le biais est négligeable car il est inférieur à l'écart normalisé EN qui est égale à 1,7 supérieur à 0,0092 du biais pour le niveau 1 et 0,64 de EN supérieur à 0,0542 pour le niveau 2.

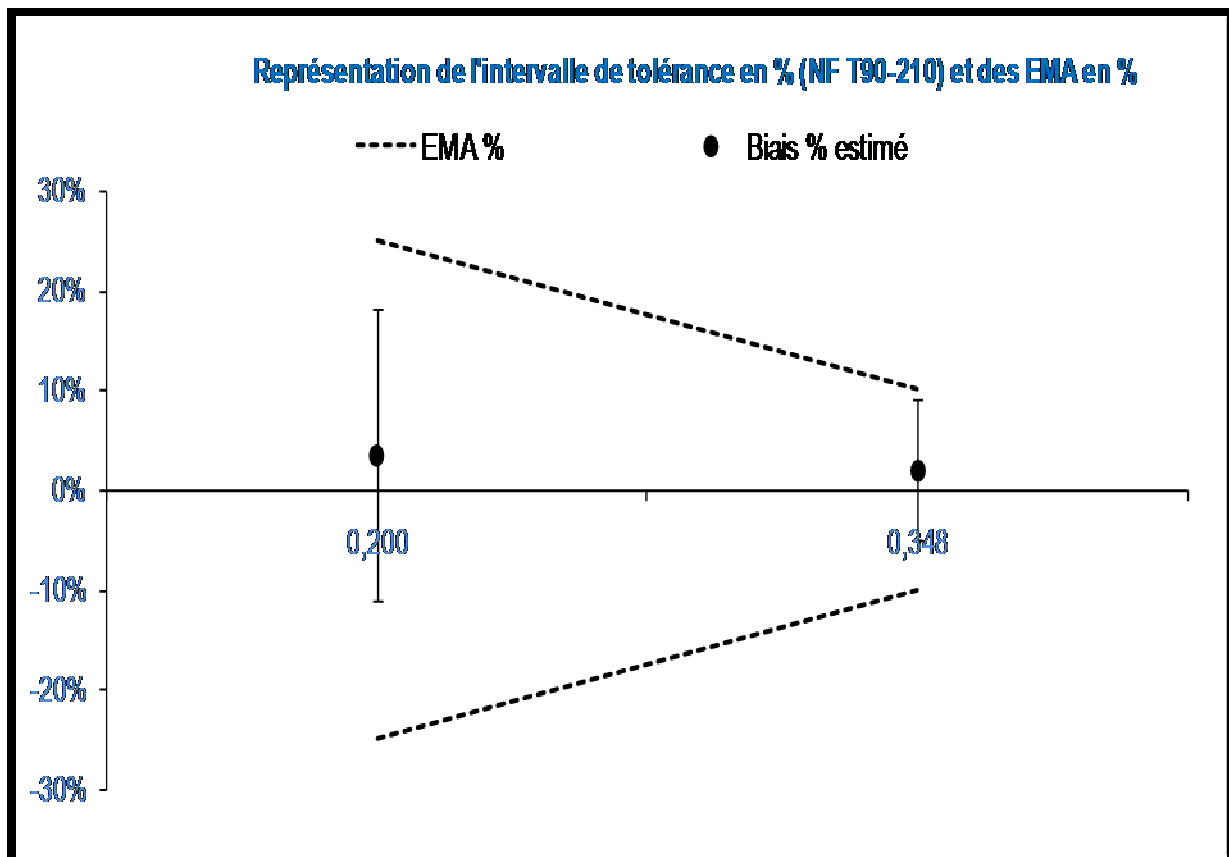


Figure 8: Représentation de l'intervalle de tolérance en % (T90-210) par rapport aux EMA % du Pb

D'après la figure ci-dessus, on voit que l'exactitude est vérifiée, selon la norme NF T90-210 dans l'intervalle de tolérance étudié de chaque niveau selon l'approche de l'écart maximal acceptable EMA fixé par le laboratoire selon la norme NF T90-210.



➔ Résultats de contrôle qualité :

Tableau 22: Les échantillons utilisés pour l'expérience et les provenances

Référence	PROVENANCE	NATURE	Concentration en ppm	
			CADMIUM	PLOMB
1	Port d'OUJDA	SARDINE	0,0287	0,1004
2	Port d'OUJDA	CHINCHARD	0,0010	ND
3	Port d'OUJDA	MAQUEREAU	0,0421	0,0124
4	Port d'OUJDA	ROUGET	0,0244	0,0214
5	Port d'OUJDA	BOGUE	0,0040	0,0504
6	Port d'OUJDA	CREVETTES	0,0207	0,0650
7	Port d'OUJDA	MAQUEREAU	0,0193	0,0193
8	Port d'OUJDA	CHINCHARD	0,0010	ND
9	Port d'OUJDA	BESUGUE	0,0049	ND
10	Port de CASABLANCA	SARDINE	0,0157	0,0228
11	Port de CASABLANCA	SARDINE	0,0050	0,0192
12	Port de CASABLANCA	CREVETTE	0,0459	ND
13	Port de CASABLANCA	RASCASSE	0,0168	ND
14	Port de CASABLANCA	VIVE	0,0548	ND
15	Port de CASABLANCA	MAQUEREAU	0,0319	ND
16	Port de CASABLANCA	SARDINE	0,0478	0,0799
17	Port de CASABLANCA	SARDINE	0,0479	0,0216
18	Port de CASABLANCA	SEICHE	0,0245	0,1360
19	Port de CASABLANCA	ABADECHE	0,0455	0,0343
20	Port de CASABLANCA	GRONDIN	0,0038	ND
21	Port de CASABLANCA	MAQUEREAU	0,0169	ND
22	Port de CASABLANCA	CREVETTE	0,0108	ND
23	Port de CASABLANCA	MAQUEREAU	0,0117	ND
24	Port de CASABLANCA	SARDINE	0,0172	ND
25	Port de KENITRA	SARDINE	0,0120	0,0640
26	Port de KENITRA	LANGUE	0,0255	ND
27	Port de KENITRA	SARDINE	0,0131	0,0591
28	Port de KENITRA	MAQUEREAU	0,0338	ND
29	Port de KENITRA	MERLU	0,0663	ND
30	Port de KENITRA	CREVETTE ROSE	0,0161	ND
31	Port de KENITRA	MAQUEREAU	0,0157	ND
32	Port de KENITRA	MERLU	0,0146	ND
33	Port de KENITRA	LANGUE	0,0189	ND
34	Port de KENITRA	MAQUEREAU	0,0159	ND
35	Port de KENITRA	CREVETTE	0,0172	ND
36	Port de KENITRA	SARDINE	0,0461	0,0487
37	Port de TANGER	MAQUEREAU	0,0333	ND
38	Port de TANGER	PAGEOT ROUGE	0,0511	ND
39	Port de TANGER	CHINCHARD	0,0326	0,0136
40	Port de TANGER	CREVETTE ROSE	0,0454	ND
41	Port de TANGER	ESPADON	0,0712	ND
42	Port de TANGER	REQUIN BLEU	0,0018	ND
43	Port de LARACHE	MERLU COMMUN	0,0118	0,0861
44	Port de LARACHE	PAGEOT	0,0185	0,0761
45	Port de LARACHE	SARDINE	0,0240	0,0661



46	Port de LARACHE	CHINCHARD	0,0443	0,0861
47	Port de LARACHE	CREVETTE ROSE	0,0106	0,0661
48	Port de LARACHE	SECHE ROSE	0,3059	0,0764
49	Port de TETOUAN	CHINCHARD	0,0129	0,0901
50	Port de TETOUAN	SARDINE	0,0127	0,0891
51	Port de TETOUAN	BOGUE	0,0171	0,0782
52	Port de TETOUAN	ALLACHE	0,0088	0,0192
53	Port de TETOUAN	RAIE	0,0248	0,0391
54	Port de TETOUAN	CREVETTE ROSE	0,0096	0,0901
55	Port d'AGADIR	SEICHE	0,0168	0,0671
56	Port d'AGADIR	SARDINE	0,0115	0,0602
57	Port de DAKHLA	EPERLAN	0,0215	0,0560
58	Port de DAKHLA	GRONDIN	0,0323	0,0491
59	port d'ESSAOUIRA	SARDINE	0,0192	0,1230
60	port de SAFI	BOGUE	0,0631	0,0119
61	port de TAN TAN	SARDINE	0,0127	0,0770
62	port de LAAYOUNE	OMBRINE	0,0138	0,8400

Le tableau qui suit présente la Moyenne des teneurs en métaux lourds Pb et Cd selon les Zones de prélèvements.

Tableau 23 : Les résultats des moyennes des teneurs en métaux lourds Cd et Pb classés selon leurs provenances ppm

Référence	Provenance	Cd	Pb
1	Port de CASABLANCA	0,0264	0,0523
2	Port d'OUJDA	0,0162	0,0448
3	Port de KENITRA	0,0246	0,0573
4	Port de TANGER	0,0392	0,0136
5	Port de LARACHE	0,0692	0,0762
6	Port de TETOUAN	0,0143	0,0683
7	Port d'AGADIR	0,0141	0,0637
8	Port de DAKHLA	0,0269	0,0526
9	port d'ESSAOUIRA	0,0192	0,0930
10	port de SAFI	0,0631	0,1919
11	port de TAN TAN	0,0127	0,0770
12	port de LAAYOUNE	0,0138	-

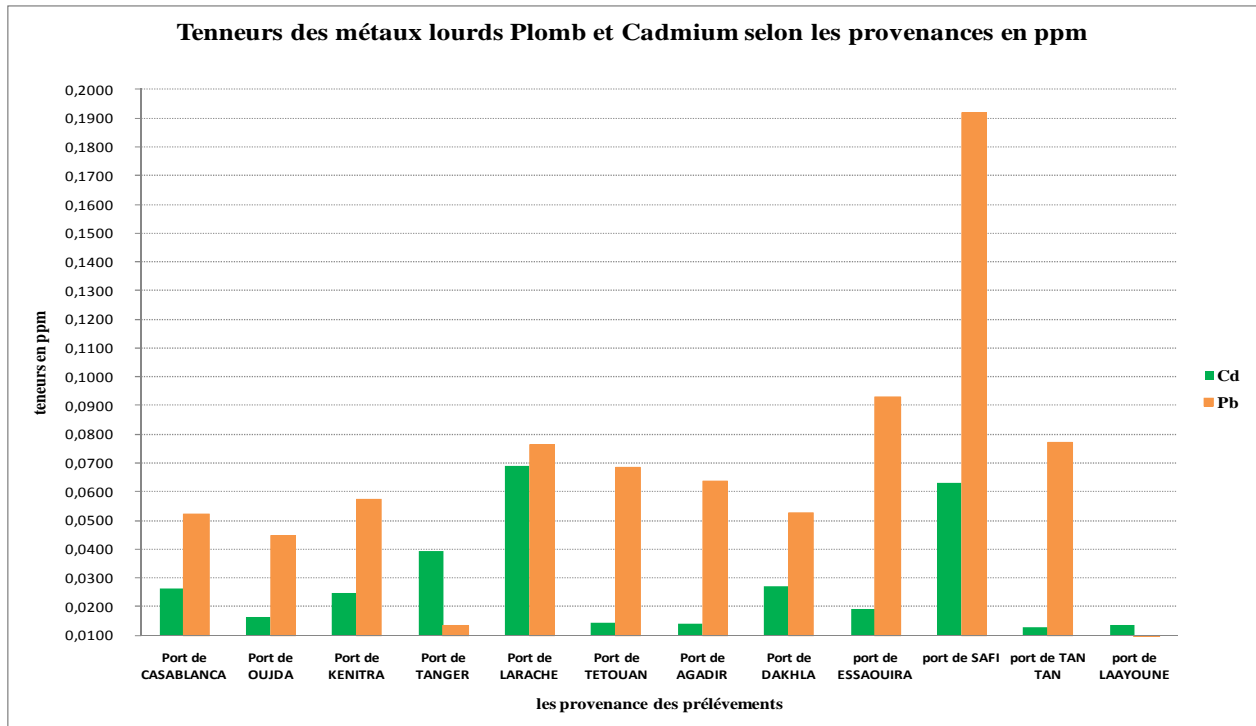


Figure 9: Les teneurs des métaux lourds Pb et Cd selon les provenances en ppm

Le tableau ci-après rassemble la moyenne des contaminants le Plomb et le Cadmium selon la nature de l'espèce.

Tableau 24: Les résultats des moyennes des teneurs en métaux lourds Cd et Pb classés selon la nature des espèces

Numéro	Nature de l'espèce	Cd	Pb
1	SARDINE	0,0224	0,0639
2	CHINCHARD	0,0184	0,0633
3	MAQUEREAU	0,0200	0,0633
4	BOGUE	0,0281	0,0468
5	CREVETTE	0,0204	0,0781
6	CREVETTE ROSE	0,0204	0,0781
7	SEICHE	0,0206	0,1016



8	MERLU	0,0405	-ND
9	GRONDIN	0,0181	0,0491
10	LANGUE	0,0222	ND
11	ABADECHE	0,0455	0,0343
12	PAGEOT ROUGE	0,0511	ND
13	ROUGET	0,0244	0,0214
14	BESUGUE	0,0049	ND
15	RASCASSE	0,0168	ND
16	VIVE	0,0548	ND
17	ESPADON	0,0712	ND
18	REQUIN BLEU	0,0018	ND
19	MERLU COMMUN	0,0118	0,0861
20	PAGEOT	0,0185	0,0761
21	SECHE ROSE	0,3059	0,0764
22	ALLACHE	0,0088	0,0192
23	RAIE	0,0248	0,0391
24	EPERLAN	0,0215	0,0560
25	OMBRINE	0,0138	0,7400

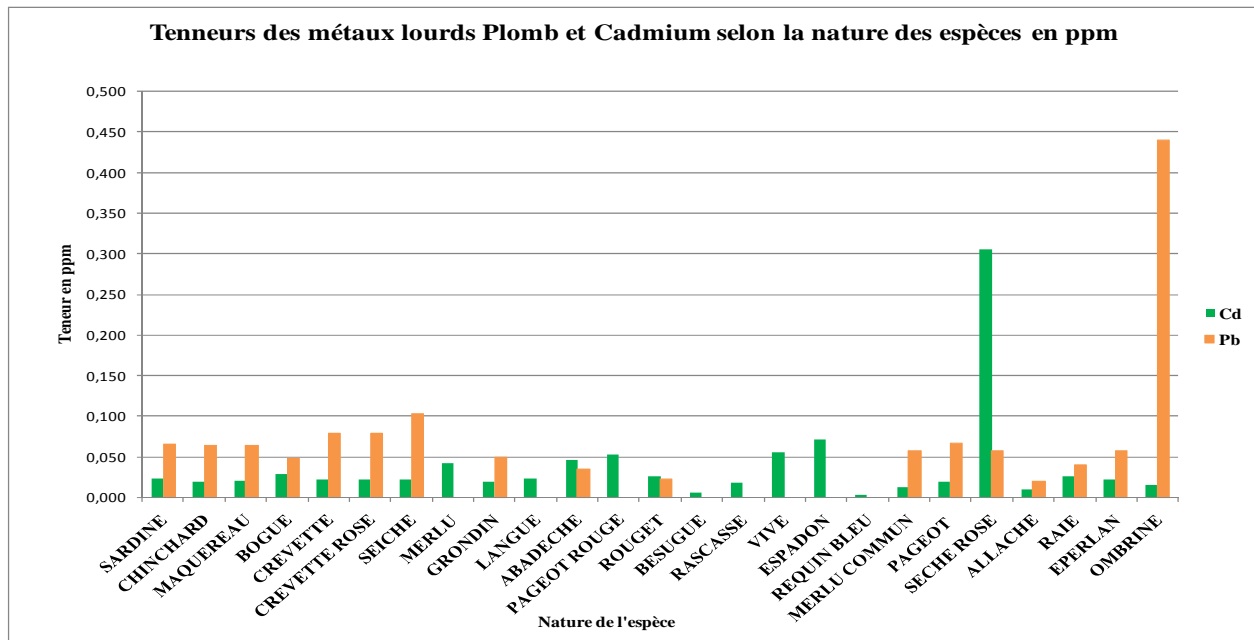


Figure 10: Les teneurs des métaux lourds Pb et Cd selon la nature des espèces en ppm

☞ **Les résultats obtenus révèlent :**

On observe la présence du Plomb et du Cadmium, à l'état de trace, dans certains produits de la pêche, avec des variations significatives pour les deux éléments.

La comparaison des résultats obtenus, aux valeurs limites normatives montre que les produits de la pêche au Maroc, dépasse rarement les seuils critiques de contamination métallique cité dans le tableau 3 et 4 dans la partie bibliographique.

En comparant avec des études effectuées par K. MOUSTAID et coll (2005)^[17] et A.Kaimoussi^[18], Trouvées chez les Thunnus et Euthynnus species et algues, et cela vu leur pouvoirs de fixation ainsi que leur milieu de vie, révèle que les résultats obtenus au cours de cette étude sont généralement inférieurs.

➔ **Estimation de l'incertitude selon la norme NF ISO 11352 sur les deux niveaux :**

☞ Origine : Des données de validation et de contrôles qualité de la méthode de dosage des ML :

L'estimation de l'incertitude de mesure on se basant sur les résultats de la validation (exactitude), et du contrôle qualité selon la norme française ISO 11352.



Tableau 25 : Estimation des incertitudes de mesure selon la norme NF ISO 11352 pour le paramètre Pb

Niveau	Niveau 1 ou LOQ	Niveau 2
Incertitude-type de la reproductibilité intra laboratoire $u_{R_w} = \frac{s_{R_w}}{\sqrt{3}}$	0,0081	0,1660
Incertitude-type due au biais $u_b = \sqrt{b^2 + \left(\frac{s_b}{\sqrt{n_M}}\right)^2 + u_{C_{réf}}^2}$	0,0105	0,0957
Incertitude absolue élargie avec $U = k * \sqrt{u_{R_w}^2 + u_b^2}$	0,0266	0,3833
Incertitude relative élargie avec $k=2$ (U%)	0,2560	0,1865

Tableau 26: Estimation des incertitudes de mesure avec la norme NF ISO 11352 pour le paramètre Cd

Niveaux	Niveau 1 ou LOQ	Niveau 2
Incertitude-type de la reproductibilité intra laboratoire $u_{R_w} = \frac{s_{R_w}}{\sqrt{3}}$	0,0147	0,0121
Incertitude-type due au biais $u_b = \sqrt{b^2 + \left(\frac{s_b}{\sqrt{n_M}}\right)^2 + u_{C_{réf}}^2}$	0,0112	0,0103
Incertitude absolue élargie avec $U = k * \sqrt{u_{R_w}^2 + u_b^2}$	0,0370	0,0318
Incertitude relative élargie avec $k=2$ (U%)	0,1788	0,0897

Les tableaux 25 et 26 ci-dessus représentent l'estimation des incertitudes de mesure et ont été obtenue en appliquant un facteur d'élargissement $k = 2$. Cela correspond à un niveau de confiance d'environ 95 %.

D'après les résultats élucidés dans les tableaux 17 et 19, la limite de quantification de l'élément Plomb et Cadmium dénonce une incertitude acceptable, et comprise entre la limite inférieure; Incertitude absolue élargie et la limite supérieure; Incertitude relative élargie cités dans les tableaux 25 et 26, conformes aux recommandations définies dans la norme NF ISO 11352 de l'estimation de l'incertitude de mesure basée sur les données de validation et les résultats de contrôle qualité.



2) Discussions :

Pendant l'analyse on doit veiller à ce que les échantillons ne soient pas contaminés au cours de leur préparation. Dans la mesure du possible, les appareils et équipements entrant en contact avec l'échantillon ne doivent pas contenir les métaux recherchés et doivent être fabriqués en matériaux inertes, par exemple des matières plastiques (polypropylène, le polytétrafluoroéthylène (PTFE)). Ils doivent être nettoyés à l'acide pour réduire au minimum le risque de contamination.

La comparaison de nos résultats de contrôle qualité aux valeurs limite normatives montre que les produits de la pêche au Maroc dépassent rarement les seuils critiques de contaminations métalliques.

Le profil d'exactitude peut être considéré comme un outil de décision très utile pour accepter ou rejeter une méthode selon son usage prévu. De plus, le profil d'exactitude peut être utilisé pour sélectionner le modèle de régression le plus approprié pour la calibration, et pour déterminer la limite de quantification supérieure et inférieure, puis sélectionner l'intervalle de concentration pour le dosage des ML, et ensuite pour estimer l'incertitude de mesure.

D'après les résultats de validation et du contrôle qualité on a pu déterminer l'incertitude de mesure des métaux lourds existant déjà dans les produits de la pêche, selon les normes françaises NF ISO 11352, NF T90-210 et NF V03-110.

Pour étudier l'estimation de l'incertitude de mesure, on procède à la détermination de trois paramètres ; l'incertitude type due à la fidélité, l'incertitude type due au biais de la méthode et de laboratoire, et l'incertitude élargie absolue et relative. Ces paramètres ont montré que nos résultats sont répartis autour de la limite de quantification dans un intervalle à une borne inférieure représentée par l'incertitude absolue élargie et une borne supérieure représentée par l'incertitude relative élargie.



Conclusion

Ce projet de fin d'étude, effectué au sein du Laboratoire Régional d'Analyse et de Recherche de Casablanca filiale de l'Office National de Sécurité Sanitaire des Aliments est caractérisé par l'application d'un ensemble d'outils statistiques et de qualité, en particulier des tests statistique et des équations d'estimation de l'incertitude de mesure de la norme ISO NF 11352 & T90-220.

Ce travail constitue une étude de la contaminations en métaux lourds Plomb et Cadmium dans différents produits de la pêche destinés à la consommation humaine et dosage par Spectrométrie d'Absorption Atomique à Four Graphite, puis on a effectué une estimation d'incertitude de mesure des teneurs en Plomb et Cadmium, en se basant sur les résultats de validation et de contrôle qualité ainsi que, fondée sur des analyses statistiques, afin de prouver que les résultats des manipulations effectuées au sein du LRARC concorde bien à ceux prévues, et que les paramètres de la méthode utilisée ne sont pas affectés par les différentes variations, (équipement, réactifs, opérateurs.....).

Enfin, on a pu déterminer l'incertitude de mesure grâce à la NF ISO 11352 & T90-220 et les résultats obtenus sont éprouvés par les gens du LRARC filiale de L'ONSSA.



Liste des tableaux et des figures

Liste des tableaux

Tableau 1: Le tableau périodique des éléments ^[5]	23
Tableau 2: Propriétés physiques et chimiques du Plomb et de Cadmium ^[6]	24
Tableau 3: Teneurs maximales retenues pour le Cadmium et le Plomb dans les produits de la pêche selon le règlement (CE) n° 629/2008 ^[9]	28
Tableau 4: Limite maximale dans les produits de la pêche selon le Règlement 466/2001 (CE) portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires ^[10]	29
Tableau 5: Programme thermique du plomb et Cadmium	32
Tableau 6: Tableau des concentrations des étalons utilisés lors d'étalonnage du Pb en ppm.....	43
Tableau 7: Tableau des concentrations des étalons utilisés lors d'étalonnage du Cd en ppm.....	43
Tableau 8: Des valeurs des réponses observées sur les étalons utilisés lors d'étalonnage du Pb.....	43
Tableau 9: Tableau des paramètres statistiques pour le Pb.....	44
Tableau 10: Des valeurs des réponses observées sur les étalons utilisés lors d'étalonnage du Cd en ppm.....	44
Tableau 11 : les paramètres statistiques pour le Cd	44
Tableau 12: Les concentrations retrouvées lors d'étalonnage en ppb « Pb ».....	45
Tableau 13 : Des grandeurs retrouvées lors d'étalonnage en ppb « Cd »	45
Tableau 14 : Les valeurs des biais relatifs du Pb	46
Tableau 15: Les valeurs des biais relatifs du Cd.....	46
Tableau 16 : Des résultats d'étude de la limite de quantification du Pb.....	48
Tableau 17: Paramètres d'exactitude de la LQ présumées du Pb 0.004mg/kg	49
Tableau 18 : Des résultats d'étude de la limite de quantification du Cd	49
Tableau 19: Paramètres d'exactitude de la LQ présumées de Cadmium à 0.006mg/kg.....	50
Tableau 20 : Bilan d'étude de l'exactitude de Plomb.....	51
Tableau 21: Bilan d'étude de l'exactitude de Cd.....	53
Tableau 22: Les échantillons utilisés pour l'expérience et les provenances.....	55
Tableau 23 : Les résultats des moyennes des teneurs en métaux lourds Cd et Pb classés selon leurs provenances ppm.....	56
Tableau 24: Les résultats des moyennes des teneurs en métaux lourds Cd et Pb classés selon la nature des espèces.....	57



Tableau 25 : Estimation des incertitudes de mesure selon la norme NF ISO 11352 pour le paramètre Pb 60

Tableau 26: Estimation des incertitudes de mesure avec la norme NF ISO 11352 pour le paramètre Cd..... 60

Liste des figures

Figure 1: Organigramme de la direction générale de l'ONSSA.	17
Figure 2 :Principe de l'appareil	32
Figure 3:Principe et photographie d'une lampe à cathode creuse	33
Figure 4 :Principe du photomultiplicateur.....	34
Figure 5: Répartition des biais en % en fonction des niveaux par rapport des EMA _{étalonnage} définis par le laboratoire pour le Pb.....	47
Figure 6 : Répartition des biais en % en fonction des niveaux par rapport des EMA _{étalonnage} définis par le laboratoire pour le Cd	48
Figure 7: Représentation de l'intervalle de tolérance en % (T90-210) par rapport aux EMA % du Pb.....	52
Figure 8: Représentation de l'intervalle de tolérance en % (T90-210) par rapport aux EMA % du Pb.....	54
Figure 9: Les teneurs des métaux lourds Pb et Cd selon les provenances en ppm.....	57
Figure 10: Les teneurs des métaux lourds Pb et Cd selon la nature des espèces en ppm.....	59



Références Bibliographiques

- [2] :Rapport Etude des métaux lourds, par C. Biney, A.T. Amuzu, D. Calamari, N. Kaba, I.L. Mbome, H. Naeve O. Ochumba, O. Osibanjo, V. Radegonde et M.A.H. Saad. Édition 2012
- [3] :Un dispositif institutionnel pour un contrôle intégré et moderne des produits alimentaires, élaboré par L'office National de Sécurité Sanitaire de Aliments, Juin 2011.
- [5] : Utilisation du phosphate naturel dans la protection de l'environnement: élimination des métaux lourds des eaux polluées, abdelilah aklil, date de soutenance : 26/04/2005, faculté de ben msik
- [6] : ROYAUME DU MAROC Ministère de l'Aménagement du Territoire, de l'Eau et de l'Environnement Secrétariat Général Direction de la Surveillance et de la Prévention des Risques Rapport relatif au Plomb et Cadmium Rapport établi avec la contribution du Centre Anti Poison et l'Institut National d'Hygiène (Ministère de la Santé) - Octobre 2005
- [7] : institut national de recherche et de sécurité ; Fiche toxicologique, du cadmium et ces composés, édition 2013.
- [8] :Toxicity of lead and lead compounds, R. Garnier. ET Thèse, Utilisation du phosphate naturel dans la protection de l'environnement: élimination des métaux lourds des eaux polluées, abdelilah aklil, date de soutenance : 26/04/2005, faculté de ben msik
- [9] :école national vétérinaire de Lyon, année 2002 thèse n°193, intoxication par le plomb chez les bovins : donnez bibliographique et représentation des résultats du laboratoire de toxicologie de Lyon de 1998 à 2001, présenté à l'université Claude Bernard Lyon I (médecine- pharmacie) et soutenue publiquement pour obtenir le grade de docteur Vétérinaire par Delphine Dupont née le 15 mars 1977 à Fourmies.
- [12] : Axe " Génie des Procédés", centre SPIN, Ecole des Mines de Saint-Etienne METHODES SPECTROMETRIQUES D'ANALYSE ET DE CARACTERISATION SPECTROMETRIE D'ABSORPTION ATOMIQUE
- [13] : Département fédéral de l'économie, de la formation et de la recherche DEFR Secrétariat d'Etat à l'économie SECO Service d'accréditation suisse SAS guide pour la validation des méthodes d'essai chimico-physiques et l'évaluation de l'incertitude de mesure, Document N° 324.fw, Edition février 2013, rév. 02.
- [18] :SEASONAL VARIATIONS OF METAL CONTENTS (Cd, Cu, Fe, Mn AND Zn) IN SEAWEED ULVA LACTUCA FROM THE COAST OF EL JADIDA CITY (MOROCCO)]

Références Normatives :



[9] : Journal officiel de l'Union européenne RÈGLEMENT (CE) No 629/2008 DE LA COMMISSION du 2 juillet 2008 modifiant le règlement (CE) no 1881/2006 portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires

[10] : Office des publications officielles des Communautés européennes RÈGLEMENT (CE) No 466/2001 DE LA COMMISSION du 8 mars 2001 portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires (Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE)

[15] : NF EN ISO CEI 17025 AFNOR Association Française de Normalisation.

[16]: NF ISO 11352, NF ISO 11352, 2 Février 2013, Indice de classement : T 90-220, Éditée et diffusée par l'Association Française de Normalisation (AFNOR) — 11, rue Francis de Pressensé-93571 La Plaine Saint-Denis Cedex, Qualité de l'eau — Estimation de l'incertitude de mesure basée sur des données de validation et de contrôle qualité.

Meier, P.C. und Zünd, R.E.: Statistical Methods in Analytical Chemistry, Verlag Wiley (2nd Edition), New York (2000)]

Gottwald, W.: Statistik für Anwender, Verlag Wiley-VCH, Weinheim, ISBN 3-527-29780-4 (2000)].

Guide to the expression of uncertainty in measurement, ISO, Genève, ISBN 92-67-10188-9 (1995), SN ENV 13005:2000-07 Leitfaden zur Angabe der Unsicherheit beim Messen

Références webographiques :

[1] : http://fr.wikipedia.org/wiki/Liste_des_pays_par_longueur_de_c%C3%B4tes.

[4] : http://www.onssa.gov.ma/fr/index.php?option=com_content&view=article&id=224&Itemid=177

[11] : (<http://www.spectrassistance.com/infos-pour-non-inities/saa-four-graphite/>).

[12]: <http://www.spectrassistance.com/infos-pour-non-inities/saa-four-graphite>

[17] : <http://www.em-consulte.com/en/module/displayarticle/article/29737/impression/vue6>