

Dédicace

Je dédie ce travail à :

MES CHERS PARENTS

Pour leur amour infini et leurs sacrifices durant toute ma vie.

Mes SŒURS ET MES FRÈRES

Pour leurs soutiens inégalés.

TOUTE MA FAMILLE

Pour son encouragement et attention particulière à mon égard.

TOUS MES ENSEIGNANTS ET MES ENCADRANTS

Pour leurs soutiens durant les années de formation.

Mon amie, Atlas Hafssa,

J'espère que tu acceptes ce travail comme nouveau gage d'amitié.

MES AMIES

Pour les moments forts et agréables que nous avons passés ensemble.

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail et à l'élaboration de ce rapport.

Hafsa.

REMERCIEMENT

Louange à DIEU TOUT PUISSANT de m'avoir accordé la force d'accomplir cet humble travail.

Tout d'abord Je tiens à remercier sincèrement Mr Taoufiq SAFFAJ notre encadrant à la faculté des Sciences et Techniques pour son soutien, ses encouragements et ses précieuses directives qu'il m'a fourni durant la réalisation de ce travail.

Mes plus vifs remerciements je tiens à remercier Mr.K, Farhat, Directeur général du Laboratoire QEE d'avoir accepté de m'accorder ce stage et à Mme G.KHERCHAFI le chef de service des Ressources Humaines au laboratoire QEE.

Ma gratitude va également à Mr.R,ERMAIDI, responsable du laboratoire de contrôle de la qualité pour m'avoir accueillie au sein du laboratoire QEE, et à tous le personnel du laboratoire de QEE, en particulier Mme F. EL HAJJIOUI, Mme C.ZGUINI, pour leur aide quotidienne et leur compréhension.

Merci également aux membres du jury Mr EL.ALLOU et Mr A.FARAH de m'avoir honoré de leur présence et de porter leur jugement sur ce modeste travail.

Mes remerciements s'adressent également à tous les enseignants du département Chimie, aussi à tout corps enseignant de la branche CAC AGEQ.

Finalement que toute personne ayant contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail trouve ici l'expression de ma gratitude.

La liste des Tableaux

<i>Tableau 1 : Organisation des mesures du plan de validation.</i>	19
<i>Tableau 2 : Modèles de Régression et leurs prédictions inverse.</i>	21
<i>Tableau 3 : Limites des intervalles de tolérance par niveau.</i>	24
<i>Tableau 4 : Plan de validation–Matrice des Olives.</i>	41
<i>Tableau 5 : récapitulation des critères de la justesse–Matrice des Olives.</i>	42
<i>Tableau 6 : récapitulation des critères de la fidélité–Matrice des Olives.</i>	43
<i>Tableau 7 : récapitulation des Intervalles de Tolérance–Matrice des Olives.</i>	43
<i>Tableau 8 : récapitulation des éléments du profil d’exactitude–Matrice des Olives.</i>	44
<i>Tableau 9 : Plan de validation–Matrice des Arômes.</i>	45
<i>Tableau 10 : récapitulation des critères de la justesse–Matrice des Arômes.</i>	46
<i>Tableau 11 : récapitulation des critères de la fidélité–Matrice des Arômes.</i>	47
<i>Tableau 12 : récapitulation des Intervalles de Tolérance–Matrice des Arômes.</i>	47
<i>Tableau 13 : récapitulation des éléments du profil d’exactitude–Matrice des Arômes.</i>	47
<i>Tableau 14 : Résultats d’analyse du blanc.</i>	49
<i>Tableau 15 : Calcul des Deux Limites LD et LQ.</i>	50
<i>Tableau 16 : Estimation de l’incertitude «Max-Feinberg» - Matrice des Olives.</i>	50
<i>Tableau 17 : Estimation de l’incertitude «Saffaj et al.» - Matrice des Olives.</i>	50
<i>Tableau 18 : Estimation de l’incertitude «Max-Feinberg» - Matrice des Arômes.</i>	51
<i>Tableau 19 : Estimation de l’incertitude «Saffaj et al.» - Matrice des Arômes.</i>	51
<i>Tableau 20 : les limites de la Carte de contrôle de la moyenne.</i>	51
<i>Tableau 21:les limites de la Carte de contrôle de l’étendue.</i>	52

La liste des Figures

Figure 1 : Organigramme du laboratoire QEE.....	8
Figure 2 : Etude de la spécificité.....	13
Figure 3 : Etude de la Linéarité.....	14
Figure 4 : Etude de la Fidélité.....	15
Figure 5 : Illustration des deux limites de quantification et de Détection.....	15
Figure 6 : Profil d'exactitude exprimé par le taux de récupération.....	25
Figure 7 : Détermination de la limite de quantification à partir du profil d'exactitude.....	28
Figure 8 : représentation de l'incertitude de la mesure.....	29
Figure 9 : représentation de l'erreur de la mesure.....	29
Figure 10 : La traçabilité métrologique.....	30
Figure 11 : Approches pour l'estimation de mesure.....	31
Figure 12 : Préparation de l'échantillon des olives.....	39
Figure 13 : Répétitions dédiée pour trouver la valeur vraie–Matrice des Olives.....	40
Figure 14 : Gamme de validation de taux de sel des olives.....	41
Figure 15 : Etude de la linéarité–Matrice des Olives.....	42
Figure 16 : Profil d'exactitude de la méthode d'analyses du Taux de Sel –Matrice des Olives.....	44
Figure 17 : Etude de la linéarité–Matrice des Arômes.....	46
Figure 18 : Profil d'exactitude de la méthode d'analyses du Taux de Sel –Matrice des Arômes.....	48
Figure 19 : Détermination de la LQ à partir du profil d'exactitude –Matrice des Olives-.....	49
Figure 20 : Carte de contrôle de la moyenne du matériau de référence «NaCl».....	52
Figure 21: Carte de contrôle de l'étendue du matériau de référence «NaCl».....	53

Abréviations

BIPEA = Bureau InterProfessionnel d'Etudes Analytiques.

RAEMA = Réseau d'Analyses et d'Echanges en Microbiologie des Aliments.

ISO = International Organization for Standardization.

NM = Norme Marocaine.

NF = Norme Française.

MCI = Ministère chargé du Commerce et de l'Industrie.

EMA = écart maximum acceptable.

MRC : Matériaux de Référence Certifiés.

MRE : Matériaux de Référence Externes.

MRI : Matériaux de Référence Internes.

FDA = Food and Drug Administration.

ICH = International Conference on Harmonisation.

SFSTP = Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques.

VIM = Vocabulaire international de métrologie.

MCI = Ministère chargé du Commerce et de l'Industrie.

LD = Limite de Détection.

LQ = Limite de Quantification.

NC = Niveau Critique.

LS = Limite Supérieure.

LI = Limite Inférieure.

Table des matières

INTRODUCTION GÉNÉRALE	4
CHAPITRE I : PRÉSENTATION DU LABORATOIRE QEE.....	6
I- Généralité :	7
II- Activités :	7
III- Mission du laboratoire :	7
IV- Organigramme du laboratoire QEE :	8
CHAPITRE II : LA VALIDATION DES MÉTHODES D'ANALYSES EN SE BASANT SUR L'APPROCHE DE L'ERREUR TOTALE	9
I- Avant Validation - L'étalonnage du Matériel :	10
1- Etalon :	10
2- Etalonnage :	10
3- Les catégories d'étalons :	10
4- La différence entre l'étalonnage et la vérification :	10
5- Etalonnage et Validation :	10
II- Normes et Accréditations :	11
1- Normes internationales :	11
2- Accréditation d'un laboratoire d'analyse selon la norme ISO 17025 :	12
III- La validation d'une méthode d'analyse :	12
1- Définitions :	12
2- Notion de l'erreur totale :	13
3- Critères de validation :	13
a. Intervalle de mesure :	13
b. Spécificité :	13
c. Sélectivité :	13
d. Linéarité :	13
e. Justesse :	14
f. Fidélité VIM :	14
g. La Limite de détection :	15
h. La Limite de quantification :	15
i. Robustesse :	15
4- Définition de la norme NF V03-110 :	15

Table de la matière

5- Protocole de caractérisation en vue de la validation d'une méthode d'analyse quantitative par construction du profil d'exactitude :	16
5-1 Définition de la quantité mesurée :	16
5-2 Préciser des objectifs de la validation :	16
5-3 Sélection des échantillons de validation ou échantillons témoins :	17
5-4 Plan de caractérisation en vue de la validation :	18
5-5 Plan d'étalonnage pour les méthodes indirectes :	19
5-6 Réalisation des essais :	20
5-7 Calcul des concentrations prédites inverses pour les méthodes indirectes :	21
5-8 Calcul des critères de validation par niveau :	21
5-9 Le profil d'exactitude :	24
5-10 Maîtrise des résultats en routine :	26
5-11 Approches de calcul des deux Limites LD et LQ :	26
IV- Calcul d'incertitude :	28
1- Introduction :	28
2- Définitions :	28
3- Différentes approches de calcul de l'incertitude :	30
4- Approche de l'erreur totale :	31
5- La différence entre l'approche de GUM et l'approche de l'erreur totale :	32
V- Contrôle qualité interne « carte de contrôle » :	33
1- Nature des cartes de contrôle :	33
2- Composantes d'une carte de contrôle :	33
a- Ligne centrale :	33
b- Limite de contrôle :	33
c- Limites de surveillance :	33
d- Limites d'action :	33
3- Carte de Contrôle de la moyenne :	34
4- Carte de contrôle d'étendue :	34
5- Règles d'interprétation :	35
CHAPITRE III : PARTIE EXPÉRIMENTALE	36
I- Méthode de la détermination du Taux de sel :	37
1- Présentation du produit :	37
2- Principe de la méthode :	37
3- Réactifs :	37
4- Mode opératoire :	38
5- Expression des résultats :	39

Table de la matière

II-	Validation de la méthode de la détermination du Taux de sel :	40
1-	Validation dans la matrice des olives :	40
1-1	Choix du domaine de validation et des limites d'acceptabilité :	40
1-2	Matériau de validation et fixation des valeurs cible :	40
1-3	Détermination du taux de sel de l'échantillon à analyser :	40
1-4	Plan de validation :	41
1-5	Calcul de la justesse :	41
1-6	Calcul de la linéarité :	42
1-7	Calcul des données de fidélité :	42
1-8	Calcul des intervalles de tolérance :	43
1-9	Construction du profil d'exactitude :	43
1-10	Conclusion :	45
2-	Validation dans la matrice des Arômes :	45
2-1	Choix du domaine de validation et des limites d'acceptabilité :	45
2-2	Plan de validation :	45
2-3	Calcul de la justesse :	46
2-4	Calcul de la linéarité :	46
2-5	Calcul des données de fidélité :	47
2-6	Calcul des intervalles de tolérance :	47
2-7	Construction du profil d'exactitude :	47
2-8	Conclusion :	48
3-	Calcul des deux Limites LD et LQ :	48
III-	Calcul d'incertitude :	50
1-	Estimation de l'incertitude - Matrice des Olives :	50
2-	Estimation de l'incertitude - Matrice des Arômes :	51
IV-	Construction des cartes de contrôle :	51
1-	Carte de contrôle de la moyenne :	51
2-	Carte de contrôle de l'étendue :	52
	CONCLUSION GÉNÉRALE	54

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Introduction Générale

Le sel est la principale source de sodium dans notre alimentation, cet élément est un nutriment essentiel nécessaire pour le maintien du volume plasmatique, l'équilibre acidobasique, cependant une consommation importante implique une augmentation de risque pour l'hypertension artérielle et les maladies cardiovasculaires.

A cet égard, La fiabilité et la qualité des mesures a une importance essentielle, cela est montré dans les résultats d'intérêt décisionnel. Ce projet est consacré à étudier la validité de la méthode d'analyse du taux de sel dans des matrices alimentaires, d'une part, et à estimer l'incertitude des mesures, d'autre part.

En 2003, la société française des sciences et techniques pharmaceutiques (SFSTP) a proposé une nouvelle démarche statistique nommé profil d'exactitude pour valider les procédures analytiques. Cet outil décisionnel graphique a permis de diminuer les règles de diagnostic et d'extraire les règles de décisions tout en engendrant une adhérence entre les objectifs d'une validation et ceux d'une méthode d'analyse. Ainsi que leur capacité à estimer l'incertitude de mesure.

A cet effet, Ce rapport a été organisé comme suit :

En premier temps, nous avons donné une présentation générale du laboratoire Qualité d'Eau et d'Environnement la société où nous avons effectué notre stage ainsi que ses activités.

Le deuxième chapitre a pour objet d'élaborer une étude bibliographique qui traite la validation d'une méthode d'analyse, le calcul d'incertitude et la construction de la carte de contrôle.

Finalement, une partie expérimentale dans laquelle nous avons illustré les différents calculs indispensable à la construction du profil d'exactitude, calcul d'incertitude ainsi que la carte de contrôle et les conclusions déduites.

CHAPITRE I : PRÉSENTATION DU LABORATOIRE QEE

I- Généralité :

Le laboratoire Qualité Eau Environnement (QEE) est un laboratoire d'analyses environnementales, agroalimentaires et cosmétiques indépendant créé en 2009.

C'est un laboratoire reconnu et agréé par l'ONSSA, accrédité selon la norme ISO 17025. Il est engagé dans une démarche dynamique collective d'amélioration continue fondée sur le savoir-faire et le savoir-être de son personnel, tout en s'orientant vers la mise en place d'une démarche participative de management de la Qualité qui se traduit par la mise en place d'un système qualité et l'adhésion aux réseaux d'essais inter laboratoires «BIPEA» et «RAEMA» pour les activités d'analyses chimiques et microbiologiques des eaux et d'analyses microbiologiques des aliments.

II- Activités :

Le laboratoire QEE est une société à responsabilité limitée qui propose à ses clients une large gamme de prestations analytiques, de conseils et d'expertises et de formations. Il a pour mission de réaliser des prélèvements et des analyses physico-chimiques et microbiologiques des différents types d'eaux, d'aliments et des conditions ambiantes de travail.

Ces prélèvements ponctuels en continu 24h sur 24h à l'aide des automates programmables afin d'obtenir une présentation moyenne des variations des phénomènes de pollution. Ce dispositif est souvent utilisé pour le prélèvement des effluents industriels et urbains.

III- Mission du laboratoire :

Le laboratoire QEE garantit à ses clients la réactivité de son personnel, la rapidité des analyses, la fiabilité des résultats d'analyses et le respect de la confidentialité des données tout en assurant la traçabilité de ces activités.

Afin de vérifier sa justesse des résultats rendus, le laboratoire effectue :

- Plusieurs fois par an des essais inter-laboratoire (EIL) avec BIPEA et RAEMA.
- Des cartes de contrôle des matériaux de références, des blancs, ...

Il propose à ces clients de réaliser des prélèvements et des analyses physico-chimiques et microbiologiques de différents types d'eaux, de boues, d'aliments, de cosmétique et d'ambiance de travail air et surfaces.

Il offre à ces clients une approche intégrée qui permet de présenter une offre complète répondant à leurs attentes :

- ✓ Analyses.

- ✓ Interprétations.
- ✓ Assistance technique conforme aux exigences et Accompagnement (Coût, délai, service, disponibilité, ...).
- ✓ Conseils, formations, audit.

IV- Organigramme du laboratoire QEE :

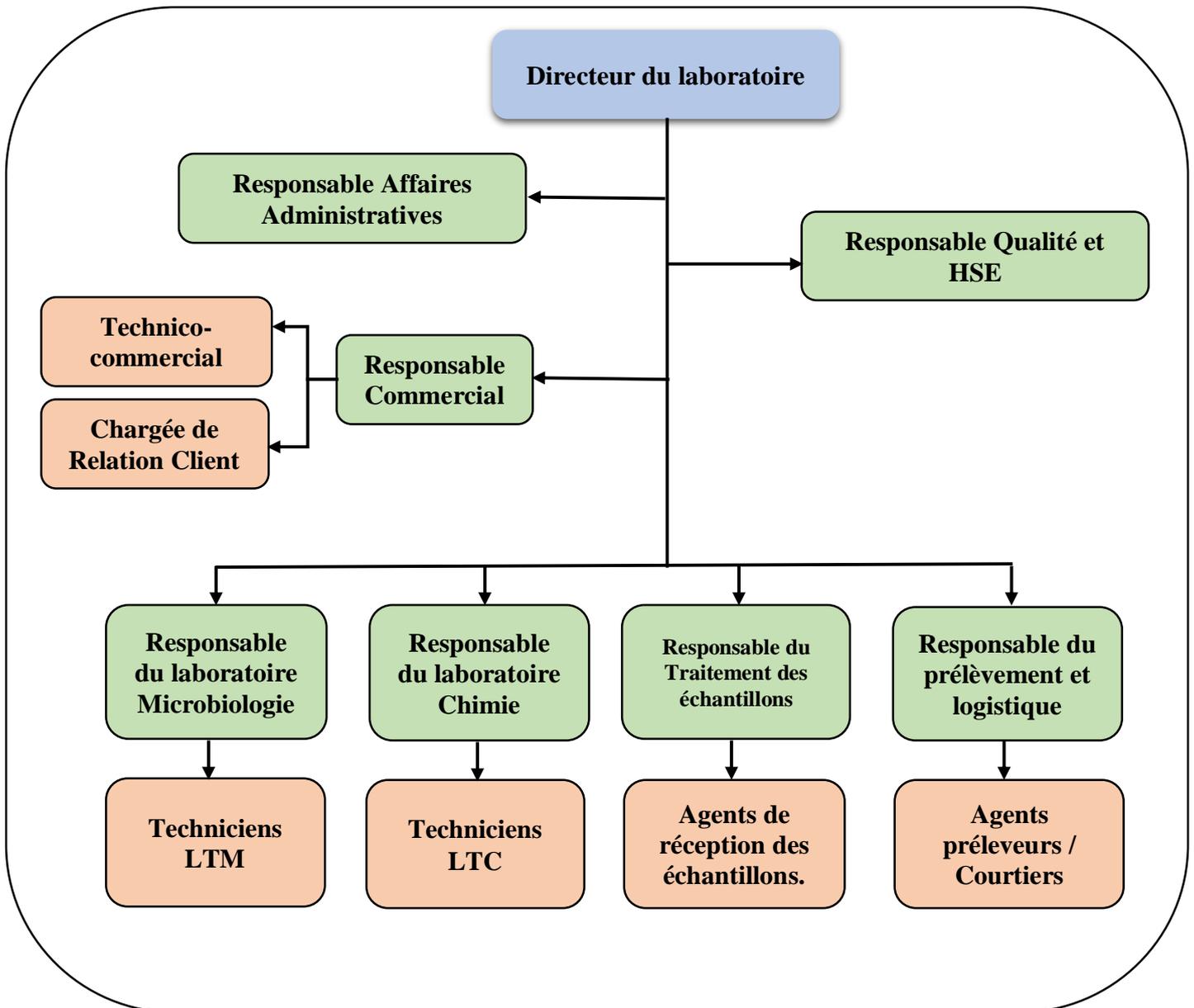


Figure 1 : Organigramme du laboratoire QEE.

**CHAPITRE II : LA VALIDATION DES
MÉTHODES D'ANALYSES EN SE BASANT SUR
L'APPROCHE DE L'ERREUR TOTALE**

I- Avant Validation - L'étalonnage du Matériel :

1- Etalon :

C'est une solution dont la concentration en analyte est connue parfaitement par l'analyste.

2- Etalonnage :

C'est l'opération qui, dans des conditions spécifiées, établit en une première étape une relation entre les valeurs et les incertitudes de mesure associées qui sont fournies par des étalons et les indications correspondantes avec les incertitudes associées, puis utilise en une seconde étape cette information pour établir une relation permettant d'obtenir un résultat de mesure à partir d'une indication. [1].

3- Les catégories d'étalons :

On distingue plusieurs catégories d'étalon, et on cite les suivants :

- ✓ **Étalon national** : Étalon primaire reconnu par une décision nationale, dans un pays, pour servir de base à l'attribution de valeurs aux autres étalons de la grandeur concernée.
- ✓ **Étalon secondaire** : Étalon dont la valeur est établie par comparaison à un étalon primaire de la même grandeur.
- ✓ **Étalon de référence** : Étalon a une haute qualité métrologique donné par une organisation, dont dérivent les mesurages qui y sont faits.
- ✓ **Étalon de travail** : Étalon utilisé dans le quotidienne dédié pour étalonner ou contrôler des mesures matérialisées, des appareils de mesure ou des matériaux de référence.

4- La différence entre l'étalonnage et la vérification :

Un étalonnage permet de connaître l'erreur de l'instrument, et en cas de défaut de justesse, de la compenser en appliquant une correction. La vérification permet de confirmer que l'erreur de mesure reste plus petite qu'une erreur appelée erreur maximale tolérée. L'erreur maximale tolérée est définie par l'utilisateur comme étant la plus grande erreur qu'il est prêt à accepter.

5- Etalonnage et Validation :

L'étalonnage des matériaux est un point dans le domaine de la validation, car nous permet de garantir la fiabilité d'un instrument ou d'un matériel de donner des valeurs proche de la valeur vraie.

Par conséquent, l'étalonnage fourni un environnement de travail basé sur la précision des mesures au moment de la validation.

Cependant, il est nécessaire de réaliser un étalonnage régulier pour éviter toute erreur qui peut influencer sur la qualité des mesures même avec des très petits écarts.

II- Normes et Accréditations :

1- Normes internationales :

✓ *Norme ISO 17025 :*

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

-Définir les exigences de la clientèle concernant le paramètre considéré, afin de déterminer, par la suite, si la méthode utilisée répond bien à ces exigences.

- Pour les méthodes non normalisées, modifiées ou développées par le laboratoire, une fois la méthode mise en application, les laboratoires doivent employer des moyens de contrôle statistique et de raccordement qui permettent de surveiller la qualité des résultats obtenus.

Cette norme représente les prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires, des étalonnages et des essais, et contient toutes les exigences que doivent satisfaire ces laboratoires s'ils veulent apporter la preuve qu'ils gèrent bien un système de qualité, et qu'ils sont capables de produire des résultats techniquement valable [2].

✓ *Norme ISO 5725 :*

L'ISO 5725 est une norme internationale vise à valider les méthodes analytique, surtout celles normalisées qui servaient aux échanges commerciaux : c'était le rôle de la norme ISO 5725 de fixer ces critères d'intercomparaison.

Donc but de cette norme internationale est de :

- Donner les grandes lignes des principes généraux à comprendre lors de l'estimation de l'exactitude (justesse et fidélité) des méthodes et des résultats de mesure, et dans des applications, et d'établir des estimations pratiques des différentes mesures par l'expérience (ISO 5725-1) ;
- Fournir une méthode de base pour l'estimation des mesures extrêmes de la fidélité des méthodes de mesure par l'expérience (ISO 5725-2) ;
- Fournir une procédure pour l'obtention des mesures intermédiaires de fidélité donnant les circonstances dans lesquelles elles s'appliquent, et des méthodes pour les estimer (ISO 5725-3) ;
- Fournir des méthodes de base pour la détermination de la justesse d'une méthode de mesure (ISO 5725-4) ;

- Fournir des alternatives aux méthodes de base données dans l'ISO (5725-2) et l'ISO (5725-4), pour la détermination de la justesse et de la fidélité des méthodes de mesure pour utilisation dans certaines circonstances (ISO 5725-5).

Outre les méthodes statistiques pour calculer les critères d'exactitude, les normes ISO 5725 précisent aussi en détail l'organisation de la collecte des données et les précautions à respecter.

2- Accréditation d'un laboratoire d'analyse selon la norme ISO 17025 :

L'accréditation est une évaluation de la validation systématique du fonctionnement du laboratoire par rapport à une norme de qualité spécifique à celui-ci. Il s'appuie sur l'évaluation de :

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

Au Maroc, l'accréditation correspond à l'aptitude d'un laboratoire à effectuer des essais déterminés ou d'un organisme d'inspection technique spécifique. Pour cela, le laboratoire doit faire une demande officielle précisant l'unité et les essais concernés.

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

Pour le laboratoire QEE, il est accrédité selon la norme ISO 17025, par conséquent il a une confiance que ces méthodes d'analyse validées donnent des résultats exacte.

III- La validation d'une méthode d'analyse :

1- Définitions :

La validation d'une méthode d'analyse « 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 définis à l'avance » [3].

Selon la norme NF en ISO / CEI 17025, il s'agit de 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 ».

En fait, selon la norme U47-600-1, cette confirmation « consiste à comparer les valeurs des critères de performance déterminées au cours de l'étude de caractérisation de la méthode à celles attendues ou assignées au préalable (limites d'acceptabilité, objectifs à atteindre), puis à déclarer la méthode d'analyse valide ou non valide » [4].

2- Notion de l'erreur totale :

La validation basée sur le concept de l'erreur totale consiste à évaluer l'ensemble des critères de performance suivant en combinant les deux erreurs estimées (l'erreur de manque de justesse et l'erreur de manque de fidélité) en un seul paramètre nommé l'erreur totale.

3- Critères de validation :

a. Intervalle de mesure :

L'intervalle de mesure est l'ensemble des valeurs de grandeurs d'une même nature qu'un instrument de mesure ou un système de mesure donné peut mesurer avec une incertitude instrumentale spécifiée, dans des conditions déterminées [1].

b. Spécificité :

La spécificité d'une procédure analytique est sa capacité à mesurer un analyte particulier dans un échantillon sans que cette mesure soit faussée par d'autres composantes de l'échantillon.



Figure 2 : Etude de la spécificité.

c. Sélectivité :

La sélectivité a la même définition que la spécificité, mais lorsqu'il s'agit des méthodes de séparation (chromatographique), on parle plutôt de la sélectivité que la spécificité de la méthode.

⇒ La spécificité et la sélectivité sont des critères qualitatifs

d. Linéarité :

La linéarité d'une procédure analytique est sa capacité à l'intérieur de l'intervalle de dosage à fournir des résultats directement proportionnels à la concentration (quantité) en substance présente dans l'échantillon [5].

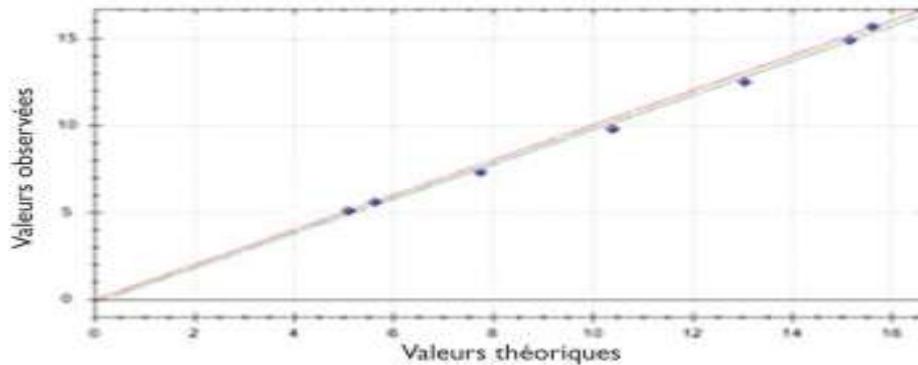


Figure 3 : Etude de la Linéarité.

Avec :

- ✓ Valeurs observées = quantité mesurée.
- ✓ Valeurs théoriques = quantité introduite.

e. Justesse :

La justesse est l'étroitesse de l'accord entre la moyenne d'un nombre infini de valeurs mesurées répétées et une valeur de référence [1].

f. Fidélité VIM :

La fidélité est l'étroitesse de l'accord entre les indications ou les valeurs mesurées obtenues par des mesurages répétés du même objet ou d'objets similaires dans des conditions spécifiées [1].

La fidélité est déterminée par trois niveaux :

- ✚ **La Répétabilité :** représente la fidélité de mesure selon un ensemble de conditions qui comprennent la même procédure de mesure, les mêmes opérateurs, le même système de mesure, les mêmes conditions de fonctionnement et le même lieu, ainsi que des mesurages répétés sur le même objet ou des objets similaires pendant une courte période de temps.
- ✚ **La Fidélité intermédiaire (intra-laboratoire) :** représente la fidélité de mesure selon un ensemble de conditions qui comprennent la même procédure de mesure, le même lieu et des mesurages répétés sur le même objet ou des objets similaires pendant une période de temps étendue, mais peuvent comprendre d'autres conditions que l'on fait varier.
- ✚ **La Reproductibilité (inter-laboratoire) :** représente la fidélité de mesure selon condition de mesurage dans un ensemble de conditions qui comprennent des lieux, des opérateurs et des systèmes de mesure différents, ainsi que des mesurages répétés sur le même objet ou des objets similaires.

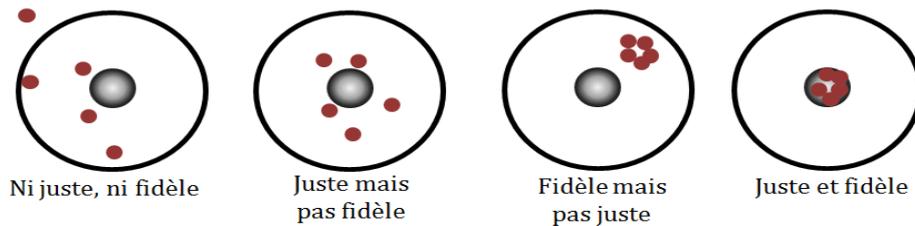


Figure 4 : Etude de la Fidélité.

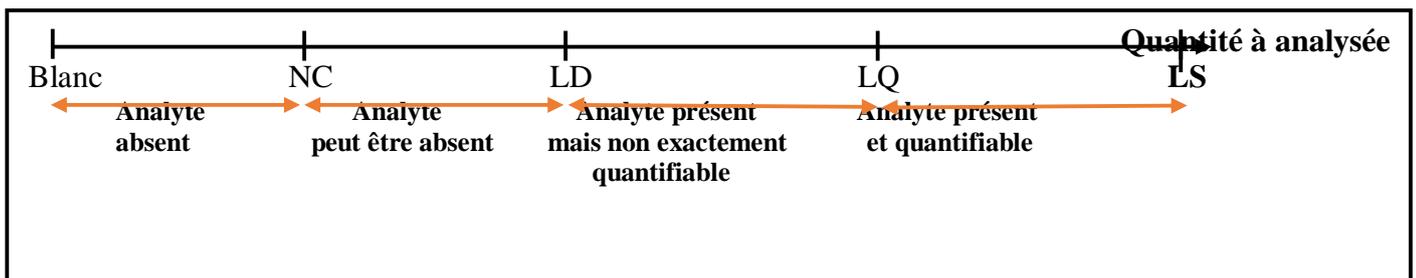
g. La Limite de détection :

La limite de détection d'une procédure d'analyse est la plus petite quantité à examiner dans un échantillon pouvant être détectée, mais non quantifiée comme une valeur exacte dans les conditions expérimentales décrites de la procédure [6] [7].

h. La Limite de quantification :

La limite de quantification est la plus petite quantité de l'analyte dans un échantillon pouvant être dosée dans les conditions expérimentales décrites avec une exactitude (justesse + fidélité) définie [6] [7].

Cela signifie que La limite de quantification n'a de sens que si son exactitude a été démontrée.



i. Robustesse :

La robustesse d'une procédure analytique est une mesure de sa capacité à ne pas être affectée par des modifications faibles, délibérées, de facteurs associés à la procédure.

Elle donne une indication de la fiabilité de la procédure dans les conditions normales d'application [6].

4- Définition de la norme NF V03-110 :

La norme NF V03-110 est une norme utilisée dans la validation des méthodes d'analyses quantitatives, *consacrée pour le domaine agroalimentaire*, basée sur la construction puis l'interprétation d'un profil d'exactitude, et adoptée par les laboratoires accrédités selon l'ISO 17025, elle est applicable pour la *validation inter laboratoires* conçue selon les recommandations de la norme NF ISO 5725.

5- Protocole de caractérisation en vue de la validation d'une méthode d'analyse quantitative par construction du profil d'exactitude :

L'application de ce protocole intervient une fois la méthode développée afin de réaliser un plan d'étalonnage et un plan de caractérisation qui sont directement liés.

5-1 Définition de la quantité mesurée :

La quantité mesurée est défini à partir du mode opératoire de la méthode en précisant les formules de calcul du résultat final et la procédure pour établir ce résultat.

En pratique, il existe deux types de méthodes :

➤ *Les méthodes «directes ou empiriques» :*

Dans ce cas, l'analyte est défini par la méthode elle-même. On mesure alors la concentration des échantillons inconnus à l'aide d'une autre méthode de mesure, comme une pesée ou une titrimétrie. Parmi ces méthodes, on peut citer la détermination de l'azote organique total de Kjeldahl, l'extrait sec, les lipides totaux, etc.

➤ *Les méthodes «indirectes ou rationnelles» :*

Ces méthodes exigent un plan étalonnage pour calculer la concentration des échantillons inconnus à l'aide du modèle d'étalonnage.

5-2 Préciser des objectifs de la validation :

✚ *Choix du domaine de validation :*

Le domaine de validation d'une méthode représente la gamme de concentrations d'un ou de plusieurs types de matrice auquel s'applique la méthode et sur lequel la validation a été portée.

Lorsqu'on démontre que la méthode est validée et capable de fournir des résultats fiables dans certaines gamme de concentrations, on appelle ce domaine : Le domaine de validité.

✚ *Choix des limites d'acceptabilité :*

Les limites d'acceptabilité ($\pm\lambda$) ce sont des limites définis par un document de référence, une pratique de la profession, par un écart maximum acceptable (EMA), ou bien par une exigence client.

Elles sont exprimées de façon absolue dans la même unité que le mesurande, ou de façon relative ($(1 \pm \lambda) \times 100$).

Pour calculer l'écart maximum acceptable (EMA), il faut procéder comme suit :

- **En utilisant un modèle mathématique** (développé par Horwitz vers 1980) qui relie des performances analytiques à la concentration, on peut prédire la valeur attendue de l'écart-type de reproductibilité S_R en fonction d'un niveau de concentration X .

Pour $X < 10^{-7}$ kg.kg-1, il s'exprime sous la forme :

$$S_R = 0,02 \times X^{0,85} \text{ Equation (1).}$$

Si on considère que la reproductibilité limite représente un écart maximum acceptable (EMA) entre deux mesures faites en condition de reproductibilité, pour un niveau de confiance de 95 %, celui-ci vaut $|EMA| \leq 2.83 * S_R$ et il vaudra $|EMA| \leq 4.24 * S_R$ pour un niveau de 99 %.

En combinant cette définition à l'équation (1), on peut définir une limite d'acceptabilité à partir de l'EMA et du modèle Horwitz :

$$|EMA| \leq 0.057 \times X^{0.85} \text{ (NC=95 \%)},$$

$$\text{Ou } |EMA| \leq 0.085 \times X^{0.85} \text{ (NC=99 \%)}.$$

Ou exprimés en % :

$$EMA (\%) \leq \frac{0.057 \times X^{0.85}}{X} \times 100 \text{ (NC=95 \%)},$$

$$\text{Ou } EMA (\%) \leq \frac{0.085 \times X^{0.85}}{X} \times 100. \text{ (NC=99 \%)}. [8].$$

- **À partir de la limite de quantification** : dans le cas où l'objectif de la méthode est l'application d'une norme sanitaire
- **À partir de performances connues.**
- **Pratiques de la profession** :

Dans ce cas les limites d'acceptabilité sont exprimées sous la forme d'écart maximum acceptable (EMA), comme cela se pratique pour le contrôle de qualité ou la métrologie légale.

5-3 Sélection des échantillons de validation ou échantillons témoins :

Choix du ou des types de matrices :

Pour calculer les éléments du profil d'exactitude, il faut se baser sur des essais qui doivent être réalisés sur des échantillons clairement identifiés, représentatifs du domaine d'application de la méthode, stables et homogènes en quantité suffisante pour réaliser l'ensemble des essais définis par le plan d'expérience de validation.

Ces échantillons peuvent contenir différentes matrices pour les méthodes multi-matrices.

Modes d'établissement des valeurs de référence :

La valeur de référence est une valeur nécessaire pour estimer la justesse de la méthode, elle correspond à une concentration connue le plus exactement possible avec une incertitude connue, obtenu à l'aide des échantillons de validation, et doit être fixée indépendamment de la méthode à valider.

Pour établir la valeur de référence assignée à un échantillon de validation, existe plusieurs approches possibles, parmi lesquelles :

- Utiliser des matériaux de référence certifiés (MRC), externes (MRE) ou internes (MRI) ; la traçabilité de ces matériaux décroît en fonction de leur nature ;
- Réaliser des ajouts dosés à partir d'une molécule étalon de pureté connue ;
- Préparer des échantillons dopés ou synthétiques ;
- Utiliser une méthode de référence, appliquée en interne ou en externe par un laboratoire pair.

Si la valeur de référence est estimée par des répétitions de la méthode de référence, il conviendra de sélectionner la moyenne ou la médiane (la valeur la plus représentative). Cette approche doit être préférentiellement appliquée dans le cas de la validation d'une méthode alternative par rapport à une méthode de référence [8].

5-4 Plan de caractérisation en vue de la validation :

Organisation :

La réalisation d'un plan d'expérience sert à estimer les performances de la méthode dans la routine.

L'organisation de ce plan est arrangée comme suit :

- ✓ I : nombre de séries de mesures ($1 \leq i \leq I$) ;
- ✓ J : nombre de répétitions réalisée pour chaque série ($1 \leq j \leq J$) ;
- ✓ K : nombre niveaux de concentration ($1 \leq k \leq K$) couvrant le domaine d'application de la méthode.

Le tableau ci-dessous rassemble la valeur de référence X des échantillons de validation exprimée en unités absolues (mg, g, log,...) ou relatives (mg/kg, µg/kg, mg/L,...), et la réponse Y possédant soit une unité correspondante à la méthode instrumentale (Méthodes indirectes), soit ayant la même unité que X (Méthodes directes).

Tableau 1 : Organisation des mesures du plan de validation.

Niveaux	Séries	Concentrations des échantillons de validation (Valeurs de référence) X	Mesurages (Réponses instrumentales) Y			
			1	2	J
1	1	X ₁₁	Y ₁₁₁	Y ₁₂₁		Y _{1J1}
				
	I					
2	1					
	...					
	I					
...				
K	1					
				
	I	X _{IK}				Y _{IK}

✚ Choix du nombre de séries, de répétitions et de niveaux pour le plan de caractérisation en vue de la validation :

Les exigences minimales pour réaliser un plan de caractérisation en vue de validation sont :

- ✓ **Un nombre de séries I** égal à 5 mais pouvant être ramené à 4 ou 3 sur justification. Une série peut être représentée par un jour mais aussi par une combinaison de diverses sources d'incertitude, comme plusieurs appareils, plusieurs opérateurs et plusieurs jours ;
- ✓ **Un nombre constant de répétitions** par série et par niveau **J égal ou supérieur à 2** ;
- ✓ **Un nombre de niveaux K égal ou supérieur à 3** ; Mais lorsqu'il est nécessaire de valider la méthode à proximité de sa limite de quantification LQ, il est conseillé de choisir K égal ou supérieur à 4.

5-5 Plan d'étalonnage pour les méthodes indirectes :

Pour une méthode Indirecte, le plan d'étalonnage est un plan qui vise à calculer les coefficients du modèle de la courbe d'étalonnage, ce qui permet de calculer les concentrations prédites inverses. L'étendue de la gamme d'étalonnage n'est pas obligatoirement confondue avec le domaine d'application de la méthode.

Le nombre de séries choisies dans ce plan est le même que celui du plan de validation, chaque série rassemble des essais réalisés dans des conditions de répétabilité, et l'ensemble des séries représente les conditions de Fidélités Intermédiaires.

Le choix du nombre de niveaux dépend du modèle d'étalonnage choisi, la règle consiste à choisir un nombre de niveaux K' égale au moins le nombre de coefficient du modèle, dans chaque niveau un nombre de répétitions J' supérieur ou égale à 2 est recommandé, les nombres K' et J' peuvent être différents de ceux choisis dans le plan de validation.

5-6 Réalisation des essais :

Pour appliquer une validation sur une méthode, il faut réaliser des mesures en appliquant la méthode telle qu'elle sera utilisée en routine, en assurant que ces mesures soient aussi indépendantes que possible, et avec un respect du nombre de «répétitions» utilisées pour exprimer le résultat final.

Dans le cas d'une méthode indirecte, les essais réalisés au niveau de deux plans (plan d'étalonnage et plan de validation), alors que dans le cas d'une méthode directe le plan d'étalonnage est inutile.

La réalisation de ces essais est pour but de calculer les critères de performance de la méthode qui serviront à construire le profil d'exactitude et donc prendre une décision sur sa validité de la méthode. Pour cela il est nécessaire de respecter les conditions suivantes :

➤ **Exigence de condition de fidélité intermédiaire ou de reproductibilité :**

Le respect des conditions de la fidélité intermédiaire ou de reproductibilité a pour objectif de prendre en compte le plus de sources d'incertitude possible.

Ces sources d'incertitude dépendent de la méthode, des mesurages sur plusieurs jours, sur des différents instruments et/ou différents opérateurs, et des matrices analysées.

➤ **Exigence de couverture du domaine d'application :**

Pour valider une méthode, il faut effectuer des mesurages répétés sur le même objet ou des objets similaires (la fidélité intermédiaire) pour but de couvrir l'ensemble du domaine d'application. Pour remplir ces contraintes, plusieurs choix sont possibles :

- Dans le cas d'une méthode indirecte, Faire varier le niveau de concentration d'un seul échantillon, par exemple au moyen d'ajouts dosés ;
- Dans le cas d'une méthode indirecte, utiliser plusieurs échantillons (ou même plusieurs matrices proches) présentant des niveaux de concentration variés.
- préparer des matrices synthétiques (matières premières ou produits chimiques) ;
- utiliser des matériaux de référence externes ou certifiés.

➤ **Exigence de synchronisation des plans :**

Lorsqu'on a présence de deux plans (plan d'étalonnage et plan de caractérisation), il est indispensable de réaliser les mesurages des deux plans pour un même jour donné, parce que les données d'étalonnage de ce jour serviront à prédire les concentrations à partir des données de caractérisation faites le même jour.

5-7 Calcul des concentrations prédites inverses pour les méthodes indirectes :

Le plan d'étalonnage est exprimé par un modèle qui relie la réponse instrumentale Y avec les concentrations X, L'estimation des coefficients du modèle est faite par différentes techniques (Régression par la méthode des moindres carrés Référence, Régression pondérée Référence, Régression non linéaire).

Le calcul des concentrations retrouvées est réalisé à partir des données du plan de validation en utilisant la fonction inverse du modèle d'étalonnage.

Le tableau suivant résume les équations des différents types de fonction de réponse et leurs prédictions inverses :

Tableau 2 : Modèles de Régression et leurs prédictions inverse.

Type	Equation	prédiction inverse
Droite passant par l'origine	$Y = a_1 \times X$	$X = \frac{Y}{a_1}$
Droite	$Y = a_0 + a_1 \times X$	$X = \frac{Y - a_0}{a_1}$
Fonction Quadratique	$Y = a_0 + a_1 \times X + a_2 \times X^2$	$Y = \frac{-a_1 + \sqrt{a_1^2 - 4 \times a_2 \times (a_0 - Y)}}{2 \times a_2}$
Droite (Racine Carrée)	$\sqrt{Y} = a_0 + a_1 \times \sqrt{X}$	$X = \left(\frac{\sqrt{Y} - a_0}{a_1}\right)^2$

5-8 Calcul des critères de validation par niveau :

Le calcul des critères de validation sert de construire le profil d'exactitude qui nous aide à interpréter et conclure la validité de la méthode sur un domaine défini, Outre on ne peut pas dire que la méthode est juste ou bien fidèle dans certain niveau mais on diagnostique qu'elle est juste ou fidèle. [7] [8] [9] [10] [11].

✚ Critères de justesse par série :

Pour exprimer la justesse de la méthode, il faut calculer pour chaque niveau les critères suivants :

❖ Biais absolu :

$$b_{ijk} = Z_{ijk} - X_{ijk}$$

❖ Biais relatif :

$$b_{ijk}(\%) = \frac{Z_{ijk} - \bar{X}_{ijk}}{\bar{X}_{ijk}} \times 100$$

❖ Taux de Récupération :

$$R(\%) = \frac{Z_{ijk}}{\bar{X}_k} \times 100$$

✚ Critères de fidélité par niveau :

La norme NF ISO 5725-2 représente le calcul de critères de fidélité (répétabilité et de reproductibilité) :

✓ Une étude intra-laboratoires repose sur le calcul les écarts-types de répétabilité (S_r) et Fidélité Intermédiaire (S_{FI}).

✓ Une étude inter-laboratoires repose sur le calcul les écarts-types de reproductibilité (S_R).

Pour estimer et quantifier la fidélité, il faut se baser l'écart-type qu'il soit de répétabilité S_r , de fidélité intermédiaire S_{FI} ou de reproductibilité S_R .

Ces trois écarts-types sont calculées pour chaque niveau en effectuant l'analyse de la variance (ANOVA) d'un modèle à effet aléatoire en appliquant les relations suivantes :

❖ *l'écart-type de répétabilité, noté S_r :*

$$S_r = \sqrt{\frac{SCE_r}{I*(J-1)}}$$

❖ *l'écart-type inter-séries, noté S_B :*

$$S_B = \sqrt{\frac{\frac{SCE(B)}{I-1} - S^2_r}{J}}$$

❖ *l'écart-type de fidélité intermédiaire, noté S_{FI} :*

$$S_{FI} = \sqrt{S^2_r + S^2_B}$$

Avec :

$SCE_T = \sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J (z_{ij} - \bar{Z})^2 =$ Somme totale des écarts à la moyenne générale du niveau.

$SCE_r = \sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J (z_{ij} - \bar{Z}_i)^2 =$ Somme des écarts intra-série.

$SCE_B = \sum_{i=1}^I J * (\bar{Z}_i - \bar{Z})^2 =$ Somme des écarts inter-séries.

$SCE_T = SCE_B + SCE_r =$ Équation générale de l'analyse de variance.

$\bar{Z} = \frac{\sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J Z_{ij}}{I * J} =$ Concentration moyenne du niveau.

⇒ **Remarque :**

Ce calcul est appliqué lorsque le nombre de répétitions I par série est le même pour toutes les séries, réalisé sur les concentrations retrouvées par prédiction inverse dans le cas des méthodes indirectes ou sur les concentrations retrouvées dans le cas des méthodes directes.

Dans le cas où le nombre de répétitions n'est pas le même pour toutes les séries d'un même niveau, on utilise la formule suivante pour calculer l'écart-type inter-séries :

$$S_B = \sqrt{\frac{(I-1) \times \left(\frac{SCE(B)}{I-1} - S^2_r \right)}{N^*}}$$

Avec $N^* = N - \frac{\sum_{i=1}^I n_i^2}{N}$ et $N = \sum_{i=1}^I n_i$

⇒ **Remarque :**

* $SCE_B = SCE_T - SCE_r$; Si $SCE_B > 0$

* $SCE_B = 0$; Si $SCE_B \leq 0$

✚ **Calcul des intervalles de tolérance π :**

Pour calculer les intervalles de Tolérance de chaque niveau, on va adopter la méthode proposée par Mee [3] qui exprime un intervalle symétrique autour de la concentration retrouvée moyenne du niveau.

$$\bar{Z} \pm K_{tol} \times S_{IT}$$

Avec :

S_{IT} = l'écart-type de l'intervalle de tolérance :

$$S_{IT} = S_{FI} \times \sqrt{1 + \frac{1}{I * J * B^2}}$$

$$B = \sqrt{\frac{R+1}{J \times R+1}}$$

$$R = \frac{S^2_B}{S^2_r}$$

K_{tol} est le facteur de couverture de l'intervalle de tolérance et vaut :

$$K_{tol} = t \left(v, \frac{1+\pi}{2} \right) ;$$

La valeur choisie pour π doit être au moins de 80 %.

$t_{(v, \frac{1+\pi}{2})}$ est le quantile de la distribution t de Student pour v degrés de liberté et π la probabilité attendue du contenu de l'intervalle de tolérance. Le nombre de degrés de liberté v est calculé selon l'approximation Satterthwaite [4].

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

Le tableau ci-dessous récapitule les calculs réalisés par niveau :

Tableau 3 : Limites des intervalles de tolérance par niveau.

Crières	Symbole	Niveaux		
		1	k
Valeur de référence moyenne	\bar{X}			
Limite de tolérance basse	$\bar{Z} - K_{tol} \times S_{IT}$			
Limite de tolérance haute	$\bar{Z} + K_{tol} \times S_{IT}$			
Limite de tolérance basse relative	$\frac{\bar{Z} - K_{tol} \times S_{IT}}{\bar{x}} \times 100$			
Limite de tolérance haute relative	$\frac{\bar{Z} + K_{tol} \times S_{IT}}{\bar{x}} \times 100$			
Limite d'acceptabilité basse relative	$(1 - \lambda) \times 100$			
Limite d'acceptabilité haute relative	$(1 + \lambda) \times 100$			

5-9 Le profil d'exactitude :

a- Définition :

Le profil d'exactitude est une représentation graphique permet une application directe de la norme NF ISO 5725 qui décrit une méthode statistique pour estimer l'exactitude (justesse et fidélité) d'une méthode ou de résultats.

Le modèle utilisé pour décrire un mesurage z d'un mesurande Z provenant d'un laboratoire est du type :

$$Z = m + B + e [9].$$

Où **m** = la moyenne générale de l'échantillon homogène envoyé aux laboratoires,

B = la composante du biais du laboratoire sous condition de répétabilité,

e = l'erreur aléatoire survenant dans chaque mesurage, sous condition de répétabilité.

Pour construire le profil d'exactitude, il faut se baser sur le calcul les intervalles de tolérance, calculés à partir des écarts-types de fidélité de chaque niveau de concentration.

Les éléments graphiques entrants dans le profil sont les suivants :

- ✓ Sur l'axe horizontal, la concentration théorique des niveaux ;
- ✓ Sur l'axe vertical, simultanément :

- Les taux de récupération moyens ;
- Les limites des intervalles de tolérance d'espérance π calculés sur les concentrations retrouvées et exprimées en pourcentages (sous la forme d'un taux de récupération ou d'une exactitude relative) ;
- Les intervalles d'acceptabilité, définis en fonction de l'objectif de la méthode, exprimés de la même façon que les intervalles de tolérance.

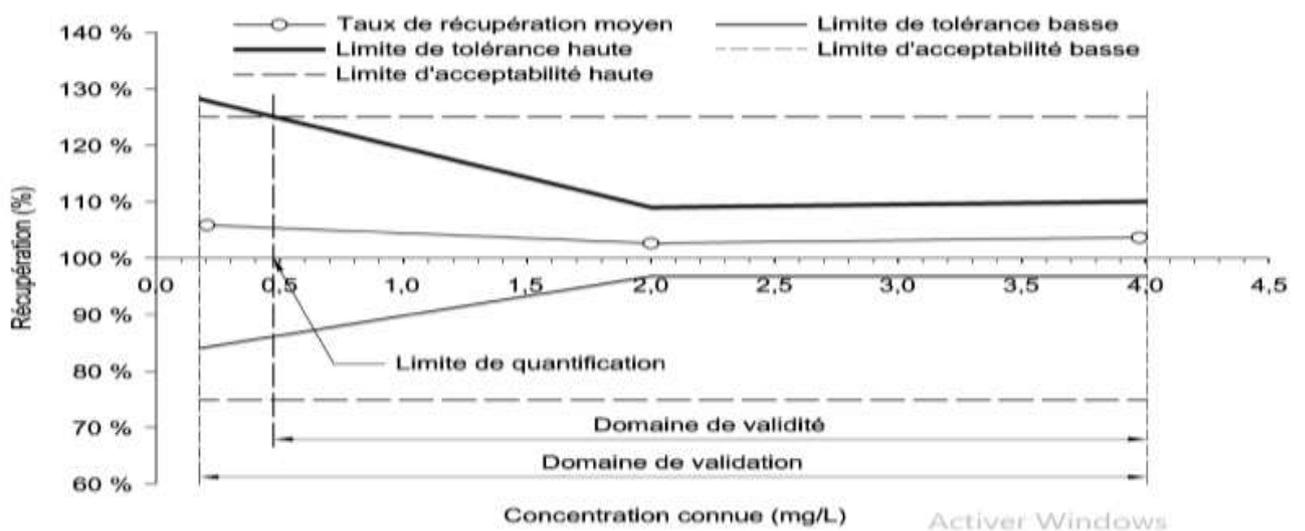


Figure 6 : Profil d'exactitude exprimé par le taux de récupération.

b- Règle de Décision et Interprétation :

Pour interpréter le profil d'exactitude, il faut se baser :

- ✚ D'une part, sur les limites d'acceptabilité qui délimitent un intervalle autour de la valeur de référence ;
- ✚ D'autre part sur la proportion β qui représente la proportion de futurs résultats et sert à calculer les intervalles de tolérance.

Plus cette proportion β est petit (par exemple 70 %), plus la méthode risque de produire des résultats qui ne correspondent pas aux spécifications annoncées.

On peut aussi ploter les valeurs de biais relatif pour examiner l'évolution de ce dernier en fonction de la concentration, normalement on doit avoir un biais constant quel que soit la concentration.

Dans le cas de la figure ci-dessus, On observe que dans le domaine [0 – 0,5] l'intervalle de tolérance sort de l'intervalle d'acceptabilité, et ce qui permet de conclure que la méthode n'est plus capable de fournir suffisamment de résultats acceptables, en fonction des choix faits au départ de l'étude.

Et donc la méthode est validée (exacte) dans le domaine délimité par les traits verticaux discontinus, c'est-à-dire que la méthode est capable de produire une proportion moyenne β de résultats comprise entre les limites d'acceptabilité.

5-10 Maîtrise des résultats en routine :

Lorsque la méthode soit valide, il faut vérifier régulièrement que les résultats obtenus dans la routine soient capable de donner une proportion β des mesures conformes, par exemple au moyen d'une carte de contrôle.

5-11 Approches de calcul des deux Limites LD et LQ :

Le plus souvent dans la pratique, la limite de quantification est plus pertinente que la limite de détection, cette dernière étant par convention 1/3 de la première. Plusieurs approches mathématiques permettant d'estimer les limites de détection et de quantification, et on peut citer :

a- Détermination sur blanc :

Le blanc est une matrice qui ne contient pas l'analyte.

Cette approche est appliquée lorsque les résultats d'analyse du blanc à un écart-type non nul, et dans le cas d'un nombre de répétition n supérieure ou égale à 10.

Après la réalisation de n mesures, on procède à calculer :

- ✓ La moyenne des résultats x_i obtenus :

$$\bar{x}_{blanc} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

- ✓ L'écart-type des résultats x_i obtenus :

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

- ✓ La Limite de Détection :

$$LD = \bar{x}_{blanc} + 3 \times S_{blanc}.$$

- ✓ La Limite de Quantification :

$$LQ = \bar{x}_{blanc} + 10 \times S_{blanc}. [12].$$

b- Approche par l'étude de linéarité :

C'est approche qui peut s'appliquer dans tous les cas, elle utilise les données calculées lors de l'étude de linéarité.

Les estimations de la limite de détection LD, et de la limite de quantification LQ se calculent selon les formules suivantes :

$$LD = \frac{3 \times S_{blanc}}{b} \quad \text{et} \quad LQ = \frac{3 \times S_{blanc}}{b}$$

Avec :

b : pente de la droite de régression.

S_a : l'écart type sur l'ordonnée à l'origine.

c- Approche de bruit de fond (Graphique) :

C'est approche qui concerne les méthodes d'analyse qui fournissent un enregistrement graphique.

Prenant l'exemple la chromatographie, les deux limites sont calculées comme suite :

$$LD = 3 \times \frac{h(BF)}{h(PE)} \times C_E \quad \text{et} \quad LQ = 10 \times \frac{h(BF)}{h(PE)} \times C_E [12] [4].$$

Avec h_{BF} = le plus grand écart d'amplitude entre deux points centrée sur le temps de rétention de la substance étudiée : $t_r \pm 10 \times W_{h/2}$ dans le chromatogramme du blanc.

$W_{h/2}$ = le largeur du pic à demi-hauteur.

h_{PF} = la hauteur du signal enregistré du chromatogramme de la substance active.

C_E = la Concentration d'étalon.

d- Approche de l'erreur totale :

La limite de Quantification est déterminée à partir du profil d'exactitude, il représente l'intersection des limites de tolérance et des limites d'acceptabilité comme était figuré ci-dessous :

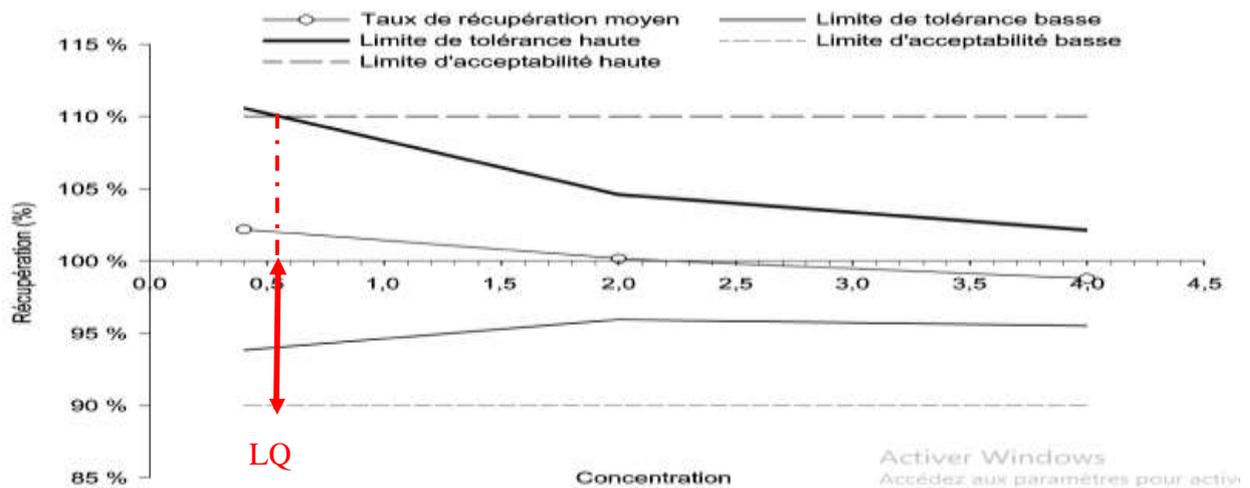


Figure 7 : Détermination de la limite de quantification à partir du profil d'exactitude.

IV- Calcul d'incertitude :

1- Introduction :

Un résultat d'un mesurage d'une grandeur physique représente une information très utile, et un outil décisionnel par excellence. Ce qui impose de préciser la qualité du résultat pour que ceux qui l'utiliseront puissent estimer sa fiabilité

En l'absence de cette qualité, les résultats de mesure ne peuvent pas être comparés soit entre eux, soit par rapport à ces valeurs de référence données dans une spécification ou une norme.

Pour assurer la qualité des mesures analytiques il faut se baser sur la validation des procédures d'analyse et l'estimation de l'incertitude de mesure. Ces deux concepts sont des passages obligatoires pour tout laboratoire qui tente d'être accrédité selon la norme ISO 17025 et/ou la norme ISO 15189.

2- Définitions :

a- Incertitude de mesure :

C'est un paramètre non négatif qui caractérise la dispersion des valeurs attribuées à un mesurande, à partir des informations utilisées [1].

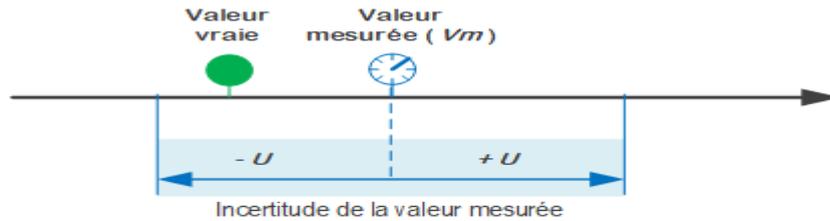


Figure 8 : représentation de l'incertitude de la mesure.

b- Mesurage :

C'est un processus consistant à obtenir expérimentalement une ou plusieurs **valeurs** que l'on peut raisonnablement attribuer à une **grandeur** [1].

c- Mesurande :

C'est la grandeur que l'on veut mesurer. En chimie, l'expression «substance à analyser», ou le nom d'une substance ou d'un composé, sont quelquefois utilisés à la place de «mesurande».

d- Méthode de mesure :

C'est une description générique de l'organisation logique des opérations mises en œuvre dans un mesurage [1].

e- Procédure de mesure :

C'est une description détaillée d'un mesurage conformément à un ou plusieurs principes de mesure et à une méthode de mesure donnée, fondée sur un modèle de mesure et incluant tout calcul destiné à obtenir un résultat de mesure [1].

f- résultat de mesure :

C'est l'ensemble de valeurs attribuées à un mesurande, complété par toute autre information pertinente disponible [1].

g- Erreur de la mesure :

C'est la différence entre la valeur mesurée d'une grandeur et une valeur de référence.

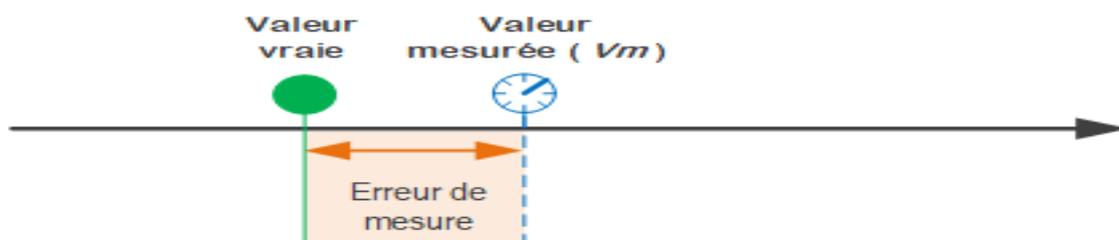


Figure 9 : représentation de l'erreur de la mesure.

h- Erreur et Incertitude :

Il est nécessaire de distinguer entre l'erreur et l'incertitude. L'erreur est une valeur unique, défini comme étant la différence entre la valeur mesurée et la valeur vraie d'une mesurande, caractérise une méthode, et varie avec le niveau de la concentration.

Alors que l'incertitude prend la forme d'un intervalle, et caractérise une mesure.

En Outre les erreurs (fidélité et justesse) interviennent dans l'estimation de l'incertitude de mesure.

i- Traçabilité métrologique et Incertitude :

C'est la propriété d'un résultat de mesure selon laquelle ce résultat peut être relié à une référence par l'intermédiaire d'une chaîne ininterrompue et documentée d'étalonnage dont chacun contribue à l'incertitude de mesure.

La traçabilité est un des éléments clé dans la comparabilité des résultats de mesures. Pour des mesures chimiques, chaque paramètre participant au résultat doit être traçable, et contribue à l'incertitude du résultat final.



Figure 10 : La traçabilité métrologique.

3- Différentes approches de calcul de l'incertitude :

Le calcul de l'incertitude de mesure est réalisé par différentes approches, on peut mentionner :

➤ Les approches intra-Laboratoire :

Dans ce cas le laboratoire est seul et va utiliser ses propres données pour évaluer l'incertitude de ses résultats, et on distingue entre :

- Méthode ISO-GUM « Guide pour l'Expression de l'Incertitude dans les Mesures ».
- Méthode basée sur l'approche de l'erreur de l'erreur totale.

➤ **Les approches inter-Laboratoire :**

Elles concernent le travail collaboratif entre plusieurs laboratoires, en mettant en commun leurs données afin d'évaluer l'incertitude, et on a :

- **Approche « performance de la méthode » (ISO 5725 et FD ISO/TS 21748) :**

Elle se base sur les valeurs de fidélité (répétabilité / reproductibilité) d'une méthode publiées à l'issue d'une comparaison inter-laboratoire, où tous les laboratoires mettent en oeuvre la même méthode. Et elle est utilisée dans le cas où des méthodes sont normalisées et qu'elle contient des résultats d'une comparaison inter-laboratoire.

- **Approche « essais d'aptitude » (NF ISO 17043 et NF ISO 13528) :**

Cette approche consiste à utiliser les résultats d'intercomparaisons pour déterminer la performance d'un laboratoire. Ce dernier doit "simplement" réaliser une mesure avec un échantillon de référence.

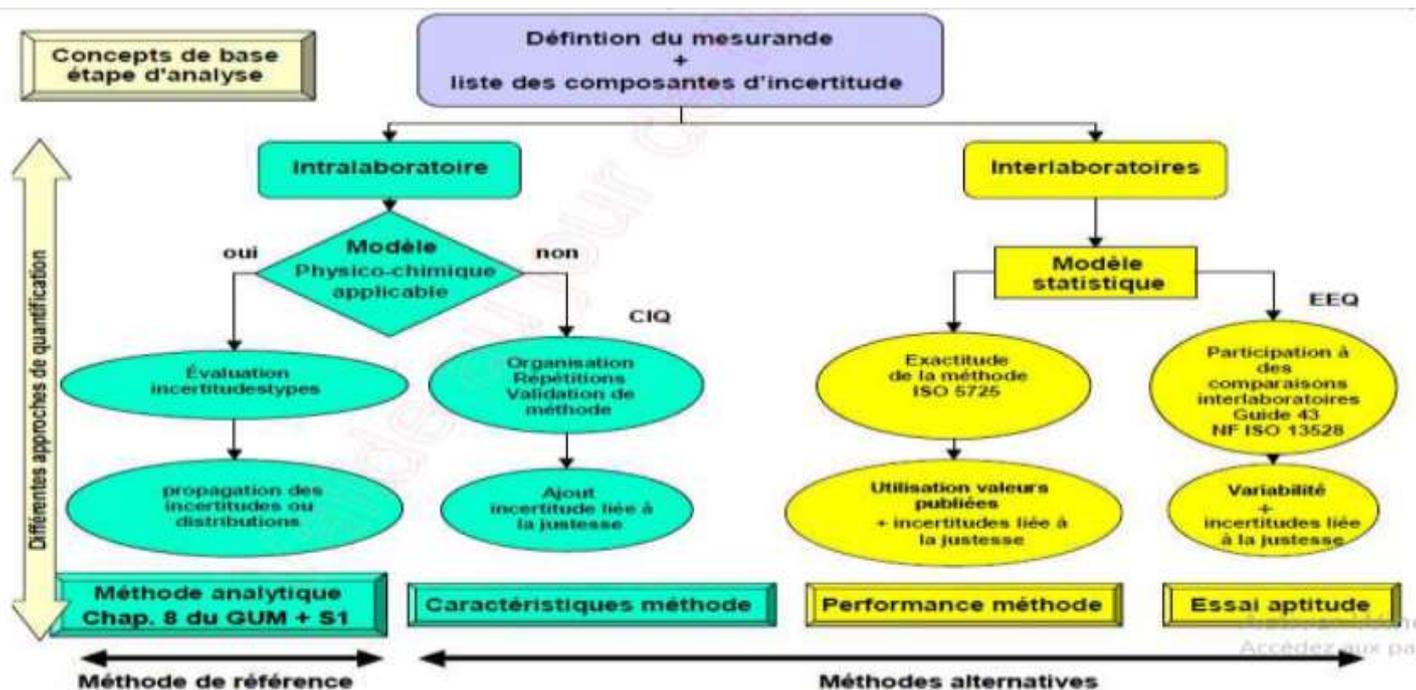


Figure 11 : Approches pour l'estimation de mesure.

4- **Approche de l'erreur totale :**

C'est une approche statistique basée sur des données de la validation analytique pour l'estimation de l'incertitude. En effet, si le plan expérimental réalisé dans la validation respecte toutes les conditions proposées par l'approche totale (conditions de la répétabilité et la fidélité intermédiaire), on peut facilement estimer l'incertitude de la mesure sans avoir recours à d'autres expériences supplémentaires.

Selon les travaux de Max.Feinberg et Saffaj et al [13] [14], on peut estimer l'incertitude en se basant sur les formules suivantes :

➤ **Formule développée par Saffaj et al. :**

$$u_c(y) = \frac{U_t - L_t}{2 \times t}$$

Avec **t** est le quantile de Student calculé avec le degré de liberté **v**.

U_T et **L_T** sont les intervalles de tolérance respectivement haut et bas.

➤ **Formule développée par Max.Feinberg :**

$$u(Y) = S_{FI} \times \sqrt{1 + \frac{1}{n \times p + B^2}}$$

Avec **n** et **p** sont respectivement le nombre de répétition et le nombre de séries.

S_{FI} est l'écart-type de la fidélité intermédiaire.

$$B = \sqrt{\frac{R+1}{J \times R+1}} \quad \text{et} \quad R = \frac{S^2 B}{S^2 r}$$

L'incertitude élargie peut être obtenue en appliquant un facteur d'élargissement **k** de 2 à 95% et de 3 à 99 %.

$$\text{Incertitude élargie} = \text{Incertitude type Composé} \times k ;$$

$$\text{Incertitude relative (\%)} = \frac{\text{Incertitude Elargie}}{\text{Valeur mesurée}} \times 100.$$

5- La différence entre l'approche de GUM et l'approche de l'erreur totale :

L'approche métrologique « GUM » est une approche qui s'intéresse aux mesurande associée à des grandeurs physiques (masse,..) ou aux grandeurs chimiques (concentration, teneur,..) et qui peuvent être caractérisée par une valeur unique.

Cette approche consiste à décomposer les différentes sources d'erreur puis les combiner d'une façon de prévoir l'incertitude du résultat en se basant sur une équation qui lie la variable aléatoire **y** à des variables aléatoires **x_i**.

L'obtention de cette équation est très rare en pratique, c'est pourquoi une approche plus statistique est introduite pour l'estimation de l'incertitude de l'incertitude qui est toujours applicable aux mesures de chimie analytique.

V- Contrôle qualité interne « carte de contrôle » :

1- Nature des cartes de contrôle :

La carte de contrôle est un graphique sur lequel sont reportées les valeurs d'une mesure statistique faite sur une série d'échantillons dans un ordre particulier afin de maîtriser le processus et de contrôler et réduire la variation. Et on distingue entre deux grands types :

➤ *Les cartes de contrôle aux attributs :*

Ce sont des cartes de contrôle qui s'appliquent à la qualité du produit telles que conforme/non conforme, succès/échec, passe/ne passe pas, etc.

➤ *Les cartes de contrôle aux mesures :*

Ce sont des cartes de contrôle qui s'appliquent à des valeurs continues telles que la dureté, la force, le poids, etc. Et on peut citer :

✚ *Carte de contrôle des moyennes :*

Carte de contrôle par mesures pour évaluer le niveau du processus par les moyennes des sous-groupes [15].

✚ *Carte de contrôle d'étendue :*

Carte de contrôle par mesures de la variation en considérant les étendues du sous-groupe [15].

2- Composantes d'une carte de contrôle :

a- Ligne centrale :

C'est une ligne sur le graphique d'une carte de contrôle représentant l'objet prévu ou la moyenne historique de la statistique reprise graphiquement [15].

b- Limite de contrôle :

Elle représente la valeur utilisée pour déterminer la stabilité d'un processus [15].

LCS = limite de contrôle qui délimite la frontière de contrôle supérieure.

LCI = limite de contrôle qui délimite la frontière de contrôle inférieure.

c- Limites de surveillance :

Ce sont les limites de contrôle entre lesquelles la valeur statistique considérée se situe avec une probabilité élevée égale à 95% quand le processus est en état de maîtrise statistique [15].

d- Limites d'action :

Ce sont les limites de contrôle entre lesquelles la valeur statistique considérée se situe avec une probabilité très élevée à 99.8% quand le processus est en état de maîtrise statistique [15].

3- Carte de Contrôle de la moyenne :

Ce sont des cartes de contrôle qui utilisent des échantillons de contrôle qualité interne (ECQI), les limites sont définies à partir des 20 premières données ou plus récupérées de l'analyse des ECQI. [16]

A partir de ces données, les calculs suivant sont réalisés :

- ❖ La valeur moyenne :

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

- ❖ L'écart-type de la fidélité intermédiaire :

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

Avec x_i = les résultats d'analyses individuelles de l'échantillon de contrôle interne.

\bar{x} = la valeur moyenne.

n = le nombre des valeurs x_i récupérées.

Pour tracer la carte de contrôle, il faut calculer les limites suivantes :

- ❖ La ligne centrale :

$$LC = \bar{X}.$$

- ❖ La limite de surveillance Inférieure :

$$LSI = \bar{X} - 2 \times S_{EQI}.$$

- ❖ La limite de surveillance Supérieure :

$$LSI = \bar{X} + 2 \times S_{EQI}.$$

- ❖ La limite de Contrôle Inférieure :

$$LSI = \bar{X} - 3 \times S_{EQI}.$$

- ❖ La limite de Contrôle Supérieure :

$$LSI = \bar{X} + 3 \times S_{EQI}.$$

4- Carte de contrôle d'étendue :

Les limites de contrôle se basent sur la performance analytique de l'échantillon de contrôle, elles sont calculées comme suite :

- ❖ La ligne centrale :

$$LC = 1,69 \times S_r$$

- ❖ La limite de surveillance Supérieure :

$$LSS = LC + 2,83 \times S_r$$

❖ La limite de Contrôle Supérieure :

$$LCS = LC + 3,67 \times S_r$$

Avec S_r = L'écart-type de répétabilité.

5- Règles d'interprétation :

L'interprétation de la carte de contrôle est basée sur la disposition des résultats d'analyses par rapport aux limites calculées.

- Si les résultats sont situés entre les limites de surveillance, le processus est sous contrôle statistique.
- Si une ou plusieurs résultats sont situés en dehors des limites de surveillance, le processus n'est pas sous contrôle statistique.
- Il existe d'autres cas où le processus est considéré non maîtrisé, parmi eux :
 - * Si 7 points consécutifs d'un même côté de la moyenne.
 - * Si 7 points consécutifs en augmentation ou diminution régulière.
 - * Si 14 points de suite qui passent, tour à tour, de bas en haut.

Dans le cas d'un processus non maîtrisé, il est nécessaire de chercher les causes spéciales pour mettre les actions correctives convenables.

CHAPITRE III : PARTIE EXPÉRIMENTALE

Dans le cadre d'appliquer les concepts décrits dans la partie bibliographique consacrée à la validation des méthodes, cette partie est dédiée à la mise en œuvre du profil d'exactitude par l'approche de l'erreur totale en calculant les différents compléments et, en particulier, les facteurs de performances (la répétabilité et de la fidélité), limite de quantification et l'incertitude.

I- Méthode de la détermination du Taux de sel :

1- Présentation du produit :

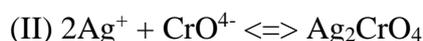
Le sel de qualité alimentaire est un produit cristallin se composant principalement de chlorure de sodium. Il peut provenir de la mer, de gisements souterrains de sel de gemme, ou encore de saumure naturelle.

C'est un élément qui assure l'équilibre de la teneur en eau dans le corps humain, joue un rôle clé en tant que minéral dans la formation des os et fait partie des liquides digestifs du corps, présente des propriétés de conservation.

2- Principe de la méthode :

Cette méthode consiste à déterminer la concentration des ions chlorures Cl^- contenus dans un échantillon par un dosage argentimétrique (par une solution de nitrate d'argent AgNO_3), et en présence du chromate de potassium K_2CrO_4 comme indicateur coloré.

Le complexe blanc de chlorure d'argent AgCl est plus stable que le complexe rouge brique du chromate d'argent Ag_2CrO_4 , car la constante de formation de chlorure d'argent est plus importante que celle du chromate d'argent. De ce fait, les ions argent Ag^+ vont réagir prioritairement avec les ions Chlorures contenus en solutions formant ainsi le complexe AgCl de couleur blanche suivant l'équation de la réaction (I), une fois tous les ions Cl^- sont consommés, les ions Ag^+ vont réagir avec les ions chromates CrO_4^{2-} formant le complexe de coloration rouge brique suivant l'équation de la réaction (II).



3- Réactifs :

a- AgNO_3 0,02 mol/L :

Dans une fiole de 100 ml, on dissout 3.9374 g de nitrate d'argent séchés à 105 °C pendant deux heures, puis on complète au trait de jauge avec de l'eau distillée.

Cette solution est conservée à l'obscurité dans un flacon en verre brun muni d'un bouchon en verre, pendant plusieurs mois.

b- Chromate de potassium (K_2CrO_4 ; 10 %) :

Dans une fiole de 100 ml, on dissout 10 g de K_2CrO_4 dans l'eau distillée puis on la complète au volume.

c- Solution étalon de référence ($NaCl$; 0.03 mol/L) :

Dans une fiole de 500 ml, on dissout 1 g de $NaCl$ dans l'eau distillée puis on la complète au volume.

4- Mode opératoire :

➤ Essai à blanc :

Remplir une fiole de 100 ml avec de l'eau distillée, puis verser le contenu dans un erlenMeyer auquel ajouter 1ml de chromate de potassium.

On réalise le dosage par la solution de nitrate d'argent $AgNO_3$ (0,02M), et dès que la solution possède une coloration rouille, on note le volume correspondant qu'on appelle volume de correction ou volume d'essai à blanc V_{corr} .

➤ Chlorure de sodium : solution étalon de référence :

On prélève cette fois-ci 5ml ml de chlorure de sodium $NaCl$ (matériau de référence) que l'on verse dans une fiole de 100 ml puis on la complète avec de l'eau distillée, ensuite on mène l'ensemble dans un erlenMeyer auquel on ajoute 1ml de chromate de potassium.

On dose les ions chlorures par les nitrates d'argent, et on note le volume d'équivalence $V_{éq}$.

➤ Préparation de l'échantillon :

❖ Dans le cas des olives :

Après homogénéisation d'échantillon dans son emballage d'origine, On prend un échantillon représentatif des olives, puis il faut les dénoyauter, et couper la pulpe de ces olives et les mélanger dans une capsule en verre à fond plat, ensuite on prélève 10g de l'échantillon, et on le transmette vers une fiole de 500 ml. On agite le mélange pendant 2 heures, puis on complète la fiole au trait de jauge avec de l'eau distillée.

On prélève 10 ml de l'échantillon ; puis on l'introduit dans une fiole de 100 ml ($k = 10 =$ facteur de dilution) [17].



Figure 12 : Préparation de l'échantillon des olives.

❖ *Dans le cas des Arômes :*

Après homogénéisation d'échantillon dans son emballage d'origine, On prélève 1g de l'échantillon, et on le transmette vers une fiole de 500 ml, puis on agite le mélange pendant 2 heures, ensuite on complète la fiole au trait de jauge avec de l'eau distillée.

On prélève 5 ml de cet échantillon ; puis on l'introduit dans une fiole de 100 ml ($k = 20 =$ facteur de dilution) [17].

➤ *Dosage des ions de Chlorure :*

Dans un bêcher de 250 ml, on introduit 100 ml de la solution à analyser, puis on ajout 2 à 3 gouttes de la solution de chromate de potassium (K_2CrO_4 ; 10 %).

Les ions Chlorures sont dosés par la solution de nitrate d'argent $AgNO_3$ 0.1 mol/L, et la fin de la réaction est marquée par le virage de la coloration jaune à une teinte rouge brique.

5- Expression des résultats :

Le taux de sel est calculé comme suit :

$$TS(\%) = \frac{[AgNO_3] \times V_{\text{éq}} \times M(NaCl) \times k \times V(\text{échantillon}) \times 100}{100 \times 1000 \times m(PE)} \quad [17].$$

Avec :

$V_{\text{éq}}$ = le volume en ml de AgNO_3 nécessaire pour consommer tous les Chlorures contenus dans la solution.

k = facteur de dilution de l'échantillon.

$m(\text{PE})$ = la masse prélevée de l'échantillon.

II- Validation de la méthode de la détermination du Taux de sel :

La méthode de la détermination du taux sel est une méthode directe donc le protocole de validation comprend à un seul plan appelé plan de caractérisation ou de validation.

1- Validation dans la matrice des olives :

1-1 Choix du domaine de validation et des limites d'acceptabilité :

Le domaine de validation choisis pour la matrice des olives : 0,02% - 15%

Les limites d'acceptabilité sont fixées à $\lambda = \pm 10\%$ par une exigence client.

La Proportion β est égale à 80 %.

1-2 Matériau de validation et fixation des valeurs cible :

Le matériau de validation choisi est le NaCl afin de pouvoir fixer les valeurs cible par dopage avec des ajouts dosés.

1-3 Détermination du taux de sel de l'échantillon à analyser :

Pour calculer le taux de sel introduite de l'échantillon de départ, on procède à réaliser 4 répétitions de cet échantillon.

La valeur vraie en taux sel de cet échantillon égale à la moyenne des quatre répétitions.



Figure 13 : Répétitions dédiée pour trouver la valeur vraie–Matrice des Olives.

1-4 Plan de validation :

Le plan de validation est formé de cinq séries (jours) avec quatre niveaux de taux de sel et deux répétitions par jour et par niveau, ce qui fait un total de $5 \times 4 \times 2 = 40$ essais.



Figure 14 : Gamme de validation de taux de sel des olives.

Les taux de sel est exprimé en en pourcentage.

Les résultats obtenus sont fourni dans le tableau suivant :

Tableau 4 : Plan de validation–Matrice des Olives.

Niveau K	Taux de Sel introduit (%)	Taux de Sel retrouvé (%)				
		série 1	série 2	série 3	série 4	série 5
1	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
		0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
2	5	4,95	4,99	4,84	4,96	5,19
		4,86	4,96	4,87	5,25	5,19
3	10	10,48	9,80	9,80	10,03	10,03
		9,90	9,86	9,85	10,03	10,09
4	15	14,62	15,06	14,11	14,99	15,04
		14,56	15,00	14,17	15,04	15,10

1-5 Calcul de la justesse :

En utilisant les données du plan de validation, on calcul les paramètres de la justesse, Le tableau ci-dessous illustre ces paramètres par niveau de taux de sel.

Tableau 5 : récapitulation des critères de la justesse–Matrice des Olives.

Niveau K	Taux de Sel introduit (%)	Taux de Sel.retrouvé Moyenne (%)	Biais Absolu	Biais relatif %	Recouvrement %
1	0,02	0,02	0,00	6,41	106,41
2	5	5,01	0,01	0,11	100,11
3	10	9,99	-0,01	-0,13	99,87
4	15	14,77	-0,23	-1,54	98,46

⇒ **Interprétation :**

D'après ce tableau, on observe que les valeurs de recouvrement (de Biais absolu) sont autour de 100% (autour de 0), ce qui nous permet de diagnostiquer que la méthode est juste ; Cependant, ce biais n'a pas d'influence importante sur la validité de la méthode.

1-6 Calcul de la linéarité :

La figure suivante représente le taux de sel introduit en fonction du taux de sel retrouvé moyenne.

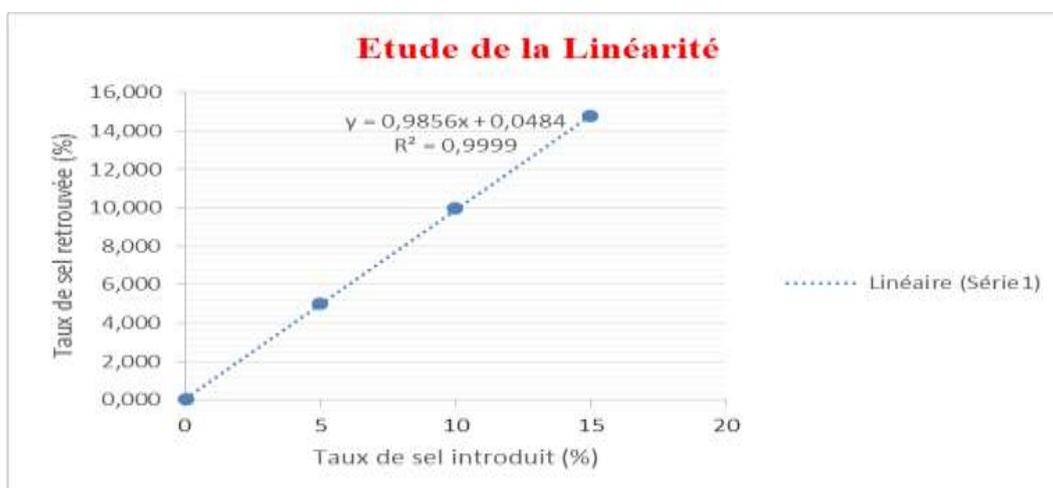


Figure 15 : Etude de la linéarité–Matrice des Olives.

⇒ **Interprétation :**

D'après la figure ci-dessus, on a le coefficient de détermination de la droite de régression $R^2 = 0.9999$; donc la linéarité de la méthode a été vérifiée dans l'intervalle [0.02% ; 15%].

1-7 Calcul des données de fidélité :

Les calculs des composants de la fidélité dépendent du type de plan d'expérience utilisé, et puisqu'on a travaillé avec un plan équilibré (le nombre de répétitions J par série est le même

pour toutes les séries et le nombre total de répétitions doit être égal à IJ , les calculs sont effectués niveau par niveau k sur le taux de sel retrouvé selon le principe décrit dans la norme ISO 5725-2). Le tableau suivant récapitule les différents paramètres calculés :

Tableau 6 : récapitulation des critères de la fidélité–Matrice des Olives.

Niveau K	Taux de Sel.retrouvé Moyenne (%)	répétabilité		Fidélité intermédiaire	
		Sr	CVr(%)	SFI	CVFI(%)
1	0,02	0,00	7,51	0,00	7,51
2	5,01	0,10	1,94	0,15	3,09
3	9,99	0,19	1,87	0,21	2,06
4	14,77	0,04	0,28	0,40	2,73

1-8 Calcul des intervalles de tolérance :

Les limites de tolérance sont calculées selon la méthode décrite dans Feinberg M. 2010b, indépendamment pour chaque niveau de taux de sel. L'ensemble des calculs sont rassemblés dans le tableau récapitulatif suivant :

Tableau 7 : récapitulation des Intervalles de Tolérance–Matrice des Olives.

Niveau	Taux de sel %	R_j	B_j	v_j	Ktol	S _{IT}	Limite basse d'IT relative (%)	Limite haute d'IT relative (%)
1	0,02	0,000	1,000	8,8889	1,384	0,002	94,81	118,00
2	5	1,540	0,789	5,9168	1,442	0,167	95,30	104,92
3	10	0,209	0,923	8,3199	1,392	0,217	96,85	102,90
4	15	94,599	0,709	4,0421	1,53	0,441	93,95	102,96

1-9 Construction du profil d'exactitude :

Pour construire le profil d'exactitude, il est impératif de reporter le taux de sel sur l'axe des abscisses et les limites de tolérance et d'acceptabilité relatives sur l'axe des ordonnées. Les limites d'acceptabilité λ sont fixées à 20% afin d'avoir une interprétation visuelle directe du graphique construit.

Le tableau suivant représente les paramètres nécessaires pour la construction du profil d'exactitude :

Tableau 8 : récapitulation des éléments du profil d'exactitude–Matrice des Olives.

Niveau	Taux de sel %	Recouvrement %	Limite basse d'IT relative (%)	Limite haute d'IT relative (%)	Limite Acceptabilité inférieure	Limite Acceptabilité Supérieure
1	0,02	106,41	94,81	118,00	90	110
2	5	100,11	95,30	104,92	90	110
3	10	99,87	96,85	102,90	90	110
4	15	98,46	93,95	102,96	90	110

Le profil d'exactitude ainsi obtenu est le suivant :

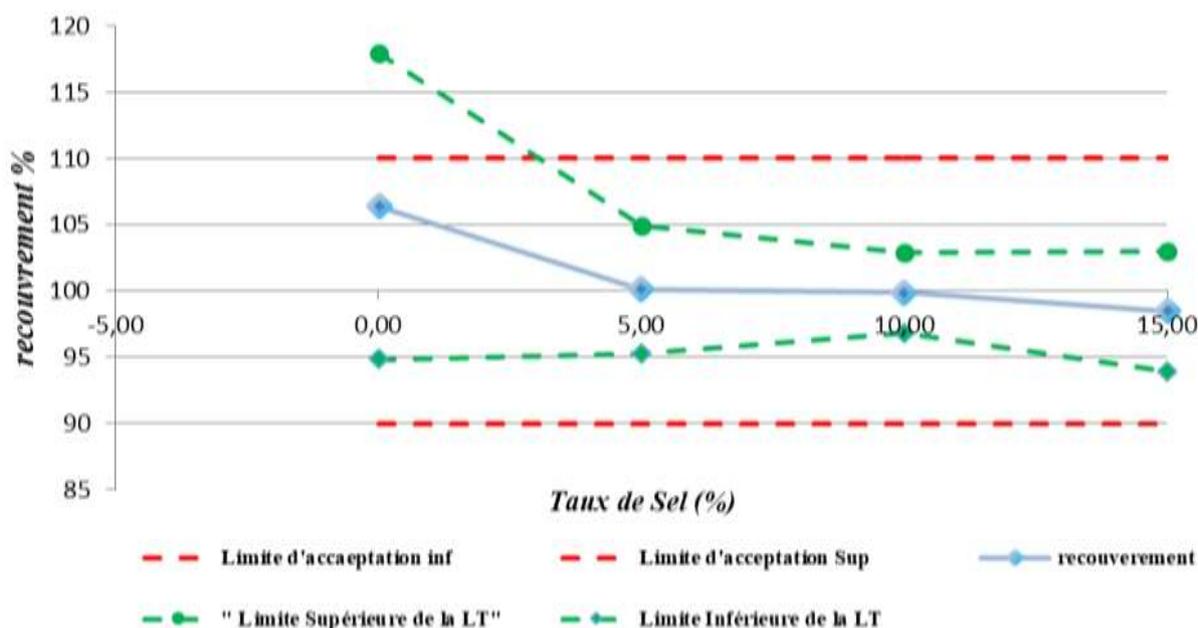


Figure 16 : Profil d'exactitude de la méthode d'analyses du Taux de Sel –Matrice des Olives.

⇒ **Interprétation :**

D'après la figure montrée ci-dessus le taux de recouvrement qui l'a traduit une justesse élevée est d'environ 107 % à une valeur du taux de sel basse pour être très proche de 100 % aux valeurs du taux de sel élevées.

Par ailleurs, il apparaît que la fidélité varie aussi en fonction du taux de sel puisque son coefficient de variation passe de 7.51 à 2.06 %. Cette remarque souligne l'intérêt de procéder aux calculs niveau par niveau.

D'autre part, on remarque que les intervalles de tolérance sont compris entre les intervalles d'acceptabilité sauf au premier niveau. Donc, la méthode n'est pas valide dans ce niveau et le domaine de validité dans ce cas représente intervalle inclus l'intersection des limites de tolérance et des limites d'acceptabilité (LQ) et la valeur du dernier niveau [LQ - 15%].

1-10 Conclusion :

On peut donc conclure la capacité de la méthode de quantifier exactement le taux de sel des olives dans le domaine de validité qui s'étend de LQ à 15%.

En dehors de ce domaine, la méthode n'est pas valide et ne permet pas de garantir les objectifs fixés par l'utilisateur.

2- Validation dans la matrice des Arômes :

Cette partie concerne la validation de la même méthode précédente, mais en appliquant une autre matrice (Arômes). De ce fait, on utilise le même matériau de référence, et on procède à la même méthode pour déterminer le taux de sel de l'échantillon à analyser.

2-1 Choix du domaine de validation et des limites d'acceptabilité :

Le domaine de validation choisis pour la matrice des Arômes : 30% - 90%

Les limites d'acceptabilité sont fixées à $\lambda = \pm 5\%$ par une exigence client.

La Proportion β est égale à 80 %.

2-2 Plan de validation :

Pour réaliser ce plan nous avons travaillé avec :

- ✓ Cinq séries (jours) ;
- ✓ Quatre niveaux de taux de sel ;
- ✓ Deux répétitions par jour et par niveau.

Donc il faut réaliser en total 40 essais ($5 \times 4 \times 2$).

Les résultats obtenus sont fourni dans le tableau suivant :

Tableau 9 : Plan de validation–Matrice des Arômes.

Niveau K	Taux de Sel (%)	Taux de Sel retrouvé (%)				
		série 1	série 2	série 3	série 4	série 5
1	30	30,07	30,72	30,49	30,03	30,99
		31,23	30,10	30,49	30,03	29,85
2	50	50,89	49,95	49,66	49,66	50,51
		50,89	51,12	50,82	50,82	51,66
3	70	69,40	69,70	70,45	70,45	70,02
		70,56	70,86	70,45	70,45	71,17
4	90	90,22	90,61	90,09	91,24	90,68
		90,22	90,61	91,24	90,09	90,68

2-3 Calcul de la justesse :

Le tableau ci-dessous représente les paramètres de la justesse par niveau de taux de sel :

Tableau 10 : récapitulation des critères de la justesse–Matrice des Arômes.

Niveau K	Taux de Sel (%)	Taux de Sel.retrouvé Moyenne (%)	Biais Absolu	Biais relatif %	Recouvrement %
1	30	30,40	0,40	1,33	101,33
2	50	50,60	0,60	1,20	101,20
3	70	70,35	0,35	0,50	100,50
4	90	90,57	0,57	0,63	100,63

⇒ **Interprétation :**

D’après les résultats obtenus, on peut conclure que la justesse varie en fonction du taux de sel puisque le biais de justesse varie de 1,33 % à 0,50 %. Cependant, ce biais n’a pas d’influence importante sur la validité de la méthode.

2-4 Calcul de la linéarité :

La figure suivante représente le taux de sel introduit en fonction du taux de sel retrouvé moyenne.

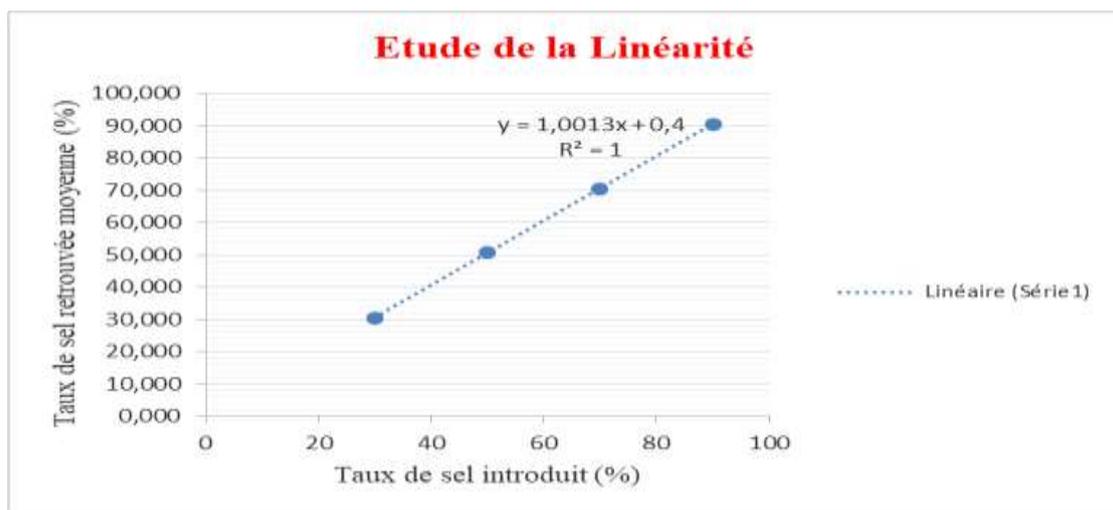


Figure 17 : Etude de la linéarité–Matrice des Arômes.

⇒ **Interprétation :**

D'après la figure ci-dessus, on a le coefficient de détermination de la droite de régression $R^2 = 1$; donc la linéarité de la méthode a été vérifiée dans l'intervalle [30% ; 90%].

2-5 Calcul des données de fidélité :

Le tableau suivant récapitule les différents paramètres calculés :

Tableau 11 : récapitulation des critères de la fidélité–Matrice des Arômes.

Niveau K	Taux de Sel.retrouvé Moyenne (%)	répétabilité		Fidélité intermédiaire	
		Sr	CVr(%)	SFI	CVFI(%)
1	30,40	0,55	1,81	0,55	1,81
2	50,60	0,73	1,44	0,73	1,44
3	70,35	0,63	0,90	0,63	0,90
4	90,57	0,52	0,57	0,52	0,57

2-6 Calcul des intervalles de tolérance :

Le tableau ci-dessous représente le calcul de tous les éléments nécessaires pour estimer les limites de tolérance récapitulatif suivant :

Tableau 12 : récapitulation des Intervalles de Tolérance–Matrice des Arômes.

Niveau	Taux de sel %	R_j	B_j	v_j	Ktol	S_{IT}	Limite basse d'IT relative (%)	Limite haute d'IT relative (%)
1	30,00	0,000	1,000	8,8889	1,384	0,578	98,66	103,99
2	50	0,000	1,000	8,8889	1,384	0,766	99,08	103,32
3	70	0,000	1,000	8,8889	1,384	0,664	99,19	101,82
4	90	0,000	1,000	8,8889	1,384	0,542	99,80	101,46

2-7 Construction du profil d'exactitude :

Le tableau suivant représente les paramètres nécessaires pour la construction du profil d'exactitude :

Tableau 13 : récapitulation des éléments du profil d'exactitude–Matrice des Arômes.

Niveau	Taux de sel %	Recouvrement %	Limite basse d'IT relative (%)	Limite haute d'IT relative (%)	Limite Acceptabilité inférieure	Limite Acceptabilité Supérieure
1	30,00	101,33	98,66	103,99	95	105
2	50	101,33	99,08	103,32	95	105
3	70	101,33	99,19	101,82	95	105
4	90	101,33	99,80	101,46	95	105

Le profil d'exactitude ainsi obtenu est le suivant :

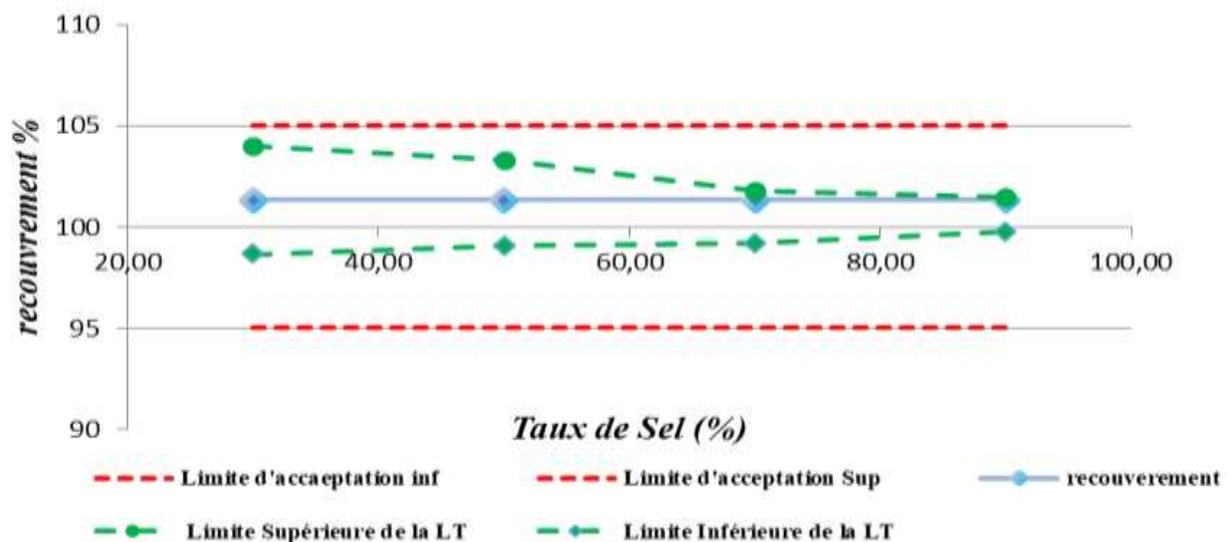


Figure 18 : Profil d'exactitude de la méthode d'analyses du Taux de Sel –Matrice des Arômes.

⇒ **Interprétation :**

D'après la figure montrée ci-dessus le taux de recouvrement qui l'a traduit une justesse d'environ 101 %, très faible dans tous le domaine de validation.

Par ailleurs, il apparaît que la fidélité varie en fonction du taux de sel puisque son coefficient de variation passe de 1,81 à 0,57 %. Cette remarque souligne l'intérêt de procéder aux calculs niveau par niveau.

D'autre part, le domaine de validité dans ce cas compris tous le domaine de validation [30% - 90%] puisque les intervalles de tolérance sont compris entre les intervalles d'acceptabilité dans ce domaine.

2-8 Conclusion :

On peut donc conclure la capacité de la méthode de quantifier exactement le taux de sel des arômes dans le domaine de validité qui s'étend de 30% à 90%.

En dehors de ce domaine, On n'a pas d'épreuve que la méthode permet d'acquérir des résultats qui atteint les spécifications définis à l'avance.

3- Calcul des deux Limites LD et LQ :

➤ **Matrice des Olives :**

Pour calculer la limite de Quantification dans cette matrice, on va se baser sur l'approche du profil d'exactitude, donc la valeur correspondante à la LQ est l'intersection des intervalles de tolérance avec les limites d'acceptabilité, la figure suivante illustre cette intersection :

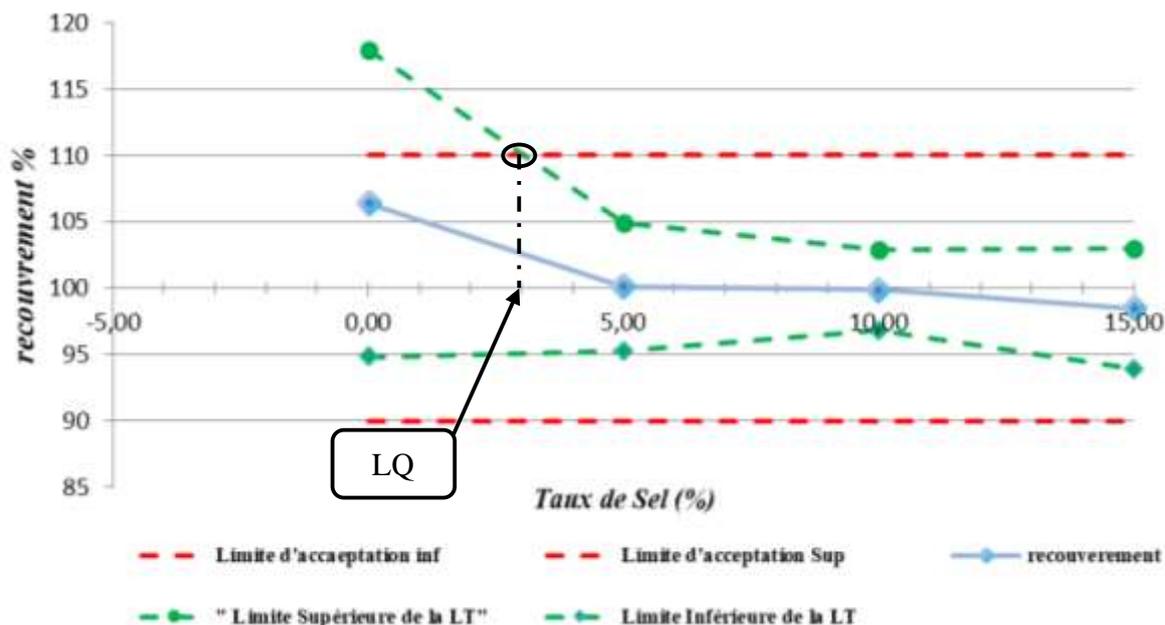


Figure 19 : Détermination de la LQ à partir du profil d’exactitude –Matrice des Olives-.

⇒ **Interprétation :**

D’après la figure montrée ci-dessus, la limite de quantification égale à 3%.

➤ **Matrice des Arômes :**

L’approche choisie pour le calcul des deux limites de quantification et de détection est l’approche du blanc.

Après la réalisation de 10 répétitions du dosage du blanc, on obtient les résultats suivants :

Tableau 14 : Résultats d’analyse du blanc.

	Conc(AgNO3) mol/l	m(PE) g à 25°C	M(NaCl) g/mol	facteur de dilution	V(échantillon) ml	Véq ml	Taux de sel (%)
1	0,02	100	58,44	1	100	0,35	4,09E-06
2	0,02	100	58,44	1	100	0,35	4,09E-06
3	0,02	100	58,44	1	100	0,35	4,09E-06
4	0,02	100	58,44	1	100	0,35	4,09E-06
5	0,02	100	58,44	1	100	0,4	4,68E-06
6	0,02	100	58,44	1	100	0,35	4,09E-06
7	0,02	100	58,44	1	100	0,35	4,09E-06
8	0,02	100	58,44	1	100	0,35	4,09E-06
9	0,02	100	58,44	1	100	0,35	4,09E-06
10	0,02	100	58,44	1	100	0,4	4,68E-06

Donc la limite de détection et la limite de quantification calculées sont :

Tableau 15 : Calcul des Deux Limites LD et LQ.

$\bar{x}(BL)$	S(BL)	LD	LQ
4,21E-06	2,46E-07	4,95E-06	6,67E-06

⇒ **Interprétation :**

D'après ce tableau, on a la limite de Quantification très faible égale à $6.67 \cdot 10^{-6} \%$, donc on peut donc conclure que la méthode du dosage du taux de sel est capable de quantifier exactement le taux de sel dans le domaine de validation [30% - 90%].

III- Calcul d'incertitude :

Puisque toutes les approches destinées pour le calcul de l'incertitude donne la même valeur ; l'approche choisie est celle de l'erreur totale.

1- Estimation de l'incertitude - Matrice des Olives :

Les deux tableaux ci-dessous illustrent le calcul de l'incertitude :

Tableau 16 : Estimation de l'incertitude «Max-Feinberg» - Matrice des Olives.

Niveau k	Taux de Sel (%)	SFI	n	p	B ²	Incertitude-type	Incertitude	Incertitude
						composée	Elargie	relative (%)
1	0,02	1,60E-03	2	5	1,00	0,002	0,003	16,75
2	5	0,15	2	5	0,62	0,17	0,33	6,67
3	10	0,21	2	5	0,85	0,22	0,43	4,35
4	15	0,40	2	5	0,50	0,44	0,88	5,89

Tableau 17 : Estimation de l'incertitude «Saffaj et al.» - Matrice des Olives.

Niveau de conc	Taux de Sel (%)	Limite basse d'IT	Limite haute d'IT	t ou Ktol	Incertitude-type	Incertitude	Incertitude
							relative (%)
1	0	0,02	0,02	1,38	0,00	0,00	16,75
2	5	4,77	5,25	1,44	0,17	0,33	6,67
3	10	9,69	10,29	1,39	0,22	0,43	4,35
4	15	14,09	15,44	1,53	0,44	0,88	5,89

⇒ **Interprétation :**

D'après les valeurs de l'incertitude calculées, on remarque que celle des trois derniers niveaux sont incluses dans la limite d'acceptabilité ± 10 spécifique pour la matrice des Olives.

2- Estimation de l'incertitude - Matrice des Arômes :

Les deux tableaux ci-dessous illustrent le calcul de l'incertitude :

Tableau 18 : Estimation de l'incertitude «Max-Feinberg» - Matrice des Arômes.

Niveau	Taux de Sel (%)	SFI	n	p	B ²	Incertitude-type	Incertitude Elargie	Incertitude relative (%)
						composée		
1	30	0,55	2	5	1,00	0,58	1,16	3,85
2	50	0,73	2	5	1,00	0,77	1,53	3,06
3	70	0,63	2	5	1,00	0,66	1,33	1,90
4	90	0,52	2	5	1,00	0,54	1,08	1,20

Tableau 19 : Estimation de l'incertitude «Saffaj et al.» - Matrice des Arômes.

Niveau k	Taux de Sel (%)	Limite basse d'IT	Limite haute d'IT	t ou Ktol	Incertitude-type	Incertitude	Incertitude
							relative (%)
1	30	29,60	31,20	1,38	0,58	1,16	3,85
2	50	49,54	51,66	1,38	0,77	1,53	3,06
3	70	69,43	71,27	1,38	0,66	1,33	1,90
4	90	89,82	91,32	1,38	0,54	1,08	1,20

⇒ **Interprétation :**

D'après les valeurs de l'incertitude calculée, on remarque qu'elles sont incluses dans la limite d'acceptabilité ± 5 spécifique pour la matrice des arômes.

IV- Construction des cartes de contrôle :

Pour suivre la variation du taux de sel du matériau de référence en fonction des critères suivant : stabilité dans le temps, la température, l'influence de lumière et pour vérifier la maîtrise statistique du procédé, il faut se baser sur les cartes de contrôle.

1- Carte de contrôle de la moyenne :

Le tableau ci-dessous figure les limites indispensables pour construire la carte de contrôle de la moyenne :

Tableau 20 : les limites de la Carte de contrôle de la moyenne.

LC	LS de Contrôle	LI de Contrôle	LS de Surveillance	LI de Surveillance
99,42	100,32	98,52	100,02	98,82

La carte de contrôle obtenu est la suivante :

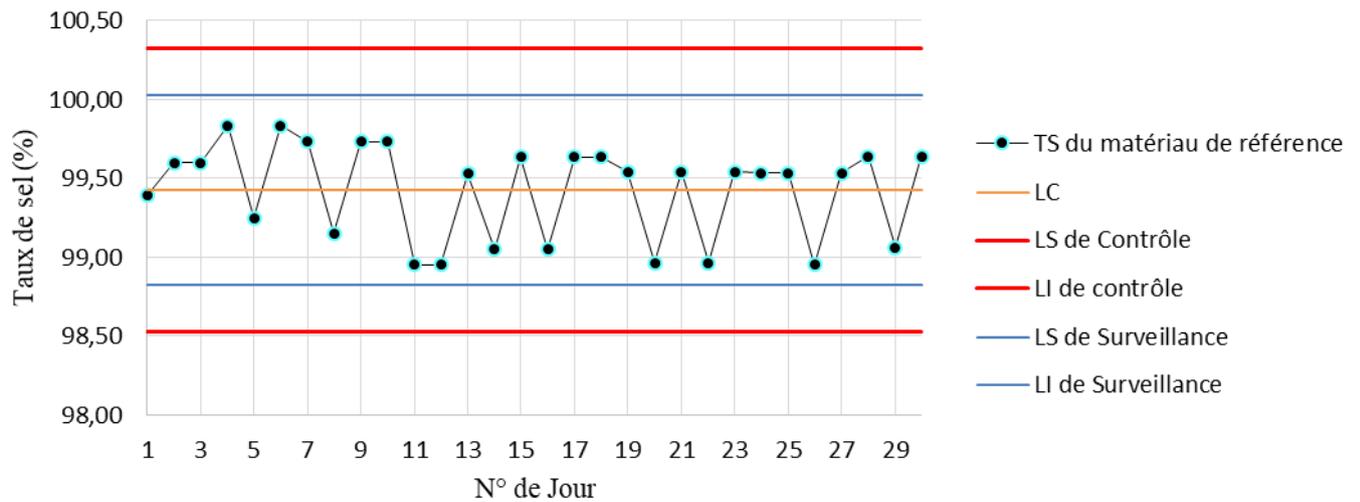


Figure 20 : Carte de contrôle de la moyenne du matériau de référence «NaCl».

⇒ **Interprétation :**

D’après la carte de contrôle, on observe que tous les mesures sont comprises entre les limites de surveillance et de contrôle, avec une distribution aléatoires ; ce qui signifie que ce matériaux de référence NaCl est stable dans le temps, la température et la lumière n’ont pas d’influence sur le taux de sel de NaCl, ainsi que la méthode est sous contrôle statistique.

2- Carte de contrôle de l’étendue :

Le tableau ci-dessous figure les limites indispensables pour construire la carte de contrôle de la l’étendue :

Tableau 21 : les limites de la Carte de contrôle de l’étendue.

LC	LS de Surveillance	LS de Contrôle	Sr
0,65	1,75	2,08	0,39

La carte de contrôle obtenu est la suivante :

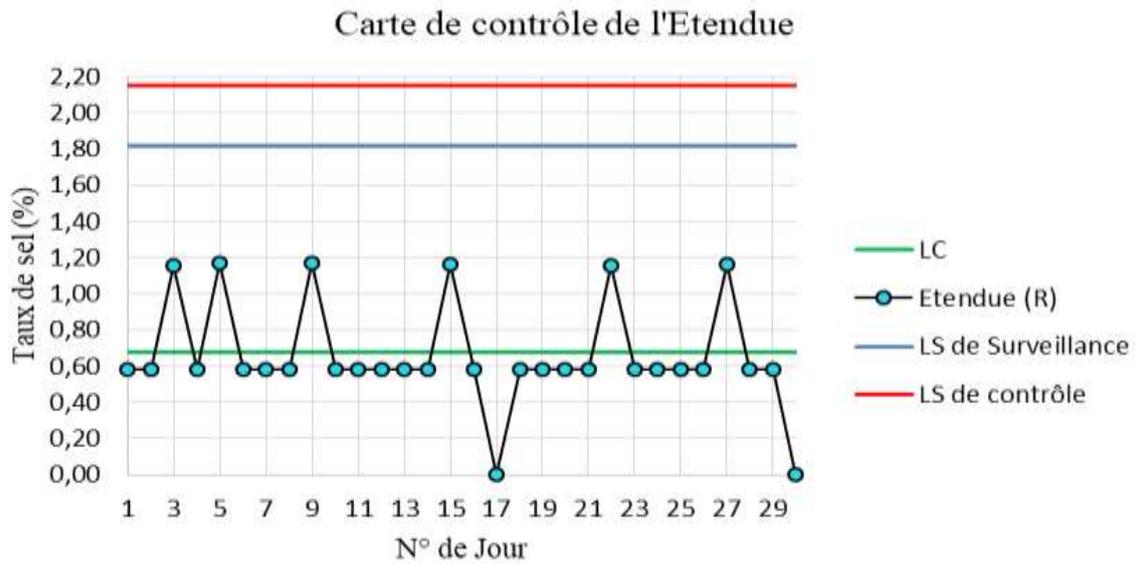


Figure 21: Carte de contrôle de l'étendue du matériau de référence «NaCl».

⇒ **Interprétation :**

D'après la carte de contrôle de l'étendue, on observe que tous les mesures ne dépassent pas les limites de surveillance et de contrôle, avec une distribution aléatoires ; ce qui signifie que la méthode est sous contrôle statistique.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Dans le but d'avoir des résultats fiable est exacte, nous avons validé la méthode d'analyse du taux de sel dans les matrices alimentaires (Olives et arômes) en appliquant la nouvelle stratégie basée sur le profil d'exactitude, En effet nous avons démontré avec succès la capacité de la méthode à quantifier le taux de sel, ainsi que la qualité des mesures en calculant leur incertitude par l'approche de l'erreur totale.

Suite aux résultats obtenus après étude de démarche statistique du profil d'exactitude par utilisation d'Excel, on peut déduire que :

- La justesse varie avec le taux de sel puisque son biais varie de 6,41% à -1,54 % dans le cas de la matrice des Olives et de 1,33% à 0,50%, cependant, on diagnostique que la méthode est juste et le biais calculé n'a pas d'influence importante sur la validité de la méthode.
- La fidélité varie aussi en fonction du taux de sel, avec un coefficient de variation qui ne dépasse pas les 7,6% dans les deux matrices.
- La limite de quantification égale à $6.67 \cdot 10^{-6} \%$, calculée par la méthode du blanc.

La confirmation de la qualité des mesures analytiques est assurée en combinant cette validation avec l'estimation de l'incertitude de mesure qui nous avons la calculer en appliquant l'approche de l'erreur totale.

Nous avons aussi réalisé un contrôle qualité interne en procédant à construire la carte de contrôle de la moyenne, elle nous confirme que le matériau de référence utilisé (NaCl) est stable dans les conditions suivante : la température, le temps et dans la lumière.

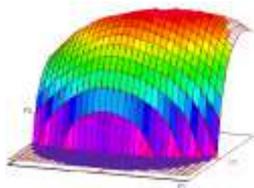
En fin, la réalisation du protocole de profil d'exactitude pour la validation de la méthode de la détermination du taux de sel dans la matrice d'olives et celle des arômes nous a permet de garantir que la méthode est capable de produire une proportion moyenne attendue de résultats égale à $\beta(80\%)$ comprise dans un intervalle varie de [3% - 15%] dans la matrice des olives et [30% - 90%] dans la matrice des arômes.

En conséquence, on peut conclure que notre méthode est valide, et elle peut être appliquée sans problème pour le contrôle routinier du taux de sel dans les deux matrices mentionnées dans ce rapport.

Références

- [1] International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM)..
- [2] J. Mothes, Techniques modernes de Contrôle des fabrications DUNOD, 1952..
- [3] General Principles of Software Validation; Final Guidance for Industry and FDA Staff..
- [4] Guide de validation des méthodes d'analyses.
- [5] Validation and Qualification in Analytical Laboratories – L. Huber – Interpharm / CRC 1999.
- [6] Validation of quantitative analytical procedures, Harmonization of approaches - Commission SFSTP, Ph. Hubert, J.J. Nguyen-Huu ; B. Boulanger, E. Chapuzet, P. Chiap, N. Cohen, P.A. Compagnon, W. Dewe. Feinberg ; M. Lallier, M. Laurentie, N. Mercier, C. Nive.
- [7] ISO 5725-Part 1: Introduction and basic principles.
- [8] NF V 03-110- Protocole de caractérisation en vu de la validation d'une méthode d'analyse quantitative par construction du profil d'exactitude..
- [9] ISO 5725-2 / Partie 2 : Méthode de base pour la détermination de la répétabilité et de la reproductibilité d'une méthode de mesure normalisée..
- [10] ISO 5725-3 / part 3 : Intermediate measures of the precision of a standard measurement method..
- [11] ISO 5725-4 / part 4 : Basic methods for the determination of the trueness of a standard measurement method..
- [12] RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV/Estimation de la limite de détection et de quantification.

- [13] F. Jhilal, B. Ihssane, H. Bouchafra, M. Sfaira, EL. EL Hadrami, T. Saffaj Uncertainty Profile: a new global strategy for the analytical validation and the estimation of measurement uncertainty..
- [14] Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods, Laboratory of the Government Chemist, Teddington, 1998..
- [15] ISO 3534-2 Part 2: Applied statistics..
- [16] Utilisation des cartes de contrôle selon ISO 17025 Version 2017 – Méthode interne du Laboratoire QEE. Utilisation des cartes de contrôle selon ISO 17025 Version 2017 – Méthode interne du Laboratoire QEE..
- [17] Détermination du taux de sel – Méthode interne du Laboratoire QEE..



Master ST CAC Ageq

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

Nom et prénom : EL-IDRISSI Hafsa.

Année Universitaire : 2020/2021.

Titre : Validation de la méthode d'Analyse du taux de sel dans les matrices alimentaires selon l'approche de l'erreur totale

Résumé

Ce travail de Projet de Fin d'Etude examine la validation analytique de la méthode d'analyse du taux de sel pour but de garantir et assurer la fiabilité des mesures et des résultats. Nous avons porté une attention toute particulière à deux concepts habiles à statuer sur la qualité et la qualimétrie des procédures analytiques à savoir : la validation analytique et l'incertitude de mesure.

Au premier abord, nous sommes orientés vers la validation de cette méthode par l'approche de l'erreur totale dans les matrices alimentaires incluant la matrice des Olives et des Arômes, Par ailleurs, nous avons utilisés ces données de validation dans l'estimation de l'incertitude en appliquant l'approche de Max.Feinberg et de Saffaj et al.

D'autre part, nous avons réalisés un contrôle interne concernant les cartes de contrôle du matériau de référence utilisé dans cette méthode pour but de s'assurer que ce matériau est stable dans des différentes conditions (Température, lumière et Temps) et que la méthode soit sous contrôle statistique. A cet effet, nous avons confirmé que cette méthode est valide dans les deux matrices alimentaires avec des domaines de validité différente, en appliquant le protocole de la validation indiqué dans norme ISO V03-110.

Mots clés : Validation analytique, Profil d'exactitude, Approche de l'erreur totale, Incertitude de mesure, Approche de Max.Feinberg et de Saffaj et al.