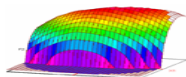




Année Universitaire : 2020-2021



Master Sciences et Techniques CAC Ageq
Chimiométrie et Analyse Chimique : Application à la gestion de la qualité

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

Validation et calcul d'incertitude de mesure des trois méthodes analytique selon deux approches : profil d'exactitude et profil d'incertitude

Présenté par :

♦ BOUGHABA Chifae

Encadré par :

♦ Mme DRIF Kaoutar Société ALF AL Maghreb
♦ Pr. HARRACH Ahmed FST Fès

Soutenu Le 12 Juillet 2021 devant le jury composé de :

♦ Mme K. Drif Société ALF AL Maghreb
♦ Pr. O SQALLI FST Fès
♦ Pr. EL EL GHADRAOUI FST Fès
♦ Pr. A HARRACH FST Fès

Stage effectué à : Laboratoire ALF AL Maghreb –Fès

Faculté des Sciences et Techniques - Fès

☐ B.P. 2202 – Route d'Imouzzer – FES

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

Dédicace

Je dédie ce travail en signe de reconnaissance

A ceux qui ont lutté et sacrifié pour m'offrir les conditions propices à ma réussite

Mes très chers parents

Aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments de respect, d'amour et de reconnaissance pour tous les sacrifices déployés pour assurer mon éducation dans les meilleures conditions pour leurs encouragements et leurs soutiens

A mon frère et mes sœurs

Votre soutien sans réserve et vos encouragements m'ont permis d'affronter beaucoup d'épreuves. A vous toute ma reconnaissance.

Remerciement

Les remerciements sont une marque de politesse incontournable mais toujours insuffisante.

De manière la plus chaleureuse, j'ai le plaisir d'exprimer mes remerciements à toute l'équipe de laboratoire ALF AL Maghreb Fès pour leur accueil et leur engagement à m'assurer un stage de haut calibre.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à madame **THAIFA Ihsane** la responsable de qualité et sécurité qui a donné naissance à cette opportunité de stage.

Mes remerciements vont aussi à mon encadrant madame **DRIF Kaoutar** ainsi que madame **EL Modad Zakia** pour leur soutien, leur disponibilité et leur précieux conseils toute au long de mon stage.

J'adresse mes sincères et vifs remerciements à mon encadrant pédagogique monsieur **Harrach Ahmed** pour ses efforts son soutien, son énergie positive et son source inépuisable de conseils et d'orientation éclairés.

Je remercie également les membres de jurys madame **Ouafae SQALLI** et monsieur **EL HOUSSINE EL GHADRAOUI** d'avoir accepté de juger ce travail.

Je ne laisserai pas cette occasion passer, sans remercier tout le cadre professoral et administratif de Faculté des Sciences et Techniques, Spécialement monsieur **SAFFAJ Taoufiq** le chef de la filière CAC Ageq et monsieur **IHSSANE Bouchaib** pour la formation qu'ils m'ont inculqué.

Liste des abréviations

C (%) : Concentration en %(m/m).

ISO : International Organization for Standardization.

inf : Inférieur.

sup : Supérieur.

MR : Matériel de Référence.

MG : Matière Grasse.

MM : Matière Minérale.

MP : Matière Première.

PF : Produit Finie.

L_T : Limite de Tolérance Inférieur.

U_T : Limite de Tolérance Supérieur.

λ : Limites d'acceptation .

β : Probabilité

SFSTP : Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques

Liste des tableaux

Tableau 1 : Fiche technique de la société	3
Tableau 2 : Temps et température nécessaire aux calcul de l'humidité	12
Tableau 3 : Critères de performance de la méthode selon le type d'évaluation.....	21
Tableau 4 : Résultats de dosage de chlorures dans le MR	34
Tableau 5 : Comparaison de résultat $[\text{Cl}^-]$ du MR avec la référence	35
Tableau 6 : Organisation des mesures de validation de dosage de Cl^-	36
Tableau 7 : Critère de la justesse de la méthode de dosage de NaCl.....	37
Tableau 8 : Critères de la fidélité de la méthode de dosage de NaCl.....	37
Tableau 9 : Calcul des limites de tolérance absolue de la teneur en NaCl.....	38
Tableau 10 : Critères d'exactitude de la méthode de dosage NaCl	38
Tableau 11 : Calcul d'incertitude -type composé (dosage NaCl)	40
Tableau 12 : Calcul d'incertitude de mesure de concentration en Cl^- pour 3 niveaux	41
Tableau 13 : Calcul des limites de tolérance(%) d'incertitude de concentration en Cl^-	41
Tableau 14 : Organisation des mesures de validation (dosage MG).....	44
Tableau 15 : Critères de justesse(dosage MG)	45
Tableau 16 : Critères de fidélité(dosage MG)	45
Tableau 17 : Intervalles de tolérances absolue de la teneur en MG.....	45
Tableau 18 : Critères d'exactitude(dosage MG)	45
Tableau 19 : Calcul l'incertitude –type composé de la teneur en MG.....	46
Tableau 20 : Calculs des incertitudes de mesure de la teneur en MG pour 3 niveaux	47
Tableau 21 : Calculs des limites de tolérance (%) d'incertitude de la teneur en MG	47
Tableau 22 : Organisation des mesures de validation(dosage de MM)	50
Tableau 23 : Critères de la justesse (dosage de MM)	50
Tableau 24 : Critères de la fidélité (dosage de MM)	51
Tableau 25 : Calcul des intervalles de tolérance absolue de la teneur en MM.....	51
Tableau 26 : Critères d'exactitude (dosage MM).....	51
Tableau 27 : Calcul d'incertitude -type composé de la teneur en MM	52
Tableau 28 : Calcul des incertitudes de mesure de la teneur en MM	52
Tableau 29 : Calcul des intervalles de tolérance(%) d'incertitude de la teneur en MM.....	53

Liste des figures

Figure 1 : Organigramme de société ALF AL Maghreb	4
Figure 2 : Processus de fabrication d'aliment de bétail et volaille	5
Figure 3 : Pont bascule encastré dans le sol	6
Figure 4 : Silos de stockage	6
Figure 5 : Emoteurs -épurateurs.....	7
Figure 6 : Trémie avec mélangeur	7
Figure 7 : Bennes peseuses	7
Figure 8 : Ensacheuse.....	9
Figure 9 : Système de Kjeldhal.....	11
Figure 10 : Schéma descriptif du mode opératoire du dosage des chlorures de sodium par la méthode de Charpentier et Volhard.....	16
Figure 11 : Schéma descriptif du mode opératoire de détermination de la teneur en matière grasse par extraction.....	18
Figure 12 : Schéma descriptif du mode opératoire de détermination de la teneur en cendre brute par incinération.....	19
Figure 13 : Exemple d'un profil d'exactitude.....	26
Figure 14 : Diagramme d'Ishikawa pour le dosage de NaCl.....	31
Figure 15 : Profil d'exactitude de la méthode de dosage de NaCl	Erreur ! Signet non défini.
Figure 16 : Profil d'incertitude de mesure de la teneur en chlorure	42
Figure 17 : Profil d'exactitude de la méthode de détermination de la teneur en MG	46
Figure 18 : Profil d'incertitude de mesure de la teneur en MG.....	47
Figure 19 : Profil d'exactitude de la méthode de tetermination de la teneur en MM.....	52
Figure 20 : Profil d'incertitude de mesure de la teneur en MM	53

Sommaire

Introduction générale

Partie I : Présentation de la société & Analyses effectuées au niveau de laboratoire.....

I.	Présentation de la société :	3
1.	Fiche technique de la société	3
2.	Organigramme de la société	4
3.	Processus de fabrication d'aliment de bétail et volaille	5
4.	Contrôle de qualité du MP et PF	9
II.	Analyses effectuées au niveau du laboratoire	10
1.	Détermination de taux d'azote « méthode de Kjeldahl »	10
2.	Détermination de la teneur en eau	11
3.	Dosage de chlorure de sodium par la méthode de Charpentier et Volhard	12
4.	Détermination de la teneur en matière grasse par extraction	12
5.	Détermination de la teneur en cendres brutes par incinération	12

Partie II : Etude bibliographique

I.	Dosage des chlorures par la méthode de Charpentier et Volhard	14
1.	Principe de la méthode de Charpentier et Volhard	14
2.	Réactions de dosage	15
3.	Mode opératoire	15
II.	Détermination de la teneur en matière grasse par extraction	17
1.	Principe de la méthode	17
2.	Mode opératoire	17
III.	Détermination de la teneur en cendres brutes	18
1.	Principe de la méthode	19
2.	Mode opératoire	19
IV.	Validation analytique	20
1.	Objectif	20
2.	Différence entre la vérification et la validation d'une méthode	21
3.	Etapes de construction de profil d'exactitude	21
a-	Définition de la quantité mesurée	21
b-	Précision des objectifs de la validation	22

c-	Selectionnemt les échantillons de validation	23
d-	Planification les essais de validation	23
e-	Calcul des critères de validation	24
f-	Construction de profil d'exactitude	26
g-	Profil d'incertitude	27

Partie III : Etude expérimentale

I.	Dosage des chlorures par la méthode de Charpentier et Volhard	30
1.	Cinq catégories du diagramme d'Ishikawa	31
		31
2.	Dosage des chlorures de matériel de référence	33
3.	Validation de la méthode de dosage de chlorures par l'approche de l'erreur totale	36
a-	Calcul des intervalles de tolérance	37
b-	Profil d'exactitude	39
c-	Construction du profil d'incertitude	39
II.	Détermination de la teneur en matière grasse	43
1.	Principe	43
2.	Mode opératoire	43
3.	Expression de résultats	43
4.	Validation de la méthode de détermination de la teneur en matière grasse par extraction	44
a-	Calcul des intervalles de tolérance	44
b-	Profil d'exactitude	46
c-	Construction du profil d'incertitude	46
III.	Détermination de la teneur en matière minérale	49
1.	Principe	49
2.	Mode opératoire	49
3.	Expression de résultat	49
4.	Validation de la méthode de détermination de la teneur en matière minérale	49
a-	Calcul des intervalles de tolérance	50
b-	Profil d'exactitude	52
c-	Construction de profil d'incertitude	52

Conclusion

Introduction générale

La validation d'une méthode analytique est l'ensemble des opérations effectuées en vue de prouver qu'une procédure est adaptée à l'usage auquel elle est destinée. Plusieurs procédures ont été élaborées à cet effet notamment les approches classiques ou bien les approches des critères, fondées sur les tests d'hypothèse, qui utilisent séparément les deux erreurs aléatoire et systématique pour prendre la décision. D'un point de vue statistique, elles présentent certaine insuffisance, particulièrement le manque de considération de la prise de décision en fonction de limite d'acceptation définie à priori et du risque à l'usage future de la méthode. Pour faire face à ces problèmes, une nouvelle commission SFSTP a été créé en 2003 [1]. Cette dernière propose une approche de validation basée sur le profil d'exactitude. Elle est en parfait accord avec l'objectif d'une méthode analytique à savoir sa capacité de quantifier le plus exactement possible chacune des quantités inconnues qu'un laboratoire aura à déterminer.

Généralement la validation s'effectue pour les méthodes non normalisées, Or les trois méthodes concernées pour cette étude se sont des méthodes normalisées, donc il suffit d'une part de faire une vérification de ces trois méthodes, d'autre part d'estimer leurs incertitudes de mesures.

Dans ce contexte, ce stage est effectué au sein du laboratoire des analyses physico-chimiques dans le but d'évaluer la performance des procédures analytique de trois méthodes (dosage des chlorures par la méthode de Charpentier et Volhard ; Détermination de la teneur en matière grasse par extraction et la détermination de la teneur en cendre brute par incinération) en se basant sur le profil d'exactitude [2] d'une part, et d'autre part d'estimer leurs incertitudes de mesures pour la construction d'un profil d'incertitude [3]. Cette dernière sera utilisée avec le profil d'exactitude pour vérifier si les trois méthodes analytiques sont bien adaptées à ces objectifs.

Parmi les missions qui m'ont été confiées au cours de ce stage c'est de chercher les causes d'erreurs attribuées à la méthode de dosage des chlorures puisqu'il donne des résultats insatisfaisants, en effet on va utiliser le diagramme des causes-effets comme un outil de qualité pour lutte contre ce problème. Pour atteindre ces objectifs, ce travail sera divisé en 3 parties :

Partie I : Présentation de la société et les analyses effectuées au niveaux du laboratoire ;

Partie II : Etude bibliographique dans laquelle on va citer d'une façon détaillée les 3 méthodes étudiées et le concept de validation par le profil d'exactitude et d'incertitude ;

Partie III : Etude expérimentale vise à présenter le fruit de ce travail.

Partie I

Présentation de la société

&

Analyses effectués aux niveaux du laboratoire

I. Présentation de la société

La Société Alf el Maghreb fait partie du groupe Zalagh qui est le leader du secteur avicole Marocain. Elle est l'une des principales entreprises agricoles à Fès, qui se spécialise dans la fabrication et la commercialisation des aliments des bétails et volailles.

La société se décompose en 3 grandes unités :

- La production : pour la fabrication d'aliment composés équilibrés, présentés sous forme de farine, miettes ou granulés et adaptés pour chaque type d'animal ;
- Le prémix : pour la fabrication d'un pré-mélange appelé prémix, ce sont des concentrés d'oligo-éléments, de vitamines et de minéraux. Ils sont associés à un faible pourcentage aux différentes matières premières pour constituer l'aliment complet à destination du bétail ;
- Le laboratoire : pour le contrôle de qualité des matières premières et du produit fini.

1. Fiche technique de la société

Tableau 1: Fiche technique de la société

Raison sociale	Société ALF AL Maghreb
Forme juridique	Société Anonyme (S.A)
Date de création	1974
Capital	50.000.000.00 DH
Patente	13245830
Identification fiscale	4500755
Tél	05 35 72 80 95
Fax	05 35 65 56 08
Siège social	Lotissement Ennamae Quartier ,Industriel Ben souda Fès
Superficie	6000 m ² ,dont 2500 m ² Couverts
Activités	Fabrication d'aliment composés pour Bovins,Ovins et Volailles
Capacité de production	700 tonnes
Destination des produit	Fermes propres à l'entreprise ,Revendeurs et Eleveurs
Effectif	144 permanentes , 52 temporaires
Certification	ISO 9001 version 2008 et OHSAS 18001

2. Organigramme de la société

L'organigramme de la société ALF AL Maghreb est représenté dans la figure suivante :

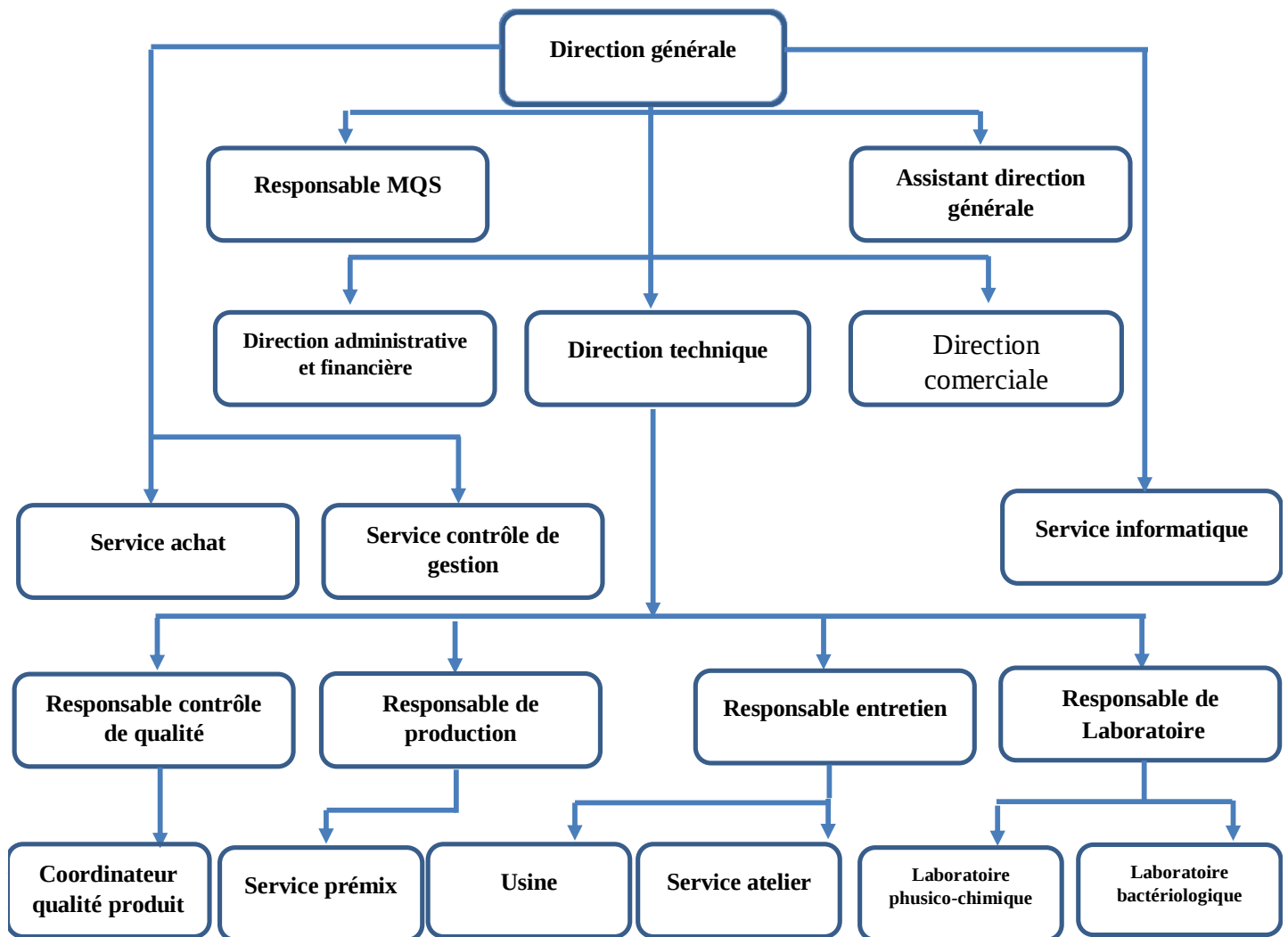


Figure 1: Organigramme de société ALF AL Maghreb

3. Processus de fabrication d'aliment de bétail et volaille

Pour les élevages avicoles industriels, l'alimentation distribuée est une alimentation composée complète fabriquée dans les usines spécialisées dans les aliments de bétail et de volaille. En général, ces aliments sont à base de céréales (maïs, orge, issues de céréales), tourteaux d'oléagineux (soja et tournesol), minéraux et prémixes. La majorité des ingrédients (maïs, soja, minéraux et vitamines, additifs) sont importés et le reste est produit en totalité ou en partie au niveau du pays.

Le processus de fabrication des aliments des animaux se déroule en 4 étapes principales :

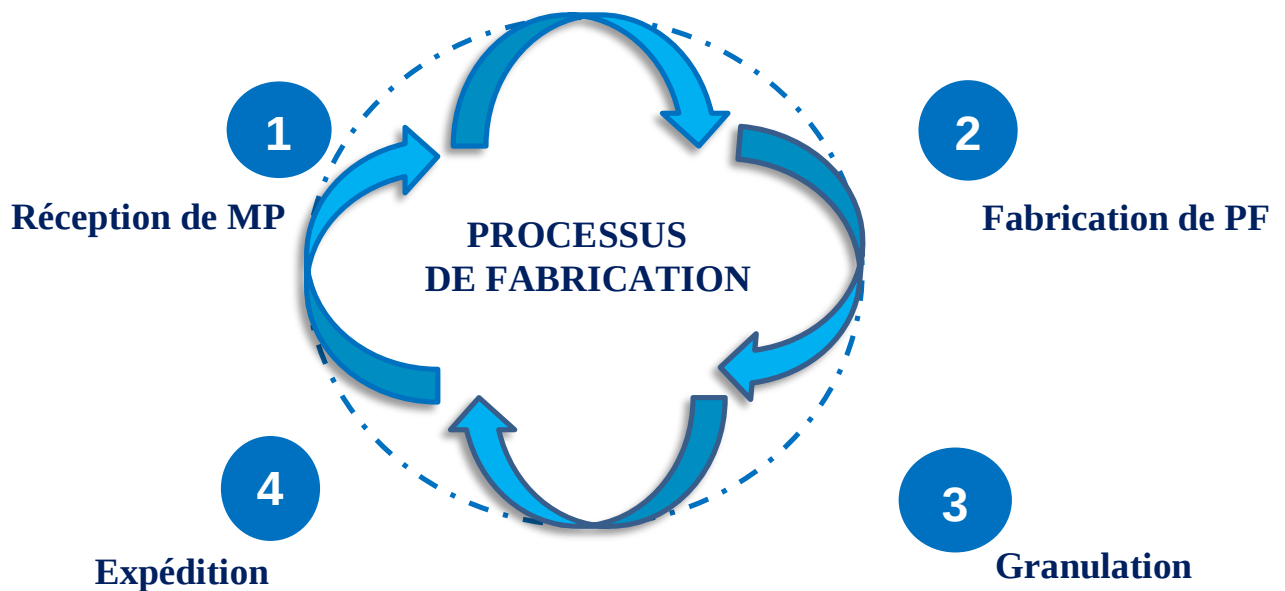


Figure 2: Processus de fabrication d'aliment de bétail et volaille

Réception de matière première

L'alimentation animale fait appel à deux types principaux de MP : les céréales et les sous-produits industriels notamment les tourteaux de soja et de colza. Plus que la totalité des céréales et surtout le maïs proviennent de l'étranger, elles arrivent à la société par transport en vrac.

Au niveau des matières premières on peut distinguer :

- Céréales (maïs le plus utilisé, l'orge ...etc.).
- Les tourteaux issus de la transformation des graines oléagineuses (soja, tournesol ...etc.).

- Les sous-produits de l'industrie alimentaire, tels que sons de blé provenant de la meunerie.
- Les complexes de minéraux, vitamines et additifs, Sel marin.

Dès leur arrivée à la société, Les matières premières subissent un contrôle du poids à l'aide d'un pont bascule pour s'assurer du poids net. Après elles font l'objet d'un prélèvement d'échantillon, pour un contrôle qualité, si celles-ci sont conformes, elles seront stockées dans des silos, dans le cas échant, elles seront refusées. On réalise également des tests permettant de détecter la présence ou non de salmonelles et de pesticides.



Figure 3: Pont bascule encastré dans le sol

Fabrication

■ Stockage

La société dispose de deux fosses pour déposer les matières premières, La première est destinée aux graines (céréales, tourteaux ...), et la deuxième est destinée aux farines (farine de poisson, ...). Une fois les matières premières sont déposées dans les deux fosses, elles sont dirigées, au moyen des transporteurs et d'élévateurs, vers des silos où elles sont stockées séparément.



Figure 4: Silos de stockage

■ Nettoyage

Le nettoyage des matières premières est assuré par une double action émotteur - aspirateur. L'émoteur permet d'écarter les débris métalliques à l'aide d'un aimant, alors que l'aspirateur élimine les particules fines telle que la poussière.



Figure 5: Emoteurs-épateurs

■ Dosage et pré-mélange

L'usine dispose de deux bennes peseuses « BP1 et BP2 » correspondant chacune à des produits dont les dosages requièrent une précision plus ou moins grande selon les pourcentages de la formule. Une fois les matières premières sont dosées, elles sont dirigées vers une grande trémie pour un premier mélange grossier, appelé pré-mélange.



Figure 7: Bennes peseuses



Figure 6: Trémie avec mélangeur

■ Broyage

La matière ainsi dosée et pré-mélangée subit un broyage mécanique qui permet de réduire les matières premières à une granulométrie plus petite afin de réaliser des mélanges homogènes et ceci à l'aide du broyeur à marteaux.

■ **Mélange**

Au cours de cette étape le pré mélange broyer est acheminé vers une mélangeuse qui reçoit des apports de liquides, tels que l'huile, la choline, et les apports d'additifs tels que le prémix et macrominéraux (carbonate de calcium, phosphate bi calcique) dosés à l'aide d'une benne peseuse afin d'obtenir un mélange homogène. Cette étape occupe une place essentielle dans la ligne de fabrication et requiert une attention importante car l'homogénéité du produit doit être parfaite.

■ **Distribution**

Le mélange ainsi préparé passe vers une trémie sous mélangeuse puis il sera transporté par un transporteur et élévateur vers un distributeur. Selon le type de produit fini désiré « Granulé ou Farine », le mélange est envoyé soit :

- Directement dans des cellules de vidange (CV) qui sont au nombre de 8 afin d'être expédié sous la présentation farine ;
- Stocké dans des cellules de presse (CP) qui sont en nombre 6 pour les envoyer vers les presses 1 et 2.

■ **Malaxage et Pressage**

Avant l'étape de pressage, le mélange passe d'abord par un malaxeur qui a pour activité de malaxer le mélange avec la mélasse, puis dirigé vers une presse dans laquelle est injectée de la vapeur pour obtenir une pâte à 85°C. Cette pâte est ensuite poussée vers un anneau d'acier perforé où elle prend la forme de spaghettis qui seront découpés par la suite en morceaux de quelques millimètres donnant ainsi des granulés.

■ **Refroidissement**

Le refroidissement consiste à refroidir et à sécher des granuléées afin d'éliminer l'excès d'eau et aussi d'assurer leur consistance.

■ **Emiettage**

Il s'effectue à l'aide d'un émietteur qui sert à casser les granulés en particules de taille variée selon la nature de produit.

■ Tamissage

Après l'étape d'émiettage vient l'étape de tamisage qui s'effectue à l'aide du tamiseur à l'intérieur duquel s'installent 3 grilles de dimension décroissante. Au cours du tamisage les grands granulés retournent à l'émetteur pour être cassés de nouveau alors que les fines passent vers la presse en suivant les étapes de granulation.

✚ Expédition

Selon les commandes demandées, les produits finis seront expédiés soit :

- En sac de 50Kg, à l'aide d'une ensacheuse ;
- En vrac, directement dans des camions citernes à partir des cellules de vidange (CV).



Figure 8: Ensacheuse

4. Contrôle de qualité du matière premier et produit finie

Mélanger un ensemble de matières premières et des pré-mélanges d'additifs dans le but de fournir un aliment composé selon une formule précise, telle est la principale mission de l'usine de fabrication d'aliment de volaille et du bétail Alf el Maghreb. Cependant la mise en place d'un plan de contrôle qualité, sur les matières premières comme sur les produits finis est indispensable pour assurer la conformité de l'aliment fabriqué. Ce plan a plusieurs atouts :

- ☑ Il permet de s'assurer que l'animal recevra un aliment respectant les contraintes nutritionnelles et permettant d'atteindre les objectifs de performances prévus ;
- ☑ Il consiste à valider que l'aliment fabriqué respecte les garanties annoncées sur l'étiquette et la législation en vigueur.

Analyser la totalité des matières premières et du produit fini s'avère souvent impossible. Dans ce contexte le laboratoire Alf el Maghreb effectue les analyses de routine seulement pour un certain nombre d'aliment selon le plan d'échantillonnage.

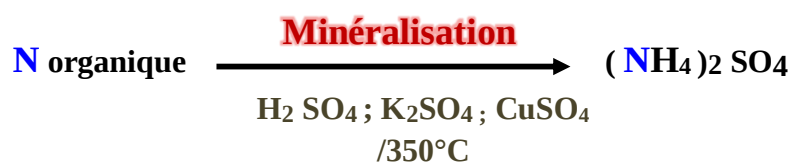
II. Analyses effectuées au niveau du laboratoire

Pour qu'on puisse répondre à la fois aux exigences réglementaires et à des obligations en matière d'étiquetage de composition et de sécurité alimentaire, on doit effectuer un certain nombre des analyses de contrôle de qualité qu'on va citer par la suite.

1. Détermination de taux d'azote « méthode de Kjeldahl »

Les composés organique contenant de l'azote sont décomposés à chaud, sous action d'acide sulfurique et d'un catalyseur, ce catalyseur contient du sulfate de potassium (K_2SO_4) qui permet d'accélérer la température d'ébullition de l'acide sulfurique, et du sulfate de cuivre ($CuSO_4$) qui agit comme catalyseur de la réaction.

La digestion Kjeldahl est basée sur la conversion de l'azote organique en sulfate d'ammonium au moyen d'une réaction de décomposition avec l'acide sulfurique : c'est **l'étape de minéralisation**.



La solution est distillée avec de l'hydroxyde de sodium et la vapeur d'ammoniac passe dans une solution d'acide borique et absorber : c'est **l'étape de distillation**



L'excès est ensuite titré avec de l'acide sulfurique au point final au pH 4.65 et la quantité d'azote dans l'échantillon est calculée d'après la consommation du titrant : **c'est l'étape de dosage.**



L'étape de distillation et de titration se fait automatiquement avec un système de kjeldhal , il suffit de placer les matrass et de lancer l'appareil .



Figure 9: Système de Kjeldhal

2. Détermination de la teneur en eau

Lorsque l'on détermine la teneur en eau d'un échantillon, on l'analyse pour connaître le taux d'humidité qu'il renferme. La teneur en eau est déterminée après un séchage du produit à une température de 103°C pendant 5h ou bien à une température de 130 °C pendant 4h selon la nature d'échantillon à analyser.

Le temps et la température nécessaires pour le calcul de l'humidité selon la nature de produit sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 2: Temps et température nécessaire aux calcul de l'humidité

Produits	T(°C)	temps(h)
Son de blé	130	2
Maïs	130	4
PF	103	5
DDGS	103	4
CaCO ₃	103	4
Blé	130	2
CGM	103	4
Sel	103	4
Grain d'olive	103	5
TS	103	4
Aliment dandan	103	4
Dréchet de blé	103	4
CGF	103	4

3. Dosage de chlorure de sodium par la méthode de Charpentier et Volhard

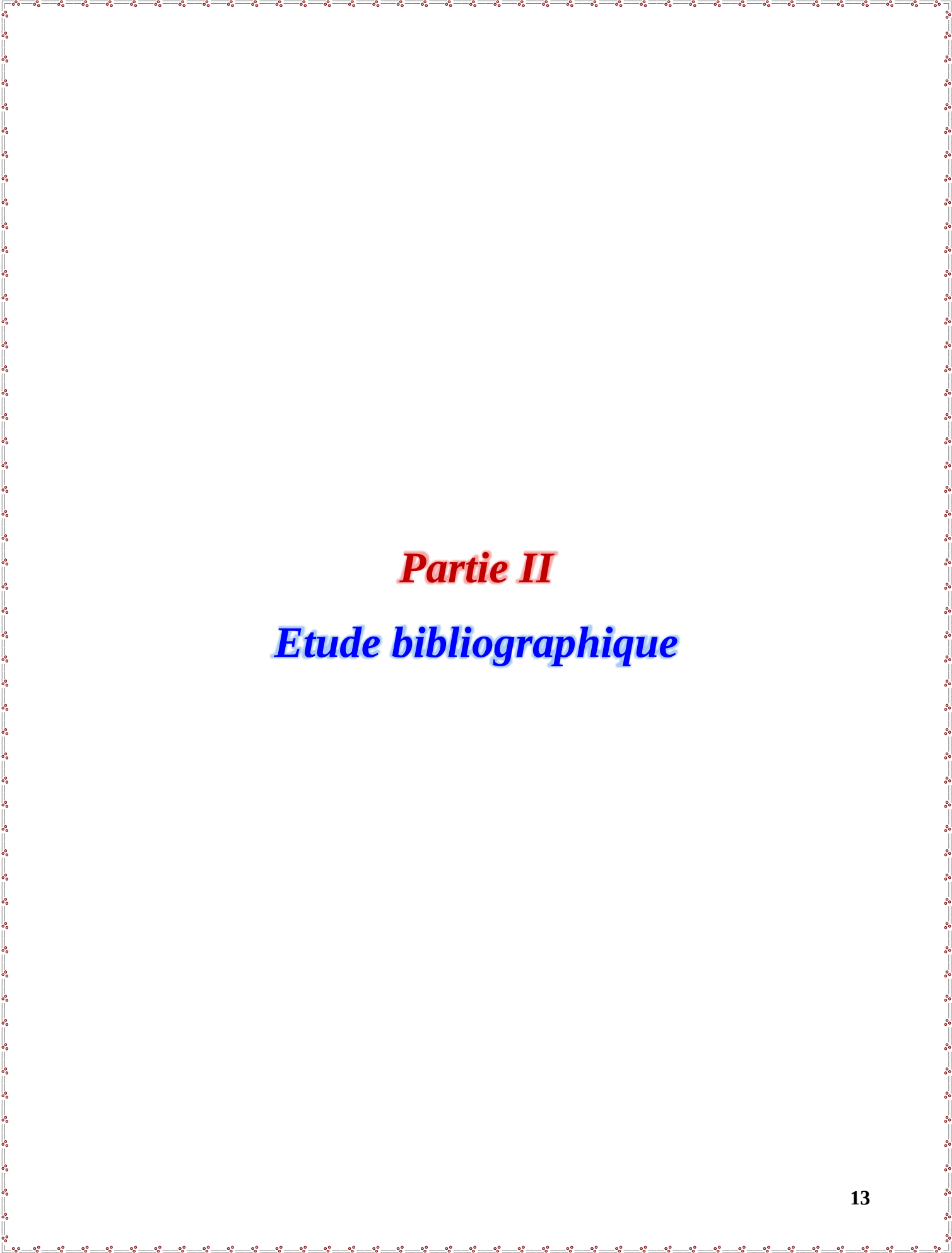
Il s'agit d'un dosage en retour par précipitation et complexation. Afin de précipiter tous les ions les chlorures, on verse une solution titrée de nitrate d'argent en excès dans la solution à doser. Les ions Ag⁺ en excès sont dosés avec la solution de thiocyanate d'ammonium en présence d'alun de fer (III).

4. Détermination de la teneur en matière grasse par extraction

La détermination quantitative de la teneur en matière grasse (MG) d'un échantillon s'effectue généralement par extraction avec un solvant lipophile. L'échantillon préparé est extrait avec le solvant après l'extraction, le solvant est éliminé par distillation et le résidu séché est pesé. la teneur en MG libre correspond à la différence entre les poids initiaux et finaux.

5. Détermination de la teneur en cendres brutes

La détermination quantitative de la teneur en cendre brute (MM) s'effectue généralement par destruction de la matière organique par incinération dans un four. La teneur en MM correspond à la différence entre les poids initiaux et finaux.



Partie II

Etude bibliographique

Dans cette étude, on va s'intéresser aux 3 méthodes effectuées au niveau de laboratoire Alf Al Maghreb et sur laquelle on va appliquer nos connaissances scientifiques acquises durant notre formation universitaire, surtout en ce qui concerne la validation d'une méthode analytique. En effet pour réaliser ce travail il faut procurer des connaissances qui va nous aider à donner un travail de valeur et donc c'est l'objectif de la partie bibliographique. Dans cette partie on va citer le principe et le mode opératoire de chacune des 3 méthodes étudiées à savoir le dosage des chlorures par la méthode de Charpentier et Volhard, la détermination de MG par extraction et finalement la détermination de MM par incinération. Ensuite on va traiter d'une façon détaillée l'objectif de la validation analytique par deux approches : l'approche de l'erreur totale (profil d'exactitude) et la nouvelle approche basée sur le profil d'incertitude [2].

I. Dosage des chlorures par la méthode de Charpentier et Volhard

Le sel (chlorure de sodium : NaCl) joue un rôle important dans l'alimentation animale. Le sodium et le chlore facilite le passage des nutriments à l'intérieur des cellules et des déchets à l'extérieur. Cependant le sodium doit être présent dans la lumière de l'intestin grêle pour l'absorption des sucres et des acides aminés. Une insuffisance en sodium diminue l'utilisation de l'énergie et des protéines et l'absorption des vitamines hydrosolubles, par contre l'excès de sodium provoque une augmentation de la quantité d'eau ingérée ainsi que les excréments urinaires.

Pour cette raison le dosage des chlorures de sodium fait partie des analyses essentielles pour contrôler la qualité des aliments des animaux.

1. Principe de la méthode de Charpentier et Volhard

Il s'agit d'un dosage en retour par précipitation et complexation. Afin de précipiter tous les ions de chlorures on verse une solution titrée de nitrate d'argent en excès dans la solution à doser. Les ions Ag^+ en excès sont dosés avec la solution de thiocyanate d'ammonium en présence d'alun de fer(III).

Dans le cadre de cette étude, on est confronté par un problème qui se manifeste dans la méthode de détermination de la concentration des chlorures. Cette dernière donne des résultats insatisfaisants, pour cette raison il faut bien connaître les réactions chimiques mise en jeu.

2. Réactions de dosage

On traite un volume connu d'une solution d'ions chlorure par un volume connus et en excès de solution de nitrate d'argent, on observe la formation d'un précipité blanc « AgCl » qui a tendance à noircir à la lumière :



Il reste alors des ions argent en excès. Ces excès sont dosés par une solution de thiocyanate d'ammonium. On observe la formation de précipité blanc :



L'alun de fer et d'ammonium est utilisé comme indicateur de la fin de réaction, lorsqu'il n'y a plus d'ions argent en solution, la première goutte de thiocyanate en excès se combine avec l'alun ferrique pour donner des ions $[\text{FeSCN}]^{2+}$ donnant une coloration rouge persistante (30s) :



3. Mode opératoire

Après le broyage d'échantillon, dans une fiole jaugée on pèse à 1mg près, une prise d'essai d'environ 5g. Ensuite, on introduit 1g de charbon actif. Puis on ajoute 400ml d'eau et 5ml de Carrez I. Après l'agitation, on ajoute 5ml de Carrez II et on laisse le mélange 30 min sur l'agitateur magnétique afin d'homogénéiser la solution.

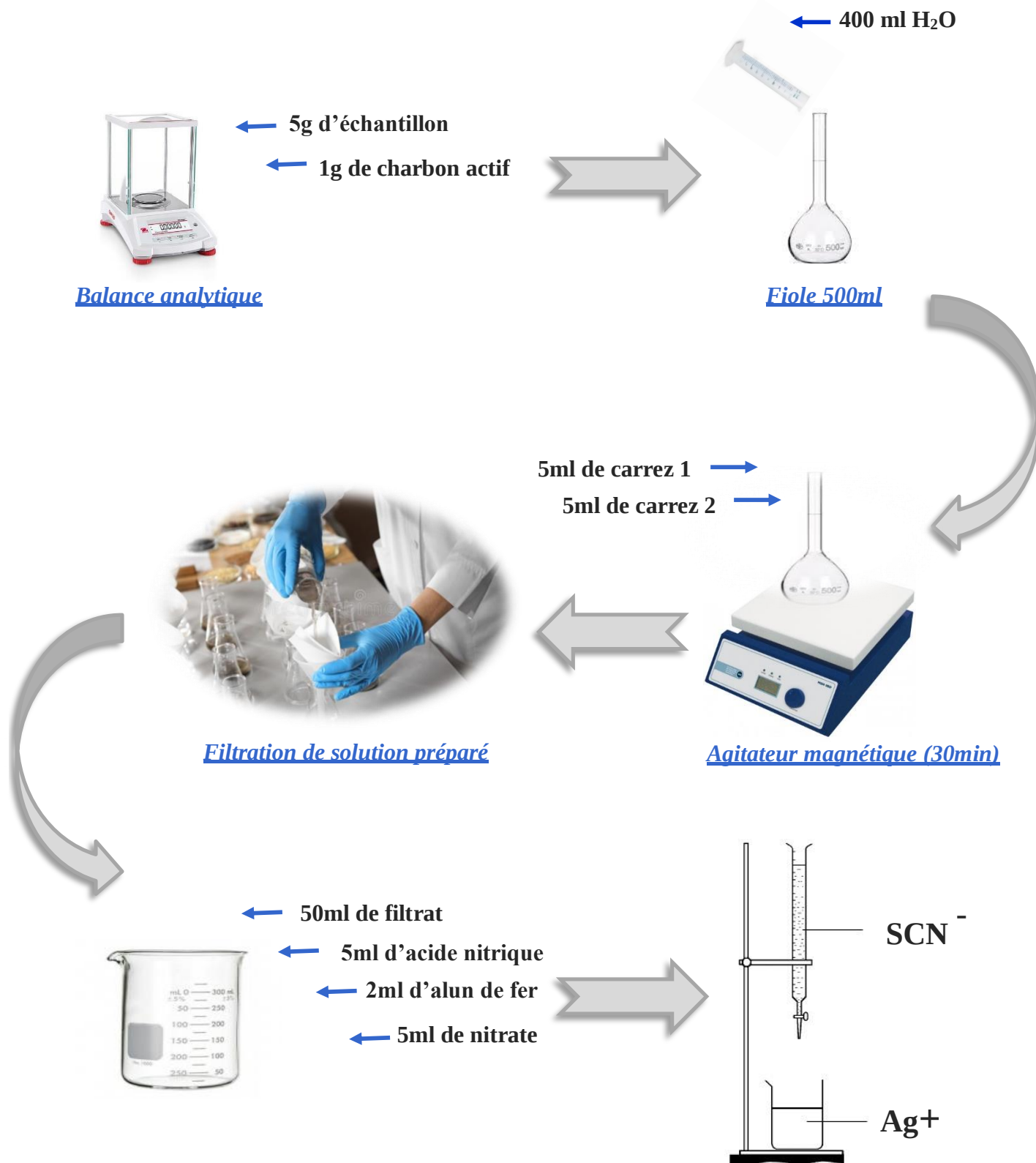


Figure 10: Schéma descriptif du mode opératoire du dosage des chlorures de sodium par la méthode de Charpentier et Volhard

II. Détermination de la teneur en matière grasse par extraction

La matière grasse est un élément essentiel dans les aliments des animaux et surtout dans l'aliment des poules car il absorbe les vitamines A, D, E et K, qui sont solubles une fois dans les graisses.

En cas de carence en acides gras, le foie des poules pondeuses devra fournir les acides gras nécessaires au métabolisme de leur corps. Cela peut être impactant pour la santé du foie, car il doit fournir les acides gras par lipogenèse, à partir des glucides. Et plus les teneurs en matières grasses brutes ajoutées sont élevées, plus elles sont bénéfiques.

1. Principe de la méthode

La détermination quantitative de la teneur en MG d'un échantillon s'effectue généralement par extraction avec un solvant lipophile. L'échantillon préparé est extrait avec le solvant. Après l'extraction, le solvant est éliminé par distillation et le résidu séché est pesé. La teneur en MG libre correspond à la différence entre les poids initiaux et finaux.

2. Mode opératoire

L'extraction est totalement automatisée par un système géré par un logiciel qui est conforme au norme international. Il suffit d'insérer les béciers et de lancer le programme. L'appareil fait automatiquement tout le reste.

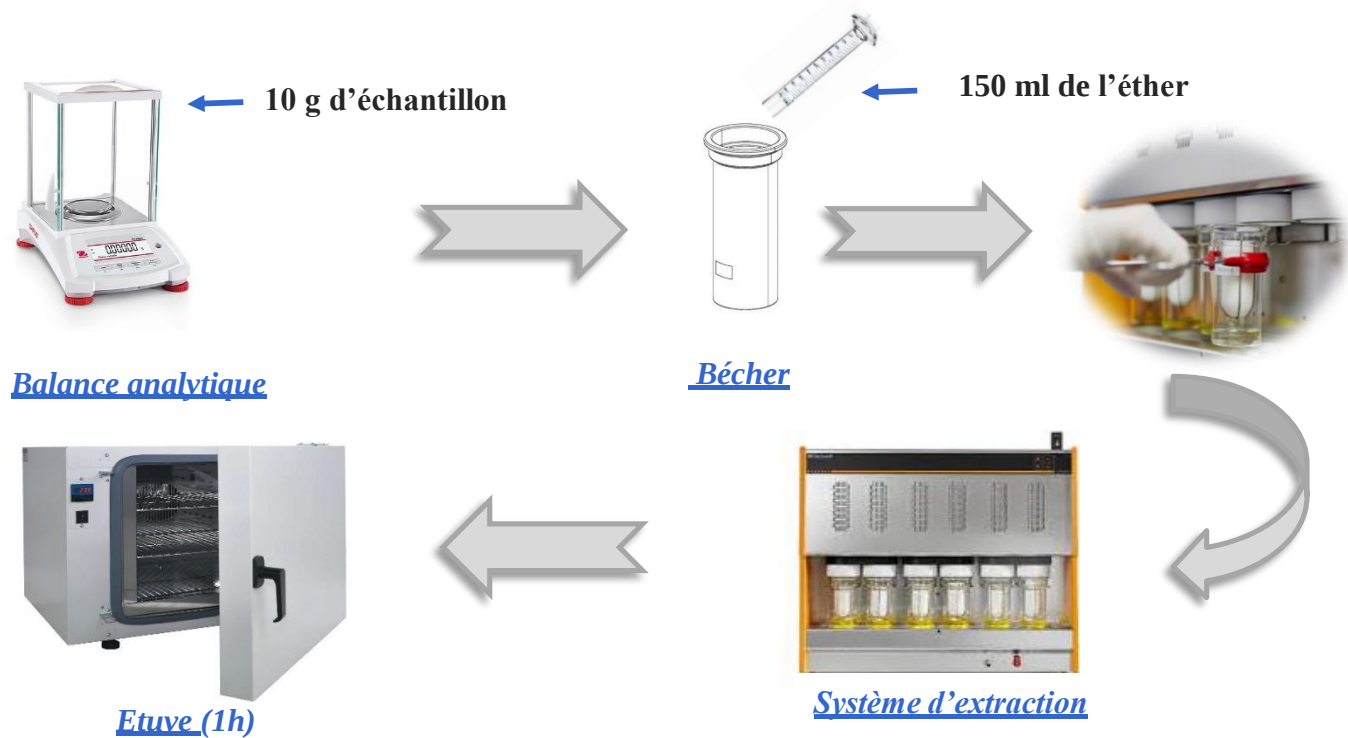


Figure 11: Schéma descriptif du mode opératoire de détermination de la teneur en matière grasse par extraction

III. Détermination de la teneur en cendres brutes

Les cendres brutes c'est la matière minérale qui représentent tout ce qui reste quand on brule totalement l'aliment.

Ils contiennent des élément dits « macroéléments » et ce sont les plus importants pour nos animaux : Ca^{2+} , K^+ , Mg^{2+} , Na^+ cet apport concentré de minéraux qui doit être ajouté avec prudence et en quantité adopté pour équilibrer l'alimentation, car l'apport de micronutriment (minéraux, vitamines, oligo-élément) en grande quantité n'est pas anodin et peut même être toxique à long terme : risque d'affections et irritation du bas appareil urinaire ainsi que formation de calculs.

1. Principe de la méthode

La détermination quantitative de la teneur en cendre brute s'effectue généralement par destruction de la matière organique par incinération dans un four. La teneur en MM correspond à la différence entre les poids initiaux et finaux.

2. Mode opératoire

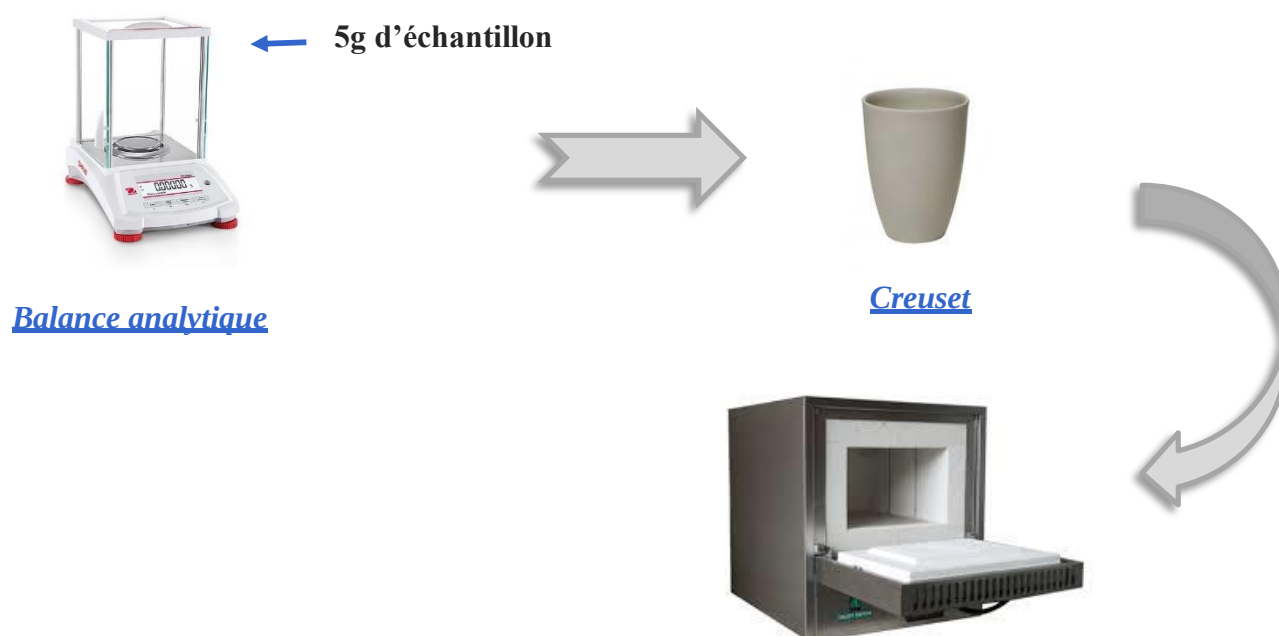


Figure 12: Schéma descriptif du mode opératoire de détermination de la teneur en cendre brute par incinération

Lorsqu'on réalise des analyses, on veut rendre des résultats fiables qui atteignent les spécifications définies à l'avance. Dans ce contexte, cela indique l'évaluation des méthodes. Cette évaluation dépend de type de la méthode utilisée est ce qu'il s'agit d'une méthode normalisé ou bien non normalisé, et c'est ça ce qu'on va traiter dans la partie suivante.

IV. Validation analytique

1. Objectif

La validation d'une méthode d'analyse est une étape indispensable permettant de garantir l'obtention d'un résultat aussi proche que possible de la valeur vraie de référence d'un échantillon.

Selon la norme ISO 17025 : Le laboratoire doit valider les méthodes non normalisées, les méthodes conçues/développées par le laboratoire, les méthodes normalisées employées en dehors de leur domaine d'application prévu, ainsi que les amplifications ou les modifications de méthodes normalisées, afin de confirmer que les méthodes sont aptes à l'emploi prévu.

Les différences entre les méthodes non normalisées et les méthode normalisée sont :

Méthode non normalisée :

- Méthode d'analyse fondée sur une méthode normalisée qui a été modifiée (même légèrement) par son utilisateur pour répondre à ses besoins opérationnels ;
- Méthode normalisée employée en dehors de son domaine d'application prévu ;
- Méthode publiée dans des ouvrages scientifiques non accompagnée des données sur la performance ;
- Méthode d'analyse développée ou adaptée à l'interne.

Méthode normalisée :

- Méthode approuvée FDA ou CE ;
- Méthode d'analyse nationale ou internationale, publiée et validée, accompagnée des données complètes de validation ;
- Méthode ayant déjà été validée et qui est remise en service ;

Donc les méthodes non normalisées exigent une validation avant leurs utilisations au niveau de laboratoire par contre les méthodes normalisées nécessite juste une vérification. Dans le paragraphe suivant on va savoir les critères de performance de la méthode selon leur type d'évaluation.

2. Différence entre la vérification et la validation d'une méthode

La validation (VIM) c'est la confirmation par des preuves tangibles que les exigences pour une utilisation spécifique ou une application prévue ont été satisfaites. En revanche la vérification c'est la détermination de si les caractéristiques de la méthode normalisée sont satisfaites lorsque cette méthode est utilisée dans le contexte du laboratoire.

Tableau 3: Critères de performance de la méthode selon le type d'évaluation

	Vérification		Validation	
	Quantitatif	Qualitatif	Quantitatif	Qualitatif
Répétabilité	✓		✓	
Reproductibilité		✓	✓	✓
Justesse	✓	✓	✓	✓
Comparaison	✓	✓	✓	✓
Incertitude : mesure de variabilité	✓		✓	
Limites de quantification			✓	
Linéarité			✓	
Limites de détection				✓
Sensibilité /spécificité			✓	
Contamination entre échantillons			✓	
Robustesse			✓	

Dans notre cas les 3 méthodes étudiées sont des méthodes normalisées donc on va juste faire une vérification ou bien revalidation par deux approches : l'approche de l'erreur totale (profil d'exactitude), et la nouvelle approche basée sur le profil d'incertitude.

3. Etapes de construction de profil d'exactitude

Selon la norme NF V03-110 [2], les étapes de constructions de profile d'exactitude sont :

a- Définition de la quantité mesurée

À partir du mode opératoire de la méthode, on définit la quantité mesurée en précisant les formules d'expression du résultat final et la procédure pour établir ce résultat. En particulier, il faut faire la distinction entre deux types de méthodes :

Les méthodes « indirectes ou rationnelles »

Elles exigent un étalonnage préalable pour calculer la concentration des échantillons inconnus. Pour ces méthodes, on procède en deux étapes : d'abord construire la courbe d'étalonnage en utilisant le même principe physico-chimique que celui qui sert pour les échantillons ; ensuite faire des mesures sur les échantillons inconnus et calculer leurs concentrations à l'aide d'un modèle d'étalonnage.

Les méthodes « directes ou empiriques »

Pour ces méthodes 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.

Il est fondamental que la quantité mesurée lors de la validation soit bien la même que celle qui sera mesurée en routine. En particulier, si le mode opératoire prévoit d'exprimer le résultat final à partir d'un seul mesurage, il ne faut pas exprimer le résultat d'un essai de validation comme la moyenne de plusieurs répétitions.

b- Précision des objectifs de la validation

Choix le domaine de validation

Le domaine de validation c'est l'ensemble des types de matrice auquel s'applique la méthode et la gamme de concentrations sur laquelle a porté la validation. Le choix de domaine de validation, c'est à travers les choix effectués pour construire les plans d'expériences, en termes de gamme de concentrations pour un ou plusieurs types de matrice, tout ça pour le but de démontrer dans quel domaine la méthode est effectivement valide, et si elle est capable de fournir des résultats acceptables.

Choix de limite d'acceptation

Pour déclarer que la méthode est exacte ça dépend de la limites d'acceptation ($\pm\lambda$) qu'on peut définir en se référant à un document, une pratique de la profession ou une exigence scientifique.

c- Sectionnement les échantillons de validation

Choix de la ou les matrices

Les essais qui servent à calculer les éléments du profil d'exactitude doivent être réalisés sur des échantillons clairement identifiés, appelés échantillons de validation. Ce sont des matériaux qui doivent être le plus représentatif possible du domaine d'application de la méthode. Ils peuvent ainsi inclure différentes matrices pour les méthodes multi-matrices. Mais surtout on doit être capable de leur attribuer une valeur de référence qui représente la teneur attendue. Il faut choisir des matériaux stables et homogènes en quantité suffisante pour réaliser l'ensemble des essais définis par le plan d'expérience de validation.

Établissement des valeurs de référence des échantillons de validation

Pour estimer la justesse de la méthode, il faut disposer d'échantillons de validation dont la concentration est connue le plus exactement possible avec une incertitude connue. Cette concentration correspond à la valeur de référence assignée à l'échantillon de validation et doit être fixée indépendamment de la méthode à valider.

d- Planification les essais de validation

Organisation des essais de validation

Le plan d'expérience de validation sert à estimer, dans les conditions où le mode opératoire sera appliqué en routine, quelles seront les performances en routine de la méthode. Dans ce contexte, un essai consiste à faire un mesurage sur un échantillon de validation, de préférence dont la valeur de référence a été établie avec une incertitude connue.

Pour réaliser ce plan, il faut définir :

- I séries de mesures ($1 \leq i \leq I$) : dans cette étude le nombre de série sera 3 jours.
- Pour chaque série, il faut effectuer J répétitions ($1 \leq j \leq J$) : On va effectuer 3 répétitions.
- K niveaux de concentration ($1 \leq k \leq K$) couvrant le domaine d'application de la méthode.

e- Calcul des critères de validation

Calcul de la justesse par série

La justesse (ISO 5725) d'une méthode c'est l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une large série de résultats d'essais et une valeur de référence acceptée. Une méthode est juste si elle conduit à des résultats dont l'espérance mathématique est égale à la vraie grandeur mesurée, ceci entraîne que la méthode n'a pas d'erreur systématique. Généralement il est exprimée en terme de biais :

- Biais absolu : $b_{ijk} = Z_{ijk} - X_{ijk}$
- Biais relatif : $b_{ijk} \% = \frac{Z_{ijk} - X_{ijk}}{X_{ijk}} * 100$
- Recouvrement : $\frac{Z_{ijk}}{X_{ijk}} * 100$

Calcul de la fidélité par niveau

La fidélité (ISO 3534-1) c'est l'étroitesse d'accord (le degré de dispersion) entre des résultats d'essai indépendants obtenus sous des conditions stipulées. Elle est exprimée à partir de l'écart type de répétabilité et de fidélité intermédiaire.

Noté que la fidélité dépend uniquement de la distribution des erreurs aléatoires et n'a aucune relation avec la valeur vraie ou spécifiée, c'est à dire on peut avoir des résultats qui est fidèle mais pas forcément juste.

Pour juger la fidélité d'une méthode on calcul les critères de fidélité à savoir :

- **L'écart type de répétabilité (S_r)** : Exprime la fidélité entre les résultats obtenus dans le même jour pour les mêmes conditions opératoires. Statistiquement parlant c'est la mesure de la dispersion obtenue par le même opérateur utilisant un appareil défini dans le même jour et dans le même lieu. Il est obtenu à partir du tableau d'analyse de variance (ANOVA) :

$$S_r^2 = \frac{SCE_r}{N-i} = CM_w$$

 **N** : le nombre total de mesure = $i*j*k$

- **L'écart-type de fidélité intermédiaire (S_{FI})** : Exprime la fidélité entre les résultats obtenus dans des conditions où les résultats d'essai indépendantes sont obtenus par la même méthode, sur des individus d'essai identiques, dans le même laboratoire, avec des opérateurs différents et utilisant des équipements différents pendant un intervalle de temps donné (pas obligatoirement des jours consécutifs). Il est obtenu à partir du tableau d'analyse de variance. Avec :

$$S_{FI} = \sqrt{s_r^2 + s_s^2} \quad ; \quad S_{série} = \sqrt{\frac{s_B^2 - s_r^2}{i}}$$

- **Le coefficient de variation de la fidélité intermédiaire (CV_{FI})** :

$$CV_{FI} = \frac{S_{FI}}{Z_{moy}} * 100$$

Ce calcul est réalisé par ANOVA équilibrée à un seul facteur (dans notre cas le facteur c'est le jour) à chacun des j niveaux de concentration.

La combinaison de l'erreur de manque de justesse et l'erreur de manque de fidélité donnera l'erreur totale qui est représentée par les intervalles de tolérance qu'on va étudier par la suite.

Calcul des intervalles de tolérance

L'intervalle de tolérance de type β -expectation est un outil statistique qui représente l'erreur de la méthode déterminée expérimentalement en se basant sur des mesures répétées plusieurs fois et réalisées dans différent jour. Ces intervalles de tolérances une fois calculée pour une probabilité β , ils traduisent la proportion (β) des futures mesures qui seront incluses dans les limites d'acceptabilité $\pm \lambda$ définie à priori.

L'estimation des intervalles de tolérance absolue est exprimé par la formule ci dessous selon la méthode de R.Mee [4] :

$$Z_{moy} \pm K S_{FI}$$

L'intervalle de tolérance est donc un moyenne statistique commode puisqu'il combine simultanément l'erreur aléatoires (S_{FI}) et l'erreur systématique (recouvrement %) en faisant intervenir un facteur de couverture K. les bornes supérieurs et inférieurs de l'intervalle de tolérance sont données par les deux formule suivante :

$$L_j = Z_{\text{moy}} - t_{(v; 1-\beta)} \sqrt{1 + \frac{1}{npB_j^2}} S_{FI}$$

$$U_j = Z_{\text{moy}} + t_{(v; 1-\beta)} \sqrt{1 + \frac{1}{npB_j^2}} S_{FI}$$

Où :

$$R_j = \frac{S_B^2}{S_r^2} ;$$

$$v = \frac{(R+1)^2}{\frac{(R+\frac{1}{n})^2}{p-1} + \frac{1-\frac{1}{n}}{np}}$$

$$B_j = \sqrt{\frac{R+1}{nR+1}}$$

f- Construction de profil d'exactitude

Le profil d'exactitude est un outil de décision basé sur le risque associé à la méthode. La notion de risque est liée à la garantie concernant la future analyse des échantillons inconnus tout en appliquant une méthode valide. Par conséquent, le profil d'exactitude peut servir à accepter ou rejeter une méthode analytique selon l'usage attendu. Par ailleurs, le profil d'exactitude peut également être utilisé comme outil de diagnostic. Il s'obtient en plotant, dans le même graphique, les valeurs des intervalles de tolérances et les limites d'acceptabilité en fonction des valeurs de concentration. Comme illustré dans la figure si dessous :

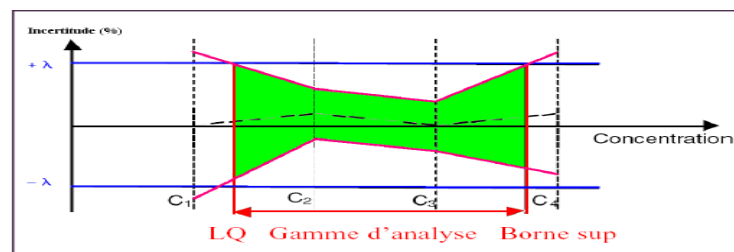


Figure 13: Exemple d'un profil d'exactitude

En guise de décision, la méthode est considérée comme exacte (valide) à chaque niveau de concentration, si les limites de l'intervalle de tolérance, calculés avec un degré de confiance β , sont incluses dans les limites $\pm \lambda$, définies a priori en fonction des objectifs de la méthode. Cela signifie qu'on a une garantie égale à β que la méthode une fois appliquée en routine, pourrait donner une proportion β des futurs mesures conformes.

L'approche de validation par l'erreur totale reste un outil préférable et applicable dans tout domaine d'analyse puisqu'il propose d'une part une méthode d'interprétation graphique très simple et visuelle, d'autre part il permet d'estimer l'incertitude de mesure en se basant sur les données de validation.

g- Profil d'incertitude

Toute mesure est entachée d'erreur, de ce fait les résultats donner par une méthode présentant un certain degré d'incertitude, cette incertitude a le même unité que la grandeur de mesurande. Elle permet de définir un intervalle dans lequel il y a une forte probabilité de trouver la valeur « vrais » de la quantité qu'on mesure [$X_{\text{vrais}} - \Delta x$; $X_{\text{vrais}} + \Delta x$]. Pour rendre compte du degré d'approximation auquel nous travaillant, nous devons estimer les erreurs commises dans les diverses mesures. Or l'estimation d'incertitude de mesure est considérée comme la problématique majeur dans les laboratoires car il exige une technicité élevée et une maîtrise des outils statistique comme le cas de l'approche ISO-GUM [5]. Cette dernière est très complexe est fastidieuse pour la pratique quotidienne. De ce fait une nouvelle démarche a été développer par Mr. SAFFAJ & IHSSANE [3] qui sert à estimer l'incertitude de mesure en se basant sur les données de validation sans avoir recours à d'autres expériences supplémentaire.

Calcul d'incertitude –type composé

L'incertitude de la mesurande est exprimée par la formule développé par Mr. SAFFAJ [3]:

Avec :

$$u_c (\%C) = \frac{U-L}{2t}$$

U : Limite de tolérance supérieur.

L : Limite de tolérance inférieur.

Calcul d'incertitude élargie

L'incertitude élargie relative est calculée par la formule :

$$U\% = \frac{\text{Incertainitude élargie}}{\text{Concentration introduite}} * 100$$

Où : L'incertitude élargie est calculée par la formule suivante :

$$U = k * u_c (\%C)$$

Avec :

k : facteur d'élargissement.

A ce stade il est important de savoir comment estimer l'incertitude de mesure : plusieurs méthodes sont utilisées, vue qu'on va valider les méthodes par l'approche de l'erreur totale, évidemment on va estimer l'incertitude par cette approche en se basant sur les données de la validation analytique.

Calcul des intervalles de tolérance d'incertitude

$$C (\%) \pm U$$



Partie III

Etude expérimentale

Quel que soit le domaine d'activité de la société, la validation analytique reste une moyenne efficace pour assurer la fiabilité et la traçabilité des résultats d'analyse au laboratoire. De ce fait ce travail consiste d'une part à valider et calculer les incertitudes de mesures de 3 méthodes directes (dosage des chlorures, détermination de la matière grasse et la teneur en matière minérale) par deux approches (profil d'exactitude et profil d'incertitude) et d'autre part il consiste à trouver une solution pour le dosage des chlorures qui donne des résultats insatisfaisants.

Cette partie expérimentale sera divisée en 3 axes Principaux :

- ❖ Le premier axe concernera le dosage des chlorures par la méthode de Charpentier et Volhard :
- ❖ Le deuxième axe concernera la détermination de teneur en matière grasse ;
- ❖ Le troisième axe concernera la détermination de la teneur en matière minérale.

I. Dosage des chlorures par la méthode de Charpentier et Volhard

Le matériau de référence (MR) est un échantillon caractérisé par des valeurs assignées accompagné par l'incertitude types. Ils sont utilisés pour vérifier l'efficacité du processus analytique du préparation d'échantillons jusqu'au dosage. Une fois que la méthode donne des résultats de MR insatisfaisants, il faut agir pour chercher les causes du problème liée au processus de mesure mis en évidence. C'est le cas de dosage des chlorures par la méthode de Charpentier et Volhard.

Alors notre grand défi est de trouver un outil efficace permettant de gérer efficacement ces problèmes. En effet nous avons choisie d'examiner le diagramme des causes-effets qui permet d'identifier de façon exacte et précise ces causes de problème majeurs qu'on peut confrontés au cours d'un processus analytique. Grâce à ce diagramme, on peut également visualiser de façon graphique ces causes. De plus, cet outil offre un avantage énorme pour résoudre le problématique, en gagnant plus de temps que d'habitude dans la recherche des erreurs.

Dans notre cas, les causes trouvées sont positionnées sur le diagramme d'Ishikawa si dessous sur lequell la problématique est représenté à la tête de poisson alors que les causes sont modélisées par des branches, chacune définit une source d'inquiétude.

1. Cinq catégories du diagramme d'Ishikawa

Un problème est un événement ayant un impact négatif d'analyse incluant le personnel, le produit issu de l'organisation ou du laboratoire, l'équipement et l'environnement dans lequel le personnel opère. Tous ces événements doivent être traités dans la recherche des sources d'erreurs.

Les causes d'erreurs liées au 5M qui sont identifiées après une séance de Brainstorming avec l'équipe de laboratoire sont illustrées dans le diagramme ci-dessous :

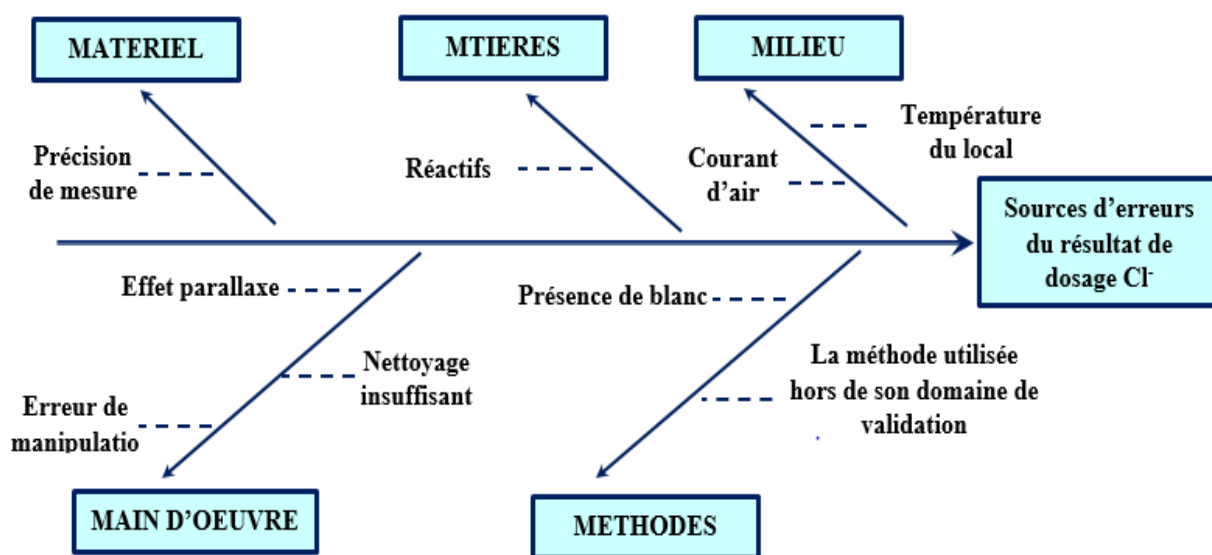


Figure 14: Diagramme d'Ishikawa pour le dosage de NaCl

- **Matériels** : concernant le matériel, la cause d'erreur c'est la précision de mesure qui influe le résultat mais surtout la fiabilité, ainsi plus la graduation de l'instrument de mesure est petite, plus l'instrument est précis. Un cylindre gradué dont l'échelle est graduée au dixième aura une précision de ± 0.05 est plus précis qu'un cylindre gradué dont l'échelle est graduée à l'unité aura une précision ± 0.5 . De ce fait nous avons décidé de titrer avec une pipette de 1ml au lieu de burette puisque cette dernière dépasse le point de virage lors du dosage car une goutte de burette c'est 0.1 ml alors que celle de pipette c'est 0.05ml.

- **Matière :** à propos des causes d'erreur liée à la matière, l'analyste doit s'assurer que les réactifs achetés ne sont utilisés qu'après avoir été contrôlé et vérifié leur conformité aux exigences spécifiées. Dans ce contexte on peut déclarer que tous les réactifs utilisés sont conformes, puisqu'on les utilise dans les autres analyses de routine. En revanche il y a une remarque concernant l'indicateur coloré utilisé, car il faut utiliser le sulfate d'ammonium et de fer (III) au lieu de fer (II) comme indicateur de la fin de réaction par la formation d'un complexe $[\text{FeSCN}]^{2+}$.
- **Milieu :** la température ambiante de local doit être si possible maintenue constante afin d'éviter toute dérive d'une part et d'autre part pour annuler l'influence du courant d'air sur la mesure, Il est donc indispensable de peser avec les portes fermées du locale.
- **Mains d'œuvre :** toute les êtres humains entraînent une incertitude sur le lecteur de mesure.
 - ☑ En effet certaine cause d'erreur comme l'effet de parallaxe, c'est l'erreur faite par l'œil lorsqu'il évalue la concordance entre deux lignes (c'est une erreur dont l'importance varie selon la position de l'observateur par rapport au trait jaugée).
 - ☑ La dissolution est la mise en solution d'un soluté dans l'eau en l'agitant avec un agitateur magnétique afin d'obtenir un mélange homogène. Cependant il faut toujours s'assurer que le soluté est compétement dissout, l'homogénéité est donc une cause d'erreur qui peut être évitée.
 - ☑ La propreté du matériel est une importante cause d'erreur, lorsque par distraction un expérimentateur ne nettoie pas le matériel entre chaque utilisation. Et comme l'homogénéité, cette cause d'erreur peut être éliminée par une manipulation rigoureuse.
 - ☑ La perte de substance est une autre cause d'erreur qui peut être évitée si l'expérimentateur prend le temps de rincer la nacelle de pesée avec l'eau distillé. La quantité perdue sera négligeable. Afin de minimiser l'impact de cette source d'erreur, il est indispensable d'être vigilant lors de la manipulation

- **Méthode :** Les contaminations, très fréquentes résultent de l'introduction systématique ou accidentelle de quantités non négligeables d'analyte au cours des différentes étapes d'analyse. Elles proviennent essentiellement des réactifs et des matériels utilisés ou bien de l'air ambiante du laboratoire. Dans notre cas, les chlorures peuvent être présents dans l'eau distiller, il est indispensable d'évaluer cette contamination par l'utilisation d'un « blanc » représentatif et d'en tenir compte lors du calcul des résultats sachant que l'utilisation du blanc est déjà indiquée dans le mode opératoire de la méthode.

Bien sûr, il faut savoir que si le résultat d'un échantillon n'est pas exact, ça veut pas dire qu'on a un problème au niveau de la méthode. Peut-être que la méthode n'est pas valide à ce niveau de concentration. Pour cette raison il faut savoir le domaine de validité de la méthode, et si lors de l'utilisation en routine de la méthode on rencontre des échantillons dont la concentration n'est pas incluse dans le domaine de validité, il est recommandé de ne pas analyser cet échantillon.

Après l'identification de toutes les sources d'erreurs possibles, il est indispensable de prendre les mesures correctives et préventives qui s'imposent. À ce moment pour juger la performance de la méthode, on va faire une expérience avec un matériau de référence dont la concentration en chlorure est définie avec une incertitude ($\pm 0,05$).

2. Dosage des chlorures de matériel de référence

[Mode opératoire](#)

- **Préparation d'échantillon :**

Dans une fiole jaugée de 500 ml on met 5,0020g de MR +1g de charbon actif et on ajoute 400 ml d'eau et 5ml de carrez(I) et 5ml de carrez (II). Ensuite on met le mélange 30min dans l'agitateur magnétique

- **L'ajout des réactifs :**

Après homogénéisation et filtration des solutions préparées on prélève un volume de 50 ml de filtrat puis on ajoute 5ml d'acide nitrique + 2ml d'alun de fer (III). Enfin on ajoute 5ml de nitrate d'argent (0,1N).

▪ Titration :

On va doser la solution obtenue par le thiocyanate d'ammonium (0,1N) sachant qu'on va utiliser une pipette de 1ml au lieu d'une burette comme on l'a déjà cité dans le paragraphe précédent « Matériel », On verse le thiocyanate goutte à goutte jusqu'à la formation d'un complexe $[\text{FeSCN}]^{2+}$ qui est indiqué par l'apparitions d'une coloration rouge-brune persistante (30s).

Résultats obtenu

Les résultats obtenus pour 3 répétitions sont données dans le tableau 4 suivant :

Tableau 4: Résultats de dosage de chlorures dans le MR

Véchantillon	VBlanc
4,34	4,63
4,34	4,66
4,39	4,69

La concentration des ions Cl^- est calculée par l'expression suivante [6] :

$$\% \text{Cl}^- = \frac{5,845[(5-V_{\text{éch}})0,1 - (5-V_{\text{b}})0,1]}{\text{PE}} * \frac{500}{V_{\text{p}}}$$

Avec :

Véch : le volume(ml) de la solution de thiocyanate d'ammonium versé dans la solution d'échantillon. (Véch= 4,35ml c'est la moyenne de 3 répétitions)

Vb : est le volume (ml) de la solution de thiocyanate d'ammonium pour l'essai à blanc.

(Vb = 4,66ml c'est la moyenne des volumes obtenus pour les 3 répétitions)

Vp : est le volume prélevé de filtrat (50ml).

PE : la masse en gramme de la prise d'essai (5,0020 g).

Tableau 5: Comparaison de résultat $[Cl^-]$ du MR avec la référence

% Cl^- retrouvé	% Cl^- référence	Z score
0,36	0,33	0,6

Z_{score} est inférieur à 2, donc on peut considérer avec un risque de 5% que l'écart entre les deux valeurs est négligeable. Donc notre résultat 0,36 est déclaré satisfaisant puisqu'il est inclu dans le domaine de variation de la vraie valeur.

$$Z_{score} = \frac{C(\text{retrouvé}) - C(\text{référence})}{0,05}$$

Avec 0,05 c'est l'écart maximal admis.

3. Validation de la méthode de dosage de chlorures par l'approche de l'erreur totale

La validation de la méthode de dosage des chlorures est l'opération par laquelle on s'assure que ces résultats répondent au problème de manière satisfaisante en appliquant deux approches (profil d'exactitude et profil d'incertitude). Ces deux approches sont très intéressantes où ils ne peuvent pas intervenir des tests d'hypothèse telles que h_0 et h_1 qui indiquent le test est significatif ou non, elles permettent simplement sur un domaine d'étude de représenter graphiquement la dispersion des résultats.

Les matériaux de validation choisis sont des matériaux de référence d'aliment d'indonésie avec des concentrations en chlorures, qui sont connues avec une incertitude. Ainsi sur 3 jours on va réaliser le plan de validation sur 3 niveaux de concentration, à chaque niveau on va analyser l'échantillon 3 fois par jour sous les conditions de répétabilité. Ce qui fait un total = $3 \times 3 \times 3 = 27$ essais, les concentrations des matériaux de référence et des réponses sont exprimées en % (m/m). On obtient alors un plan de validation indiqué dans le tableau ci-dessous :

Tableau 6: Organisation des mesures de validation de dosage de Cl^-

Niveau j	C (%)	C(%)		
		Série 1	Série 2	Série 3
1	0,6	0,59	0,63	0,64
		0,57	0,57	0,6
		0,65	0,59	0,6
2	1,17	1,15	1,13	1,16
		1,1	1,16	1,2
		1,16	1,16	1,22
3	2,39	2,34	2,34	2,35
		2,34	2,39	2,39
		2,44	2,35	2,34

Alors concernant le domaine de validation de la méthode selon la NF ISO 6495 [6] du mode opératoire utilisé, il ne faut pas dépasser dans la partie aliquote 150 mg des chlorures, c.à.d. 3% sachant qu'il faut choisir un domaine d'étude, Donc on a décidé de définir un domaine qui inclue les concentrations des échantillons analysés en routine [0,6% ; 2.39%] . Dans ce contexte la méthode doit être valide dans ce domaine d'étude puisque cette dernière est incluse dans le domaine de validation de la méthode .

a- Calcul des intervalles de tolérance

Le plan de validation est un outil où les différentes composantes de l'erreur totale peuvent être estimées : l'erreur systématique et l'erreur aléatoire. En effet, la caractéristique de justesse de la méthode est en lien avec l'erreur systématique (mesurée par des biais relatif, recouvrement). Quant à la fidélité de la méthode, elle fait le lien avec l'erreur aléatoire (mesurée notamment par des coefficients de variation). La combinaison des deux erreurs nous donne l'erreur totale du résultat analytique, C'est l'objet de la partie qui suit :

▪ Calcul de la justesse

A partir des concentrations retrouvées pour chaque niveau, on calcule la concentration moyenne retrouvée, le biais % et le taux de recouvrement, comme il est montré dans le tableau suivant :

Tableau 7: Critère de la justesse de la méthode de dosage de NaCl

Ni	C(%) introduit	C(%) retrouvée	Biais relatif(%)	Recouvrement%
1	0,60	0,60	0,741	100,74
2	1,17	1,16	-0,855	99,15
3	2,39	2,36	-1,069	98,93

D'après ces résultats on observe que la justesse varie avec les niveaux de concentration. Le taux de recouvrement qui traduit cette justesse varie de 98 à 100%. Plus le niveau de concentration est bas, plus on a un taux de recouvrement élevé, mais en générale le taux de recouvrement est parfait pour les 3 niveaux.

▪ Calcul de la fidélité

La fidélité est exprimée sous forme de coefficient de variation (CV) de la série de mesure de chaque niveau. C'est un indice significatif de la largeur de dispersion.

Tableau 8: Critères de la fidélité de la méthode de dosage de NaCl.

Ni	C(%) intro	Biais (%)	SR	S _{FI}	CV _{FI}
1	0,60	0,741	0,033	0,033	5,4033
2	1,17	0,855	0,027	0,037	3,2042
3	2,39	-1,069	0,040	0,040	1,6799

D'après le tableau si dessus le coefficient de variation de fidélité inter-jour des trois niveaux de concentration ne dépasse pas 5%.

Mais pour l'instant, on ne peut pas juger la performance de la méthode par ces 2 critères, car par principe la validation par l'approche de l'erreur totale consiste à combiner les 2 critères pour construire un profil d'exactitude, qu'on va utiliser comme un outil de décision. Maintenant il reste à savoir comment on va estimer l'erreur totale. C'est là qu'on va utiliser un intervalle statistique particulier : l'intervalle de tolérance d'espérance β ou autrement dénommé intervalle de prédiction. Il s'agit d'un intervalle dans lequel on peut garantir que chaque future mesure a une probabilité β de tomber dedans.

▪ Calcul des intervalles de tolérance

Les intervalles de tolérance peuvent être obtenus à chaque niveau de concentration grâce à l'estimation de l'erreur systématique et de l'erreur aléatoire obtenues. Il est indispensable de fixer la valeur de β qui est la proportion des futures mesures qui seront incluses dans les limites d'acceptabilité $\pm \lambda$. Dans cette étude les limites d'acceptabilité sont fixés $\pm 12,5\%$ en se référant à la règlement (CE) [7] qui définit les tolérances admises pour les indications d'étiquetage relatives à la composition des aliments destinés aux animaux. La proportion β est égale à 80% choisie après une discussion avec l'équipe du laboratoire.

Tableau 9: Calcul des limites de tolérance absolue de la teneur en NaCl

Ni	Ri	Bi	V	Béta	t	K	Li	Ui
1	0,00	1,000	7,7143	0,8	1,401	1,48	0,556	0,653
2	0,83	0,724	4,4640	0,8	1,503	1,58	1,101	1,219
3	0,00	1,000	7,7143	0,8	1,401	1,48	2,306	2,423

Tableau 10: Critères d'exactitude de la méthode de dosage NaCl

Niveau	C(%) intro	Recouvrement %	LT (%)	UT (%)	λ_{inf} (%)	λ_{sup} (%)
1	0,6	100,74	92,70	108,77	87,5	112,5
2	1,17	99,15	94,11	104,17	87,5	112,5
3	2,39	98,93	96,47	101,38	87,5	112,5

Pour une concentration de référence égale à 0,6% des chlorures par exemple ,80% des futures mesures se situent entre 0,556 et 0,653 % ; Si on passe en valeurs relatives, on obtient les limites de tolérance 92,70% et 108,77%. Or les limites d'acceptabilité sont entre 87,5% et 112,5%. C'est la même chose pour les 3 niveaux étudiés. Du coup on peut dire que la méthode est capable de

produire au moins 80% de futures mesures entre les limites d'acceptabilité dans 3 niveaux de concentration, comme le montre la figure suivante :

b- Profil d'exactitude

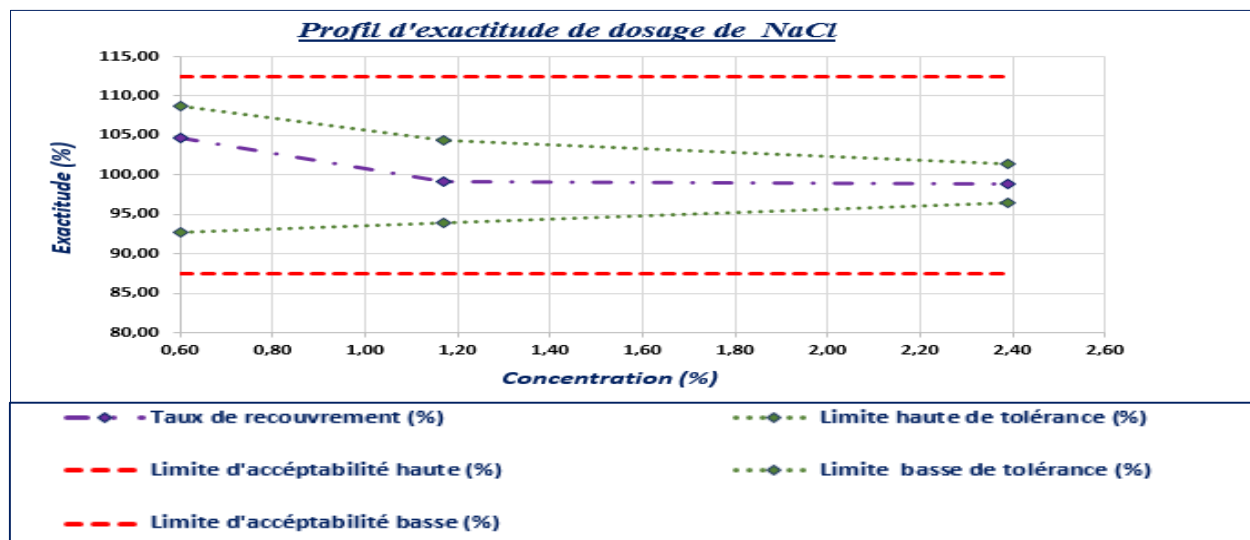


Figure 15: Profil d'exactitude de la méthode de dosage de NaCl

D'après la figure ci-dessus qui illustre un profil d'exactitude qu'on obtient en plotant dans le même graphique, les valeurs des intervalles de tolérances et les limites d'acceptabilité (%), et le taux de recouvrement % en fonction des valeurs de concentration.

En effet, les lignes vertes en pointillés représentent les bornes supérieures et inférieures de l'intervalle de tolérance d'espérance $\beta = 80\%$ obtenues à chacun des 3 niveaux de concentration étudiés. La ligne violette discontinue représente l'erreur systématique exprimée en terme de taux de recouvrement (%) et les lignes rouges en tirets représentent le critère d'acceptation exprimé en Erreur Totale Maximum Acceptable (ici de $-12,5\%$ à $+12,5\%$ d'erreur totale) défini à l'avance.

Tant que les lignes en pointillés vert sont incluses entre les lignes en tirets rouge, la méthode de dosage des chlorures est valide. Donc on peut conclure que dans ce domaine de mesure $[0,6\% ; 2,39]$, il y a au moins 80% de chance que chaque future mesure n'aie pas une erreur totale plus grande que 12,5% en valeur absolue.

c- Construction du profil d'incertitude

Un résultat analytique ne peut jamais être parfaitement "correct" à strictement parler, car une mesure effectuée deux fois donnera toujours deux résultats légèrement différents. Ce qui est en

revanche possible est de présenter un résultat avec une incertitude adaptée à l'exigence du client, c'est-à-dire un résultat répondant au besoin. De ce fait, il est nécessaire de savoir quelle utilisation sera faite des résultats avant de pouvoir définir les exigences de la qualité. Dans ce contexte, l'incertitude est généralement définie comme un paramètre associé au résultat d'un mesurage qui caractérise la dispersion des valeurs qui pourraient raisonnablement être attribuées au mesurande.

Vue qu'on a déjà validé la méthode selon l'approche de l'erreur totale, on va s'intéresser à l'estimation d'incertitude de mesure basé sur la même approche en utilisant les données de validation. C'est l'objet de la partie qui suit.

Calcul de l'incertitude –type composé

L'incertitude –type composé est calculée par la formule suivante :

$$u_c (\%C) = \frac{UT-LT}{2t}$$

Où t c'est le quantile de Student calculé avec un degré de liberté v et les U_T et L_T sont respectivement les limites de tolérance supérieure et inférieure absolue.

Tableau 11: Calcul d'incertitude -type composé (dosage NaCl)

Ni	Z_{moy}	S_{FI}	L_T	U_T	u_c
1	0,604	0,03	0,556	0,653	0,034
2	1,160	0,04	1,101	1,219	0,039
3	2,364	0,04	2,306	2,423	0,042

Estimation d'incertitude élargie de mesure

Incertaince – type composé calculée pour déterminer finalement l'incertitude élargie qui permet de décrire un intervalle de confiance dans lequel la valeur de référence du mesurande présente une probabilité proche de 1. L'incertitude élargie notée U est calculée en utilisant un facteur d'élargissement ($k = 2$), qui donne un niveau de confiance d'environ 95%.

$$U = k * u_c (\%C)$$

Incertaince élargie relative est calculée par la formule suivant

$$U\% = \frac{\text{Incertitude élargie}}{\text{Concentration introduite}} * 100$$

Tableau 12: Calcul d'incertitude de mesure de concentration en Cl^- pour 3 niveaux

Ni	C(%) intro	u_c	U	$U\%$
1	0,6	0,034	0,069	11,5
2	1,17	0,039	0,078	6,67
3	2,39	0,042	0,084	3,51

Calcul des limites de tolérance d'incertitude

Tableau 13: Calcul des limites de tolérance(%) d'incertitude de concentration en Cl^-

Ni	C(%) intro	$U\%$	L_T (%)	U_T (%)
1	0,6	11,5	-10,9	12,1
2	1,17	6,67	-5,5	7,84
3	2,39	3,51	-1,12	5,9

Interprétation

D'après les résultats de tableau précédant (Tableau 13), on remarque que les incertitudes de mesures varient avec les niveaux de concentrations. On a 3,5% pour le niveau de concentration 2,39% et 11,48% pour le niveau de concentration 0,6%.

D'après les résultats de tableau 13, on observe que les intervalles de tolérance d'incertitude des 3 niveaux ne dépassent pas les limites d'acceptabilité $\pm 12,5$ comme il est illustré par la figure 16.

Profil d'incertitude

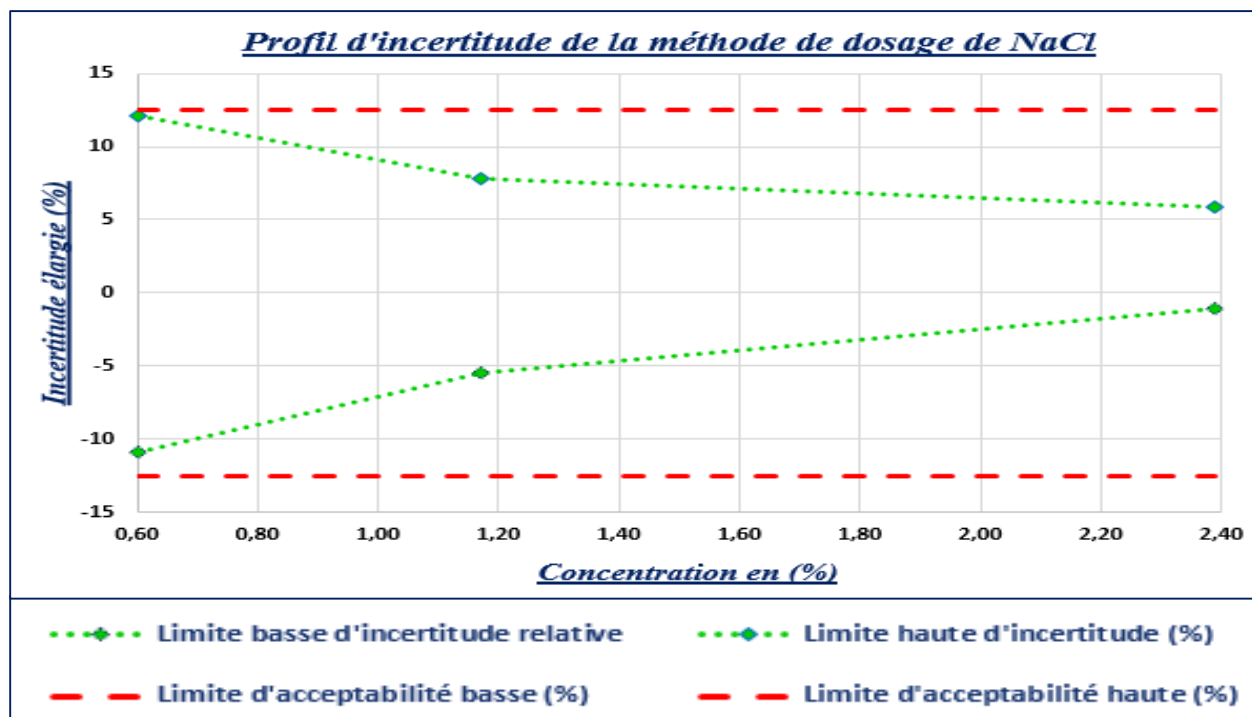


Figure 16: Profil d'incertitude de mesure de la teneur en chlorures

Interprétation des résultats

La figure si dessus illustre un profil d'incertitude qu'on obtient en plotant dans le même graphique, les valeurs des incertitudes relatives et les limites d'acceptabilité (%) en fonction des valeurs de concentration. En effet, les lignes en pointillés vert représentent les bornes supérieures et inférieures de l'incertitude relative obtenues à chacun des 3 niveaux de concentration étudiés. Les lignes en tirets rouge représentent les limites d'acceptabilité (ici $\pm 12,5$).

D'après la figure si dessus (figure 16), on remarque que les intervalles de tolérance sont incluses dans les limites d'acceptabilité ($\pm 12,5$). Donc la méthode de dosages des chlorures est acceptée.

II. Détermination de la teneur en matière grasse

1. Principe

La détermination quantitative de la teneur en MG d'un échantillon, s'effectue généralement par extraction avec un solvant lipophile. L'échantillon préparé est extrait avec le solvant, Après cette extraction, le solvant est éliminé par distillation et le résidu séché est pesé. La teneur en MG libre correspond à la différence entre les poids initiaux et finaux.

2. Mode opératoire

Selon la norme NF V18-117 [8], on met dans une cartouche d'extraction une quantité de 5g d'échantillon à analyser. Après on pose la cartouche dans un béccher d'extraction et enfin on ajoute 150 ml d'éther de pétrole.

L'extraction est totalement automatisée par un système géré par un logiciel qui est conforme au norme international. Il suffit d'insérer les bécchers et de lancer le programme. L'appareil fait automatiquement tout le reste. Il se déroule en 5 étape :

- ◆ **Phase 1** : Extraction par immersion de l'échantillon dans le solvant chaud ;
- ◆ **Phase 2** : Le niveau de solvant est abaissé jusqu'à obtention d'une séparation claire entre le solvant et la cartouche d'extraction. Le distillat est récupéré dans un réservoir collecteur ;
- ◆ **Phase 3** : L'échantillon est extrait par flux de solvant évaporé et condensé provenant du refroidisseur ;
- ◆ **Phase 4** : La majeure partie du solvant est distillée et récupérée ;
- ◆ **Phase 5** : Les bécchers d'extraction sont relevés de la plaque chauffante. Une nouvelle évaporation préservant les échantillons à lieu. A la fin de la cinquième étape d'extraction, l'eau de refroidissement et le chauffage sont arrêtés automatiquement.

3. Expression de résultats

La teneur en matière grasse est calculé par la formule suivante [8] :

$$\% MG = \frac{Poid\ finale - Poid\ initiale}{PE} * 100$$

4. Validation de la méthode de détermination de la teneur en matière grasse par extraction

Le domaine de validation choisi va de 2,2 à 13,50%, Ainsi le matériau de validation est le Dréchet de Blé avec une concentration en MG connue.

Le plan de validation est formé de I =3 séries (jours) avec k=3 niveaux de concentration et J =3 répétitions par jour et par niveau ; ce qui fait un totale de $3 \times 3 \times 3 = 27$ essais. Les concentrations des valeurs de référence sont exprimées en %(m/m) et la réponse est la concentration en % MG.

On obtient alors un plan de validation indiquer dans le tableau si dessous :

Tableau 14: Organisation des mesures de validation (dosage MG)

Niveau j	MG (%)	MG(%)		
		Série 1	Série 2	Série 3
1	2,2	2,19	2,08	2,04
		2,18	2,06	2,09
		2,19	2,01	2,05
2	4,40	4,61	4,5	4,53
		4,53	4,52	4,53
		4,35	4,59	4,51
3	13,50	12,55	12,88	13,04
		12,75	13,04	13,26
		12,6	13,06	13,26

a- Calcul des intervalles de tolérance

Les limites d'acceptabilité sont fixées $\pm 15\%$ au tour de la valeur cible et la proportion β est égale à 80%.



Le domaine de validation de la méthode et les limites d'acceptabilité sont choisis de la même façon que de la méthode précédente.

▪ Calcul de la justesse

Tableau 15: Critères de justesse(dosage MG)

Ni	MG(%) introduit	MG(%) retrouvée	Biais relatif(%)	Recouvrement(%)
1	2,20	2,10	-4,596	95,40
2	4,40	4,52	2,702	102,70
3	13,50	12,94	-4,165	95,84

D'après ces résultats on observe que le taux de recouvrement varie de 95,40% à 102,70 % donc il est parfait pour les 3 niveaux de concentration.

▪ Calcul de la fidélité

Tableau 16: Critères de fidélité(dosage MG)

Ni	MG(%) introduit	Biais (%)	Sr	S _{FI}	CV _{FI}
1	2,20	-4,60	0,026	0,079	3,77
2	4,40	2,70	0,082	0,082	1,81
3	13,50	-4,16	0,111	0,295	2,28

D'après le tableau si dessus les coefficients de variation ne dépassent pas 5% pour les 3 niveaux.

▪ Calcul des intervalles de tolérance

Tableau 17: Intervalles de tolérances absolue de la teneur en MG

Ni	MG(%) introduit	R _i	B _i	V	Béta	T	K	L _i	U
1	2,20	8,23	0,599	2,32	0,80	1,498	1,71	1,96	2,24
2	4,40	0,00	1,000	7,71	0,80	1,401	1,60	4,39	4,65
3	13,50	6,11	0,606	2,43	0,80	1,503	1,72	12,43	13,44

Tableau 18: Critères d'exactitude(dosage MG)

Niveau	MG(%) introduit	Recouvrement %	L _T (%)	U _T (%)	λ _{inf} (%)	λ _{sup} (%)
1	2,20	95,40	89,09	101,81	85	115
2	4,40	102,70	99,77	105,68	85	115
3	13,50	95,84	92,07	99,50	85	115

Pour les 3 niveaux de concentrations, 80% des futures mesures se situent entre les limites de tolérances, et ne dépasse pas les limites d'acceptabilité 85% et 115%. Du coup on peut dire que la méthode est capable de produire au moins 80% de futures mesures entre les limites d'acceptabilité dans 3 niveaux de concentrations. Comme le montre la figure suivante :

b- Profil d'exactitude

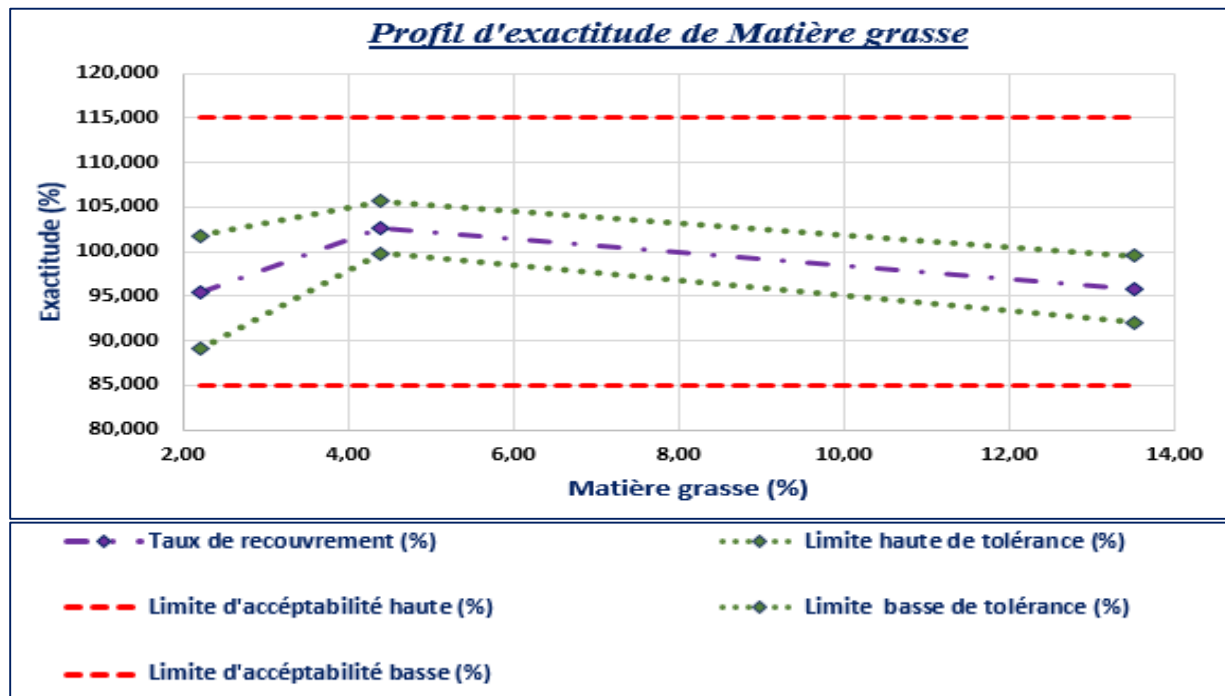


Figure 17: Profil d'exactitude de la méthode de détermination de la teneur en MG

+ Interprétation

D'après le profil d'exactitude établi, on observe que les limites de tolérance à 80% sont comprises entre les limites d'acceptabilité dans un domaine de validité qui s'étend de 2,20% à 13,5% environ. Donc la méthode de dosage de la matière grasse est valide dans le domaine étudié.

c- Construction du profil d'incertitude

+ Calcul des intervalles de tolérances absolue

Tableau 19 : Calcul l'incertitude –type composé de la teneur en MG

Ni	MG(%) retrouvée	T	LT	UT	uc
1	2,10	1,498	1,963	2,23	0,089
2	4,52	1,401	4,388	4,65	0,094
3	12,94	1,503	12,432	13,44	0,335

Estimation d'incertitude de mesure

Tableau 20: Calculs des incertitudes de mesure de la teneur en MG pour 3 niveaux

Ni	MG(%) retrouvée	uc	U	U%
1	2,1	0,089	0,18	8,23
2	4,52	0,094	0,19	4,25
3	12,9	0,335	0,67	4,99

Calculs les limites de tolérance d'incertitude

Tableau 21: Calculs des limites de tolérance (%) d'incertitude de la teneur en MG

Ni	MG(%) introduit	U%	LT (%)	UT (%)
1	2,2	8,23	-6,03	10,43
2	4,4	4,25	0,15	8,65
3	13,5	4,99	8,51	18,49

Profil d'incertitude

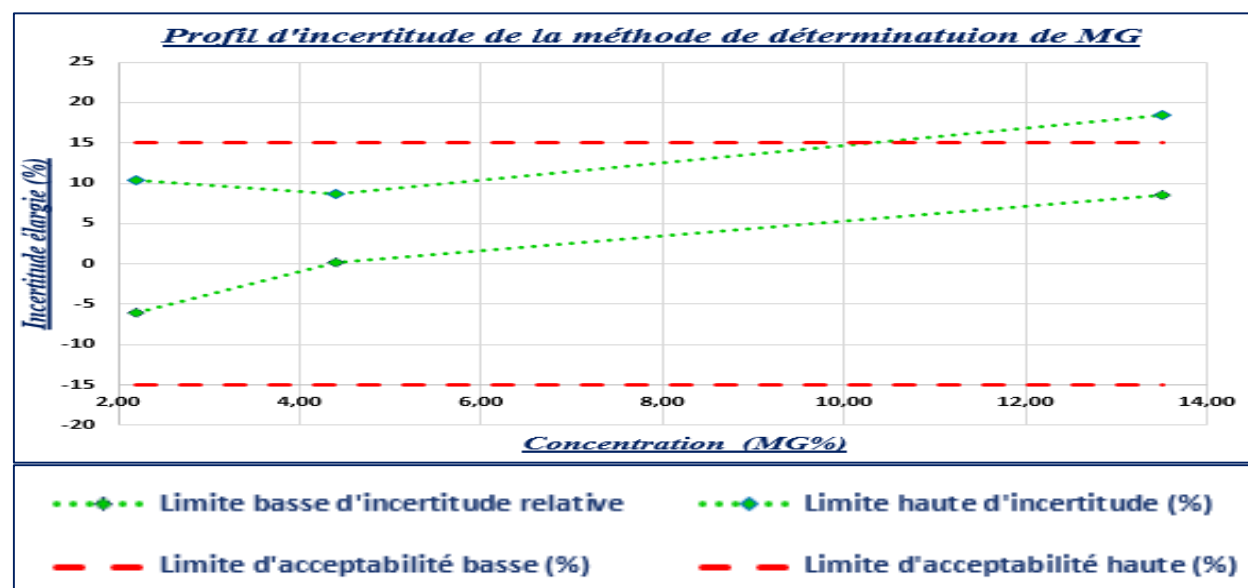


Figure 18: Profil d'incertitude de mesure de la teneur en MG

Interprétation

D'après les résultats de tableau si dessus (Tableau 21) on remarque que les limites de tolérance des incertitudes de mesures des niveaux 1 et 2 ne dépassent pas les limites d'acceptabilité $\pm 15\%$, Ce qui est remarquable dans le profil d'incertitude si dessus (figure 18). Or la limite de tolérance supérieure du niveau 3 de concentration 13,5 égale à 18,5% de MG. Donc dépasse la valeur de 15%. De ce fait, la méthode n'est pas valide dans la concentration 13,5. Ce qui est justifié par la norme de la méthode NF V18-117 [8] (il est recommandé de ne pas dépasser 10% en MG dans l'échantillon à analyser). Donc la méthode de détermination de la teneur en matière grasse est acceptée dans le domaine de validité prédéfinie dans la norme NF V18-117.

III. Détermination de la teneur en matière minérale

1. Principe

La détermination quantitative de la teneur en cendre brute s'effectue généralement par destruction de la matière organique par incinération dans un four. La teneur en MM correspond à la différence entre les poids initiaux et finaux.

2. Mode opératoire

Selon la norme NF V18-101 [9], on pèse 5g d'échantillon puis on le met dans un creuset qu'on met dans un four à haute température.

3. Expression de résultat

La teneur en cendre brute est calculée par la relation suivante :

$$\% \text{ MM} = \frac{\text{Poid finale} - \text{Poid initiale}}{PE} * 100$$

Avec :

PE : Prise d'essais d'échantillon.

4. Validation de la méthode de détermination de la teneur en matière minérale

Le domaine de validation choisie va de 4,30 à 7,30 %, Ainsi le matériau de validation est le CGF (Corn Gluten Feed) avec une concentration en %MM connue.

Le plan de validation est formé de I =3 séries (jours) avec k=3 niveaux de concentration et J =3 répétitions par jour et par niveau ; ce qui fait un totale de $3*3*3 = 27$ essais. Les concentrations des valeurs de référence sont exprimées en %(m/m) et la réponse est la concentration en % MM.

On obtient alors un plan de validation indiqué dans le tableau 22 si dessous :

Tableau 22: Organisation des mesures de validation(dosage de MM)

Niveau j	MM (%)	MM(%)		
		Série 1	Série 2	Série 3
1	4,3	4,49	4,49	4,46
		4,49	4,49	4,46
		4,48	4,49	4,46
2	6,10	6,09	6,14	6,04
		6,07	6,06	6,02
		6,09	5,98	6,21
3	7,30	7,39	7,47	7,47
		7,45	7,43	7,46
		7,47	7,42	7,43

a- Calcul des intervalles de tolérance

Les limites d'acceptabilité sont fixées à $\pm 10\%$ au tour de la valeur cible et la proportion β est égale à 80%.

👉 Le domaine de validation de la méthode et les limites d'acceptabilité sont choisies de même façon que de la méthode précédente.

▪ Calcul de la justesse

Tableau 23: Critères de la justesse (dosage de MM)

Ni	MM(%) introduit	MM(%) retrouvée	Biais relatif(%)	Recouvrement%
1	4,30	4,48	4,160	104,16
2	6,10	6,08	-0,364	99,64
3	7,30	7,44	1,963	101,96

D'après ces résultats, le taux de recouvrement est parfait pour les 3 niveaux puisqu'il varie entre 99% et 104,16%.

▪ **Calcul de la fidélité**

Tableau 24: Critères de la fidélité (dosage de MM)

Ni	MM(%) intro	Biais (%)	Sr	SFI	CVFI
1	4,30	4,16	0,033	0,017	0,40
2	6,10	-0,36	0,076	0,076	1,25
3	7,30	1,96	0,031	0,031	0,42

D'après le tableau si dessus on remarque que les coefficients de variations des 3 niveaux ne dépassent pas 2% . Donc la dispersion des résultats des 3 jours est très petite.

▪ **Calcul des intervalles de tolérance**

Tableau 25 : Calcul des intervalles de tolérance absolue de la teneur en MM

Ni	MM(%) introduit	Rj	Bj	V	Béta	T	K	LT	UT
1	4,3	24	0,585	2,1106	0,8	1,843	2,12	4,44	4,51
2	6,1	0	1	7,7143	0,8	1,401	1,48	5,97	6,19
3	7,3	0	1	7,7143	0,8	1,401	1,48	7,40	7,49

Tableau 26 : Critères d'exactitude (dosage MM)

Niveau	MM(%) intro	Recouvrement %	L _T (%)	U _T (%)	λ inf (%)	λ sup (%)
1	4,3	104,1602067	103,33	104,99	90	110
2	6,1	99,63570128	97,79	101,48	90	110
3	7,3	101,9634703	101,34	102,59	90	110

Pour les 3 niveaux de concentrations, 80% des futures mesures se situent entre les limites de tolérances, et ne dépassent pas les limites d'acceptabilité 90% et 110%. Du coup on peut dire que la méthode est capable de produire au moins 80% de futures mesures entre les limites d'acceptabilité dans 3 niveaux de concentrations. La figure 19 suivante montre le profil d'exactitude de la méthode du dosage de MM%.

b- Profil d'exactitude

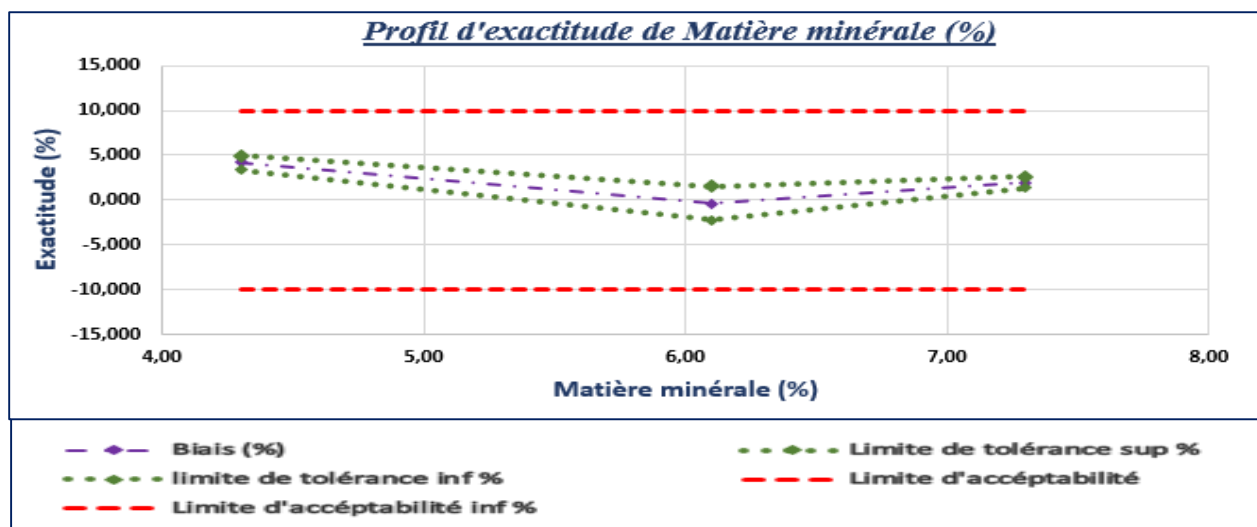


Figure 19: Profil d'exactitude de la méthode de détermination de la teneur en MM

Interprétation

D'après le profil d'exactitude établie, on observe que les limites de tolérance à 80% sont comprises entre les limites d'acceptabilité dans un domaine de validité qui s'étend de 4,30% à 7,30 %. Donc la méthode de dosage des cendres brutes est valide dans ce domaine.

c- Construction de profil d'incertitude

Calcul d'incertitude -type composé

Tableau 27 : Calcul d'incertitude -type composé de la teneur en MM

Ni	MM(%) introduit	T	L _T	U _T	u _c
1	4,3	1,843	4,444	4,514	0,0192
2	6,1	1,401	5,965	6,190	0,0804
3	7,3	1,401	7,398	7,489	0,0326

Estimation d'incertitude de mesure

Tableau 28 : Calcul des incertitudes de mesure de la teneur en MM

Ni	MM(%) introduit	u _c	U	U%
1	4,3	0,019	0,038	0,892
2	6,1	0,08	0,161	2,635
3	7,3	0,033	0,065	0,893

✚ [Calcul des limites de tolérances d'incertitude MM%](#)

Tableau 29: Calcul des limites de tolérance d'incertitude de la teneur en MM

Ni	MM(%) introduit	U%	L _T (%)	U _T (%)
1	4,3	0,892	3,408	5,192
2	6,1	2,635	3,465	8,735
3	7,3	0,893	6,407	8,193

✚ [Profil d'incertitude](#)

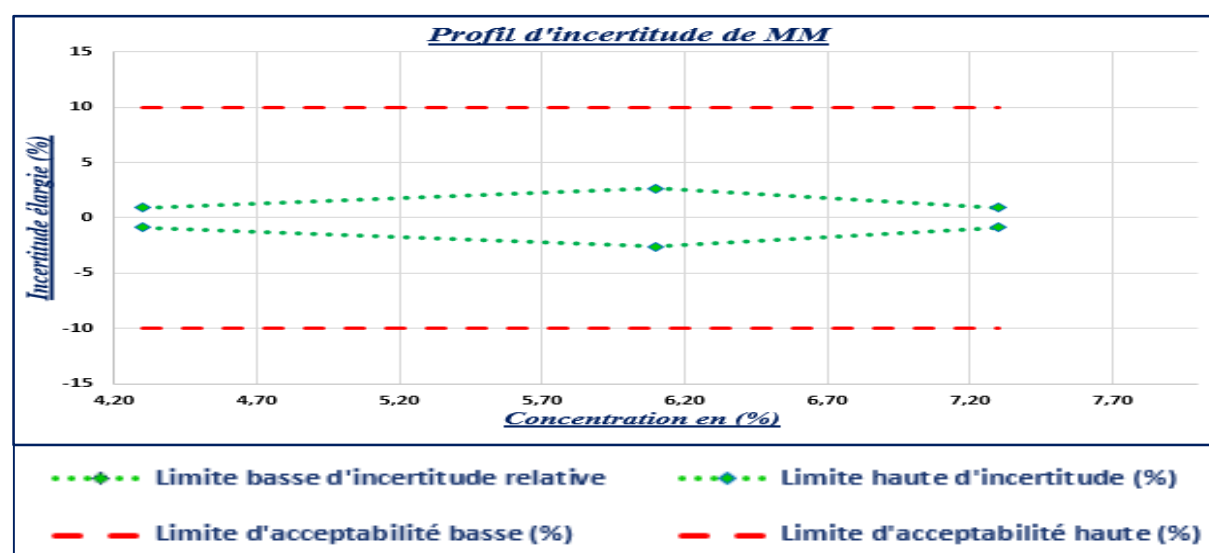


Figure 20: Profil d'incertitude de mesure de la teneur en MM

✚ [Interprétation](#)

D'après les résultats de tableau 29, on remarque que les limites de tolérance d'incertitudes de mesures des 3 niveaux ne dépassent pas les limites d'acceptabilité $\pm 10\%$. Ce qui est remarquable dans le profil d'incertitude si dessous, de ce fait les résultats de cette méthode donnée par le laboratoire répondent aux exigences.

Conclusion

Le travail présenté dans ce rapport s'inscrit dans le cadre de notre mémoire de fin d'étude intitulé « Validation et calcul d'incertitude de mesure des trois méthodes analytique selon deux approches : profil d'exactitude et profil d'incertitude ». La visée de ce travail était de valider et calculer l'incertitude de mesure de trois méthodes (Dosage des chlorures par la méthode de Charpentier et Volhard ; Détermination de la teneur en matière grasse et finalement la détermination de la teneur en cendre brute) effectuées au niveau de laboratoire ALF Al Maghreb, ainsi que la recherche des causes d'erreur attribuée à la méthode de dosage des chlorures.

Après un calcul des critères de la fidélité et de la justesse, on a évalué les critères d'exactitude des trois méthodes, afin de construire un profil d'exactitude. En effet, à partir de profil on a pu prendre la décision que ces trois méthodes sont valides, puisqu'on a les limites de tolérances sont incluses dans les limites d'acceptabilités pour les 3 profils établies.

Ce travail nous a permis aussi de vérifier la performance de trois méthodes en se basant sur une nouvelle stratégie qui rassemble à la fois la validation analytique et l'incertitude de mesure. C'est à travers les données de validation, qu'on a estimé les incertitudes des mesures des trois méthodes, dans le but de construire un profil d'incertitude qu'on va utiliser comme outil décisionnel graphique.

Concernant le problème lié à la méthode de dosage des chlorures, on a identifié les sources d'erreur à l'aide de diagramme d'Ishikawa, et on a trouvé comme solution l'utilisation de sulfate d'ammonium et de fer(III) comme indicateur coloré d'une part et d'autre part l'utilisation du blanc au cours de l'analyse.

Références bibliographiques

- [1] Ph. Hubert, J.-J. Nguyen-Huu, B. Boulanger, E. Chapuzet, P. Chiap, N. Cohen, P.-A. Compagnon, W. Dewe, M. Feinberg, M. Lallier, M. Laurentie, N. Mercier, G. Muzard, C. Nivet, L. Valat, STP Pharma Pratiques 13 (2003)
- [2] Saffaj T, Ihssane B, Jhilal F, Bouchafra H, Laslami S, Sosse SA, «Profil d'incertitude : une nouvelle stratégie globale pour la validation analytique et l'estimation de l'incertitude de mesure,» 2013.
- [3] NF V03-110, *Protocole de caractérisation en vue de la validation des méthodes analytiques quantitative par construction du profil d'exactitude*, AFNOR, 2010.
- [4] R.Mee, «Limites et limites de tolérance pour les proportions basées sur des données sujettes à une erreur de mesure,» *Journal of Technology Quality* , pp. 74 - 80, 1984.
- [5] Guide EURACHEM, «Eurachem,» [En ligne].
- [6] NF ISO 6495-1, *Aliments des animaux -Détermination de la teneur en chlorures solubles dans l'eau*, 2015.
- [7] Réglementation (CE) N°767/2009, «Tolérances admises pour les aliments pour les animaux,» *Journal officiel de l'Union européenne*, 13 juillet 2009.
- [8] NF V18-117, *Aliment des animaux - Dosage de la matière grasse*, 2011.
- [9] NF V18-101, *Aliment des animaux -Dosage des cendres brutes*, 1977.
- [10] M.Feinberg, «Validation de méthodes analytiques basées sur des profils de précision,» *Journal Chromatogr*, pp. 174-183, 2007.
- [11] J. Logntin, *Vérification et validation des méthodes analytique*, Québec: Laboratoire de santé publique du Québec.

Annexes

■ Dosage des chlorures

Tableau 31: Résultats de dosage de NaCl jour 1

PE	Vech	VBlanc	%Cl
5,0043	4,34	4,58	0,28
5,0043	4,35	4,67	0,37
5,0043	4,34	4,67	0,38
5,0023	4,16	4,67	0,59
5,0023	4,21	4,7	0,57
5,0023	4,22	4,75	0,61
5,006	3,69	4,68	1,15
5,006	3,72	4,67	1,1
5,006	3,74	4,74	1,16
5,0071	2,64	4,65	2,34
5,0071	2,69	4,7	2,34
5,0071	2,66	4,69	2,36

Tableau 30: Résultats de dosage de NaCl jour 2

PE	Vech	VBlanc	%Cl
5,0043	4,57	4,88	0,37
5,0043	4,52	4,88	0,38
5,0043	4,55	4,88	0,38
5,0023	4,35	4,88	0,63
5,0023	4,38	4,87	0,57
5,0023	4,37	4,88	0,59
5,006	3,85	4,82	1,13
5,006	3,83	4,81	1,16
5,006	3,83	4,83	1,16
5,0071	5,84	7,85	2,34
5,0071	5,83	7,9	2,39
5,0071	5,88	7,9	2,35

Tableau 32: Résultats de dosage de NaCl jour 3

PE	Vech	VBlanc	%Cl
5,0043	4,49	4,76	0,31
5,0043	4,48	4,77	0,33
5,0043	4,5	4,76	0,3
5,0023	4,21	4,76	0,64
5,0023	4,2	4,72	0,6
5,0023	4,24	4,76	0,6
5,006	3,83	4,83	1,16
5,006	3,86	4,89	1,2
5,006	3,85	4,9	1,22
5,0071	2,91	4,93	2,35
5,0071	2,95	5	2,39
5,0071	2,93	4,94	2,34

■ Dosage de matière grasse

Tableau 34: Résultats de dosage de MG jour 1

Poid à vide	PE	Poid finale	Résultat
143,839	10,0031	144,0585	2,19
146,061	10,0029	146,2800	2,18
143,8594	10,003	144,0794	2,19
146,9176	10,0043	147,3797	4,61
144,7109	10,0043	145,165	4,53
144,2592	10,0044	144,6947	4,35
141,926	10,0033	143,182	12,55
146,9851	10,0058	148,2615	12,75
143,4075	10,0026	144,6752	12,6

Tableau 33: Résultats de dosage MG jour 2

Poid à vide	PE	Poid finale	Résultat
147,1529	10,0012	147,361	2,08
146,9194	10,0033	147,1256	2,06
143,8458	10,0016	144,0475	2,02
144,7131	10,0026	145,1637	4,50
144,2621	10,0032	144,715	4,53
146,0659	10,0031	146,5257	4,60
143,7675	10,0024	145,0568	12,89
144,3681	10,0052	145,6733	13,05
144,8713	10,0008	146,1778	13,06

Tableau 35: Résultats de dosage de MG jour 3

Poid à vide	PE	Poid finale	Résultat
146,7145	10,0028	146,9189	2,04
144,3362	10,0022	144,5455	2,09
143,8444	10,0013	144,0501	2,05
146,0414	10,0061	146,4953	4,53
144,2639	10,0022	144,7171	4,53
147,0096	10,005	147,4614	4,51
143,8537	10,0066	145,1594	13,04
142,7284	10,0024	144,0549	13,26
141,6777	10,0052	143,0046	13,26

■ Dosage de matière minérale

Tableau 38: dosage de matière minérale jour 1

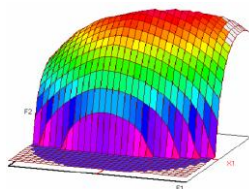
Poid à vide	PE	Poid finale	Résultat
40,7774	5,0035	41,0024	4,49
51,1034	5,0004	51,3283	4,49
49,0455	5,0054	49,27	4,48
45,6954	5,0047	46,0002	6,09
51,1012	5,0015	51,4052	6,07
39,7438	5,0057	40,0487	6,09
50,7224	5,0078	51,0926	7,39
52,62	5,0049	52,9932	7,45
50,1815	5,0033	50,5554	7,47

Tableau 37: Résultats de dosage de MM jour 2

Poid à vide	PE	Poid finale	Résultat
40,7775	5,0037	41,0022	4,49
51,1034	5,004	51,3285	4,49
49,0453	5,0018	49,2701	4,49
45,6952	5,0058	46,0028	6,14
51,1018	5,0065	51,4053	6,06
39,7444	5,0026	40,0438	5,98
50,7219	5,0048	51,0958	7,47
52,6201	5,0057	52,9921	7,43
50,1816	5,004	50,553	7,42

Tableau 36: résultats de dosage de MM jour 3

Poid à vide	PE	Poid finale	Résultat
40,7795	5,0064	41,0029	4,46
51,1045	5,0059	51,3279	4,46
49,0461	5,0056	49,2695	4,46
45,6968	5,0056	45,9992	6,04
51,1031	5,0016	51,4046	6,02
39,7453	5,0078	40,0567	6,21
50,7228	5,0061	51,0968	7,47
52,6216	5,0002	52,9947	7,46
50,1827	5,0091	50,5549	7,43



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

Nom et prénom : BOUGHABA Chifae

Année Universitaire : 2020/2021

Titre : Validation et calcul d'incertitude de mesure des trois méthodes analytique selon deux approches : profil d'exactitude et profil d'incertitude.

Résumé

Garantir la qualité des résultats n'est pas une tâche facultative, il s'agit de l'un des instruments indispensables dont disposant l'équipe du laboratoire ALF AL Maghreb pour assurer la pleine réalisation de leurs opérations.

Dans ce cadre, la validation analytique et le calcul d'incertitude de mesure sont des moyennes efficaces pour fournir des données analytique d'une exactitude adéquat.

Ce travail porte sur la validation et le calcul d'incertitude de mesure des trois méthodes effectuée aux niveaux du laboratoire physico-chimique.

Le profil d'exactitude et le profil d'incertitude se sont deux approches de validation, qui sont utilisées dans cette étude pour prouver que les trois méthodes étudiées correspondent à l'usage pour lesquelles sont prévue. En outre les intervalles de tolérance (%) d'incertitude de mesure trouvées, montre que 80% de futures mesures auront une erreur totale inférieur à la limites d'acceptabilité prédéfinie pour chaque méthode.