كلية العلوم و التقنيات فاس
ⵜⴰⵖⵉⵡⴰⵏⵜ ⵏ ⵜⵎⴰⵙⵙⴰⵏⵉⵏ ⴷ ⵜⵉⵏⵉⵜⵉⵏ
Faculté des Sciences et Techniques de Fès

جامعة سيدي محمد بن عبد الله
ⵜⴰⵙⴷⴰⵡⵉⵜ ⵙⵉⴷⵉ ⵎⵓⵃⵎⵎⴰⴷ ⴱⵏ ⵄⴱⴷⵍⵍⴰⵀ
Université Sidi Mohamed Ben Abdellah

Licence Sciences et Techniques (LST)

Technique d'Analyse et Contrôle de Qualité

« TACQ »

PROJET DE FIN D'ETUDES

Validation de la méthode NM 7890-3 du dosage des nitrates dans de l'eau potable par spectroscopie UV visible.

Présenté par :

- **ER. RAMDANI MERYEM**

Encadré par :

- **Pr. EL GHAZOUALI Ahmed (FST)**
- **BENZAHRA NADIA (Agrilabo)**

Soutenu, Le 7 juillet 2021 devant le composé de jury :

- Pr. EL GHAZOUALI Ahmed
- Pr. IDRISSI KANDRI Noureddine
- Pr. ZEROUALE Abdelaziz

Stage effectué à Agrilabo

Année Universitaire 2020 / 2021

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES FES
B.P. 2202 – Route d'Imouzzer – FES
Ligne Directe : 212 (0)535 61 16 86 – Standard : 212 (0)535 60 82 14
Site web: http://www.fst-usmba.ac.ma

Stage PFE

Remerciement

Avant de commencer ce présent rapport, je tiens tout d'abord à exprimer, ma profonde gratitude et reconnaissance à Monsieur directeur d'Agrilabo Dr SAIDI Omar, qui a bien voulu m'accueillir au sein de son laboratoire et bénéficier de la compétence de personnel, ainsi que tous les documents mises à ma disposition afin de réaliser ce travail.

Je tiens à présenter mes précieux remerciements à mon encadrant le professeur A. EL GHAZOUALI à la Faculté des sciences et techniques de Fès "FST" Département chimie, pour son aide, son orientation, son soutien et sa participation à réalisation de ce rapport.

Je ne saurai remercier comme il se doit Madame N. BENZAHRA de son encadrement et Madame S. GHAMMARA, qui m'a formée et m'accompagnée tout au long de cette expérience professionnelle avec beaucoup de patience et de pédagogie, sans oublier le reste du personnel qui m'a aidée à effectuer mon stage dans les meilleures conditions.

Je tiens aussi à remercier les membres de jury N. IDRISSI KANDRI et A. ZEROUALE professeures à la FST de Fès, de bien vouloir accepter de juger ce travail et pour leur assistance.

Mes remerciements vont également au professeur FARAH Abdellah responsable de la licence « Technique d'Analyse Chimique et Contrôle de Qualité « pour son suivi permanent du déroulement de nos stages.

Ainsi je voudrais témoigner ma reconnaissance et toute ma gratitude à tous mes professeurs tout au long de cette année d'étude à la FST de Fès, qui n'ont jamais épargné aucun effort pour me guider avec efficacité, en contribuant à ma formation tant au niveau du savoir-faire qu'au niveau du savoir être et ce qui m'a bien facilité la tâche.

Enfin, je remercie tous ceux qui ont participé de près ou de loin pour rendre ce stage possible et bénéfique.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Paramètres physico-chimiques selon NM 03.07.001.

Tableau 2 : Paramètres organoleptiques selon NM 03.7.001.

Tableau 3 : Paramètres microbiologiques selon NM 03.7.001.

Tableau 4 : Niveaux (concentration des étalons mg/L) utilisé pour évaluation de l'étalonnage.

Tableau 5 : Signal obtenu sur des étalons à des jours différents afin d'évaluer une fonction d'étalonnage.

Tableau 6 : Grandeurs retrouvées lors de chaque étalonnage

Tableau 7 : Biais relatifs.

Tableau 8 : limite de détection.

Tableau 9 : Réplicabilité.

Tableau 10 : Répétabilité.

Tableau 11 : Justesse.

Liste de figures

Figure 1 : Organigramme d'Agrilabo……4

Figure 2 : pH mètre……8

Figure 3 : Conductimètre……...9

Figure 4 : Organigramme de validation. ……....10

Figure 5 : Estimation de la limite de détection.....13

Figure 6 : Différents types de rayonnement.....17

Liste des abréviations

EMA : Ecart maximal acceptable.....12

VMA : Valeur maximale admissible.....7

TH : Titre hydrotimétrique.....9

LDM : Limite de détection.....13

VIM : Vocabulaire internationale de métrologie.....10

EDTA : Acide éthylène diamine tétra acétique.....19

Table de matières

Introduction **1**

Chapitre 1 : Présentation du laboratoire Agrilabo **2**

I. Présentation du laboratoire AGRILABO : **2**

1. Champs d'activités du laboratoire : 2

Chapitre 2 : Potabilité de l'eau et analyses physico-chimiques **5**

I. Potabilité de l'eau : **5**

1. Définition de l'eau : 5

2. Principales propriétés physiques et chimiques de l'eau : 5

3. Eau potable : 5

3.1 Définition : 5

3.2 Origines : 6

3.4 Critères de potabilité : 6

II. Analyses physico-chimiques : **8**

1. Analyses physiques: 8

1.1 Potentiel d'hydrogène : 8

1.2 Conductivité : 8

1.3 Température : 9

2. Analyses chimiques : 9

2.1 Dosage des Nitrites (NO_2^-) : 9

2.2 Dosage d'ammonium (NH_4^+) : 9

2.3 Dureté de l'eau (TH) : 9

Chapitre 3 : DOSAGE EFFECTUE ET VALIDATION DE LA METHODE **10**

I. Notions statistiques : 11

II. Intervalle de confiance et méthode student's : 11

1. Principe : 11

III. Critères de validation : 12

1. Fonction d'étalonnage (linéarité) : 12

2. Limite de détection d'une méthode (LDM) : 13

3. Fidélité : 14

3.1 Réplicabilité : 15
3.2 Répétabilité : 15
3.3 Reproductibilité : 15
4.4 Méthode de calcul de la réplicabilité et de répétabilité : 16
IV. Partie expérimentale : 17
1. Dosage des nitrates : 17
2. Spectroscopie UV visible 17
2.1 Domaine UV-Visible : 17
2.2 Appareillage : 18
2.3 Principe de fonctionnement : 18
3. Objet et Domaine d'application : 19
4. Principe : 19
5. Préparation des réactifs : 19
6. Appareillage : 20
7. Mode opératoire : 20
8. Dosage effectué : 21
9. Echantillonnage : 21
10. Expression des résultats : 21
Conclusion 30
Annexe……..…31
BIBLIOGRAPHIE 32

Introduction

Depuis toujours l'eau est indissociable à l'activité humaine, elle joue un rôle déterminant dans la vie des hommes, des animaux et des plantes. Vu sa charge en éléments polluants ainsi que les microorganismes, elle peut avoir un impact direct sur l'organisme et l'environnement. Principalement, elle peut être à l'origine de maladies à transmission hydrique, telles que les intoxications, l'irritation, les maladies intestinales et le cancer.

Les laboratoires d'analyse de l'eau sont un maillon essentiel pour déterminer la qualité d'une eau. Sur la base d'un échantillon, un laboratoire d'analyse peut effectuer diverses analyses et renseigne ses clients sur les paramètres de l'eau étudiée. Ces analyses doivent respecter des normes. La validité de ces analyses est nécessaire pour assurer la conformité avec les normes nationales et internationales et surtout pour produire des résultats fiables. La validation de ces méthodes est donc l'une des composantes essentielles dans les procédures d'analyse et les mesures.

Selon la norme ISO 17025, la validation est une exigence technique qui permet l'évaluation des compétences des laboratoires d'étalonnage, d'essais et d'analyse. Les principaux éléments exigés pour la validation d'une méthode d'analyse sont : L'étude de la fonction d'étalonnage, La limite de quantification et de détection, la justesse, la fidélité (répétabilité, fidélité intermédiaire, reproductibilité), et l'incertitude de mesure.

Parmi les composés toxiques et dangereux qu'il faut analyser, on trouve les nitrates, dont sa transformation en nitrites peut potentiellement avoir un impact négatif sur la santé.

Donc l'objectif de ce travail consiste, d'une part à la mise en place de la norme NM7890-3 du dosage des nitrates dans l'eau et d'autre part la validation de cette dernière puis la détermination des caractéristiques de performance.

Ce rapport comporte trois chapitres dont le premier sera consacré à la présentation du laboratoire AGRILABO.

Le deuxième est réservé à l'étude bibliographique sur la potabilité de l'eau et les analyses physico-chimiques effectuées sur l'eau.

Le troisième sera consacré à l'étude de la validation de la méthode du dosage du nitrate.

Chapitre1 Présentation de laboratoire Agrilabo

I. Présentation du laboratoire Agrilabo

AGRILABO est un laboratoire spécialisé dans les analyses et études agricoles, agroalimentaires et environnementales, crée en 2005 et dirigé par Mr. Omar SAIDI docteur Agrobiologiste.

AGRILABO est dotée d'un équipement scientifique moderne spécifique pour chaque type d'analyses, et d'un personnel pluridisciplinaire formé à l'utilisation des méthodes normalisées. Il s'agit du premier laboratoire privé d'analyses dans le domaine agricole et dans la région Fès-Meknès et dans toute la région Est du Maroc, et le 3ème laboratoire privé d'analyses dans le domaine agricole, agréé par le ministère de l'Agriculture.

1. Champs d'activités du laboratoire

Les principales activités du laboratoire Agri labo sont orientées autour d'une activité analytique dans les domaines de l'agriculture, de l'environnement et de la sécurité alimentaire, du prélèvement aux analyses.

Toutefois, le laboratoire Agrilabo intervient également dans les domaines de conseil et d'études :

- Agricole : Agrilabo réalise des prélèvements et des analyses physico-chimiques du sol et des plantes.
- Environnement : Les interventions du laboratoire Agrilabo dans ce domaine portent principalement sur les eaux propres : Prélèvements, réalisation des contrôles de suivi analytique de la qualité de l'eau du réseau, eaux de loisirs, eaux souterraines, eaux d'irrigation et réalisation des analyses microbiologiques et chimiques.

AGRILABO réalise également des recherches à plusieurs niveaux Notamment :

- Fertilité des sols et fertilisation de plusieurs cultures.
- Pédologie de différentes parcelles.
- Préservation de la qualité des sols.

- Amélioration de la productivité agricole.
- Bonnes pratiques de prélèvements des échantillons de sols.
- Qualité des eaux de puits pour l'irrigation.
- Potabilité des eaux de puits.
- Salinité des eaux.
- Salinité des sols.

2. Moyens matériels et humains

➢ Une équipe pluridisciplinaire

- Docteur spécialisé en phytiatrie, en physiologie végétale et en pédologie.
- Des cadres en microbiologie et en chimie.
- Des ingénieurs agronomes de toutes spécialités
- Des techniciennes supérieures spécialisées en analyses physico-chimiques et bactériologiques.

➢ Un équipement moderne

Qui permet l'exécution des différents types d'analyses :

Spectrophotomètre d'absorption atomique, spectrophotomètre UV visible, photomètre à flamme, pH mètre, electroconductivimètre (Ec mètre), digesteur minéralisateur, Appareil kjeldhal, distillateur, balance de précision, centrifugeuse, bain-marie, agitateurs de toute sorte, Hotte aspirante, burettes automatiques, verrerie, accessoires et plastiques nécessaires…

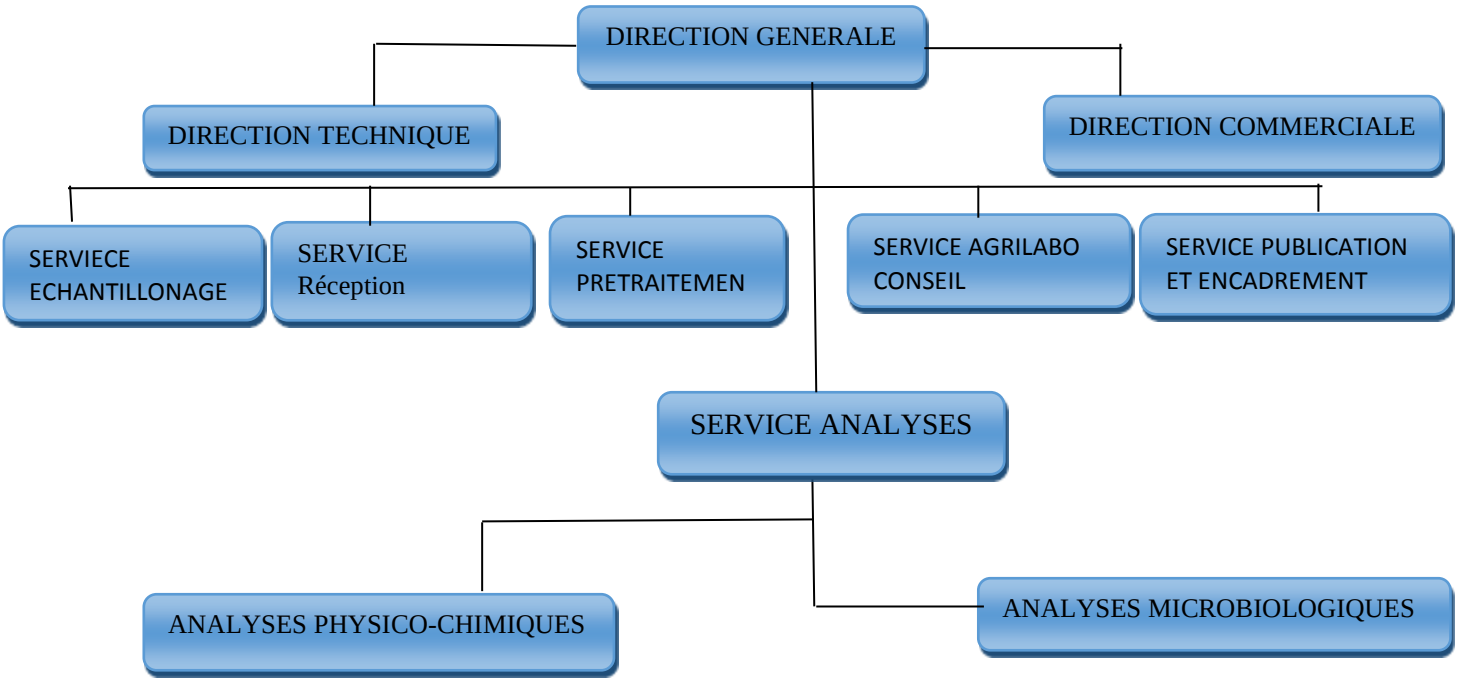


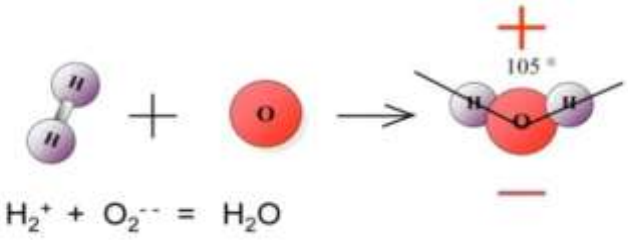
Figure 1 : organigramme d'Agrilabo.

Chapitre 2 Potabilité de l'eau et analyses physico-chimiques.

I. Potabilité de l'eau :

1. Définition de l'eau :

L'eau est un composé chimique qui résulte de la combinaison de deux atomes d'hydrogène, et d'un atome d'oxygène pour former le bien connu « H_2O ». Ses deux atomes d'hydrogène sont situés sous un angle de 105°.



Elle est incolore, inodore, insipide qui couvre trois quarts de la surface terrestre et qui joue un rôle primordial pour tout ce qui a trait à la vie.

2. Principales propriétés physiques et chimiques de l'eau :

Ses trois états physiques : Solide, liquide, vapeur.

Sa stabilité thermique : L'énergie de formation de la molécule d'eau est très élevée (58000 cal/mole) et sa température de décomposition est supérieur à 1200 °C.

Son pouvoir solvant : Cela correspond à sa capacité à dissoudre la quasi-totalité des objets qu'elle rencontre. L'eau est souvent appelée « Solvant universel ».

Sa capacité thermique : chaque changement de température, l'eau libère ou absorbe plus d'énergie thermique que la plupart des autres éléments.

3. Eau potable

3.1 Définition

L'eau potable fait référence à l'eau qui peut être consommée ou utilisée à des fins domestiques ou industrielles sans risque pour la santé. Elle peut être distribuée sous forme de

l'eau en bouteille (eau minérale ou eau de source, eau plate ou eau gazeuse), de l'eau courante (eau du robinet) ou encore dans des citernes pour un usage industriel.

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), l'eau potable est une eau dotée de caractéristiques microbiennes, chimiques et physique répondant à des directives et à des normes relatives à la qualité de l'eau de boisson.

3.2 Origines

L'eau potable peut avoir comme provenance :

- Les eaux souterraines.
- Les eaux de surfaces (torrents, rivières, lacs).
- Les eaux de pluie.
- L'humidité de l'air.

Pour avoir une eau potable, l'eau doit subir plusieurs traitements avant d'être renvoyée dans les circuits de distribution et doit être totalement débarrassée de ses impuretés.

Ces traitements se font selon les étapes suivantes :

- Le prétraitement
- La clarification
- La désinfection

3.4 Critères de potabilité

Pour une consommation en toute sécurité, l'eau doit répondre à des critères de potabilité très stricte dictée par la norme NM 03.7.001. Ces normes varient en fonction de la législation en vigueur et selon qu'il s'agit d'une eau destinée à la consommation humaine ou d'une eau industrielle.

Tableau 1 : Paramètres physicochimiques selon la NM 03.7.001

Paramètre	VMA
Le teneur en sulfate	<400 mg/l
La teneur en chlorure	<750 mg/l
La conductivité	2700 µS/cm (à 20 °C)
Le pH	6,5<pH<8,5
Le TH	Calcium <60 mg/l Magnesium <36 mg/l

Tableau 2 : Paramètres organoleptiques selon la NM 03.7.001

Paramètre	VMA
La couleur	20 unités Pt mg /l
L'odeur	3 (seuil de perception à 25°C)
Le goût	3 (seuil de perception à 25°C)

Tableau 3 : Paramètres microbiologiques selon la NM 03.7.001.

Paramètre	VMA
Coliformes	0 UFC /100 ml
Spores de micro- organismes anaérobies sulfito- réducteurs (clostridia)	0 UFC /100 ml
Micro-organismes revivifiables à 22 °C et à 36 °C	20 UFC /1 ml à 36 °C 100 UFC /1 ml à 22 °C

- Substances indésirables

Ils concernent les substances telles que les halogènes et les pesticides qui ne doivent pas dépasser 0.1mg /l.

- Substances toxiques

Les micropolluants tels que l'arsenic, le cyanure, le chrome, le sélénium ainsi que certains hydrocarbures sont soumis à des normes très sévères à cause de leur toxicité. Leur teneur tolérée est de l'ordre de millionième de gramme.

Remarque

« Les dépassements de courte durée de la date limite de consommation de l'eau ne signifient pas nécessairement que cette eau est impropre à la consommation ». Selon Organisation mondiale de la Santé (OMS).

II. Analyses physico-chimiques

1. Analyse physique

1.1 Potentiel d'hydrogène

Le pH renseigne sur l'acidité ou l'alcalinité, il dépend de l'activité des ions présents dans la solution.

Son principe de base consiste à une mesure de l'activité des ions (H^+) en solution, en utilisant une électrode référence et une électrode d'hydrogène. Le pH d'eau de consommation doit être compris entre 6 ,5 et 8,5.

Figure 2 : pH mètre

1.2 Conductivité

La conductivité consiste à mesurer la capacité de l'eau à conduire le courant ente deux électrodes métalliques, elle a comme but l'appréciation de la quantité des sels dissous dans l'eau. Son unité est le micro siemens par centimètre (µs/cm).

Figure 3 : Conductimètre

1.3 Température

La température joue un rôle crucial dans la solubilité des produits chimiques. Elle agit sur la conductivité électrique et le pH.

2. Analyses chimiques

2.1 Dosage des nitrites (NO_2^-)

La teneur en nitrites dans l'eau potable est réglementée, vu son impact sur la santé humaine. En effet les nitrites résultent de l'oxydation incomplète de l'azote ammoniacal et la réduction des nitrates sous l'action d'une flore réductrice.

2.2 Dosage d'ammonium (NH_4^+)

L'ammonium NH_4^+est la forme réduite de l'azote. Il provient de la réaction de minéraux contenant du fer avec des nitrates. Il peut être aussi issu de l'apport d'effluents urbains ou de rejets industriels et agricoles. C'est donc un excellent indicateur de la pollution de l'eau par des rejets organiques agricoles, domestiques ou industriels.

2.3 Dureté de l'eau (TH)

La dureté de l'eau correspond à la teneur en calcium (ca^{2+}) et en magnésium (Mg^{2+}), ces ions sont responsables des dépôts de calcaire et de tartre dans les conduites d'eau. Son unité est le degré français (°f).

Chapitre 3 Dosage effectuée et validation de la méthode

Selon la norme ISO 9000 :2015 le concept validation est définie comme la confirmation par des preuves objectives que les exigences pour une utilisation spécifique ou une application prévue requises ont été satisfaites. Les preuves objectives pour la validation peuvent être le résultat d'un essai ou d'une autre forme de détermination, telle que la réalisation de calculs ou la revue de documents. Selon le vocabulaire international de métrologie (VIM) c'est la vérification où les exigences spécifiées sont adéquates pour un usage déterminé. **(VIM, 2012).**

Une méthode d'analyse doit subir une démarche de validation comportant plusieurs étapes avant d'être validée, on propose une représentation résumée de ces étapes sous forme d'organigramme.

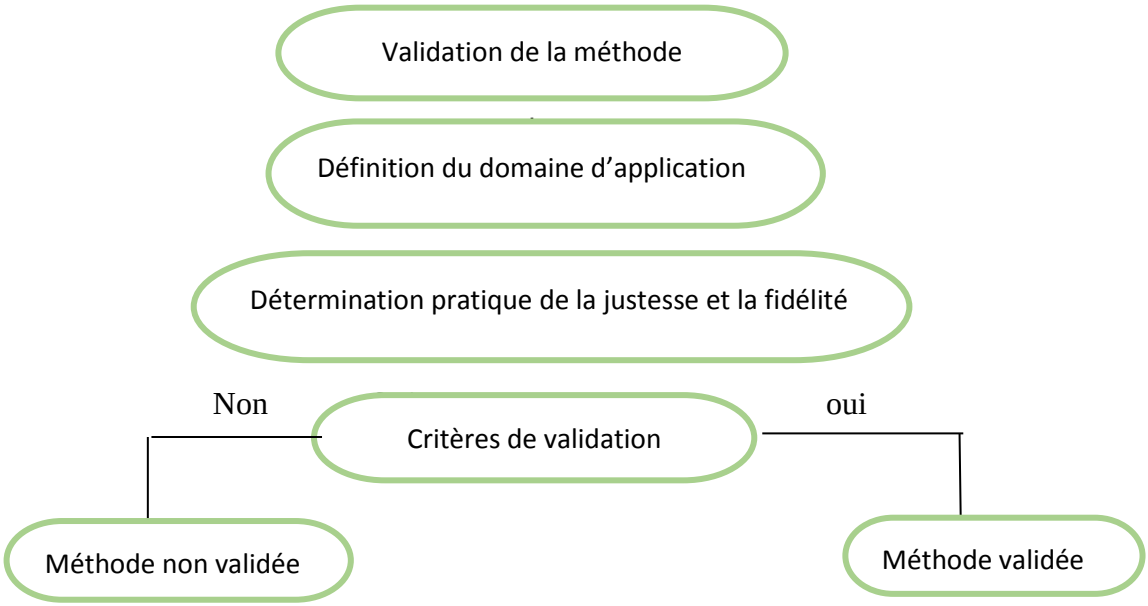


Figure 4 : Organigramme de la validation d'une méthode d'analyse.

I. Notions statistiques

- La moyenne

La moyenne ou moyenne arithmétique $\bar{X}$ est une grandeur obtenue en divisant la somme des résultats individuels des différentes mesures par le nombre de mesures effectuées.

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

- La variance

La variance est le terme le plus statistiquement significative pour exprimer la dispersion et la variabilité d'un nombre fini de mesure d'un échantillon. La variance est la dispersion des valeurs Xi autour de leur moyenne. Elle est obtenue en utilisant l'expression suivante :

$$S^2 = \frac{\sum_{i=1}^{n}(X_i - \bar{X})^2}{n-1}$$

- Ecart type de l'échantillon

L'écart type de l'échantillon mesure la dispersion des valeurs Xi autour de la moyenne C'est une mesure de précision qui égale à la racine carrée de la variance.

$$S = \sqrt{S^2} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(X_i - \bar{X})^2}{n-1}}$$

- Le coefficient de variation

$$C.V = \frac{S}{\bar{X}}$$

Avec **S** : Ecart-type

$\bar{X}$: Moyenne

II. Intervalle de confiance et méthode student's :

1. Principe

Pour être confiant que la moyenne déterminée est la vraie, des limites de confiance doit être fixée et ce en relation avec le degré de confiance que l'analyste souhaite voir.

Pour déterminer l'intervalle de confiance relatif au degré de confiance désiré, la méthode la plus approprié statistiquement est la méthode dite student's t, la méthode exprime la moyenne comme suit :

$$\mu = m \pm \frac{t.s}{\sqrt{n}}$$

Avec :

- t: Constante dépendant du degré de confiance désiré.
- n : Le nombre de mesures effectuées.
- s: L'écart-type.
- m: La moyenne de la mesure .
- µ : intervalle de confiance.

Les différentes valeurs pour les 3 degrés de confiance 90%, 95%, 99%.

III. Critères de validation :

Parmi les éléments exigés pour la validation d'une méthode on trouve :

- Fonction d'étalonnage.
- Limite de détection.
- Limite de quantification.
- Fidélité (réplicabilité, répétabilité, reproductibilité).
- Justesse.

1. Fonction d'étalonnage (linéarité) :

L'évaluation de la fonction d'étalonnage doit être réalisée en conditions de fidélité intermédiaire (jours différents et opérateurs différents) : par exemple, une gamme préparée et analysée par jour sur cinq jours. Elle est acceptée lorsque tous les biais ou biais relatifs observés sur chaque étalon analysé sont acceptables à partir d'un écart maximal acceptable (EMA) qui caractérise la performance exigée de la fonction d'étalonnage (sont inférieurs à l'EMA fixé pour chaque étalon $x_{i,j}$).

Remarque : Il appartient à chaque laboratoire de fixer cet EMA en fonction de l'incertitude attendue de la méthode ou de l'analyse, une exigence réglementaire.

2. Limite de détection d'une méthode (LDM) :

La limite de détection d'une méthode est la grandeur minimale qui peut être décelée à l'aide d'une méthode d'analyse avec une fiabilité définie. Elle est équivalente à 3fois l'écart-type S calculée à partir d'au moins 10 mesures effectuées sur des solutions témoins ou sur des solutions étalons ayant une concentration aussi prés que possible de la limite de détection prévue.

Elle se calcule selon la formule suivante :

$$LDM = 3*S$$

La détermination de la LDM s'effectue selon les étapes suivantes :

- Estimation de la LDM

A partir de la limite de détection estimée (LDM estimée), on procède aux étapes suivantes :

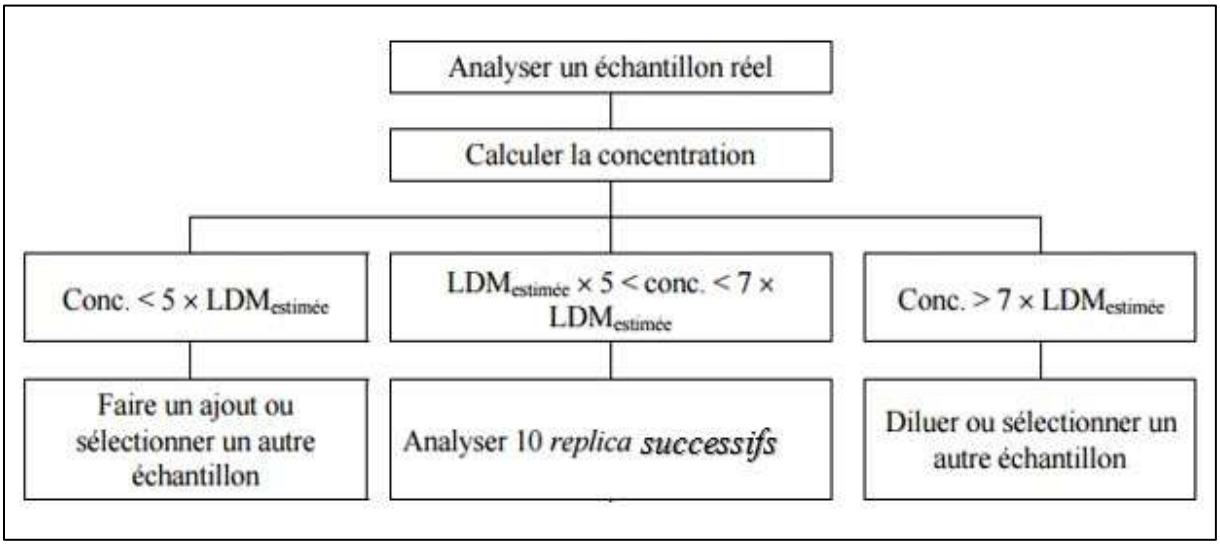


Figure 5 : Estimation de la LDM

- Calcul de ratio de conformité :

Le calcul du ratio de conformité nous permet de déterminer la validité d'une démarche pour l'établissement d'une limite de détection.

Pour déterminer le ratio de conformité de la LDM suivre les étapes suivantes :

- Calculer la moyenne des données : $\bar{x}$
- Calculer l'écart type S
- Calculer LDM = 3S
- Calculer le ratio.

$$R = \frac{\bar{x}}{LDM_{\ calculée}} = \frac{\bar{x}}{3s}$$

- Si 4 < R < 10, la concentration utilisée est adéquate.
- Si R < 4, ce ratio indique que la limite réelle de détection de la méthode est plus élevée que la limite de détection estimée lors des essais. Reprendre les essais en révisant la limite de détection estimée et la concentration de l'échantillon utilisé
- Si R > 10, ce ratio indique que la limite réelle de détection de la méthode est plus basse que la limite de détection estimée lors des essais.

- Limite de quantification d'une méthode (LQM)

La limite de quantification d'une méthode est la concentration minimale qui peut être quantifiés à l'aide d'une méthode d'analyse avec une fiabilité définie :

LQM = 10*S

- LQM : limite de quantification d'une méthode.
- S : écart type.

3. Fidélité

La fidélité à un niveau donnée correspond à l'étroitesse de l'accord entre les résultats obtenu en appliquant le procédé expérimental à plusieurs reprises (n= 10 réplicas) dans des conditions déterminées. Selon les conditions d'exécution de l'essai, cette caractéristique s'exprime sous forme de **réplicabilité**, de **répétabilité** ou de **reproductibilité** pour une méthode.

3.1 Réplicabilité

A un niveau donné c'est l'étroitesse de l'accord entre les résultats individuels obtenus sur le même échantillon soumis à l'essai dans le même laboratoire, exécuté par le même analyste, même appareil, pendant le même jour.

- La limite de Réplicabilité (r)

Elle peut être calculée à partir de l'écart type de Réplicabilité (Sr). Dix mesures sont effectuées sous les conditions de répétabilité.

$$r = S_r \times 2 \times \sqrt{2}$$

3.2 Répétabilité

A un niveau donné c'est l'étroitesse de l'accord entre les résultats individuels obtenus sur le même échantillon soumis à l'essai dans le même laboratoire et dont au moins l'un des éléments suivants est différent : analyste différent, appareil différent, jour différent ou même jour.

- Limite de répétabilité

La limite de Répétabilité (r) peut être calculée à partir de l'écart type de Réplicabilité (Sr).

$$r = S_r \times 2 \times \sqrt{2}$$

Avec **Sr** : l'écart – type de répétabilité

3.3 Reproductibilité

A un niveau donné c'est l'étroitesse de l'accord entre les résultats individuels obtenus sur le même échantillon soumis à l'essai dans des laboratoires différents et dans les conditions suivantes : analyste différent, appareil différent, jour différent ou même jour

- La limite de reproductibilité (R)

La limite de Répétabilité (r) peut être calculée à partir de l'écart type de Réplicabilité (Sr).

$$R = S_R \times 2 \times \sqrt{2}$$

Avec S_R : l'écart – type de reproductibilité

On exprime aussi la répétabilité et la reproductibilité par CV_r et CV_R respectivement

Si CV_r ou $CV_R \leq 5\%$, donc la méthode est répétable et reproductible.

4.4 Méthode de calcul de la réplicabilité et de répétabilité :

Les trois termes précédant se rapportant à la fidélité s'expriment à l'aide d'un intervalle de confiance à une concentration donnée, en fonction de l'écart type ($s_{(n)}$), à un niveau de confiance spécifié et pour un nombre donné de déterminations (n=10 *réplicas*). Le niveau de confiance habituellement retenue est de 95%.

L'intervalle de confiance bilatéral de la moyenne arithmétique d'une série de mesures à un niveau de confiance de 95 % est défini par la double inégalité suivante :

$$\bar{x} \pm \frac{t_{(0,975;n-1)} \times s}{\sqrt{n}}$$

S : écart type d'une série de mesures se référant à la répétabilité.

t $_{(0.975, n-1)}$: est le t de student's déterminé à partir de la table de student's pour un niveau de confiance de 95% (niveau de risque 5%).

Pour $n < 30$, il faut se référer à une table statistique de la distribution de student's pour connaître la valeur de $t_{(0,975\ ;\ n-1)}$ correspondant à la probabilité au dépassement bilatéral (voir Annexe I).

4. Justesse

La justesse à un niveau donné correspond à l'étroitesse de l'accord entre la valeur certifiée par un organisme reconnu et le résultat moyen qui serait obtenu (n=10 réplicas).Elle est évaluée avec des données obtenues lors de l'analyse d'un matériau de référence :

$$\textbf{\textit{justesse}}\ (\%) = \mathbf{100}\text{-}|\textbf{\textit{Erreur relative}}|$$

$$\text{Erreur relative}\ (\%) = (V_0\text{-}Vs) / Vs$$

Avec : V_0 : moyenne de valeurs observées.

Vs : valeur suggérée.

III. Partie expérimentale

L'analyse des nitrates se fait au sein du laboratoire par spectroscopie UV visible.

1. Dosage des nitrates

Les nitrates sont des éléments minéraux nutritifs pour les végétaux et les microorganismes. Il est utilisé pour la composition d'explosifs ou de ciments, ainsi que la fabrication des fertilisants.

2. Spectroscopie UV visible

La spectroscopie d'absorption UV visible repose sur la propriété des molécules à absorber des radiations lumineuses de longueur d'onde déterminée. Il permet de réaliser des dosages grâce à la loi de Beer-Lambert **(A = ε l C).**

- A : absorbance autrefois appelée densité optique (D.O.) (sans unité).
- ε : est le coefficient d'extinction molaire (coefficient d'absorption molaire); c'est une caractéristique de la substance étudiée à une longueur d'onde.
- l : est la largeur (épaisseur) de cuve en cm
- C : est la concentration de la solution (mol. L-1).

2.1 Domaine UV-Visible :

Le domaine UV-visible s'étend environ de 10 à 800 nm, on distingue généralement trois parties :

- Visible : 400 nm -800 nm.
- Proche-UV : 200 nm -400 nm.
- UV-lointain:10nm-200nm.

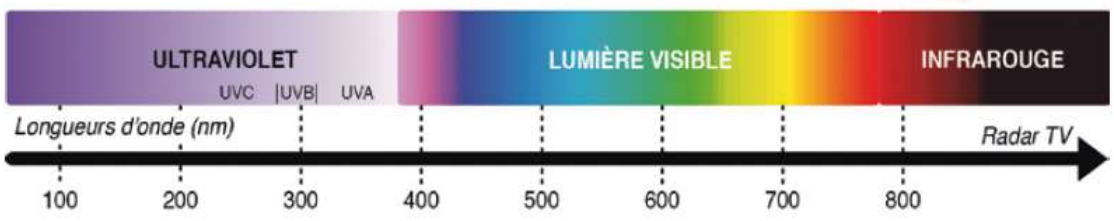
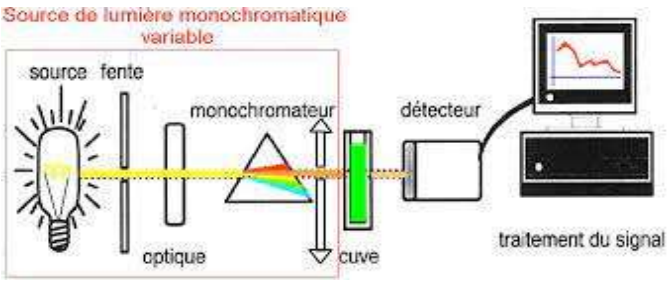


Figure 6 : les différents types de rayonnement.

2.2 Appareillage



Le spectrophotomètre UV-visible est constitué d'éléments suivants :

- Source de lumière monochromatique :

- Visible : Lampe à incandescence à Tungstène et iode.
- UV : Lampe à arc à Deutérium ou à Xenon, ou mercure.

- Monochromateur (sélection de la longueur d'onde) : Prisme et Réseau.

- Cuve : Visible : Verre UV : Quartz

- Détecteur = Photomultiplicateur ou photopiles.

2.3 Principe de fonctionnement

La spectroscopie UV-Visible se réalise à l'aide d'un spectrophotomètre. Lorsque la cuve contenant la solution est placée dans un spectroscope, elle reçoit un rayonnement d'intensité I_0. Une partie de cette lumière incidente notée I_0 est absorbée par le milieu et le reste, noté I, est transmis. L'intensité 3 (I) du rayonnement issu de la cuve est donc inférieure à l'intensité du rayonnement initial (I_0).

La fraction de la lumière incidente absorbée par une substance de concentration C contenue dans une cuve de longueur **l** est donnée par la loi de Beer-Lambert :

$$A = \log (I_0/I) = \varepsilon \, l \, C$$

$$A = \varepsilon . \, l \, . C$$

3. Objet et Domaine d'application :

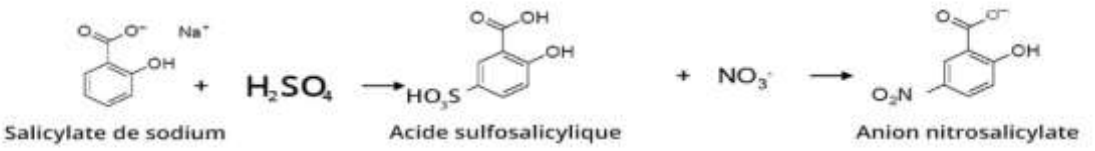
Ce mode opératoire décrit les dispositions pour le dosage des ions nitrates dans les eaux brutes et les eaux potables.

Les principaux agents d'interférence potentiels sont : le chlorure, l'ortho phosphate, le magnésium, et le manganèse II.

4. Principe :

Mesurage spectrométrique du composé jaune issu de la réaction des nitrates avec l'acide sulfosalicylique (formé par addition à l'échantillon de salicylate de sodium et d'acide sulfurique) après traitement à l'alcali.

En même temps que l'alcali, on ajoute de le Na_2EDTA pour empêcher la précipitation des sels de calcium et de magnésium. L'adjonction de l'azoture de sodium vise enfin à neutraliser l'interférence des nitrites.



5. Préparation des réactifs

- Pour la préparation des solutions, on utilise de l'eau distillée.
- Acide sulfurique concentré.
- Acide acétique cristallisable.
- Solution d'alcali :

Pour la préparation de cette solution, on dissout avec précaution, dans un bécher de 500l, les pastilles d'hydroxyde de sodium dans environ 400ml l'eau.

On ajoute le sel de l'EDTA, agiter jusqu'à dissolution complète.

Après dissolution et refroidissement, on transvase la solution dans une fiole jaugée et on complète au volume avec de l'eau distillée.

Solution à conserver dans un flacon en polyéthylène, elle est stable indéfiniment

- Solution d'azoture de sodium.

On mesure une certaine quantité d'azoture de sodium puis on l'introduit dans une fiole jaugée et on complète jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée.

Solution à conserver dans un flacon en verre, elle est stable indéfiniment.

- Solution de salicylate de sodium.

On mesure une certaine quantité de salicylate de sodium puis on l'introduit dans une fiole jaugée et on complète jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée

Solution à conserver dans un flacon en verre ou en polyéthylène.

Solution à préparer chaque jour au moment de l'emploi.

6. Appareillage :

Matériel courant de laboratoire, et en particulier :

- Spectrophotomètre UV.
- Etuve.
- Capsules d'évaporation.
- Bain marie à 25 °C.
- Balance analytique

7. Mode opératoire :

- Dans une série de 6 capsules :
- Introduire la solution d'étalon d'azote à 1 mg/l et l'eau distillée pour obtenir 6 concentrations différentes.
- Ajouter la solution d'azoture de sodium.
- Ajouter l'acide acétique.
- Attendre puis évaporer le mélange à sec à l'étuve.
- Ajouter la solution de salicylate de sodium.

- Homogénéiser et faire évaporer à nouveau à sec.
- Retirer les béchers de l'étuve et laisser refroidir à la température ambiante.
- Ajouter de l'acide sulfurique concentré.
- Dissoudre le résidu dans le bécher en agitant légèrement.
- Laisser le mélange reposer puis ajouter l'eau distillée et la solution d'alcali qui développe la couleur jaune.
- Placer les capsules dans le bain d'eau pendant un certain temps.
- Retirer les capsules et compléter le volume.
- Effectuer la lecture au spectromètre.

8. Dosage de l'échantillon à analyser

A l'aide d'une pipette, on introduit une prise d'essai de l'eau à analyser dans une capsule. On procède de la même façon que les étalons.

9. Echantillonnage

Les échantillons doivent être prélevés dans des bouteilles en verre et doivent être analysés dès que possible après leur prélèvement (se reporter à la procédure traitement des échantillons soumis aux essais PR50801

10. Expression des résultats

- La fonction d'étalonnage (linéarité)

Tableau 4 : niveaux (concentration des étalons en mg /L) utilisés à des jours différents pour l'évaluation de l'étalonnage.

Essai	Date d'analyse	C 1	C 2	C 3	C 4	C 5
1	20/05/2021	0.2	0.4	0.6	0.8	1
2	21/05/2021	0.2	0.4	0.6	0.8	1
3	24/05/2021	0.2	0.4	0.6	0.8	1
4	25/05/2021	0.2	0.4	0.6	0.8	1
5	26/05/2021	0.2	0.4	0.6	0.8	1

Tableau 5 : signal obtenu sur des étalons à des jours différents afin d'évaluer une fonction d'étalonnage.

		Valeur d'absorbance					
Essai	**Date d'analyse**	**C= 0.2**	**C= 0.4**	**C= 0.6**	**C= 0.8**	**C = 1**	**Coefficient de linéarité**
1	20/05/2021	0.031	0.063	0.096	0.120	0.172	0.15
2	21/05/2021	0.025	0.056	0.095	0.129	0.158	0.14
3	24/05/2021	0.025	0.056	0.092	0.115	0.140	0.14
4	25/05/2021	0.031	0.065	0.1	0.139	0.169	0.16
5	26/05/2021	0.027	0.064	0.102	0.133	0.161	0.16

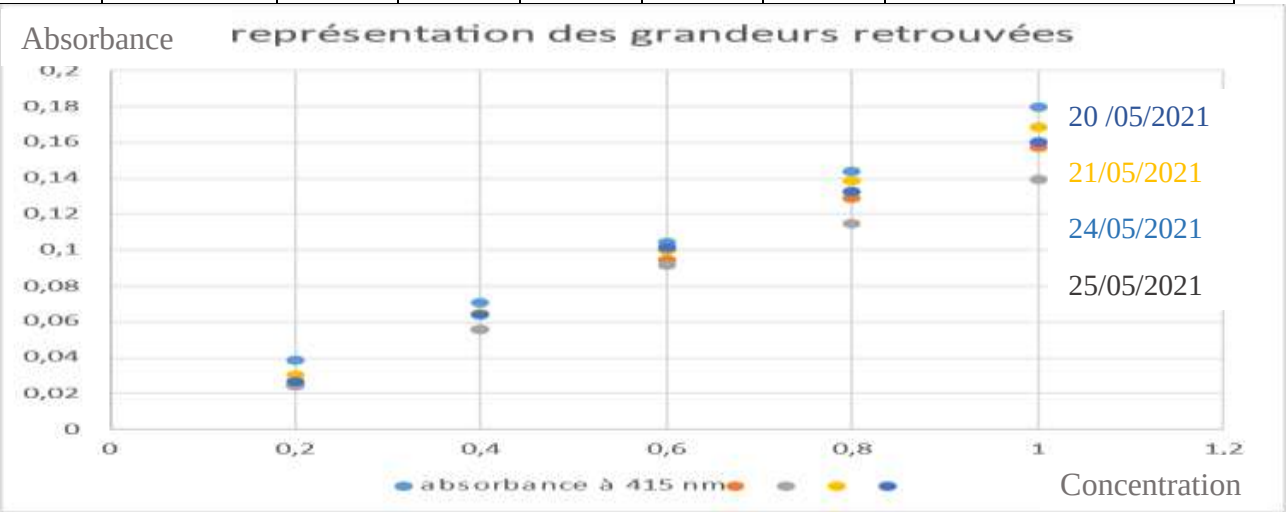


Tableau 6: Des grandeurs retrouvées lors de chaque étalonnage (xi).

		Concentration				
Essai	**Date d'analyse**	**C = 0.2**	**C = 0.4**	**C = 0.6**	**C = 0.8**	**C = 1**
1	20/05/2021	0.2	0.41	0.63	0.75	1.13
2	21/05/2021	0.17	0.38	0.65	0.89	1.09
3	24/05/2021	0.17	0.40	0.65	0.82	1.00
4	25/05/2021	0.18	0.39	0.60	0.84	1.02
5	26/05/2021	0.17	0.40	0.65	0.84	1.02

Tableau 7 : Des biais relatifs.

	Date d'analyse	C = 0.2	C = 0.4	C = 0.6	C = 0.8	C = 1
1	20/05/2021	0%	2.5%	5%	-6.25%	13%
2	21/05/2021	-15%	-5%	8.3%	11.2%	9%
3	24/05/2021	-15%	0%	8.3%	2.5%	0%
4	25/05/2021	-10%	-2.5%	0%	5%	2%
5	26/05/2021	-15%	0%	8.3%	5%	2%
	Moyenne	-11%	-1%	5.98%	3.49%	5.2%
	EMA étalonnage	7.2%	6.5%	6.1%	5.8%	5.7
	Conclusion	Vérifié :la fonction d'étalonnage est acceptable	Vérifié : la fonction d'étalonnage est acceptable	Vérifié : la fonction d'étalonnage est acceptable	Vérifié : La fonction d'étalonnage est acceptable	Vérifié : la fonction d'étalonnage est acceptable

Interprétation

Les résultats du tableau ci- dessus montrent que la moyenne des biais est inférieure à l'écart maximal acceptable (EMA $_{étalonnage}$), ces résultats nous permettent de conclure que la fonction d'étalonnage est acceptable.

- La limite de détection

Pour déterminer la LDM il faut d'abord l'estimée :

L'estimation de la LDM

Cette estimation nous aide à connaître si on va faire une fortification en élément à doser ou bien une dilution d'échantillon.

En cherchant dans la littérature, on a estimé que la LDM $_{estimée}$ = 0.02 mg / L

Selon la figure (4) de l'estimation de la LDM, on constate que = 2,61 mg / L est supérieur à 7×LDM $_{estimée\ donc}$ il faut procéder une dilution de l'échantillon à ce que $C_{éch}$ soit comprise entre 5× LDM $_{estimée\ et}$ 7×LDM $_{estimée.}$

Après la dilution de 1/22 la concentration de notre échantillon devient $C_{éch}$ = 0.12mg/L

Don c : 5 LDM < $C_{éch}$ = 0.12mg/l< 7 LDM.

On fait l'analyse de 10 réplicas d'une même série d'analyse :

Tableau 8 : la limite de détection.

Essai	Date d'analyse	Résultat analytique
1	03/06/2021	0,12
2	03/06/2021	0,13
3	03/06/2021	0,14
4	03/06/2021	0,118
5	03/06/2021	0,125
6	03/06/2021	0,12
7	03/06/2021	0,13
8	03/06/2021	0,14
9	03/06/2021	0,118
10	03/06/2021	0,134
Moyenne		0,1275
Ecart-type		0.0083
LQM		0.0835
LDM $_{calculée}$		0.02
Ratio		6.35

Interprétation

D'après le tableau 8, on remarque que la LDM $_{estimée}$ est presque celle calculée et on a trouvé que le ratio conformité est compris entre 4 et 6, on déduit que la concentration qu'on a choisi est adéquate.

- Fidélité

Réplicabilité

Selon les conditions de réplicabilité (voir chapitre 3 page15), on obtient les résultats suivants :

Tableau 9 : Réplicabilité.

Essai	Date d'analyse	Résultats
1	04 /06/2021	0,12
2	04/06/2021	0,12
3	04/06/2021	0,12
4	04/06/2021	0,13
5	04/06/2021	0,12
6	04/06/2021	0,12
7	04/06/2021	0,12
8	04/06/2021	0,12
9	04/06/2021	0,13
10	04/06/2021	0,12
Moyenne	0,122	
Ecart-type	0.00421	
Intervalle de confiance 95%	±0.003 [0.119-0.125	

Limite de Réplicabilité (Lr) :

Cette limite se calcule selon la relation suivante :

On sait que : $Lr = 2\times\sqrt{2}\times Sr$

$Lr = 2\times\sqrt{2}\times 0{,}00421 = 0{,}012$

- **Limite supérieure =** valeur moyenne + Lr

  = 0,122+0,012=0,134

- **Limite inférieur** = valeur moyenne – Lr

  = 0,122-0,012 =0,11

- **Coefficient de variation de réplicabilité**

CV=écart-type /Moyenne

CV=0.00421/0,12*100= 3,45%

Interprétation

D'après le tableau 9, on a trouvé que la valeur minimale et maximale de mesure sont respectivement 0.12 et 0.13, ils appartiennent à l'intervalle de tolérance de réplicabilité [0.11-0.134], ces résultats nous permettent de conclure que la fidélité est prouvée.

En outre, après un calcul du coefficient de variation est de 3.45% qui est inférieur à 5%, donc on peut conclure que la réplicabilité est atteinte, et que les résultats trouvés sont réplicable.

Répétabilité :

Selon les conditions de répétabilité (chapitre 3 page 15) on obtient les résultats suivants :
Tableau 10 : répétabilité.

Essai	Date d'essai	Résultats analytiques
1	31 /05/2021	0,12
2	01/06/2021	0,13
3	02/06/2021	0,12
4	03/06/2021	0,12
5	04/06/2021	0,12
6	07/06/2021	0,13
7	08/06/2021	0,13
8	09/06/2021	0,12
9	10/06/2021	0,12
10	11/06/2021	0,12
Moyenne	0,123	
Ecart-type	0,0048	
Intervalle de confiance 95%	±0.00334 [0.120-0.126]	

La limite de répétabilité

Cette limite se calcule selon la relation suivante :

On sait que : $Lr = 2\times\sqrt{2}\times Sr$

$Lr = 2\times\sqrt{2}\times 0{,}0048 = 0{,}013$

- **Limite supérieure =** valeur moyenne + Lr

  = 0,122+0,013=0,136

- **Limite inférieur** = valeur moyenne – Lr

  = 0,122-0,0123 =0,109

- **Coefficient de variation de réplicabilité**

CV=écart-type /Moyenne

CV=0.0048/0,122*100= 3,9%

Interprétation

D'après le tableau 10, on remarque que la valeur minimale et maximale de mesure sont respectivement 0.12 et 0.13, et qui sont inclues dans l'intervalle de tolérance de répétabilité [0.11 - 0.136]. Ces résultats nous permettent de conclure que la répétabilité et prouvée.

En outre, après un calcul du coefficient de variation qui est de 0 ,33 % cette valeur est inférieure à 5% donc on peut conclure que la répétabilité est atteinte, et que les résultats trouvés sont répétables.

- Justesse

Pour la détermination de cette dernière, on a fait une répétition de 10 fois de l'échantillon de la BIPEA.

Tableau 11 : justesse.

Essai	Date d'essai	Résultats
2	19/05/2021	5.89
3	19/05/2021	5.20
4	19/05/2021	6.03
5	19/05/2021	6.50
6	19/05/2021	6.41
7	19/05/2021	5.67
8	19/05/2021	6.11
9	19/05/2021	5.99
10	19/05/2021	6.13
Moyenne	6.026	

Tableau 11 : justesse.

NB

BIPEA : Fournisseur de programmes d'Essais d'aptitude, de Matériaux de Référence et Formations en microbiologie, physico-chimie, et sensorielle.

- Créée en 1970, le Bipea est une organisation Européenne indépendante fournissant un large choix d'essais d'aptitude et de matériaux de référence externe pour les laboratoires d'essais concernés par le contrôle qualité et la justesse analytique.).
- Le BIPEA est certifié ISO 9001 par la Lloyd's Register Quality Assurance et accrédité par le COFRAC selon la norme ISO/IEC 17043.

⟶ AGRILABO est inscrit parmi 50 laboratoires de différents pays dans le BIPEA pour les comparaisons interlaboratoires accrédités pour les analyses physico-chimiques et microbiologiques sur matrices environnementales (eaux douces, eaux résiduaires, eaux de loisirs, eaux superficielles).

Erreur relative (%) $=\frac{V0-Vs}{Vs} \times 100$

AN Erreur relative=0.72

Justesse%=100-|erreur relative (%) |

AN Justesse%=99.28%

Avec : Vo : moyenne des valeurs observées=6.026.

Vs : valeur suggérée. =5.98 valeurs de la BIPEA.

Interprétation

Les résultats du tableau 11 montrent qu'on a une erreur relative non significative de **± 0,72.** Donc la justesse est contrôlée par un essai inter laboratoire de la BIPEA et la concentration est déterminée avec précision. La méthode est juste.

Conclusion

L'eau est l'élément le plus essentiel sur terre, c'est la raison pour laquelle elle doit être contrôlée par des analyses chimiques pour donner un renseignement sur sa qualité.

Ce travail nous a permis d'étudier la validation de la méthode du dosage des nitrates NM 7890-3 au sein du laboratoire Agrilabo ainsi que l'approche adopté au cours de cette validation de méthode d'analyse qui est l'évaluation de l'efficacité des méthodes destinées au contrôle de qualité par le calcul de différents paramètres statistiques sous différentes conditions (limite de détection, fidélité, justesse et fonction d'étalonnage).

Les résultats obtenus sont conformes ce qui montre que la méthode est bonne pour analyser l'élément nitrate.

Annexe

Annexe I :

Valeur du **t** de Student'S pour un intervalle bilatéral à un seuil de confiance à 95 %.

Degré de liberté (n-1)	t (0,975)
1	12,706
2	4,303
3	3,182
4	2,776
5	2,571
6	2,447
7	2,365
8	2,306
9	2,262
10	2,228
11	2,201
12	2,179
13	2,160
14	2,145
15	2,131
16	2,120
17	2,110
18	2,101
19	2,093
20	2,086
25	2,060
30	2,042
40	2,021
60	2,000

BIBLIOGRAPHIE

https://www.cieau.com/connaitre-leau/

Référence ISO 9000:2015, Quality management systems – Fundamentals and vocabulary, International Organization for Standardization (ISO), Geneva.

Diam Adil (2008) : rapport de fin d'études contrôles de la qualité d'eau par analyses

Pollution par les nitrates des eaux destinées à l'alimentation humaine causes et conséquences-Traitements possibles, intervention de monsieur A. DUBOZ, IGGREF devant la 6 -ème section du conseil général 66/78019.
http://www.fndae.fr/documentation/PDF/fndaehs04bis.pdf

L3 BVA 19-20 Analyse instrumentale chaouch partie (1) https://fsnv.univ-setif.dz/

AGEMIAN H. et J.G. ZAKREVSKY. National Water Quality Branch, Limit of Detection, décembre 1986, pp.1-6.

APHA-AWWA-WEF. Standard Method for Examination of Water and Wastewater, 23e édition, Washington D.C., 2017.

BARWICK, Vicki. Preparation of Calibration Curves: A Guide to Best Practice, LGC/VAM/2003/032, LGC, 2003, 27 p.

BUREAU DE NORMALISATION DU QUÉBEC. Méthodes d'analyse de l'air et de l'eau, vocabulaire, Québec, Bureau de normalisation du Québec, 1987, 7 p. (projet 3600-009).

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. Programme d'accréditation des laboratoires d'analyse, DR-12-PALA, Québec, ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques, 2012, 77 p.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. Directive sur les matériaux à utiliser pour la validation des méthodes d'analyse en chimie, DR-12-VAL, Québec, ministère de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques, 2020, 23 p.

https://solidarites-sante.gouv.fr/
https://www.laboratoire.com/fournisseur/bipea.php
https://www.univ-usto.dz/images/coursenligne/chea_bh.pdf