

Dédicaces

A mes très chers parents,

A toute ma famille,

Je vous dédie cet humble travail

Remerciements

Quelque soient les remerciements et les compliments présentés, il reste insuffisant de refléter mes remerciements à l'égard des personnes qui m'ont de loin ou de près aidé à la confection et à la concrétisation de ce modeste travail.

Avant d'entamer ce rapport que j'espère portera satisfaction à toute personne qui le feuillettera, je tiens à remercier **Mr. TAMIN Abdelilah**, mon encadrant de stage pour son encadrement, son aide précieuse, ses conseils et sa coopération.

Je remercie infiniment mon encadrant pédagogique **Pr. AMEZIANE HASSANI Chakib**, pour son encadrement, sa disponibilité, son orientation et ses précieux conseils.

Egalement je tiens à remercier les membres de jury **Pr. KHLIL Fouad** et **Pr. CHTIOUI Hicham** qui ont accepté de participer à l'évaluation de ce travail.

Mes chaleureux remerciements s'adressent à **Mr El. M. El HADRAMI**, responsable du Master Sciences et Techniques « **CAC agiq** » pour ses efforts considérables pour le bon déroulement et la réussite de la formation.

Je souhaiterais remercier infiniment **Mr. LKEHLAOUI Mohammed**, L'ingénieur du laboratoire central d'avoir accepté de m'accorder le stage, ainsi que pour son accueil, sa disponibilité et son aimable collaboration.

Je remercie chaleureusement le corps professoral de la FSTF et tout particulièrement les enseignants du département de Chimie.

Finalement, mes vifs remerciements s'adressent à tout le personnel de laboratoire Central, pour leur chaleureux accueil, leurs soutiens et leurs encouragements, chacun à sa manière a contribué à l'accomplissement de ce travail.

Liste des figures

Figure 1: Carte représentative des gisements de phosphate au Maroc.....	4
Figure 2: schéma de principe du spectrophotomètre d'absorption atomique à four graphite.....	10
Figure 3: lampe à cathode creuse	11
Figure 4: Schéma de four graphite	12
Figure 5: Représentation graphique de l'étalonnage par ajouts dosés	14
Figure 6: Cycle de vie d'une méthode analytique	15
Figure 7: Différents types de validation analytique	16
Figure 8: Les attentes du demandeur d'analyse	17
Figure 9: Représentation graphique de concentration introduction en fonction de concentration retrouvée, visualisant l'effet de matrice sous ces différents aspects, additifs et multiplicatifs....	20
Figure 10: Schéma des concepts de fidélité, justesse, exactitude	22
Figure 11: Limite d'acceptabilité et intervalle de dispersion, ou tolérance β	22
Figure 12: Profil d'exactitude de la caféine dans le plasma	24
Figure 13: L'instrument de mesure DMA-80	27
Figure 14: Passeur d'échantillons solides et/ou liquides intégré	28
Figure 15: Principe de mesure.....	29
Figure 16: Matériels utilisé pour la préparation des solutions étalonnage et validation	30
Figure 17: Introduction d'échantillon dans le plateau à échantillon	31
Figure 18: Représentation graphique de concentration introduction en fonction de concentration retrouvée.....	37
Figure 19: Profil d'erreur totale par la fonction droite linéaire de mercure dans l'acide phosphorique	40

Liste des tableaux

Tableau 1:Exemples de fonction de réponse.....	21
Tableau 2: Résumé de la démarche de calibration.....	31
Tableau 3:programmation de l'appareil pour la matrice d'acide phosphorique	32
Tableau 4: Résumé de la démarche de validation	32
Tableau 5: Gamme de standard d'étalonnage	33
Tableau 6: Gamme de standard de validation	34
Tableau 7: Résultats statistiques obtenus au prés de chaque model généré.....	35
Tableau 8: Les concentrations retrouvées par prédiction inverse	36
Tableau 9: Les concentrations retrouvées	37
Tableau 10: Calcul de la justesse de la méthode d'analyse de mercure dans l'acide phosphorique	38
Tableau 11: Calcul de la fidélité et les CV de répétabilité, fidélité intermédiaire	39
Tableau 12: Critères d'établissement du profil d'exactitude	39
Tableau 13: Les résultats des LD et LQ.....	40

Sommaire

DEDICACES

REMERCIEMENTS

LISTE DES FIGURES⁴

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION GENERALE..... 1

CHAPITRE I : PRESENTATION DU GROUPE OCP..... 2

I. 1. PRESENTATION DU GROUPE OCP 3

I. 1.1. FICHE D'IDENTITE..... **ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.**

I. 1.2. SITES DE PRODUCTION..... 3

I. 2. ACTIVITES DE L'OCP 3

I. 2.1. LA PROSPECTION 3

I. 2.2. LA PRODUCTION 4

I. 2.3. LA VALORISATION..... 4

I. 2.3.1 Production d'Acide Sulfurique..... 4

I. 2.3.2 Production d'acide Phosphorique..... 5

I. 2.3.3 Production des Engrais 5

I. 2.4. LA COMMERCIALISATION..... 5

I. 3. COMPLEXE INDUSTRIEL JORF-LASFAR..... 5

I. 4. UNITE D'ACCUEIL LABORATOIRE CENTRAL C/L 5

I. 4.1. MISSIONS DU SERVICE LABORATOIRE CENTRAL 5

I. 4.2. ORGANISATION DU SERVICE LABORATOIRE CENTRALE 5

I. 4.3. LES DIFFERENTES MATIERES ANALYSEES DANS LE LABORATOIRE CENTRAL 6

CHAPITRE II : PARTIE THEORIQUE..... **ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.**

II. 1. GENERALITES SUR LA PRODUCTION D'ACIDE PHOSPHORIQUE [1] 8

II. 1.1. PRODUCTION D'ACIDE PHOSPHORIQUE PAR LA VOIE THERMIQUE 8

II. 1.2. PRODUCTION D'ACIDE PHOSPHORIQUE PAR LA VOIE HUMIDE (ATTAQUE SULFURIQUE) 8

II. 2. SPECTROPHOTOMETRIE D'ABSORPTION ATOMIQUE A FOUR GRAPHITE [6] 9

II. 2.1. INTERACTION LUMIERE – MATIERE 9

II. 2.2. CONDITIONS OPERATOIRES	10
II. 2.3. MISE EN ŒUVRE	10
II. 2.3.1. La lampe cathode creuse	11
II. 2.3.2. La lampe EDL (Electrodeless Discharge Lamp).....	11
II. 2.4. CELLULES DE MESURE	12
II. 2.4. LES INTERFERENCES EN SAA	13
II. 2.5. SOLUTIONS DES INTERFERENCES	13
II. 2.5.1. Dilution	13
II. 2.5.2. Méthode des ajouts dosés.....	13
II. 3. GENERALITES SUR LES METHODES D'ANALYSES.....	14
II. 3. 1. DEFINITION	14
II. 3. 2. CYCLE DE VIE D'UNE METHODE ANALYTIQUE	15
II. 4. VALIDATION ANALYTIQUE.....	15
II. 4. 1. DEFINITION	15
II. 4. 2. OBJECTIF	16
II. 4. 3. LES DIFFERENTS TYPES DE VALIDATION	16
II. 4. 4. APPROCHE D'ERREUR TOTALE	16
II. 4. 5. AVANTAGES DE L'ERREUR TOTALE	17
II. 4. 6. ETAPES DE VALIDATION ANALYTIQUE BASEE SUR LE CONCEPT DE L'ERREUR TOTALE	18
II. 4. 7. VALIDATION BASEE SUR LE PROFIL D'EXACTITUDE ET LA NOTION DE L'ERREUR TOTALE	19
II. 4. 7. 1. Spécificité.....	19
II. 4. 7. 2. Analyse de la fonction de réponse	20
II. 4. 7. 3. Justesse et Fidélité.....	21
II. 4. 7. 4. Intervalles de tolérance	22
II. 4. 7. 5. Construction du Profil d'exactitude	23
II. 4. 7. 6. Les limites de détection et de quantification.....	24
II. 4. 7. 6. 1. Limite de détection.....	24
II. 4. 7. 6. 2. Limite de quantification.....	24
II. 4. 7. 6. 3. Calcul des deux limites LD et LQ.....	24
CHAPITRE III : PARTIE PRATIQUE.....	26
III.1. INTRODUCTION	27
III.2. ANALYSE DE MERCURE DANS L'ACIDE PHOSPHORIQUE PAR SPECTROPHOTOMETRIE D'ABSORPTION ATOMIQUE.....	27
III.2.1. INSTRUMENT DE MESURE	27
III.2.2. PASSEUR D'ECHANTILLONS SOLIDES ET/OU LIQUIDES INTEGRE	27

III.2.3. PRINCIPE DE FONCTIONNEMENT	28
III.2.4. APPAREILLAGE	29
III.2.5. DOMAINE D'APPLICATION	29
III.2.6. MODE OPERATOIRE	30
III.2.6.1. Préparation des standards d'étalonnage	30
III.2.6.2. Gamme des standards de validation.....	32
III.3. RESULTATS ET INTERPRETATIONS	33
III.3. 1. LES DONNEES BRUTES	33
III.3. 2. SELECTION DU MODELE DE REGRESSION APPROPRIE/MODELE D'ETALONNAGE	34
III.3. 3. PREDICTION INVERSE.....	35
III.3. 4. SPECIFICITE.....	36
III.3. 5. CALCUL DE LA JUSTESSE	37
III.3. 6. CALCUL DE LA FIDELITE	38
III.3. 7. CALCUL DES INTERVALLES DE TOLERANCE ET TRACE DU PROFIL D'EXACTITUDE	39
III.3.8. CALCUL DE LA LIMITE DE DETECTION ET LA LIMITE DE QUANTIFICATION	40
CONCLUSION GENERALE	41
BIBLIOGRAPHIE	42

Introduction générale

Pour relever les défis de la mondialisation, la qualité est devenue un impératif vital de compétitivité, de pérennité et de développement. Ceci oblige les sociétés à suivre des méthodes de travail et à établir et appliquer des procédures de la qualité.

Le groupe OCP figure parmi les entreprises les plus positionnées sur le marché international dans le domaine de production de l'acide phosphorique et les engrais phosphatés. Pour qu'il reste concurrentielle, il est donc obligé d'assurer un système de la qualité afin de relever les défis.

C'est dans ce sens que le laboratoire central de Jorf-Lasfar, entame une mise en place d'un système de la qualité répondant à la norme ISO-17025.

La norme ISO-17025 décrit les prescriptions générales concernant la validation des méthodes d'analyse.

C'est dans cette perspective que s'inscrit mon projet de fin d'étude qui consiste à valider une méthode d'analyse de mercure dans l'acide phosphorique par spectrophotométrie d'absorption atomique à four graphite. Pour présenter ce travail :

- Le premier chapitre sera consacré à une présentation générale de l'organisme d'accueil.
- Le deuxième chapitre sera dédié à une revue bibliographique, dont laquelle trois volets seront principalement abordés. Le 1^{er} volet consistera à la production d'Acide phosphorique. Le 2^{ème} volet est lié à la méthode d'absorption atomique. Le 3^{ème} volet concerne la validation analytique de la méthode d'analyse par l'approche d'erreur totale.
- Le troisième chapitre présente l'étude expérimentale sur la validation analytique, par l'approche de l'erreur totale, de l'analyse du mercure dans l'acide phosphorique par la spectrophotométrie d'absorption atomique à four graphite.

CHAPITRE I : PRESENTATION DU GROUPE OCP

I. 1. Présentation du groupe OCP

L'OCP, un des leaders mondiaux sur le marché du phosphate et ses produits dérivés, est un acteur de référence incontournable sur le marché international depuis sa création en 1920. Présent sur toute la chaîne de valeur, OCP extrait, valorise et commercialise du phosphate et ses produits dérivés. Il est le premier exportateur mondial de roches et d'acide phosphorique, et l'un des plus importants producteurs d'engrais et de compléments d'aliments pour animaux d'élevage.

L'OCP maîtrise toute la chaîne de création de valeur de l'industrie phosphatée : extraction et traitement du minerai, transformation de cette matière première en un produit liquide intermédiaire ; acide phosphorique, et fabrication des produits finis (acide phosphorique purifié, engrais, compléments).

La variété et la qualité des sources des phosphates contenus dans le sous-sol marocain, parmi les plus importantes au monde, assurent la richesse de la gamme de produits conçue par le groupe OCP. Sa stratégie commerciale repose notamment sur un portefeuille de produits innovants et de qualité, adaptés à la diversité des sols et des variétés végétales. Sa capacité industrielle massive, couplée à la flexibilité de son appareil productif, lui assurent une structure de coûts optimale.

I. 1.2. Sites de production

Phosphate : Khouribga, Benguerir, Youssoufia, Boucraâ-Laâyoune.

Dérivés : Safi, Jorf Lasfar.

Ports d'embarquement : Casablanca, Jorf Lasfar, Safi, Laâyoune.

La figure 1 présente les différents sites du groupe OCP au Maroc.

I. 2. Activités de l'OCP

OCP maîtrise toute la chaîne de création de valeur de l'industrie phosphatée : extraction et traitement du minerai, transformation de cette matière première en un produit liquide intermédiaire, l'acide phosphorique, et fabrication des produits finis par concentration et granulation de cet acide ou par purification : engrais, acide phosphorique purifié.

Les principales activités de l'OCP sont : La prospection, la production, la valorisation et la commercialisation.

I. 2.1. La prospection

Elle consiste à faire le forage pour délimiter le gisement, s'informer sur l'épaisseur des couches et leur teneur.

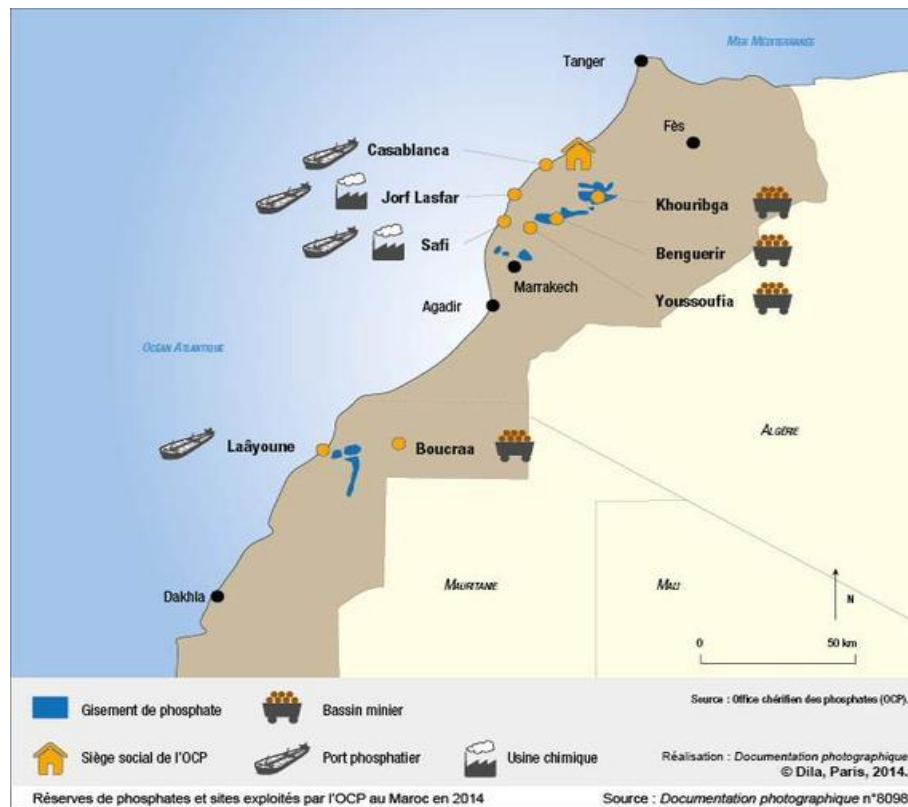


Figure 1: Carte représentative des gisements de phosphate au Maroc

I. 2.2. La production

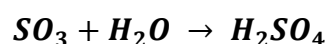
- **L'extraction** : Elle s'effectue de deux manières qui dépendent du site, puisque le phosphate se présente sous forme de couches quasi-horizontales séparés par des intercalaires stériles) soit par voie souterraine.
- **Le Traitement** : Le phosphate extrait subit un enrichissement de façon à éliminer la gangue et réduire la teneur de certaines impuretés.

I. 2.3. La valorisation

Suivant l'évolution du continu du marché mondial des phosphates de la matière brute vers l'acide phosphorique et les engrais, le groupe OCP a Concentré ses efforts sur la transformation sur place des phosphates en produit semi-fini (acide phosphorique) ou fini (les engrais).

I. 2.3.1 Production d'Acide Sulfurique

L'acide sulfurique est un mélange de trioxyde de soufre et de l'eau, C'est un liquide lourd, huileux, corrosif et miscible dans l'eau. Il est utilisé comme agent d'attaque des phosphates minéraux au cours de la fabrication d'acide phosphorique. Le reste, en moindre quantité, sert à la fabrication des engrais azotés.



I. 2.3.2 Production d'acide Phosphorique

L'acide phosphorique (H_3PO_4) est produit à partir des phosphates naturels au moyen de deux grandes catégories de procédés : thermique et humide

I. 2.3.3 Production des Engrais

Les engrais sont des produits azotés utilisés dans le domaine agricole comme produit de base pour enrichir le sol et répondre aux besoins des plantes en azote, potassium, phosphore et autres éléments nécessaires pour leur croissance. Ils occupent une très grande partie dans l'industrie mondiale et valeur importante dans le développement agricole.

I. 2.4. La commercialisation

Le phosphate est vendu selon la demande des clients aux cinq continents de la planète soit brut soit après traitement, les exportations représentent 15 à 30% du commerce international du phosphate et de ses dérivés.

I. 3. Complexe industriel Jorf-Lasfar

Le complexe des industries chimiques de JORF LASFAR a été mis en exploitation en 1986. Il est situé à 24 Km au sud de la ville d'El Jadida avec une superficie globale de 1 835 ha. Le site a l'avantage de la proximité de l'un des plus importants ports du Royaume. Le site de JORF LASFAR regroupe les industries Chimiques de valorisation de minerais de phosphates et de production des engrais phosphatés et /ou azotés. Les produits commercialisés par le site sont :

- L'acide phosphorique ordinaire qualité engrais ;
- L'acide phosphorique purifié qualité alimentaire ;
- Les engrais.

I. 4. Unité d'accueil Laboratoire Central C/L

I. 4.1. Missions du service laboratoire central

Le Service Laboratoire Central est rattaché au département Programmation et Contrôle Produits. Il a pour missions le suivi et le contrôle de la qualité des matières premières, des produits intermédiaires, et des produits finis du pôle industriel JORF LASFAR. Ainsi, il contribue à la réalisation des objectifs de la direction.

I. 4.2. Organisation du service laboratoire centrale

On peut diviser le service laboratoire central en :

- Deux salles d'analyses ;
- Une cellule qualité et métrologie ; environnement et sécurité.

- Une cellule de gestion des consommables et des équipements ;
- Une cellule de gestion du personnel.

I. 4.3. Les différentes matières analysées dans le laboratoire central

Le laboratoire exerce un contrôle journalier sur toutes les installations pour assurer leurs bonnes marches. Il effectue plusieurs types d'analyses sur divers échantillons visant à :

- Contrôler les matières premières (phosphate, soufre, ammoniac, eau...).
- Contrôler les eaux de la TED et celle des chaudières.
- Analyser les produits intermédiaires et produits finis (acide sulfurique, acide phosphorique et engrais).
- Evaluer les rejets solides (gypse), liquides et gazeux.

CHAPITRE II :

PARTIE

THEORIQUE

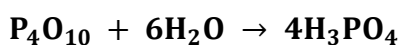
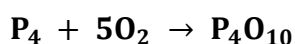
II. 1. Généralités sur la production d'acide phosphorique [1]

L'acide phosphorique, ou plus correctement acide ortho-phosphorique H_3PO_4 , est une importante composante chimique de l'industrie des engrais (intermédiaire entre la roche phosphatée et les principaux produits tels que le phosphate di-ammoniaque DAP, le phosphate mono-ammoniaque MAP ou encore le superphosphate triple TSP, utilisés en agriculture). Il est utilisé dans la fabrication des détergents, le traitement de l'eau et comme supplément alimentaire.

Deux voies, à savoir la voie humide et la voie thermique, sont envisageables pour produire de l'acide phosphorique à partir de la roche phosphatée.

II. 1.1. Production d'acide phosphorique par la voie thermique

L'acide phosphorique destiné à la fabrication de phosphates alimentaires ou techniques peut être élaboré par voie thermique, par réduction de phosphate naturel, en présence de coke et de silice, au four électrique à 2000°C . Le phosphore obtenu est oxydé en P_2O_5 puis hydraté en acide.



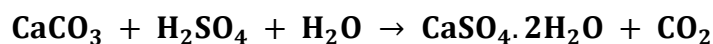
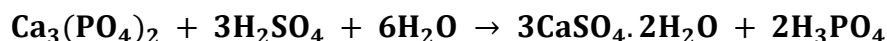
Cette voie qui donne un acide de très haute pureté est peu à peu abandonnée au profit de la voie humide suivie d'une purification par extraction liquide-liquide.

II. 1.2. Production d'acide phosphorique par la voie humide (attaque sulfurique)

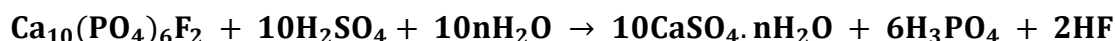
C'est le procédé le plus ancien dans l'industrie phosphorique, ainsi il est le plus utilisé dans le monde entier, vu son faible coût de revient par rapport à celui issu de la voie thermique. L'acide phosphorique produit par voie humide est obtenu à partir des phosphates naturels par attaque d'acide (nitrique, chlorhydrique ou sulfurique), L'attaque par l'acide sulfurique est le plus utilisé et présente plusieurs avantages, notamment son faible coût de revient relativement aux autres procédés, et la facilité de séparation de l'acide produit (le sulfate de calcium obtenu est pratiquement insoluble dans l'acide phosphorique).

L'acide phosphorique, ou plus correctement acide ortho-phosphorique H_3PO_4 , peut être issu de l'attaque sulfurique de roches naturelles constituées principalement de fluorophosphates de calcium, de fer et d'aluminium. A ce titre, on peut dire que H_3PO_4 est le plus important des dérivés de l'acide sulfurique. Les réactions principales (toutes exothermiques) de production de

l'acide phosphorique, issu de l'acidification de concentrés phosphatés, sont généralement les suivantes :



Ou plus correctement :



Avec n : degré d'hydratation du sulfate de calcium

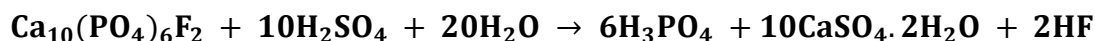
Selon les conditions opératoires et les valeurs de divers paramètres (température, concentration de l'acide, ...), on peut avoir :

n = 0 : formation d'anhydrite CaSO_4 (50-55% P_2O_5 à 120-130°C) ;

n = 0.5 : formation d'hémihydrate $\text{CaSO}_4 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$ (42-45% P_2O_5 à 20-100°C) ;

n = 2 : formation de dihydrate $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (30-32% P_2O_5 à 68-78°C).

La réaction de production d'acide phosphorique selon le procédé dihydrate est, par conséquent, la suivante :



Il conduit à un acide avec une teneur de 28 à 32% en P_2O_5 ; suite à une étape de concentration, le procédé fournit des acides titrant entre 46 et 54% en P_2O_5

II. 2. Spectrophotométrie d'absorption atomique à four graphite [2]

II. 2.1. Interaction lumière – matière

Dans le cas de l'absorption, on envoyait sur les atomes à doser un faisceau lumineux d'intensité connue, de longueur d'onde bien choisie, et on mesurait l'intensité transmise, pour en déduire le nombre d'atomes absorbants présents dans le four.

Généralement, les atomiseurs présents en spectroscopie d'absorption atomique utilisent comme source d'énergie une flamme. La spectrophotométrie d'absorption atomique à four graphite est une méthode dite « sans flamme » mettant en jeu des tubes ou baguettes graphites chauffées électriquement. Le four est composé d'un cylindre creux en graphite avec des dimensions pouvant varier de 20 à 50 mm pour la longueur et de 3 à 9 mm pour le diamètre intérieur.

Ce cylindre est placé de sorte à avoir le faisceau incident dans l'axe du tube. Celui-ci est entouré d'une enveloppe métallique où l'eau circule. Un espace sépare le tube et son enveloppe dans lequel est envoyé un flux de gaz inerte. L'argon est généralement utilisé afin d'exclure l'oxygène et d'empêcher la combustion du graphite.

II. 2.2. Conditions opératoires

Pour obtenir une sensibilité maximale, il est souhaitable de travailler:

- ❖ À haute température ;
- ❖ Avec des longueurs d'ondes bien déterminées.

En effet, l'intensité de la lumière émise par les atomes et donc la sensibilité de la mesure seront d'autant plus grandes que le nombre d'atomes excités dans le four.

Or, d'après la relation de Boltzmann:

$$\frac{N_1}{N_0} = e^{\frac{-\Delta E}{kT}} \text{ avec } \Delta E = \frac{hc}{\lambda}$$

On voit que le nombre d'atomes excités sera d'autant plus important que la température sera élevée et que le $\Delta E = \frac{hc}{\lambda}$ sera faible.

II. 2.3. Mise en œuvre

L'appareil est schématisé ci-dessous

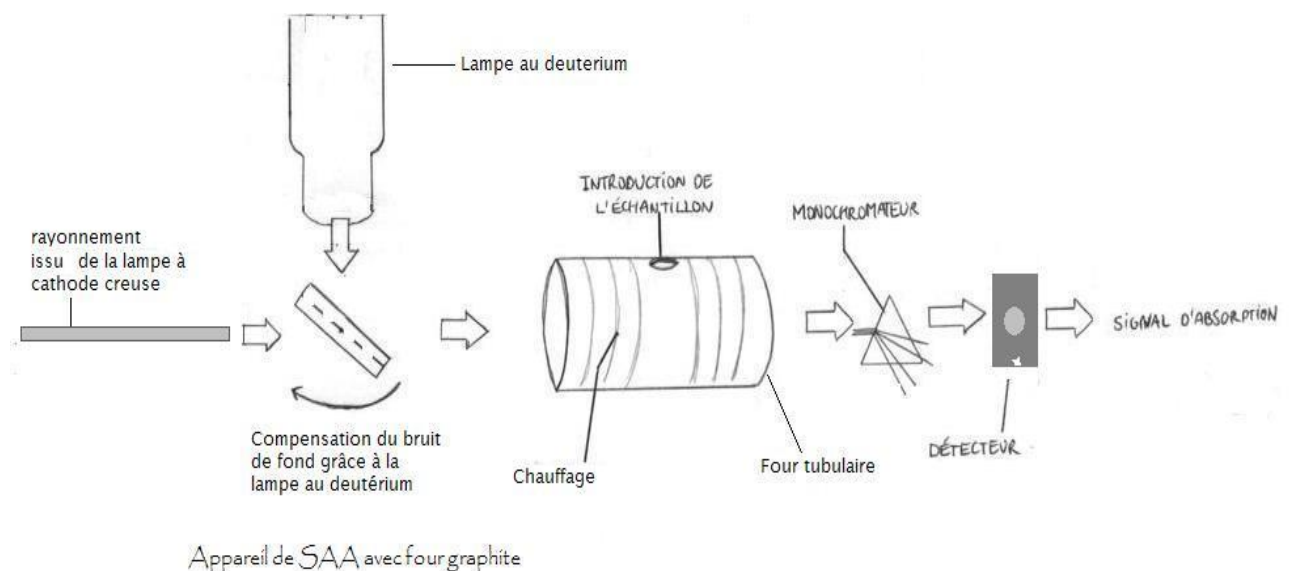


Figure 2: schéma de principe du spectrophotomètre d'absorption atomique à four graphite

Les instruments de base pour la spectrométrie d'absorption atomique comportent quatre parties principales: Le faisceau lumineux issu de la source, traverse la chambre d'absorption (four), dans laquelle l'élément se trouve porté à l'état atomique, avant d'être focalisé sur la fente d'entrée d'un monochromateur, qui sélectionne un intervalle très étroit de longueurs d'onde. Le trajet optique se termine sur la fenêtre d'entrée du détecteur.

On utilise en spectrométrie deux types de sources:

- ❖ La lampe à cathode creuse (la plus répandue) ;
- ❖ La lampe EDL.

II. 2.3.1. La lampe cathode creuse [3]

La lampe à cathode creuse est une source discontinue émettant des raies fines caractéristiques des atomes constituant la cathode.

Généralement la cathode est mono-élément, ce qui impose une lampe par élément à doser, bien que quelques lampes multiéléments (2 à 5) soient commercialisées, avec un risque de durée de vie raccourcie. La sélectivité de la lampe mono-élément permet cependant de limiter les risques d'interférences spectrales.

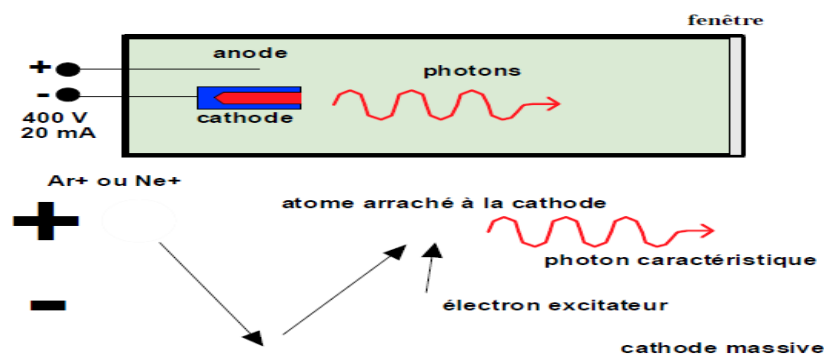


Figure 3: lampe à cathode creuse

II. 2.3.2. La lampe EDL (Electrodeless Discharge Lamp) [3]

Il est utilisé pour des éléments comme l'aluminium, l'arsenic, le bismuth, le cadmium, le césium, le mercure, le phosphore ou le zinc.

Une petite quantité d'un de ces éléments, sous forme de sel, voire de combinaison avec un ou plusieurs autres éléments, est placée dans un bulbe de quartz contenant un gaz inerte. Le bulbe est placé dans un cylindre en céramique entouré par une bobine. Lorsque le courant passe dans la bobine, un champ se crée, ionise le gaz inerte et excite les atomes se trouvant à l'intérieur du bulbe,

atomes qui émettent alors leur spectre caractéristique. La lampe EDL donne parfois de meilleures performances et possède une durée de vie supérieure à celle de la lampe à cathode creuse.

II. 2.4. Cellules de mesure

Les cellules d'absorption les plus utilisées en spectrométrie sont la flamme et le four graphite qui sont capables, à partir d'éléments présents en solution, de fournir des atomes libres en proportion suffisante pour utiliser la technique d'absorption. Pour notre analyse on a utilisé une cellule du four graphite.

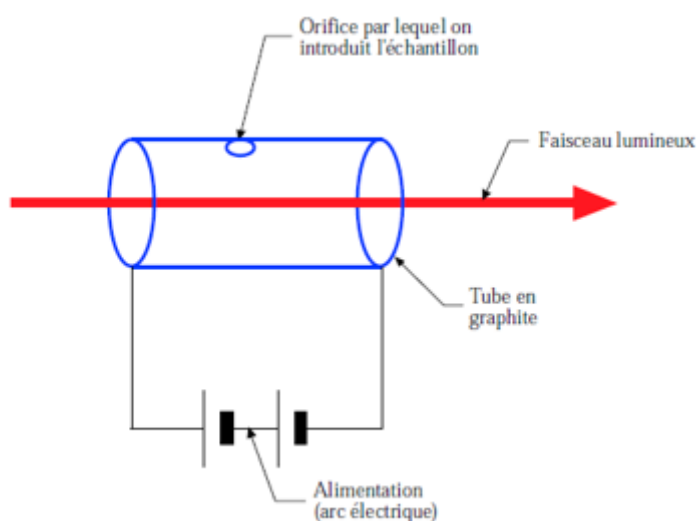


Figure 4: Schéma de four graphite

La température du tube est programmée. Le tube est chauffé par effet Joule. Le procédé d'atomisation se déroule en plusieurs étapes:

- ❖ On introduit une goutte de l'échantillon dans le tube.
- ❖ Le chauffage à 110°C permet l'évaporation du solvant (en général de l'eau).
- ❖ Le chauffage jusqu'à 500-600°C permet la minéralisation (élimination de la matière organique).
- ❖ Chauffage rapide jusqu'à 2000-3000K: l'atomisation est rapide (1 à 2 secondes) et le signal d'absorption se présente sous la forme d'un pic qu'il faut intégrer. Cette méthode a un avantage particulier: elle consomme peu de solution. En effet, une seule goutte d'échantillon peut suffire pour le dosage.
- ♣ Cette méthode est utilisée prioritairement pour les échantillons liquides, il dose l'Hg dans des solutions dont la concentration varie du ng/L (ppt) au mg/L (ppm). Sa détection limite est de l'ordre du ppt. Il a l'avantage de pouvoir analyser un grand nombre d'échantillons

pour une meilleure productivité et un faible coût d'analyse. Son option de rinçage continu permet de limiter l'effet mémoire sur les échantillons.

II. 2.4. Les interférences en SAA [6]

En SAA, on rencontre 2 types d'interférences. Les interférences spectrales s'observent lorsque des particules solides résultant de l'atomisation dispersent le rayonnement incident de la source, ou lorsque l'absorption d'une autre espèce est tellement proche de la longueur d'onde d'analyse que les pics d'absorption se superposent.

Les interférences chimiques résultent de divers processus chimiques qui se produisent pendant l'atomisation et qui modifient les propriétés d'absorption de l'analyte.

II. 2.5. Solutions des interférences [6]

II. 2.5.1. Dilution

La dilution de l'échantillon permet de diminuer les effets de matrice et peut être envisagé lorsque l'analyte est présent en concentration suffisante. En état de trace cette méthode est difficile de réaliser.

II. 2.5.2. Méthode des ajouts dosés

Cette méthode est utilisée lorsque les effets de matrice sont importants et dans les cas où la substance d'intérêt peut difficilement être extraire de la matrice. Dans ce cas, la matrice va être analysée seule puis avec des supplémentaire –ou ajouts- connues en substance à doser. La droite de réponse du détecteur en fonction de la concentration sur la figure 5.

Son équation est la suivante :

$$Réponse_{totale} = a \times C_{ajout} + Réponse_x$$

Avec :

Réponse_{totale} : Réponse du détecteur ;

a : est la pente de la droite d'étalonnage ;

C_{ajout} : Concentration de l'ajout réalisé ;

Réponse_x : Réponse du détecteur pour la solution inconnue sans ajout.

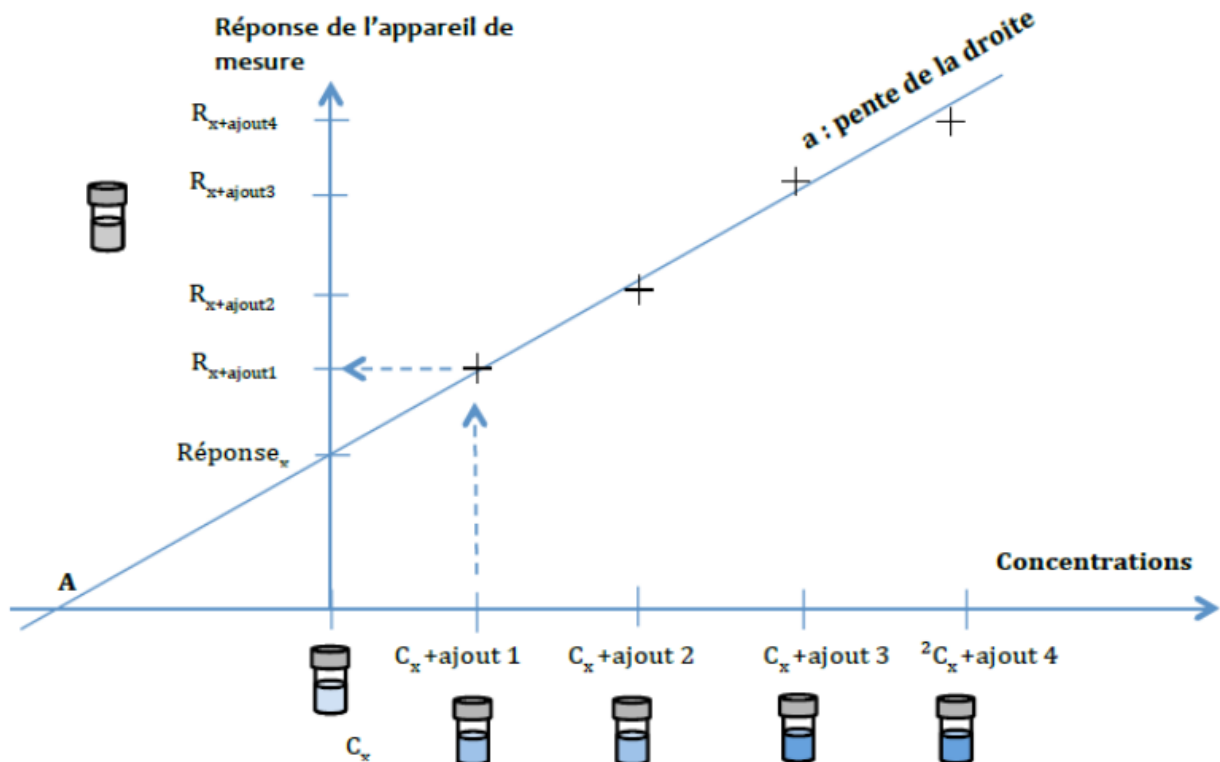


Figure 5: Représentation graphique de l'étalonnage par ajouts dosés

Par ailleurs, la concentration totale des solutions dosées est égale à la concentration de la solution inconnue à laquelle il faut ajouter la concentration de l'ajout. Soit : Sur cette droite, pour le point particulier A, où la réponse du détecteur est nulle, la concentration totale est également nulle :

$$\text{Réponse}_{\text{totale}} = 0 \text{ et } C = 0$$

$$\text{Soit : } a \times C_{\text{ajout}} + \text{Réponse}_x = 0 \text{ et } C_x + C_{\text{ajout}} = 0$$

$$\text{Soit donc : } C_{\text{ajout}} = -\frac{\text{Réponse}_x}{a} \text{ et } C_x = -C_{\text{ajout}} \rightarrow C_x = \frac{\text{Réponse}_x}{a}$$

II. 3. Généralités sur les méthodes d'analyses [4]

II. 3. 1. Définition

Une méthode analytique est un moyen visant à exprimer concrètement un besoin bien exprimé, ou encore c'est la réponse matérialisée à un problème donné. Dans le domaine analytique, deux types de méthodes sont mentionnés, les méthodes qualitatives et les méthodes quantitatives. Par rapport à cette dernière, l'objectif d'une méthode analytique peut se résumer en sa capacité à quantifier chacune des quantités inconnues présentes dans un échantillon.

II. 3. 2. Cycle de vie d'une méthode analytique

Comme tout processus, les méthodes d'analyse naissent, évoluent et disparaissent ; ce périple peut être résumé sous la forme d'un cycle de vie. La mise en œuvre d'une méthode de dosage peut se décomposer en quatre grandes phases généralement successives :

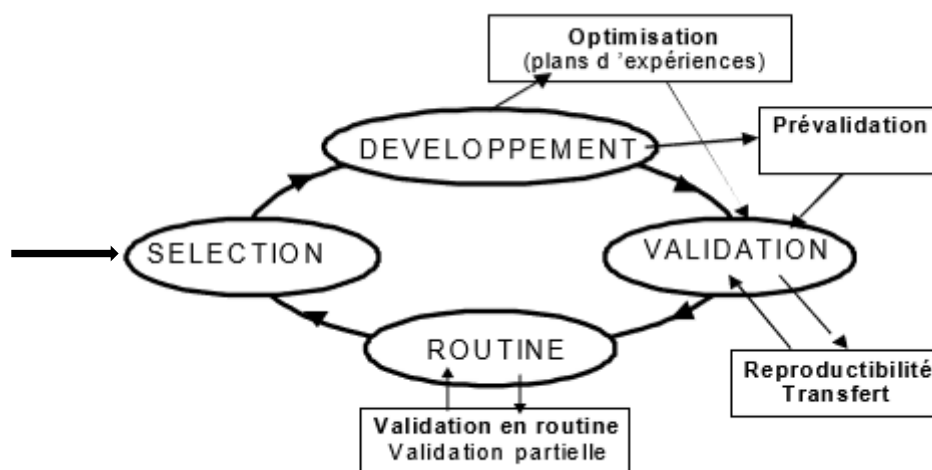


Figure 6: Cycle de vie d'une méthode analytique

- Une phase de Sélection où des objectifs et des conditions opératoires initiales sont définis ;
- Une phase de Développement, avec ou sans optimisation au moyen de plans d'expériences ;
- Une phase de Validation (Validation Interne/Externe) précédée, selon les cas, d'une phase de pré-validation ;
- Une phase d'application en routine (Usage en routine), incluant le plus souvent une validation en routine et parfois une validation partielle ou une revalidation.

II. 4. Validation analytique

II. 4. 1. Définition [5]

Valider une méthode consiste à démontrer, avec un degré de confiance élevé et sous une forme documentée, que la méthode permet d'obtenir un résultat analytique qui atteint les spécifications définies à l'avance. L'objectif de la validation est de s'assurer qu'une méthode analytique donnée donnera des résultats suffisamment fiables et reproductibles, compte tenu du but de l'analyse. Il faut donc définir correctement à la fois les conditions dans lesquelles la méthode sera utilisée et le but dans lequel elle sera employée. Elle permet aussi de donner des garanties quant à l'aptitude de la méthode analytique à quantifier le plus exactement possible chacune des quantités inconnues que le laboratoire aura à quantifier à l'avenir.

II. 4. 2. Objectif

Il est nécessaire de produire des données fiables dans des conditions maîtrisées pour réaliser une interprétation de qualité de ces données. Cette exigence fait partie des responsabilités de l'analyste qui se doit de produire des résultats dont il est capable de garantir le niveau de sûreté.

II. 4. 3. Les différents types de validation

Il existe deux approches pour valider une méthode analytique :

- Les approches classiques (dites aussi approches des critères) fondées sur les tests d'hypothèses utilisent séparément les deux erreurs, aléatoire et systématique, pour la prise de décision.
- L'approche basée sur le concept de l'erreur totale : propose un outil graphique de prise de décision à la fois pratique et visuel, nommé profil d'exactitude.

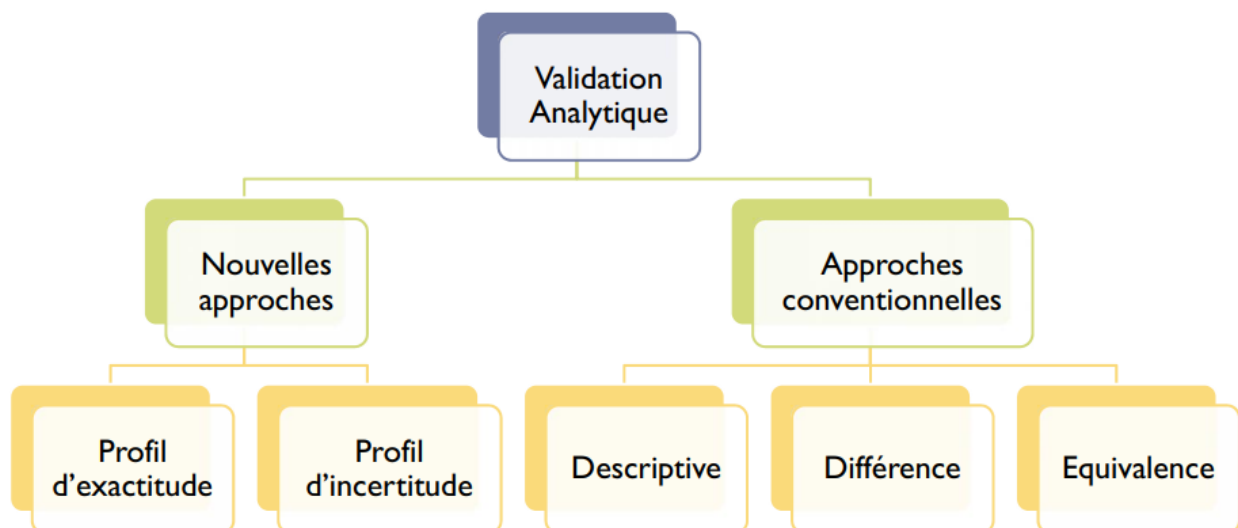


Figure 7: Différents types de validation analytique

II. 4. 4. Approche d'erreur totale

Approche de l'erreur totale L'approche de l'erreur totale est une démarche harmonisée de validation applicable aux différentes procédures analytiques quantitatives, et ce indépendamment du secteur d'activité le but principal de cette approche est non uniquement de recadrer les objectifs de la validation en fonction de la finalité de la méthode analytique, de valider telle qu'elle sera utilisée en routine, mais également d'offrir un outil pratique de décision en distinguant notamment les règles de diagnostic et les règles de décision.

En effet, cette démarche repose sur l'utilisation du profil d'exactitude, qui intègre de façon statistiquement correcte dans un seul graphique l'ensemble des éléments essentiels de la

validation, à savoir le biais, la fidélité, le risque et les limites de quantifier le plus exactement possible chacune des quantités inconnues que le laboratoire aura à déterminer. [5]

Pour comprendre la démarche de validation par le profil d'exactitude, il faut revenir aux besoins et attentes du demandeur d'analyse.

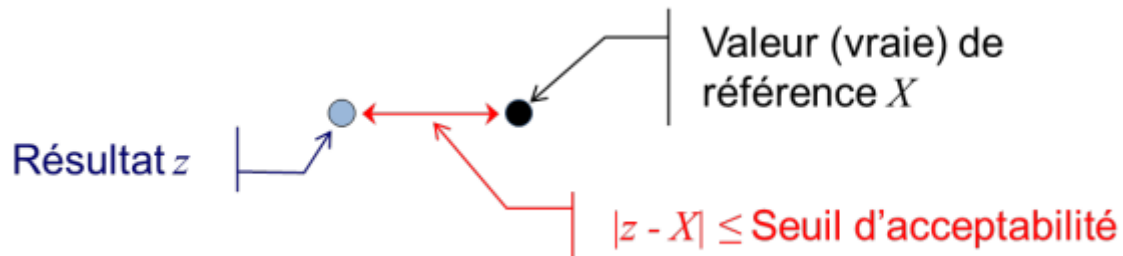


Figure 8: Les attentes du demandeur d'analyse

Le demandeur d'analyse s'attend à ce que le laboratoire lui rende un résultat z « aussi proche que possible » de la valeur vraie X de son échantillon (figure 8). Il accepte qu'il y ait un écart $|z - X|$ mais celui-ci doit être raisonnable, c'est-à-dire ne pas l'amener à prendre une décision trop risquée. Cette notion de **limite d'acceptabilité**, qu'elle soit implicite ou explicite, est fondamentale pour valider une méthode. On peut l'exprimer en valeur absolue ou relative. Par exemple, dans le domaine pharmaceutique, elle est de 5% de la valeur nominale d'une substance active dans un médicament.

$$-\lambda < z - X < +\lambda \quad \text{ou} \quad |z - X| < \lambda$$

Cette approche peut également fournir des garanties en calculant la probabilité de produire des résultats situés dans les limites d'acceptabilité $\pm\lambda$. Cette idée de « fournir une garantie » peut s'écrire sous la forme d'une probabilité supérieure ou égale à une proportion β :

$$P(-\lambda < z - X < +\lambda) \geq \beta$$

II. 4. 5. Avantages de l'erreur totale

La méthode de validation reposant sur le concept d'erreur totale en combinant les deux erreurs, aléatoire et systématique, présentent plusieurs avantages par rapport aux approches classiques :

- a. Elle est considérée comme une approche globale qui être appliqué quelque soit le domaine d'activité et la matrice étudiée.

- b. Cette approche propose une méthode d'interprétation graphique très simple et visuelle qui ne s'embrasse pas de tests statistiques toujours délicats à décrypter. Son objectif est de servir les analystes plutôt que de les transformer en statisticiens.
- c. Elle permet de minimiser considérablement le risque d'accepter une procédure qui ne serait pas suffisamment exacte ou, au contraire, de rejeter une procédure qui serait exacte (dans les deux cas il s'agit d'améliorer significativement le rapport cout/efficacité des prestations).
- d. Elle permet non seulement de simplifier l'approche de validation d'une procédure mais aussi l'estimation de l'incertitude de mesure sur la base des données de validation.
- e. Elle permet de générer différents modèles d'étalonnage et possibilité de choisir le plus adéquat pour calculer, par prédiction inverse, la concentration en retour.

II. 4. 6. Etapes de validation analytique basée sur le concept de l'erreur totale

D'un point de vue pratique, cette approche de validation peut se résumer aux étapes suivantes :

1. Réalisation des expériences sur deux gammes :
 - i. Une gamme de Standards d'étalonnage (Echantillons de concentrations connues)

L'étalonnage c'est le procédé par lequel un instrument ou un appareil de mesure est testé afin de déterminer sa sensibilité envers un analyte présent dans la solution étalon.

- ii. Une gamme de Standards de Validation (Echantillons reconstitués dans la matrice).
2. Alignement des observations, (si pour un niveau de concentration, les quantités introduites ne sont pas identiques pour toutes les séries).
3. Sélection des limites d'acceptabilité en fonction des contraintes du secteur d'activité.
4. Choix du modèle adéquat après génération de plusieurs modèles d'étalonnage.
5. Calcul des concentrations en retour à partir du modèle sélectionné par prédiction inverse.
6. Calcul de justesse à chaque niveau de concentration.
7. Calcul de la fidélité à chaque niveau de concentration.
8. Calcul des intervalles de tolérance bilatéraux pour chaque niveau de concentration.
9. Etablissement de profil d'exactitude ou d'incertitude.

II. 4. 7. Critères de validation basée sur le profil d'exactitude et la notion de l'erreur totale

II. 4. 7. 1. Spécificité

Une procédure d'analyse est dite « spécifique » lorsqu'elle permet de garantir que le signal mesure provient seulement de la substance à analyser ou qu'elle permet de mesurer quantitativement un paramètre physicochimique ou un groupement fonctionnel d'une ou de plusieurs substances dans l'échantillon. Le critère de spécificité sont plutôt qualitatifs et ne pourront pas vraiment être calculés. En outre, il est assez évident qu'ils sont à l'origine d'un manque de justesse et participeront quantitativement à ce qu'on appelle globalement l'erreur de mesure ou erreur totale. Il est facile de comprendre que la cause principale d'une « non-spécificité » est la présence d'interférences. En dehors d'une origine instrumentale, un nombre d'interférences sont dues à la présence d'autre constituant majoritaire dans l'échantillon : on parle alors d'effet de matrice.

Pratiquement les interférences ont deux conséquences néfastes. Soit, elles entraînent une surestimation de la concentration de l'échantillon, car la réponse est plus élevée que ce qu'elle devrait être. Soit, elles causent une sous-estimation de la concentration, car le signal est partiellement masqué. Dans les deux cas, elles occasionnent donc un biais de justesse (erreur systématique). Dans le cas d'un dosage dans une matrice qu'on ne maîtrise pas des composantes, la méthode graphique reste la meilleure solution pour démontrer l'absence d'interférences.

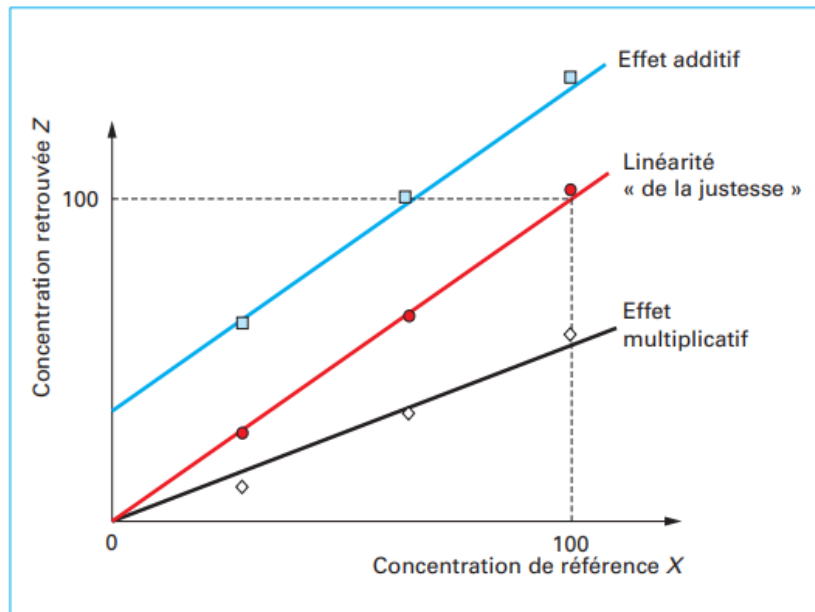


Figure 9: Représentation graphique de concentration introduction en fonction de concentration retrouvée, visualisant l'effet de matrice sous ces différents aspects, additifs et multiplicatifs

La figure illustre un exemple de cette droite de justesse selon trois situations hypothétiques :

- Les cercles pleins produisent une droite confondue avec la première bissectrice ; la spécificité est parfaite.
- Les carrés illustrent un décalage systématique des concentrations retrouvées ; on parle d'effet additif.
- Les losanges illustrent une situation dans laquelle le biais est proportion à la concentration ; on parle d'effet multiplicatif. Soit X la valeur introduction et Z la concentration retrouvée par étalonnage inverse, ces trois droites correspondent aux équations suivantes :

- Absence d'effet : $Z = X$
- Effet multiplicatif : $Z = b X$
- Effet additif : $Z = a + X$ Mais, on peut aussi supposer qu'il existe des situations où ces effets se combinent :
- Combinaison des effets : $Z = a + b X$

II. 4. 7. 2. Analyse de la fonction de réponse

Cette étape est l'une des étapes les plus importantes du fait que la fiabilité des résultats de validation qui seront obtenus dépend du modèle de régression sélectionné. Une fois les expériences réalisées et les données collectées, il convient tout d'abord de déterminer sur la base de la gamme des standards d'étalonnage, la relation entre la réponse (signal ou réponse de l'instrument) Y et la quantité (concentration) X . Cette relation se caractérise à l'aide d'une

fonction $\mathcal{F}$ qui doit être strictement monotone (strictement croissante ou décroissante) sur l'intervalle de dosage envisagé :

$$Y = \mathcal{F}(X) + \varepsilon$$

Où $\varepsilon \sim N(0, \sigma^2)$ est l'erreur associée à la fonction de réponse $\mathcal{F}$ appelée communément erreur résiduelle. Différentes fonctions de réponses peuvent être sélectionnées lors de la validation de la méthode, dont on peut citer quelques exemples comme illustré le tableau ci-dessous :

Type	Equation	Paramètres
Droite passant par l'origine	$Y = bX$	B
Droite linéaire	$Y = a + bX$	a, b
Fonction quadratique	$Y = a + bX + cX^2$	a, b, c
Transformation logarithmique	$\text{Ln}(Y) = \alpha + \beta \text{Ln}(X)$	α, β
Transformation racine carré	$\sqrt{Y} = \delta + \gamma \sqrt{X}$	δ, γ

Tableau 1:Exemples de fonction de réponse

II. 4. 7. 3. Justesse et Fidélité [7]

- La **justesse** qui est parfois qualifiée d'erreur systématique et s'estime par un biais, $\delta = (Z - X)$ où Z est la moyenne des n mesures ;

La justesse peut être alors calculée à partir des données récoltées, sous diverses formes, comme un biais moyen absolu ou relatif. Nous préférons l'évaluer à l'aide du taux de récupération (ou recouvrement) moyen $R\%$, dans la mesure où les valeurs de référence sont obtenues par ajouts dosés. $R\%$ s'obtient en faisant le rapport entre la moyenne des concentrations retrouvées et la valeur de référence.

$$R\% = 100 \times \frac{Z}{X}$$

- La **fidélité** qui est un critère qui quantifie la dispersion des mesurages sans faire intervenir la valeur de référence, alors que la justesse caractérise un décalage par rapport à la valeur de référence. et s'évalue avec l'écart-type s_F .

De ces deux concepts découle un 3ème concept, l'**exactitude**, $(z - X)$, qui est plus avantageux que les deux concepts de base pris individuellement, puisqu'il combine fidélité et justesse (figure 10).

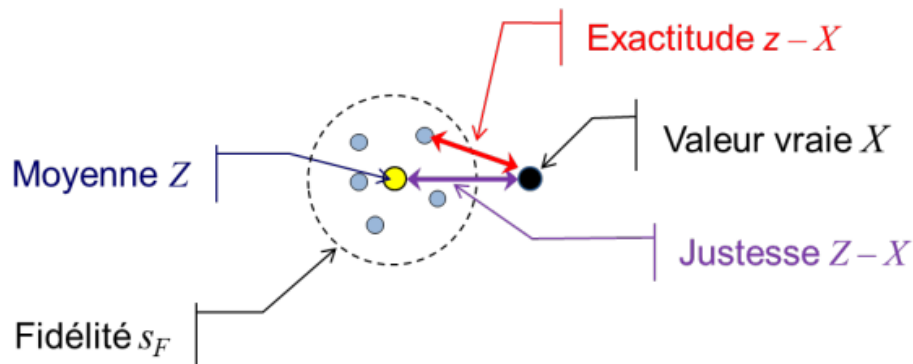


Figure 10: Schéma des concepts de fidélité, justesse, exactitude

II. 4. 7. 4. Intervalles de tolérance [7]

Intervalle de tolérance β (disque bleu, figure 11) c'est un intervalle qui évalue la dispersion probable des mesures. C'est un intervalle dans lequel on est capable de prédire qu'il se trouve en moyenne une proportion β connue de mesures possibles. Il nous intéresse car il caractérise une population et non pas une simple statistique, comme l'intervalle de confiance. Cet intervalle prend en compte la fidélité et la justesse.

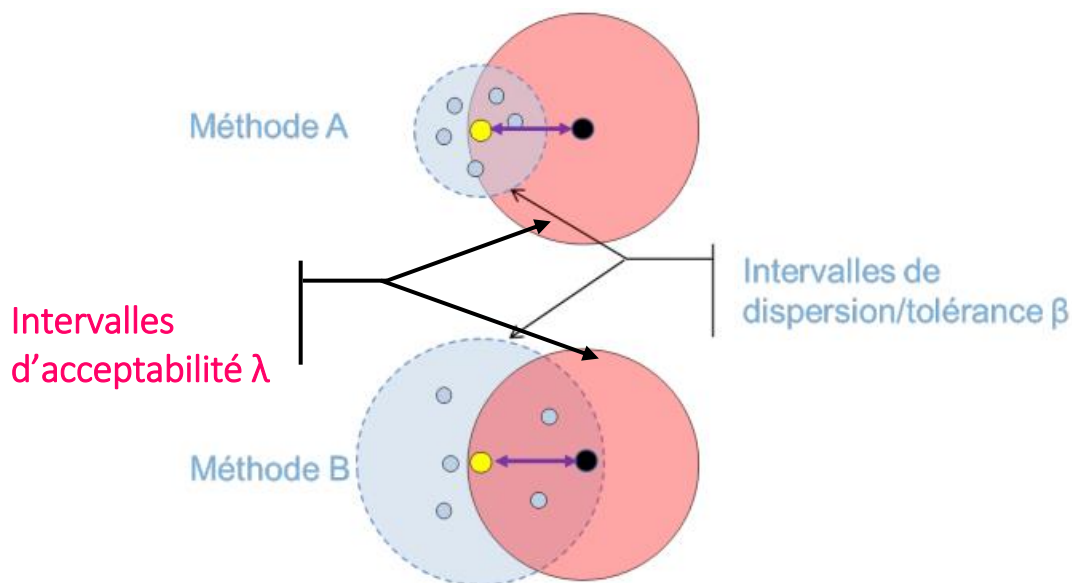


Figure 11: Limite d'acceptabilité et intervalle de dispersion, ou tolérance β

On conclut que **la méthode est valide quand l'intervalle de tolérance β est entièrement contenu dans la zone d'acceptabilité, définie par $\pm\lambda$** . C'est le cas de la méthode A, après avoir apporté une correction sur la justesse (figure 11). Quand l'intervalle de tolérance sort de l'intervalle

d'acceptabilité, on dit que la méthode ne produit plus assez de résultats acceptables et elle est par conséquent non valide. C'est ce qui se passe avec la méthode B, même si on corrige sa justesse.

$$E_{z,\sigma_x}\{P[|X - Z| < \lambda]\} \geq \beta$$

Selon Mee, les intervalles de tolérance doit être de la forme suivante :

$$Z \pm K\sigma_{FI}$$

Ces intervalles peuvent aussi être exprimés en terme relative :

$$\delta(\%) \pm KCV_{FI}$$

II. 4. 7. 5. Construction du Profil d'exactitude

- À reporter sur l'axe horizontal

1) Les valeurs de référence moyennes.

- À reporter sur l'axe vertical

2) Les limites de tolérance basses relatives ;

3) Les limites de tolérance hautes relatives ;

4) Les taux de recouvrement moyens ;

5) Les limites d'acceptabilité basses relatives ;

6) Les limites d'acceptabilité hautes relatives.

En itérant cette démarche pour des échantillons ayant différentes valeurs de référence, on obtient un **profil d'exactitude**.

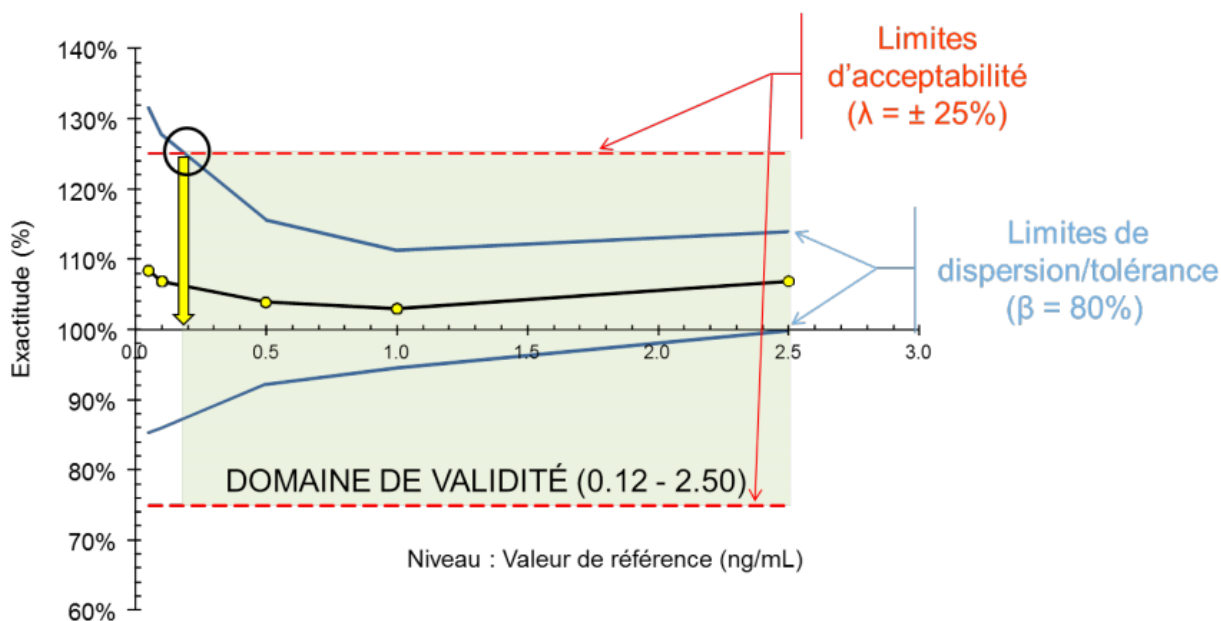


Figure 12: Profil d'exactitude de la caféine dans le plasma

II. 4. 7. 6. Les limites de détection et de quantification

II. 4. 7. 6. 1. Limite de détection

La limite de détection d'une procédure d'analyse est la plus petite quantité de l'analyte dans un échantillon pouvant être détectée, mais non quantifiée comme une valeur exacte dans les conditions expérimentales décrites de la procédure.

II. 4. 7. 6. 2. Limite de quantification

C'est la plus petite quantité de l'analyte dans un échantillon pouvant être dosée dans les conditions expérimentales décrites, avec une exactitude définie.

La relation liée la limite de détection à la limite de quantification est la suivante :

$$LQ = \frac{100}{30} \times LD = 3.33 \times LD$$

II. 4. 7. 6. 3. Calcul des deux limites LD et LQ

Selon la norme XP-T90 le calcul des limites de quantification et de détection est établi comme suit :

$$y_{LD} = a_0 + 3S_{a_0} = a_0 + a_1 \times x_{LD}$$

Donc la valeur de la limite de détection est :

$$x_{LD} = \frac{3 \times S_{a_0}}{a_1}$$

$$\text{Et } x_{LQ} = \frac{10 \times s_{a_0}}{a_1}$$

Chapitre III :

PARTIE

PRACTIQUE

III.1. Introduction

Le présent travail a pour objet de valider une méthode d'analyse de mercure contenu dans l'acide phosphorique industriel 85% H_3PO_4 , par la Spectrophotométrie d'absorption atomique à four graphite. Et ce par la méthodologie d'erreur totale.

En effet les principales caractéristiques à déterminer pour évaluer les performances de cette méthode sont les suivantes :

- ❖ La spécificité ;
- ❖ L'exactitude ;
- ❖ Les limites de détection et quantification.

III.2. Analyse de mercure dans l'acide phosphorique par spectrophotométrie d'absorption atomique

III.2.1. Instrument de mesure [8]

L'analyseur de mercure automatique DMA-80 est un instrument innovant qui permet l'analyse du mercure à très basse teneur dans des échantillons solides et liquides en cinq minutes, sans nécessiter d'étapes préalables de prétraitement par voie humide. Cet instrument est utilisable en laboratoire ou en extérieur pour une réponse rapide lors de l'expertise de décharges, de matériaux stockés ou de sites contaminés.



Figure 13: L'instrument de mesure DMA-80

III.2.2. Passeur d'échantillons solides et/ou liquides intégré

Le passeur automatique dispose de 40 positions et permet d'introduire automatiquement des échantillons solides et liquides au moyen de coupelles en inox de grande capacité. La masse

maximale de solides est égale à 700 mg, tandis que le volume de liquide maximum est égal à 1000 μl , ce qui permet d'atteindre une limite de détection en liquide de 10 ng/l, soit 10 ppt de Hg. Il est possible de réaliser l'étalonnage de l'instrument avec des étalons solides (matériaux de référence certifiés) ou liquide pour l'analyse de solides et de liquides.



Figure 14: Passeur d'échantillons solides et/ou liquides intégré

III.2.3. Principe de fonctionnement [9]

La teneur en mercure dans l'acide phosphorique est déterminée par spectrométrie d'absorption atomique à four graphite après incinération sous flux d' O_2 grâce à la détermination de la quantité d'énergie absorbée lors de l'excitation des atomes de mercure. Cette absorbance (A_λ) est en fonction de la concentration de mercure présente selon la loi de Beer-Lambert :

$$A_\lambda = \log I_0/I_t = \varepsilon.l.c$$

- Où ε le coefficient d'absorption molaire ;
- l la longueur du trajet optique ;
- I_0 l'intensité initiale de la source lumineuse (rayonnement de référence) ;
- I_t l'intensité transmise après avoir traversé l'échantillon.

La technique utilisée pour l'analyse de Hg est constituée d'un premier four dans lequel va avoir lieu le séchage et la combustion de l'échantillon à 200°C sous flux d' O_2 , puis un deuxième four à 650°C contenant un tube catalytique permettant la décomposition des gaz résultant de la combustion ainsi que la réduction de mercure en Hg° . Les vapeurs d' Hg° entraînées par le flux d'oxygène sont fixées et ainsi pré-concentrées sur un piège d'or. Celui-ci est alors chauffé très rapidement par un troisième four à 650° (Technique d'amalgamation). Les atomes de mercure sont capturés de façon sélective à la surface du collecteur en or (GoldTrap). Le mercure libéré est

transporté à travers la cellule de mesure où sa masse est déterminée quantitativement par absorption atomique (les vapeurs de mercure sont envoyées vers le détecteur) où la hauteur du pic d'absorbance est mesurée à 253.7 nm en tant que fonction du contenu en mercure (ng).

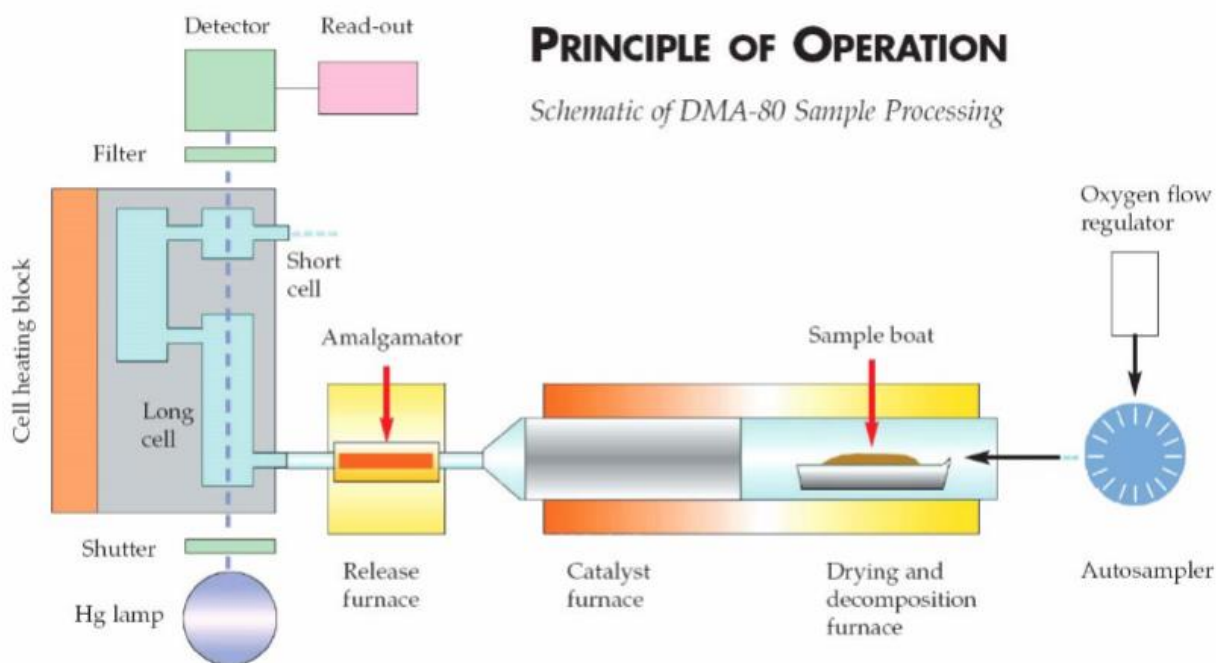


Figure 15: Principe de mesure

III.2.4. Appareillage

Le matériel utilisé est cité dans le paragraphe suivant :

- ✓ Matériel courant de laboratoire ;
- ✓ Spectrophotomètre GFAAS (Direct Mercury Analyzer) ;
- ✓ Microordinateur et le Logiciel de traitement des données (Jalon terminal DMA-80, 660-1660 l avec Logiciel DMA-80 ou DMA-80 PC) ;
- ✓ Des cuves en quartz, et métallique ;
- ✓ Balance analytique, Micropipette (200±1) µl, Micropipette (1000 ±1) µl ;
- ✓ Fiole jaugée (1000±0,04) ml ; fiole jaugée (50±0,06) ml;
- ✓ Fiole jaugée (100±0,1) ml.

III.2.5. Domaine d'application

Le domaine d'application pour valider cette méthode est défini par les points suivants :

- Matrice d'analyse : l'acide phosphorique industriel 85% H_3PO_4 dont les composantes sont inconnues ;

- L'intervalle de dosage dans lequel la linéarité est vérifiée est bien déterminé (0,5-14) ng ;
- Les limites d'acceptation sont fixées à $\pm 10\%$;
- La proportion β est fixée à 80%.

III.2.6. Mode opératoire

III.2.6.1. Préparation des standards d'étalonnage

La gamme d'étalonnage est préparée à partir d'un MRC : solution mono-élément de mercure : $1 \pm 0,002 \text{ g/Kg}$

- Puis on prépare une solution mère de 50 ng/L de Hg;
- A partir de cette solution on prépare 7 solutions étalons de concentration variant entre 0.5 ng/L et 20 ng/L.



Figure 16: Matériels utilisés pour la préparation des solutions étalonnage et validation

- *Etalon 1 : 0.5 ng/L*

$$C_i V_i = C_f V_f \text{ donc } V_i = \frac{C_f V_f}{C_i} \rightarrow V_i = \frac{0,5 \times 500}{50} = 1 \text{ ml}$$

- Dans une fiole jaugée de 500 ml, on prélève donc 1 ml de solution mère de concentration 50 ng/L puis on ajuste le volume avec de l'eau distillée ;
- De la même façon on prépare les 6 autres étalons, les résultats de démarche d'étalonnage sont résumés dans le tableau suivant :

Pour la calibration d'Hg en g. 10⁻⁹	volume des standards mesuré pour atteindre cette calibration
0.5	1mL d'une solution mère de 50ng/L
1	10mL d'une solution mère de 50ng/L
2	20mL d'une solution mère de 50ng/L
3	30mL d'une solution mère de 50ng/L
5	50mL d'une solution mère de 50ng/L
10	100mL d'une solution mère de 50ng/L
20	200mL d'une solution mère de 50ng/L

Tableau 2: Résumé de la démarche de calibration

- On introduit les cuves dans le plateau à échantillon, et on démarre le programme pour faire une calcination des cuves ;
- Après la calcination on injecte 0,1ml de chaque solution étalon à l'aide d'une micropipette dans des cuvettes en quartz ;



Figure 17: Introduction d'échantillon dans le plateau à échantillon

- On démarre le programme jusqu'à la fin.

Les conditions expérimentales d'analyse par le DMA-80 sont présentées dans le tableau 3 :

Numéro de l'étape	Temps	Température
1	00:01:00	200°C
2	00:02:00	650°C
3	00:01:00	650°C
Purge: 60 secondes		

Tableau 3: programmation de l'appareil pour la matrice d'acide phosphorique

III.2.6.2. Gamme des standards de validation

La préparation de la gamme de validation consiste à préparer 8 niveaux de concentration variant entre 0 ng/L et 14 ng/L par la méthode des ajouts dosés, le plan de préparation est donné par le tableau 4 :

Essai n°	0	1	2	3	4	5	6	7
Volume solution d'essai (ml)	0,1ml d'acide phosphorique	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Volume solution étalon (ml)	0 ml d'étalon	0,1 0,5ng/L	0,1 1ng/L	0,1 2ng/L	0,1 3ng/L	0,1 5ng/L	0,1 8ng/L	0,1 14ng/L
Qsp avec de l'eau distillée	500ml	500ml	500ml	500ml	500ml	500ml	500ml	500ml

Tableau 4: Résumé de la démarche de validation

- Après calcination des cuvettes on injecte 0,1ml de standard de validation à l'aide d'une micropipette ;
- On démarre le programme DMA-80 dans les mêmes conditions de temps et de température que les standards d'étalonnage ;

III.3. Résultats et interprétations

III.3. 1. Les données brutes

Standards d'étalonnage ont été analysées pendant trois jours différents (p=3), avec des niveaux de concentration (m=7) et chaque niveau étant répété deux fois (n=2).

Niveau	Cint	Réponse analytique (Abs)		
		Série 1	Série 2	Série 3
1	0,5	0,0237	0,0224	0,0227
	0,5	0,0229	0,0274	0,025
2	1	0,0498	0,0452	0,043
	1	0,0472	0,0439	0,0419
3	2	0,1142	0,1111	0,0798
	2	0,1142	0,0839	0,0824
4	3	0,1666	0,1712	0,1189
	3	0,1802	0,1477	0,1183
5	5	0,2066	0,2011	0,2114
	5	0,182	0,2182	0,2115
6	10	0,3578	0,3729	0,3698
	10	0,3123	0,3626	0,3741
7	20	0,7578	0,6676	0,7322
	20	0,7296	0,7634	0,7269

Tableau 5: Gamme de standard d'étalonnage

Standards de validation ont été analysées pendant trois jours différents (p=3), avec des niveaux de concentration (m=8) et chaque niveau étant répété deux fois (n=2).

niveau	Cint	Réponse analytique (Abs)		
		Série 1	Série 2	Série 3
0	0	0,2012	0,2002	0,1928
	0	0,1999	0,1995	0,1925
1	0,5	0,2198	0,2186	0,2123
	0,5	0,2174	0,2176	0,2119
2	1	0,2376	0,2348	0,2310
	1	0,2347	0,2352	0,2303
3	2	0,2753	0,2742	0,2680
	2	0,2679	0,2686	0,2680
4	3	0,3101	0,3086	0,3067
	3	0,3066	0,3030	0,3059
5	5	0,3767	0,3724	0,3703
	5	0,3684	0,3677	0,3705
6	8	0,4827	0,4844	0,4934
	8	0,4899	0,4870	0,4934
7	14	0,6910	0,6920	0,7064
	14	0,7050	0,6989	0,7124

Tableau 6: Gamme de standard de validation

III.3. 2. Sélection du modèle de régression approprié/Modèle d'étalonnage

En vue de transformer les réponses instrumentales mesurées en concentrations par prédiction inverse, il faut sélectionner le modèle convenable d'étalonnage.

Pour choisir le modèle le plus adéquat qui est capable de produire une proportion suffisante de futures mesures qui se situeront à l'intérieur de la zone d'acceptabilité, nous avons généré plusieurs modèles reliant l'absorbance à la concentration de mercure.

Le tableau 7 regroupent les résultats statistiques de tous les modèles générés :

	Série	a0	a1	a2	R ² %	R ² ajusté %	R ² prédite%
Linéaire simple	1	0,0244	0,03522	-	98,48%	98,35	97,95
	2	0,02578	0,03467	-	98,78	98,68	97,45
	3	0,01166	0,03608	-	99,88	99,86	99,84
Linéaire pondérée 1/C	1	0,01472	0,03685	-	96,07	95,74	95,06
	2	0,01252	0,03691	-	97,61	97,41	96,78
	3	0,00662	0,036931	-	99,74	99,72	99,67
Linéaire pondérée 1/C ²	1	0,00396	0,04329	-	93,06	92,48	91,11
	2	0,00494	0,04144	-	95,74	95,38	94,17
	3	0,004897	0,037959	-	99,6	99,56	99,34
Transformation racine	1	0,0562	0,1776	-	97,85	97,67	97,25
	2	0,0495	0,17945	-	98,8	98,7	98,26
	3	0,02409	0,18642	-	99,88	99,87	99,85
Transformation logarithmique	1	-2,9869	0,8952	-	97,83	97,65	97,21
	2	-3,0232	0,9088	-	98,84	98,75	98,49
	3	-3,1285	0,9368	-	99,86	99,84	99,8
Linéaire quadratique	1	0,0361	0,02977	0,000268	98,63	98,38	97,77
	2	0,0178	0,03838	- 0,00018	98,86	98,65	96,77
	3	0,00568	0,03888	- 0,000137	99,91	99,9	99,86

Tableau 7: Résultats statistiques obtenus au prés de chaque model généré

D'après les résultats obtenus et en se basant sur le paramètre R² (%), on peut déduire que le modèle le plus adéquat est le modèle linéaire simple.

III.3. 3. Prédiction inverse

Les calculs de la justesse et de la fidélité se fait par des concentrations prédites et non pas avec les réponses. La prédiction inverse se s'effectue via la fonction inverse de la fonction de réponse choisie à partir des données de calibration, selon le modèle mathématique suivant :

$C_{ret} = f^{-1}(Y)$ avec C_{ret} est la concentration retrouvée,

et $f^{-1}(Y)$ est l'équation de prédiction inverse.

L'équation de prédiction inverse pour le modèle linéaire simple est :

$$C_{ret} = \frac{Y - a_0}{a_1}$$

Et Z_{ret} qui correspond à la concentration retrouvée sans effet de matrice et donnée par la formule suivante : $Z = C_{ret} - C_0$, avec C_0 est la concentration de niveau 0 c'est-à-dire de l'acide phosphorique seul.

Le tableau 8 présente aux différents niveaux de concentration, les concentrations retrouvées avec effet de matrice (C_{ret}) et sans effet de matrice (Z_{ret})

niveau	C_{int}	C_{ret}			Z_{ret}			Z_{moy}
		Série n°1	Série n°2	Série n°3	Série n°1	Série n°2	Série n°3	
0	0	5,0198	5,0313	5,0195				
	0	4,9817	5,0109	5,0118				
1	0,5	5,5488	5,5603	5,5605	0,5290	0,5290	0,5410	0,5258
	0,5	5,4797	5,5319	5,5488	0,4980	0,5210	0,5370	
2	1	6,0538	6,0273	6,0785	0,9960	1,0340	1,0590	1,0257
	1	5,9707	6,0399	6,0588	0,9890	1,0290	1,0470	
3	2	7,1228	7,1653	7,1045	2,1030	2,1340	2,0850	2,0565
	2	6,9137	7,0029	7,1048	1,9320	1,9920	2,0930	
4	3	8,1118	8,1563	8,1785	3,0920	3,1250	3,1590	3,0893
	3	8,0137	7,9959	8,1548	3,0320	2,9850	3,1430	
5	5	10,0028	9,9963	9,9405	4,9830	4,9650	4,9210	4,9068
	5	9,7677	9,8629	9,9458	4,7860	4,8520	4,9340	
6	8	13,0118	13,2273	13,3515	7,9920	8,1960	8,3320	8,2315
	8	13,2167	13,3039	13,3528	8,2350	8,2930	8,3410	
7	14	18,9258	19,2153	19,2545	13,9060	14,1840	14,2350	14,2470
	14	19,3247	19,4159	19,4208	14,3430	14,4050	14,4090	

Tableau 8: Les concentrations retrouvées par prédiction inverse

III.3. 4. Spécificité

Dans le cas d'un dosage dans une matrice qu'on ne maîtrise pas ses composantes, la méthode graphique reste la meilleure solution pour démontrer l'absence d'interférences.

On trace la concentration introduite en fonction de la concentration retrouvée ainsi qu'en fonction de la concentration retrouvée sans effet de matrice pour avoir la différence. Les tracés sont représentés dans la figure 18.

Cint	Cret	Zmoy
0,5	5,5383	0,5258
1	6,0382	1,0257
2	7,0690	2,0565
3	8,1018	3,0893
5	9,9193	4,9068
8	13,2440	8,2315
14	19,2595	14,247

Tableau 9: Les concentrations retrouvées

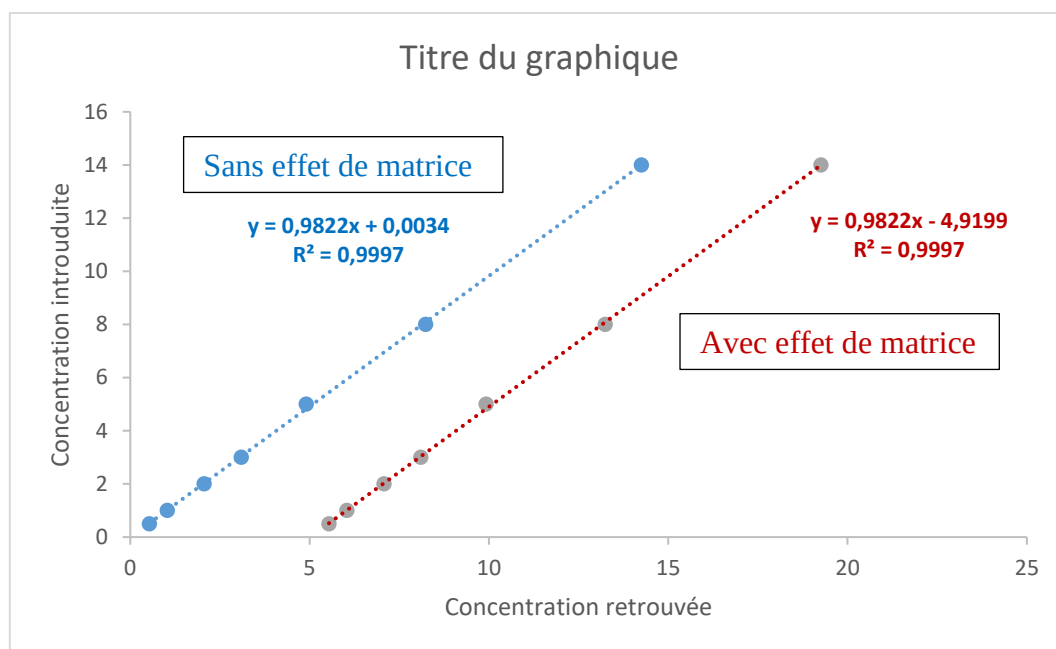


Figure 18: Représentation graphique de concentration introduction en fonction de concentration retrouvée

De ce graphe on observe que les points bleus (les concentrations sans effet de matrice) produisent une droite confondue avec la première bissectrice, ceci montre que la méthode des ajouts dosés a pu surmonter le problème des interférences.

III.3. 5. Calcul de la justesse

La justesse fournit une indication sur les erreurs systématiques de la procédure analytique.

Le tableau 10 présente les résultats de justesse en terme de biais relatif %.

niveau	Cint	Zmoy	Biais%
1	0,5	0,5258	5,1667
2	1	1,0257	2,5667
3	2	2,0565	2,8250
4	3	3,0893	2,9778
5	5	4,9068	-1,8633
6	8	8,2315	2,8937
7	14	14,2470	1,7643

Tableau 10: Calcul de la justesse de la méthode d'analyse de mercure dans l'acide phosphorique

A partir de ce tableau, nous constatons que le biais relatif de chaque niveau est inclus dans les limites d'acceptations [-10%,10%] fixées par le laboratoire central de Jorf-Lasfar. D'où la justesse de la méthode.

III.3. 6. Calcul de la fidélité

Elle est réalisée en calculant la répétabilité et la fidélité intermédiaire à chaque niveau de concentration utilisé en validation.

Les résultats de la fidélité sont regroupés dans le tableau 11. Pour chaque niveau on présente les concentrations introduites, le biais relatif qui lui correspond, la variance de répétabilité, le coefficient de variance de répétabilité, la variance de fidélité intermédiaire et le coefficient de cette dernière.

			Répétabilité		Fidélité intermédiaire	
Niveau	Cint	Biais %	S^2_w	CV_w	S^2_{Fi}	CV_{Fi}
1	0,500	5,16667	0,0002	2,50	0,0002	3,01
2	1,00	2,56667	0,0000	0,59	0,0010	5,30
3	2,00	2,82500	0,0082	4,42	0,0082	4,42
4	3,00	2,97778	0,0039	2,02	0,0048	2,25
5	5,00	-1,86333	0,0086	1,89	0,0086	1,89
6	8,00	2,89375	0,0114	1,30	0,0183	1,64
7	14,00	1,76429	0,0450	1,49	0,0450	1,5

Tableau 11: Calcul de la fidélité et les CV de répétabilité, fidélité intermédiaire

A partir des résultats présentés dans ce tableau, on peut remarquer que le coefficient de variation de la fidélité intermédiaire de tous les niveaux est toujours supérieur au coefficient de variation de répétabilité. D'où la fidélité de la méthode.

III.3. 7. Calcul des intervalles de tolérance et tracé du profil d'exactitude

Pour juger la validation de la méthode par la méthodologie du profil d'exactitude, nous avons calculé les intervalles de tolérance pour chaque niveau de concentration.

Les résultats de ces calculs sont présentés dans le tableau 12. Pour chaque niveau on donne la concentration introduite, le biais relatif, le coefficient de variation de la fidélité intermédiaire, la limite de tolérance inférieure L_j et la limite de tolérance supérieure U_j .

Niv	Cint	Biais %	CVFI	L_j	U_j
1	0,5	5,167	3,006	2,581	7,753
2	1	2,567	5,297	-2,416	7,549
3	2	2,825	4,415	-0,951	6,601
4	3	2,978	2,247	1,049	4,906
5	5	-1,863	1,893	-3,482	-0,245
6	8	2,894	1,642	1,383	4,404
7	14	1,764	1,489	0,491	3,038

Tableau 12: Calcul des intervalles de tolérance

A partir de ce tableau, nous observons que les intervalles de tolérances sont toujours inclus dans les limites d'acceptation, donc la méthode est exacte (juste et fidèle).

Ceci est illustré par le profil d'exactitude présenté dans la figure 19.

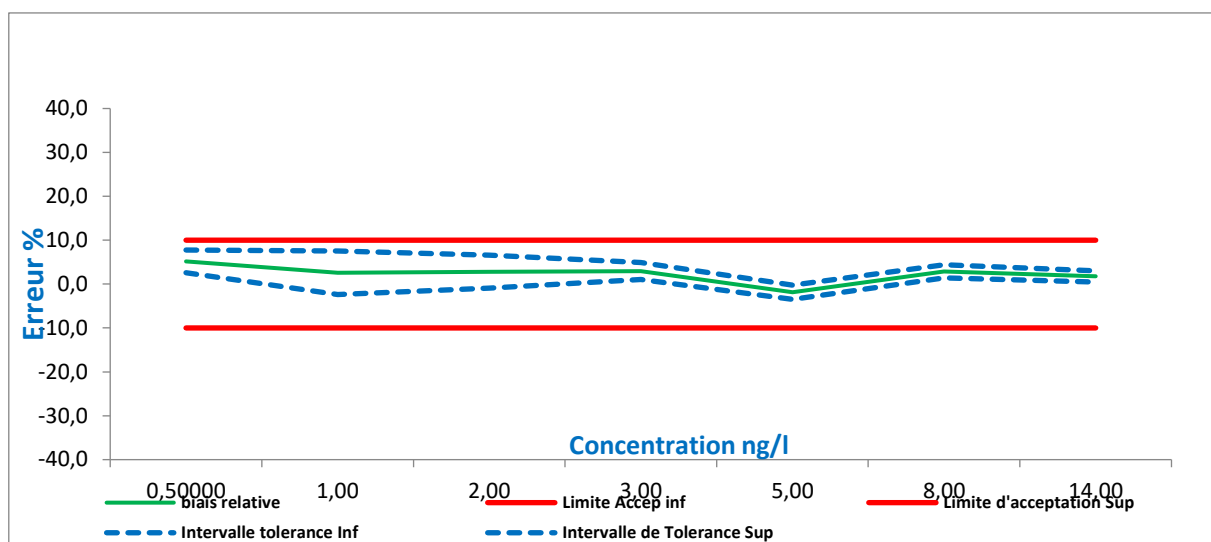


Figure 19: Profil d'erreur totale par la fonction droite linéaire de mercure dans l'acide phosphorique

III.3.8. Calcul de la limite de détection et la limite de quantification

La limite de détection LD et de quantification LQ peuvent être calculées à partir de valeurs de la pente et de l'écart-type de l'ordonnée à l'origine de la courbe (concentration introduite en fonction de la concentration retrouvée sans effet de matrice), les valeurs de ces paramètres ainsi que la limite de détection et la limite de quantification sont présentées dans le tableau 13.

Sa0	a1	LD	LQ
0,011	0,993	0,033	0,111

Tableau 13: Les résultats des LD et LQ

De ces résultats on peut déduire qu'avec cette méthode d'analyse on peut détecter le mercure à partir de 0.033 ng/L et le quantifier à partir de 0.111 ng/L.

Conclusion générale

La validation des méthodes d'analyse quantitatives utilisées pour produire des mesures justes et fiables est une préoccupation constante des analystes, car elle permet de renforcer la confiance dans la qualité des résultats obtenus.

Pour la mise en place d'un système de qualité répondant à la norme ISO-17025, le laboratoire central de Jorf-Lasfar du groupe OCP a voulu valider une méthode d'analyse de mercure dans l'acide phosphorique par absorption atomique à four graphite.

Pour cela nous avons proposé :

- La méthode d'étalonnage des ajouts dosés pour surmonter le problème des interférences.
- La méthode de validation par profil d'exactitude qui tient compte la justesse et la fidélité.

Les résultats obtenus ont montré que la méthode est valide dans les limites d'acceptation [-10%,10%].

Nous avons aussi montré que la méthode est capable de détecter le mercure à partir de 0.033 ng/L et de le quantifier à partir de 0.111 ng/L.

Ce stage nous a permis de mieux comprendre la validation analytique et avoir une idée réelle sur l'application des études statistiques à l'échelle industrielle.

Finalement je tiens à exprimer ma satisfaction d'avoir pu travaillée dans de bonnes conditions matérielles et un environnement agréable et d'avoir des riches contacts humains avec tout le personnel professionnel de la société. Sera, sans doute, une énorme opportunité pour mon futur parcours professionnel.

Bibliographie

[1] : www.Wikipedia

[2] : « Méthodes spectrométriques d'analyse et de caractérisation Spectrométrie d'absorption atomique » (Ecole des Mines de Saint-Etienne)

[3] : « ANALYSE CHIMIQUE Méthodes et techniques instrumentales modernes, Francis Rouessac Annick Rouessac avec la collaboration de Daniel Cruché, 6^{ème} édition »

[4] : « De la validation des méthodes d'analyse à l'évaluation de l'incertitude des résultats de mesure » (Michèle désenfant-Marc Priel-Cédric Rivier) « Laboratoire national d'essais BNM-LNE 1, rue Gaston Boissier 75724 Paris Cedex15 ».

[5] : « Validation des méthodes d'analyse quantitatives au moyen du profil d'exactitude, Max FEINBERG, 10/12/2012 »

[6] : <http://ligodin.free.fr>

[7] : « Validation analytique, Fun-Mooc, grain 21 et grain 22 »

[8] : « DMA-80, Direct Mercury Analyzer, Milestone Srl »

[9]: « Zoom sur l'analyseur de mercure automatique solide-liquide Milestone DMA 80 »

☎ 212 (0) 35 60 29 53 Fax : 212 (0) 35 60 82 14