

Remerciements

Avant d'entamer le vif du rapport j'adresse mes plus sincères remerciements :

A Monsieur le Directeur Régional du Centre Nord de l'Office National d'Electricité et de l'Eau potable Branche Eau de m'avoir accordé et accueilli comme stagiaire au sein de son département.

A mon encadrant El fellah Mohammed, ingénieur de contrôle de qualité de l'eau qui m'a encadré durant la période de stage.

Je tiens également à exprimer ma profonde gratitude à Mme. Ouali Alami Oum keltoum pour son aide très précieuse et le grand soutien.

Mes remerciements s'adressent à tout le personnel de laboratoire pour leurs précieux conseils et recommandations.

Je tiens à remercier mon encadrant à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès Pr.Misbahi Houria pour sa disponibilité pendant la période de stage ainsi que pour ses conseils.

Je remercie les membres du jury Pr. Farah Abdellah et Pr. Chakroune Said d'avoir accepté de juger et d'apprécier ce travail.

Sommaire

INTRODUCTION GENERALE.....	1
I. Présentation générale de l'ONEE-Branche eau	3
I.1 Historique :	3
I.2 Missions de l'ONEE-Branche Eau	3
I.3 Axes stratégiques :	3
I.4 Normes appliquées à l'ONEE-Branche Eau.	4
a. La Norme Marocaine 03.7.001	4
b. La Norme Marocaine 03.7.002	5
I.5 Description du laboratoire régional :	6
II. Procédé du traitement des eaux.....	7
II.1 Prétraitement de l'eau	7
a. Dégrillage :	7
b. Relevage :	8
c. Dessablage :	8
d. Débourbage :	9
II.2 Traitement des eaux d'OUES SEBOU :	10
a. Pré-chloration :	10
b. Coagulation-Floculation :	10
c. Décantation :	11
d. Filtration sur sable :	11
e. Désinfection :	12
III. Analyses effectuées sur l'eau	12
III.1 Analyses organoleptiques	13
III.2 Analyses physico-chimiques :	13
III.3 Analyses bactériologiques :	16
IV. Généralités sur les nitrates et les nitrites :	18
IV.1 Définition :	18
IV.2 Origine et sources de contamination :	18
IV.3 Effet des nitrates-nitrites sur la santé :	18
V. Validation d'une méthode d'analyse :	18
V.1 Définition :	18
V.2 Critères de la validation :	18

Partie expérimentale :	21
VI. Validation de la méthode du dosage des nitrates par spectrophotométrie UV visible.	21
VI.1 Appareillage et matériel :	21
VI.2 Réactifs et étalons :	22
VI.3 Mode Opérateur :	23
VI.4 Courbe d'étalonnage :	24
VI.5 Détermination de la limite de détection et la limite de quantification :	25
VI.6 Fidélité :	26
a. Réplicabilité :	26
b. Répétabilité :	27
VI.7 Justesse :	28
VI.8 Sensibilité :	29
Conclusion :	31

Liste des tableaux

Tableau 1: les paramètres à effet sanitaires.	5
Tableau 2:les caractéristiques du pH.....	13
Tableau 3:présente la méthode de préparation des étalons.....	24
Tableau 4:les Absorbances des solutions étalons.....	24
Tableau 5:les Absorbances des solutions de même échantillon	25
Tableau 6:Analyse des Absorbances des solutions par réplicabilité	26
Tableau 7:Analyse des Absorbances par répétabilité.....	27
Tableau 8:résultats d'Analyse du matériel de référence certifiée.	28
Tableau 9:Détermination de la sensibilité	29
Tableau 10:les critères d'acceptation des données da validation.....	30

Liste des figures :

Figure 1: les paramètres représentés par la NM 03.7.001	4
Figure 2 : les types des analyses effectuées sur l'eau.....	6
Figure 3 : Grille	8
Figure 4 : vis d'Archimède	8
Figure 5 : un dessableur	9
Figure 6 : un débourbeur.....	9
Figure 7 : un répartiteur	11
Figure 8 : un décanteur	11
Figure 9 : filtres à sable	12
Figure 10 : Les étapes de prétraitement et traitement des eaux.	12
Figure 11 : représente les méthodes d'analyse d'eau traitée.....	16
Figure 12 : représente les méthodes d'analyse d'eau brutes.....	17

Abréviations :

ONEE-BO : Office National d'Electricité et de l'Eau potable- Branche Eau

ISO : Organisation Internationale de Normalisation

NM : Norme Marocaine

VMA : Valeur Maximale Admissible

AEP : Alimentation en Eau Potable

E. Coli : *Escherichia coli*

B. Coliforme : Bactérie Coliformes

E. intestinaux : Entérocoques intestinaux

CF : Coliformes fécaux

CT : Coliformes Totaux

SF : Streptocoques Fécaux

LDM : Limite de Détection de la Méthode

LQM : Limite de Quantification de la Méthode

Abs : Absorbance

NED : di chlorhydrate de N-(naphtyl 1) diamine 1,2 éthane

MR : Matériau de référence

MRC : Matériau de référence Certifié

INTRODUCTION GENERALE :

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), l'eau potable est une eau dotée de caractéristiques microbiennes, chimiques et physiques répondant à des normes relatives à la qualité de l'eau de boisson.

D'une autre manière, c'est une eau qui est douce chimiquement et saine biologiquement et ne présente aucun danger sur la santé de consommateur.

Les eaux superficielles et souterraines ne répondent pas à cette définition, c'est la raison pour laquelle ces eaux doivent être traitées avant d'être consommées en se basant sur des méthodes de traitement qui mettent en œuvre des processus physico-chimiques et biologiques pour avoir une eau de bonne qualité.

La qualité de l'eau dans l'Office National de l'Electricité et de l'Eau Branche eau est assurée par le respect des normes qui fixent les teneurs limites qu'une eau potable ne doit dépasser. Ces limites concernent en générale les substances nocives pour la santé à certaines doses.

La fiabilité et la justesse des résultats chimiques et biologiques à l'ONEE-BO sont assurées grâce à des méthodes d'analyses qui sont en permanence validées.

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
- ☞ Détermination de la limite de détection et de quantification.
- ☞ La justesse, la fidélité (répétabilité, répliquabilité) et l'incertitude de mesure.

Les nitrates et les nitrites sont des indicateurs de la pollution qui sont issues de l'utilisation des engrais chimiques et la décomposition de la matière végétale et animale. Il est donc nécessaire de valider leur méthode d'analyse dans l'eau pour assurer la conformité avec les réglementations nationales et internationales.

L'objectif de mon stage est la validation du dosage des nitrates par spectrophotométrie d'UV visible.

Ce rapport est présenté sous forme de six axes respectivement :

- ✓ Présentation de l'ONEE-BO.

- ✓ Procédé du traitement des eaux.
- ✓ Analyses effectuées sur l'eau.
- ✓ Généralités sur les nitrates.
- ✓ Validation d'une méthode d'analyse et ses critères.
- ✓ Validation du dosage des nitrates par spectrophotométrie UV visible.

I. Présentation générale de l'ONEE-Branche eau

I.1 Historique :

L'Office National de l'Electricité et de l'Eau potable est né du regroupement en 2012 de l'Office National de l'Electricité (ONE) créé en 1963 et l'Office National de l'eau potable (ONEP).

L'Office National de l'Eau Potable créé en 1929 par le Dahir N° 172-103 sous le nom de REIP (Régie d'exploitation, Installation et planification), puis REP (Régie d'Exploitation et de planification) et en fin sous le nom de l'ONEP en 1972.

C'est un établissement public à caractère industriel et commercial (EPIC) doté de la personnalité civile et de l'autonomie financière depuis 1995. Il est considéré comme véritable pilier de la stratégie énergétique et bras d'armée d'état dans le secteur de l'eau et l'assainissement dans le Royaume.

I.2 Missions de l'ONEE-Branche Eau

Parmi les missions principales de l'ONEE-Branche Eau on peut citer :

- Planification de l'approvisionnement en eau potable du Royaume et la programmation des projets.
- Etude de l'approvisionnement en eau potable et assurance de l'exécution des travaux des unités de production et de distribution.
- Gestion de la distribution et de l'assainissement de l'eau potable.
- Contrôle de la qualité des eaux produites et distribuées et protection des ressources en eaux susceptibles d'être utilisées pour l'alimentation humaine.
- Participation aux études des projets de textes législatifs et réglementaires nécessaires à l'accomplissement de sa mission.

I.3 Axes stratégiques :

- Poursuivre, protéger et renforcer l'AEP en milieu urbain.
- Accès général à l'eau potable en milieu rural.
- Rattraper le retard en matière d'assainissement liquide.

I.4 Normes appliquées à l'ONEE-Branche Eau.

a. La Norme Marocaine 03.7.001

Objet :

L'objet de la présente norme est de fixer les exigences auxquelles doit satisfaire les eaux à usage alimentaire conformément aux textes d'application de la loi d'eau 36-15.

Domaine d'application :

La Norme Marocaine 03.07.001 est applicable pour toutes les eaux soit à l'état naturel ou après traitement.

Exigences :

L'eau à usage alimentaire ne doit contenir en quantités dangereuses ni micro-organismes, ni substances chimiques nocives pour la santé ; en outre, elle doit être aussi agréable à boire que les circonstances le permettent. Elle doit satisfaire aux exigences de qualité spécifiées dans la présente norme.

Il existe deux types de paramètres qui ont une VMA fixe selon la norme (Figure 1).

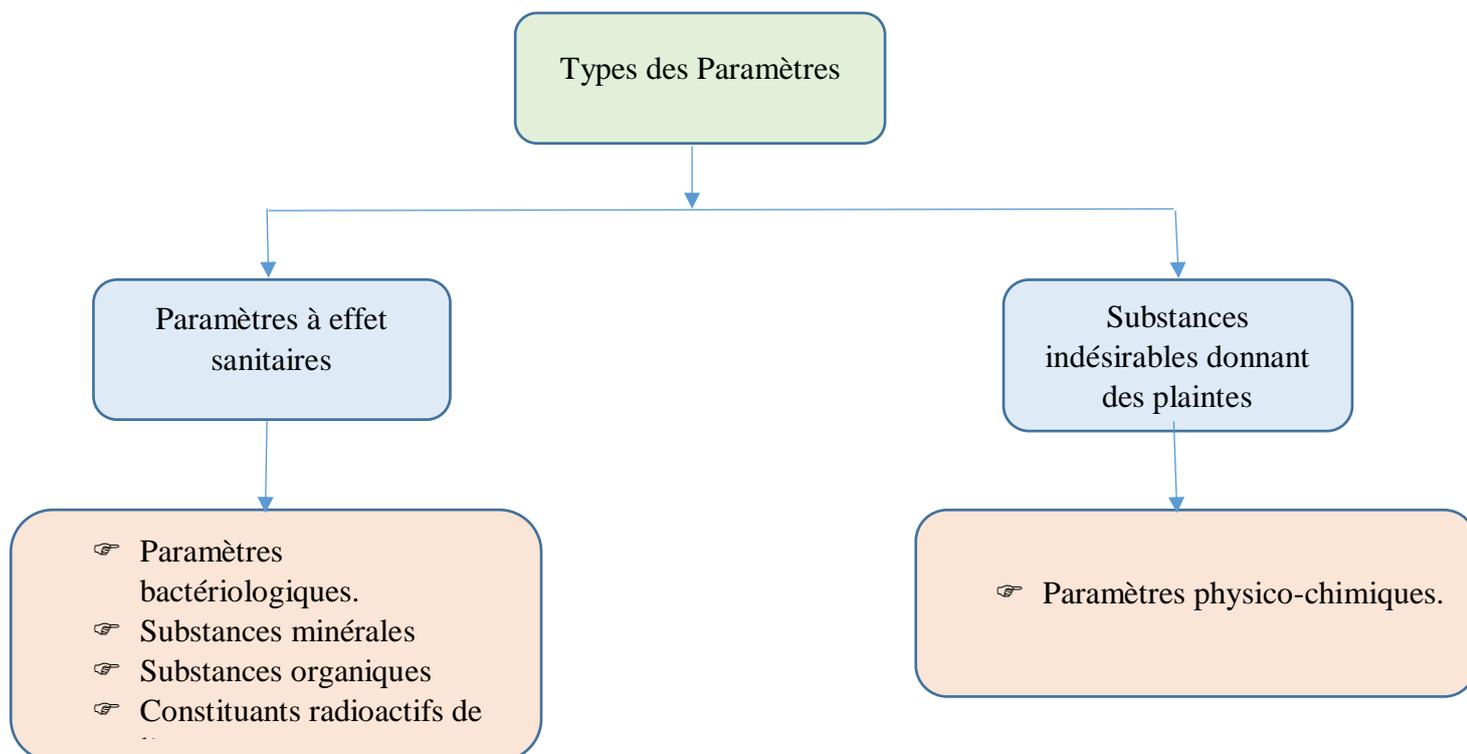


Figure 1: les paramètres représentés par la NM 03.7.001

Exemple : les paramètres à effet sanitaires.

Le tableau ci-dessous représente les paramètres à effet sanitaires (Substances minérales) en fonction de leur VMA.

Tableau 1: les paramètres à effet sanitaires.

Paramètres	Expressions des résultats	VMA	Commentaires
Nitrites	NO ₂ : mg/l	0.5	Somme des rapports : (NO ₃)/50 + (NO ₂)/3 ne doit pas dépasser 1.
Nitrates	NO ₃ : mg/l	50	
Arsenic	As : µg /l	10	
Baryum	Ba : mg/l	0.7	
Cadmium	Cd : µg /l	3	
Cyanures	CN : µg /l	70	
Chrome	Cr : c	50	
Manganèse	Mn : mg/l	0.1	VMA est fixée sur des critères d'acceptabilité. Effets sanitaires apparaissent à partir de 0,5 mg/l
Cuivre	Cu : mg/l	1	VMA est fixée sur des critères d'acceptabilité. Effets sanitaires apparaissent à partir de 0,5 mg/l
Fluorures	F : mg/l	1.5	
Mercure	Hg : mg/l	1	
Plomb Pb	Pb : µg /l	10	
Sélénium	Se : µg/l	10	
Bore B	B : mg/l	2.4	
Nickel	Ni : µg /l	20	

b. La Norme Marocaine 03.7.002

Objet et champ d'application :

La présente norme marocaine définit le contrôle et la surveillance des eaux desservies pour l'alimentation humaine et fixe la fréquence d'échantillonnage et les types d'analyses nécessaires à cette fin.

La figure 2 résume toutes les analyses effectuées sur l'eau depuis la source jusqu'au robinet.

- L'analyse de type 1 réduite « T1R » se sont les Analyses bactériologiques.
- L'analyse de type 1 complète « T1C » comme le dosage des nitrates et de cuivre.
- L'analyse de type 2 réduite « T2R » se sont les Analyses bactériologiques.
- L'analyse de type 2 complète « T2C » comme le dosage d'Arsenic et des Cyanures

- L'analyse de type 3 « T3S » comme le dosage des fluorures et du bore.
- L'analyse de type 3 « T3P » ce sont les Analyses bactériologiques.

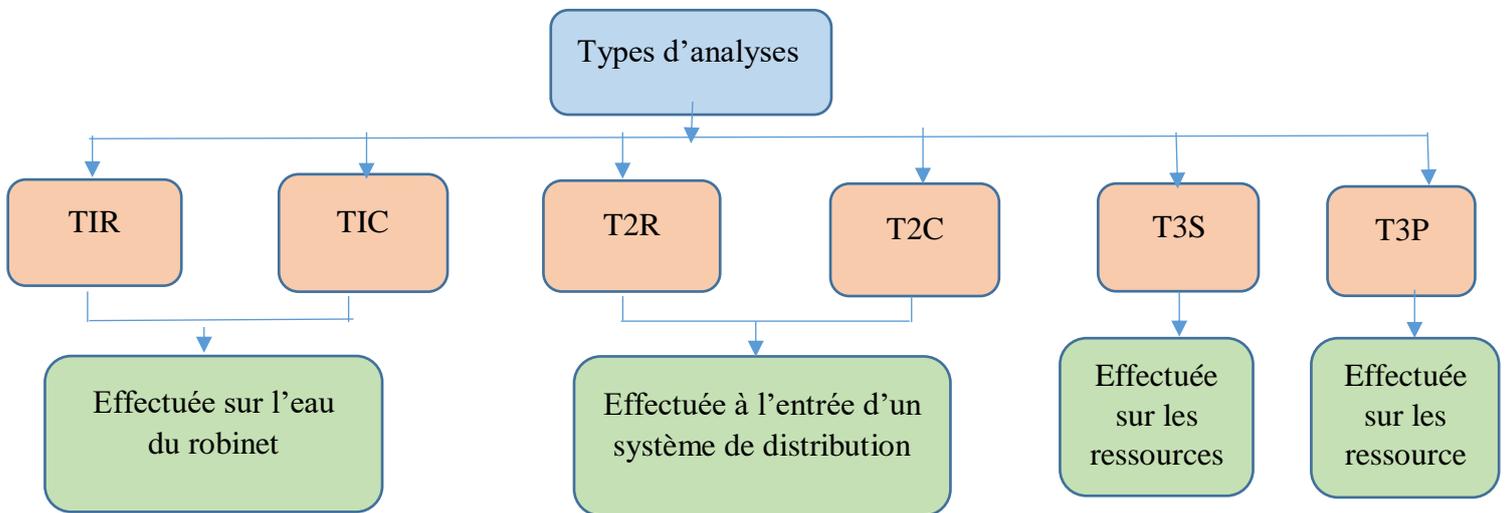


Figure 2: les types des analyses effectuées sur l'eau

I.5 Description du laboratoire régional :

Le laboratoire est divisé en deux espaces, l'un pour les analyses physico-chimiques et l'autre pour les analyses bactériologiques

➤ **Partie d'analyses chimiques et Physico-chimiques composée de :**

- Une salle des analyses physico-chimiques.
- Une salle des analyses par spectrométrie d'absorption atomique.
- Une salle pour les analyses des éléments traces par spectrométrie d'absorption atomique.
- Une salle de lavage.

➤ **Partie d'analyses bactériologiques.**

Dans cette partie on assure la marche en avant pour éviter la contamination des échantillons ; elle est constituée de :

- Une salle de préparation
- Une salle des analyses.
- Une salle d'incubation.

- Une salle de confirmation.
- Une salle de lavage et de stérilisation.
- Une salle de décontamination.

➤ **Réception des échantillons :**

Une fois les échantillons arrivent au laboratoire, ils sont réceptionnés selon une procédure bien déterminée et sont enregistrés dans un registre de réception avant d'être distribués aux paillasse concernées.

➤ **Enregistrement des résultats :**

Le laboratoire régional de Fès est doté d'un système d'information appelé GDAL (gestion des données analytiques du laboratoire) à travers lequel on établit une base de données contenant le code de l'échantillon, la date d'analyse et le résultat obtenu.

II. Procédé du traitement des eaux

Les eaux brutes doivent subir un prétraitement dans le but d'éliminer une grande quantité de la MES jusqu'à l'obtention d'une concentration en MES inférieure ou égale à 2g/l.

L'eau à traiter doit être en permanence analysée pour contrôler la variation des divers composants.

II.1 Prétraitement de l'eau

Le prétraitement de l'eau s'effectue dans la station de prétraitement située près d'OUED SEBOU selon les étapes suivantes :

- ✓ Le dégrillage
- ✓ Le relevage
- ✓ Le dessablage
- ✓ Le débouage

a. Dégrillage :

Le dégrillage est un prétraitement qui permet de retirer de l'eau les gros déchets tels que les branches, les bouteilles en plastique à travers une ou plusieurs grilles dont les mailles sont de plus en plus serrées. Les grilles sont équipées de systèmes de nettoyage automatiques pour éviter leur colmatage.



Figure 3:Grille

b. Relevage :

Le relevage est assuré par trois vis d'Archimède permettant le pompage de l'eau du fleuve vers les dessableurs avec un débit de 750 l/s.



Figure 4:vis d'Archimède

c. Dessablage :

Le dessablage est un prétraitement physique qui permet par décantation l'élimination du sable. Il concerne les particules de taille supérieure à 200 μm .



Figure 5:un dessableur

d. Débourbage :

Le débourbeur permet l'élimination des boues. On utilise cette technique lorsque la MES est supérieure à 2g/l pendant la période de crues.



Figure 6 : un déboureur

Remarque

- Si $MES \leq 2 \text{ g/L}$, l'eau brute ne subit pas le prétraitement sauf le dégrillage. Elle est pompée directement vers la station de traitement.
- Si $2 \text{ g/l} < MES < 50 \text{ g/L}$, l'eau brute subit un prétraitement puis elle est acheminée à travers une conduite de 1600 mm équipée d'une vanne à commande automatique vers la station de traitement.
- Si **MES est supérieure à 50 g/L**, il y'aura arrêt des deux stations de traitement et de prétraitement.

II.2 Traitement des eaux d'OUES SEBOU :

L'objectif de la station de traitement est l'élimination des matières colloïdales pour avoir une eau potable, selon une série d'étapes successives.

a. Pré-chloration :

C'est la première étape de traitement qui consiste à l'ajout du chlore à l'entrée de l'eau brute pour :

- Oxyder l'hydrogène sulfuré, les ions de fer et de manganèse pour les décanter sous forme de précipités.
- Détruire la matière organique pour l'amélioration du goût et de l'odeur de l'eau.
- Détruire les micro-organismes.

b. Coagulation-Floculation :

C'est un procédé physico-chimique qui facilite l'élimination des particules colloïdales.

La coagulation : est une étape de déstabilisation des particules colloïdales par l'ajout d'un réactif chimique appelé coagulant.

Il existe plusieurs coagulants qui déstabilisent les particules et les produits floccs :

- le sulfate d'aluminium $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3, 18 \text{H}_2\text{O}$
- l'aluminate de sodium NaAlO_2
- le chlorure ferrique $\text{FeCl}_3, 6 \text{H}_2\text{O}$
- le sulfate ferrique $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3, 9 \text{H}_2\text{O}$
- le sulfate ferreux $\text{FeSO}_4, 7 \text{H}_2\text{O}$

Remarque : le coagulant utilisé dans la station de traitement Ain Nokbi est le sulfate d'alumine $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3, 18 \text{H}_2\text{O}$

La floculation : est l'agglomération de particules déstabilisées par ajout d'un flocculant appelé polyélectrolyte afin d'obtenir des floccs disposant d'une masse suffisante pour leur décantation



Figure 7 : un répartiteur

Remarque : Après coagulation et floculation l'eau floculée passe vers le répartiteur qui la transporte vers six décanteurs.

c. Décantation :

La décantation consiste à l'élimination des particules en suspension dont la densité est supérieure à celle de l'eau. L'eau décantée est ensuite acheminée vers les douze filtres.



Figure 8 : un décanteur

d. Filtration sur sable :

Elle consiste au passage de l'eau à filtrée à travers un lit de sable dans le but de se débarrasser des particules en suspension non éliminées par décantation.



Figure 9 : filtres à sable

e. Désinfection :

C'est la dernière étape de traitement de l'eau dans le but de la destruction des microorganismes pathogènes. Pour cela on utilise le chlore dans la station Ain Nokbi.

La figure suivante récapitule l'ensemble de procédés du traitement de l'eau.

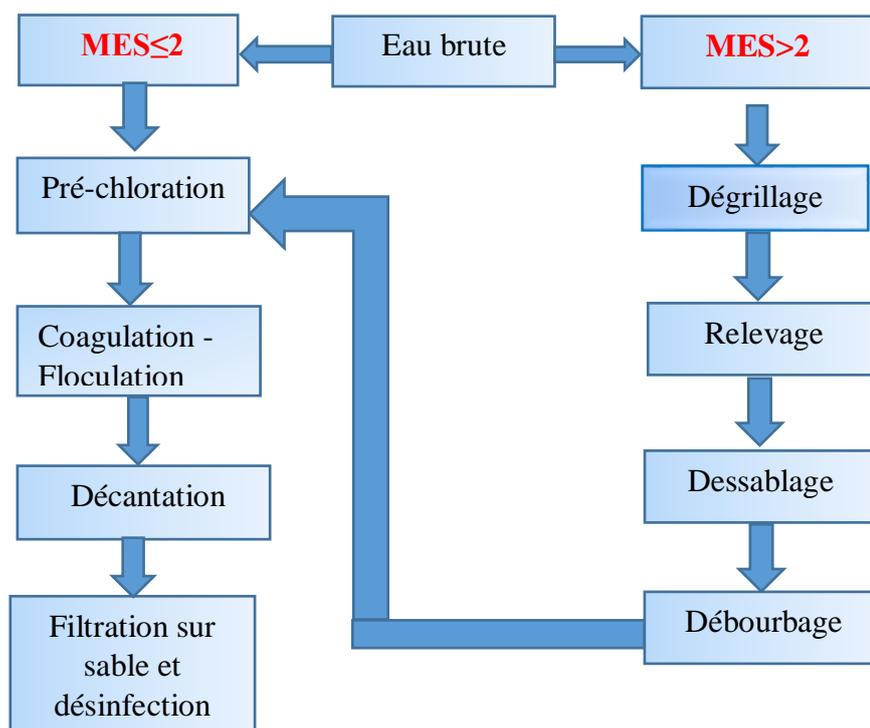


Figure 10 : Les étapes de prétraitement et traitement des eaux.

III. Analyses effectuées sur l'eau

L'eau est sous contrôle permanent à chaque étape de sa production, de son adduction à de sa distribution. Le laboratoire régional de Fès analyse les échantillons d'eau prélevée du captage

jusqu'au stockage en faisant des analyses organoleptiques, physico-chimiques et bactériologiques.

III.1 Analyses organoleptiques

Les analyses organoleptiques effectuées sont : le goût et l'odeur.

Goût : l'ensemble des sensations gustatives et de sensibilité chimique commune perçue par les organes gustatifs lorsqu'ils sont en contact avec l'eau à tester.

Odeur : l'ensemble des sensations perçues par l'organe olfactif en flairant certaines substances volatiles.

III.2 Analyses physico-chimiques :

Elles s'effectuent chaque matin, après démarrage de la station de traitement sur l'eau brute, décantée et filtrée. Elles permettent de contrôler les paramètres suivants :

Température :

La température est mesurée à l'aide d'un thermomètre ou d'une sonde son unité est le °C.

Potentiel d'hydrogène (pH) :

Il mesure la concentration des ions H^+ dans l'eau. Il traduit l'acidité ou l'alcalinité d'un milieu. La mesure de pH au sein du laboratoire est potentiométrique à l'aide d'une électrode en verre.

Tableau 2 : les caractéristiques du pH

pH<5	Acidité forte : présence d'acides minéraux ou organiques dans les eaux naturelles.
pH = 7	Eau neutre.
5.5< pH<8	Neutralité approchée : majorité des eaux de surfaces.
pH = 8	Alcalinité forte.

Remarque :

Selon NM 03.7.001, il faut que $6.5 < pH < 8.5$

Si le pH de l'eau flocculée dépasse 7.4, on ajoute du sulfate d'alumine.

Si le pH de l'eau flocculée est inférieur à 7.4, on diminue la quantité de sulfate d'alumine ajoutée.

Conductivité :

La conductivité électrique permet de déterminer la capacité d'une eau à conduire un courant électrique. Son unité est : $\mu S/cm$.

Remarque : En générale la conductivité ne doit pas dépasser 2700 $\mu S/cm$ selon la NM 03.7.001.

Turbidité :

La turbidité désigne la teneur d'un fluide en matières en suspension qui le troublent. Elle est définie par néphélométrie.

Le principe de néphélométrie consiste à mesurer la lumière dispersée par les particules en suspension dans une cellule en verre à 90° par rapport au faisceau de lumière incident.

Son unité est NTU (Unité de Turbidité Néphélométrie).

Remarque :

Selon la NM 03.7.001, il faut :

Pour l'eau décantée, la Turbidité < 5 NTU

Pour l'eau filtrée, la Turbidité < 0.5 NTU

Si la turbidité dépasse ces valeurs mentionnées, on procède à une purge des décanteurs et un lavage des filtres.

Chlore résiduel :

Le chlore résiduel est sous forme de Cl_2O , il est déterminé en ajoutant à l'eau à analyser la DPD (N,N-diéthyl-paraphénylène-diamine) sous forme d'un comprimé qui est responsable de la couleur rose.

Une comparatrice chlorométrique donne la valeur du chlore résiduel dans l'eau.

Remarque : la valeur du chlore résiduel dans l'eau de sortie de la station doit être comprise entre 0.6 et 1. Si non en ajoutant encore du chlore.

Oxydabilité au permanganate de potassium :

L'oxydabilité au permanganate de potassium (KMnO_4), mesurée après 13 min en milieu acide, à chaud, doit être inférieure ou égale à 5mg/l.

Une augmentation de cette concentration indique une contamination de l'eau par la matière organique (bactéries, végétaux en décomposition).

Alcalinité de l'eau :

Définition :

L'alcalinité de l'eau se définit comme sa capacité à réagir avec un acide. L'alcalinité est due principalement à la présence des ions carbonates (HCO_3^-), bicarbonates (CO_3^{2-}) et hydroxydes (OH^-).

Titre alcalimétrique :

Le TA correspond au dosage de la moitié des ions carbonates (CO_3^{2-}), et la totalité des ions hydroxydes (OH^-) à un $\text{pH}=8.3$ par un acide fort HCl .

Expression de résultat : **TA (en méq /l) = V (ml)**

Avec : **V** : le volume de l'acide chlorhydrique versé en ml.

Titre alcalimétrique complet TAC :

Consiste à une neutralisation totale des ions carbonates, bicarbonates et hydroxydes par un acide fort (HCl) en présence d'un indicateur coloré.

Expression de résultat : **TAC (en méq /l) = V (ml)**

Avec : **V** : le volume de l'acide chlorhydrique versé en ml.

Titre hydrotimétrique

Définition :

La dureté d'une eau est causée par la présence des ions Ca^{2+} et Mg^{2+} . C'est un dosage complexométrique par l'EDTA.

Les ions Ca^{2+} et Mg^{2+} présentes dans l'eau sont complexés par l'acide Ethylène Diamine Tétra Acétique (EDTA) qui est Noté pour plus de Commodité H_4Y . L'anion Y^{4-} est un ion complexe qui donne avec le Ca^{2+} et le Mg^{2+} des composés stables. Les réactions de complexations s'écrivent :



Expression des résultats : **TH (mg/l) = Tb \times 0.4**

Avec **Tb** : le volume d'EDTA versé

Dureté calcique :

C'est un dosage complexométrique par l'EDTA.

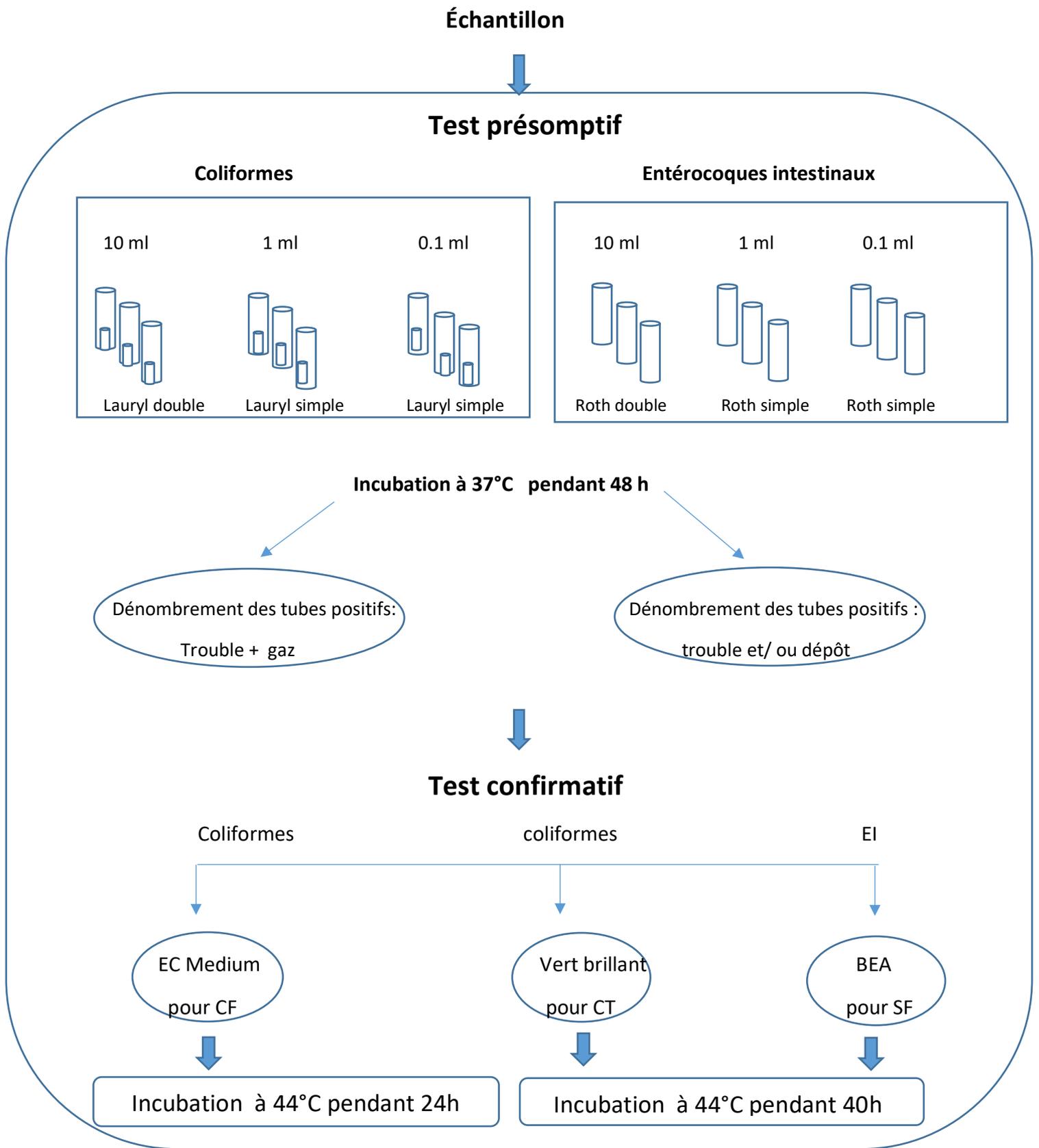


Figure 12 : les méthodes d'analyses d'eau brutes

IV. Généralités sur les nitrates et les nitrites :

IV.1 Définition :

Les nitrates (NO_3^-) : constituent la forme azotée dominante dans les cours d'eau et nappes d'eau souterraines. Ils sont issus généralement de l'oxydation de l'azote par des microorganismes localisés dans les plantes, le sol et l'eau.

Les nitrites (NO_2^-) : sont des composés intermédiaires de l'azote entre l'ammoniac et les nitrates. Apparaissant lors de la dégradation de substances azotées par des bactéries.

IV.2 Origine et sources de contamination :

Les nitrates : Les nitrates des eaux souterraines : proviennent du lessivage par l'eau de pluie des nitrates produits naturellement dans le sol superficiel, ou apportés sous forme d'engrais.

Les nitrates des eaux superficielles ont deux origines principales :

L'apport par les nappes souterraines, en rapport avec les activités agricoles et les rejets d'eaux usées urbaines.

Le lessivage par la pluie des sols agricoles, particulièrement en hiver.

IV.3 Effet des nitrates-nitrites sur la santé :

Les nitrates eux-mêmes ne sont pas toxiques. C'est la conversion du nitrate en nitrite qui peut avoir des effets négatifs sur la santé. Dans le sang, la présence de ces nitrites conduit à la formation de méthémoglobine, un type d'hémoglobine qui ne peut pas transporter l'oxygène.

D'où la nécessité de la validation de la méthode du dosage des nitrates.

V. Validation d'une méthode d'analyse :

V.1 Définition :

La validation selon la norme ISO 17025 est la procédure par laquelle on démontre, preuves expérimentales à l'appui, que les performances de la méthode permettent de répondre aux exigences de l'usage auquel elle est destinée.

Elle permet d'obtenir des résultats qui seront utiles pour une prise de décision.

V.2 Critères de la validation :

La validation d'une méthode d'analyse entraîne la détermination de plusieurs paramètres :

Limite de détection : concentration minimale qui peut être détectée à l'aide d'une méthode d'analyse avec une fiabilité définie. Elle est équivalente à 3 fois l'écart type S calculé à partir d'au moins 10 mesures effectuées sur des solutions témoins ou sur des solutions étalon ayant une concentration aussi près que possible de la limite de détection.

$$\boxed{LDM=3\times S} \quad \text{Avec } S : \text{écart type}$$

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

- L'estimation de la LDM
- L'établissement de la LDM
- L'évaluation de ratio de conformité

Limite de quantification : concentration minimale qui peut être quantifiée à l'aide d'une méthode d'analyse avec une fiabilité définie. Elle est équivalente à 10 fois l'écart type S obtenue lors de l'établissement de la LDM.

$$\boxed{LQM= 10\times S} \quad \text{Avec } S : \text{écart type}$$

Fidélité :

C'est l'étroitesse de l'accord entre les résultats obtenus en appliquant le procédé expérimental à plusieurs reprises dans des conditions déterminées. Cette caractéristique s'exprime sous forme de réplicabilité, répétabilité ou de reproductibilité.

Réplicabilité : 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 avec le même appareil pendant le même jour.

Répétabilité : 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 : l'analyste, l'appareil, le jour.

Reproductibilité : 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.

Justesse :

C'est l'étroitesse de l'accord entre la valeur certifiée par un organisme reconnu et le résultat moyen qui serait obtenu en appliquant le procédé expérimental un grand nombre de fois. Elle s'exprime par l'erreur relative définie par l'équation suivante :

$$\text{Justesse (\%)} = 100 - |\text{Erreur relative (\%)}|$$

$$\text{Avec} \quad \text{Erreur relative (\%)} = \frac{V_c - V_0}{V_c} \times 100$$

Où V_c : valeur certifiée

V_0 : moyenne des valeurs obtenues

Sensibilité :

La sensibilité à une concentration donnée correspond au rapport de la variable de la grandeur mesurée à la valeur correspondante de la concentration de l'élément à doser.

Pourcentage de récupération :

Le pourcentage de récupération permet d'identifier, pour un échantillon donné ou un type de matrice donné et à un niveau de concentration donné, la présence d'interférence potentielle lors du processus d'analyse.

Le taux de récupération correspond à la différence (en pourcentage) entre la concentration mesurée d'un échantillon fortifié et la concentration mesurée du même échantillon non fortifié, divisée par la concentration de la substance ajoutée. Ce rapport tient compte de la transformation chimique qui s'est produite, s'il y a lieu. Un minimum de cinq essais est demandé pour l'évaluation d'une méthode d'analyse.

Partie expérimentale :

VI. Validation de la méthode du dosage des nitrates par spectrophotométrie UV visible.

Principe de spectrophotométrie :

Soit une lumière monochromatique traversant une solution absorbante de concentration C contenue dans une cuve d'épaisseur l . Une partie de ce rayonnement sera absorbée par l'échantillon et une partie sera transmise selon la loi de Beer-Lambert :

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon l c$$

A : L'absorbance ou la densité optique de la solution pour une longueur d'onde λ .

c : La concentration de l'élément à doser (mol.l^{-1}).

l : La longueur du trajet optique traversée par le faisceau lumineux (cm).

ϵ : Le coefficient d'extinction molaire ($\text{L.mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$).

I_0, I : Intensités du faisceau incident et transmis

VI.1 Appareillage et matériel :

Une ampoule à décanter en verre.

Un spectrophotomètre UV visible permettant des mesures à une longueur d'onde de 540 nm équipé de cuves de 10 mm d'épaisseur.

Fioles jaugées de classe A.

Bécher de 100ml

Pipettes jaugées de classe A.

Pipettes graduées de classe A.

Pipettes automatiques

Eprouvette de classe A.

VI.2 Réactifs et étalons :

Certains réactifs et produits utilisés sont dangereux et même toxiques.

- ✓ Cadmium de granulométrie 0.5 à 1.5 mm
- ✓ Solution de sulfates de cuivre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) à 2%

Cette solution se conserve au maximum 6 mois.

- ✓ Acide chlorhydrique HCl de normalité 2N :

Ces solutions se conservent au maximum 6 mois.

- ✓ Solution NaOH 3N :

Cette solution se conserve au maximum 6 mois.

- ✓ Solution tampon concentrée
- ✓ Solution tampon diluée
- ✓ Réactif sulfanilique.

Cette solution se conserve au maximum 6 mois.

- ✓ Solution de di chlorhydrate de N-(naphtyl 1) diamine 1,2 éthane (NED)
- ✓ Solution étalon de nitrates

Dissoudre 1,3707g de NaNO_3 préalablement séché pendant 24h à 105°C dans 1000ml d'eau distillée.

Cette solution est préparée le jour de son utilisation.

- ✓ Solution étalon de contrôle 2 mg NO_3^-/L

Dans une fiole jaugée de 50 ml, introduire à l'aide d'une pipette 10 ml de la solution intermédiaire de 10 mg NO_3^-/L et compléter au trait de jauge avec de l'eau distillée.

Cette solution est préparée le même jour de son utilisation.

- ✓ Solution de vérification du rendement de la colonne de cadmium

Solution étalon de Nitrites 1000 mg NO_2^-/L

Solution étalon de Nitrites 10 mg NO_2^-/L :

Dans une fiole de 100 ml, introduire à l'aide d'une pipette 1 ml de la solution étalon de 1000 mg NO_2^-/L . Compléter au trait de jauge avec l'eau distillée.

Cette solution est préparée le même jour de son utilisation.

Solution 0.743 mg NO₂⁻/L (0.226 mg N-NO₂/L):

Dans une fiole jaugée de 50 ml, introduire à l'aide d'une pipette 3,7 ml de la solution intermédiaire de 10 mg NO₂/L et compléter au trait de jauge à l'aide de l'eau distillée.

Cette solution préparée le même jour de son utilisation.

- ✓ Matériau de référence certifié (MRC)

VI.3 Mode Opérateur :

a. Préparation du cadmium : Laver 60g de cadmium avec de l'acide chlorhydrique 2N, puis rincer abondamment avec l'eau distillée. Mélanger avec 200ml de sulfate de cuivre à 2% pendant 5min jusqu'à disparition de la coloration bleu. Laisser décanter et répéter l'opération avec une nouvelle solution de sulfate de cuivre jusqu'à apparition d'un précipité colloïdale brune. Laver ensuite abondamment avec l'eau distillée au moins 10 fois jusqu'à élimination totale du précipité de cuivre.

b. Remplissage de la colonne : Placer un tampon de laine de verre en bas de la colonne, remplir la colonne avec de l'eau, verser le garnissage (Cd-Cu) par petites portions de façon à avoir une hauteur 25 cm de (Cd-Cu) dans la colonne. Maintenir le niveau d'eau en dessus du garnissage. Laver la colonne avec 400ml de la solution tampon diluée.

C. Traitement des échantillons :

Procéder de la même manière pour le blanc, les étalons et les échantillons d'eaux.

Ajouter à 50 ml de la prise d'essai (ou sa dilution), 1.25ml de la solution tampon concentrée, mélanger, Percoler l'échantillon à travers la colonne à un débit de 7à10ml par min. Jeter les 25 premiers ml de l'éluant en récupérant le reste dans un flacon originale, ajouter 1 ml du réactif sulfanilique et 1 ml du NED.

Au moins 20min après ajout du réactif et sans dépasser 2h, on mesure l'absorbance de la solution à la longueur d'onde 540nm dans une cuve de 10mm d'épaisseur. En utilisant l'eau distillée comme référence.

Remarque : Le passage des solutions à travers la colonne de Cd-Cu permet de la réduction des nitrates en nitrites.

c. Gamme d'étalonnage :

Dans une série de fioles jaugées, introduire à l'aide de pipettes, les volumes suivants de la solution étalon intermédiaire de 10 mg NO₃⁻/L et compléter au trait de jauge.

Tableau 3 : la méthode de préparation des étalons.

Solution-Etalon	Concentration finale En mgNO ₃ ⁻ /L	Volume introduit (ml)	Volume final (ml)
Blanc	0	0	50
E1	0.5	2.5	50
E2	1.0	5	50
E3	2.0	10	50
E4	4.0	20	50

Tableau 4: les Absorbances des solutions étalon.

Solution-Etalon	Concentration En mgNO ₃ ⁻ /L	Absorbance
Blanc	0	0.000
E1	0.5	0.344
E2	1.0	0.659
E3	2.0	1.346
E4	4.0	2.396

VI.4 Courbe d'étalonnage :

La courbe d'étalonnage représente la concentration des solutions étalons en fonction des Absorbances mesurées.

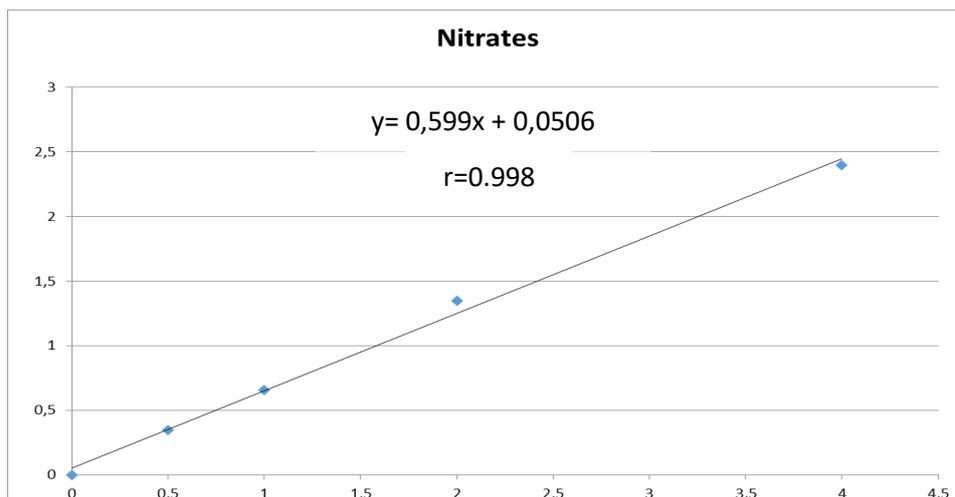


Figure 13 : La courbe d'étalonnage

Avec $m = 0,599$: la pente de la courbe.

$b = 0,0506$: l'ordonnée à l'origine.

r : le coefficient de corrélation linéaire.

La courbe d'étalonnage est retenue lorsque $r \geq 0,995$

Et puisqu'on a $r = 0,998$ D'où cette courbe d'étalonnage est retenue.

VI.5 Détermination de la limite de détection et la limite de quantification :

Le tableau ci-dessous représente les absorbances des 10 solutions du même échantillon préparées selon le mode opératoire du dosage des nitrates.

Tableau 5:les Absorbances des solutions du même échantillon

Echantillon :		1342/501 1/10	
Essai	Date de l'analyse	Absorbance	Sommaire
1	30/05/2022	0,188	moyenne
2	30/05/2022	0,195	0,1867
3	30/05/2022	0,194	Ecart type
4	30/05/2022	0,192	0,0074
5	30/05/2022	0,178	LDM
6	30/05/2022	0,193	0,0222
7	30/05/2022	0,185	R
8	30/05/2022	0,173	8
9	30/05/2022	0,181	LQM
10	30/05/2022	0,188	0,0739

La moyenne X :

$$\bar{X} = \sum X_i / n$$

X_i : absorbance

n : nombre de mesures effectuées

$$m = 0.188 + 0.195 + 0.194 + 0.192 + 0.178 + 0.193 + 0.185 + 0.173 + 0.181 + 0.188 / 10$$

D'où **m = 0.1867**

Limite de détection LDM :

$$LDM = 3 \times S \quad \text{d'où} \quad LDM = 0.0222 \text{ ppm}$$

Limite de quantification LQM :

$$LQM = 10 \times S \quad \text{d'où} \quad LQM = 0.0739 \text{ ppm}$$

Le Ratio de conformité :

$$\text{On a } R = \bar{X} / LDM \quad \text{Alors } R = 8$$

D'où la concentration de la matrice utilisée est adéquate car $4 \leq R \leq 10$

VI.6 Fidélité :

a. Réplicabilité :

Elle est déterminée par la mesure de l'absorbance de 10 solutions préparées suivant le mode opératoire des nitrates, dans le même laboratoire, exécutée par le même analyste avec le même appareil durant le même jour.

Tableau 6: Analyse des Absorbances des solutions par réplicabilité

Echantillon :	1342/501 1/10		
Essai	Date de l'analyse	Absorbances	Sommaire
1	30/05/2022	0,188	moyenne
2	30/05/2022	0,195	0,19
3	30/05/2022	0,194	
4	30/05/2022	0,192	Ecart type
5	30/05/2022	0,178	0,007
6	30/05/2022	0,193	
7	30/05/2022	0,185	réplicabilité
8	30/05/2022	0,173	Int. conf 95%
9	30/05/2022	0,181	0,005 + - 2,8%
10	30/05/2022	0,188	

On a déterminé un degré de confiance de 95%.

☞ Détermination de la limite de confiance supérieure et la limite de confiance inférieure :

1-Détermination de l'intervalle de confiance par la méthode de Student :

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

t : constante dépendant du degré de confiance **désiré**

n : le nombre de mesures effectuées

S : l'écart type

m : la moyenne

On a **Q : degré de liberté** avec $Q = n - 1 = 9$

D'après (**Annexe 1**) on a $t = 2.262$ pour un degré de confiance de 95%

Donc $\mu = 0.19 \pm 2.262 \times 0.007 / \sqrt{10}$

D'où $[0.184 - 0.195]$ est l'intervalle de confiance pour un degré de confiance 95%

Avec 0.184 ppm est la limite de confiance inférieure.

0.195 ppm est la limite de confiance supérieure.

On remarque que la moyenne apparaisse dans l'intervalle de confiance cela veut dire qu'on est confiant que la moyenne obtenue est vraie.

b. Répétabilité :

Elle est déterminée par la mesure des absorbances des 10 solutions préparées selon le mode opératoire du dosage des nitrates en modifiant le jour de l'analyse durant 10 jours.

Tableau 7:Analyse des Absorbances par répétabilité

Echantillon :	1342/501 1/10		
Essai	Date d'analyse	Absorbance	Sommaire
1	30/05/2022	0,188	moyenne
2	2/06/2022	0,186	0,18
3	03/06/2022	0,174	
4	06/06/2022	0,177	Ecart type
5	07/06/2022	0,181	0,007
6	08/06/2022	0,192	
7	09/06/2022	0,185	répétabilité int. conf. 95%
8	13/06/2022	0,178	
9	15/06/2022	0,174	0,005 +- 2,7%
10	17/06/2022	0,171	

Détermination l'intervalle de confiance pour un degré de confiance de 95%.

Selon la méthode de student :

$$\mu = 0,18 \pm \frac{2,262 \times 0,007}{\sqrt{10}} \quad \text{donc} \quad \mu = 0,18 \pm 0,005$$

D'où [0,175-0,185] est l'intervalle de confiance pour un degré de confiance de 95%.

On remarque que 0,18 est inclus dans cet intervalle cela veut dire on est confiant que cette moyenne est vraie.

VI.7 Justesse :

Elle déterminée en examinant un matériel de référence certifié un grand nombre de fois.

Tableau 8: résultats d'Analyse du matériau de référence certifiée.

Echantillon (autre source) : Echantillons de MRC (matériau de référence certifié)

Essai	Date de l'analyse	Résultat analytique en concentration massique ou %	Sommaire
1	30/05/2022	102,5	valeur vraie
2	02/06/2022	104,5	100,0
3	03/06/2022	107	moyenne
4	06/06/2022	102,5	104,3
5	07/06/2022	104	Ecart type
6	08/06/2022	105	1,81
7	09/06/2022	103	erreur relative
8	13/06/2022	102,5	
9	15/06/2022	107,5	+ - 0,04
10	17/06/2022	104	+ - 4,3%

Calcul de l'erreur relative :

$$\text{Erreur relative (\%)} = \frac{100 - 104.3}{100} \times 100 \quad \text{D'où Erreur relative (\%)} = 4.3\%$$

$$\text{Justesse (\%)} = 100 - 4.3 = 95.7\%$$

VI.8 Sensibilité :

La sensibilité est déterminée par réalisation de la courbe d'étalonnage.

Tableau 9: Détermination de la sensibilité

Essai	Date	Plage de concentration.	Pente	r
1	30/05/2022	0.5-4.0 mg/l	0,5990	0,9980
2	08/06/2022	0.5-4.0 mg/l	0,6031	
3	17/06/2022	0.5-4.0 mg/l	0,6255	
Valeur moyenne de la pente:			0,6092	0,9980

☞ **La sensibilité = la valeur moyenne de la pente des courbes d'étalonnages.**

r : le coefficient de corrélation linéaire

La qualité de l'étalonnage est vérifiée par le coefficient de corrélation linéaire. Dans notre cas on a $r=0.998$ ce qui représente une bonne qualité d'étalonnage.

Remarque : si $r \geq 0.995$, la courbe d'étalonnage est retenue.

Tableau 10: les critères d'acceptation des données de validation

Récapitulatif des Critères d'acceptation des données de validation			
paramètre	Critère	Résultats	Conformité
LDM	$4 \leq \text{Ratio} \leq 10$	8	conforme
Répliquabilité	$R\% \leq 10\%$	+ - 2,8%	conforme
Répétabilité	$R\% \leq 10\%$	+ - 2,7%	conforme
Justesse	10	+ - 4,3%	conforme
Sensibilité		0,6092	conforme
Rendement	≥ 80	84,0%	conforme

Vérification du rendement de la colonne :

L'efficacité de la réduction du Cd-Cu doit être vérifiée en comparant l'absorbance obtenue après réduction d'un étalon de nitrates à celle d'une solution étalon de nitrites ayant la même concentration en N (0.226 mg N/L) avec un débit de 7 à 10 ml/min.

Le facteur de rendement de la colonne doit être supérieur ou égale à 80%.

On a $F = \frac{\text{Abs}(\text{NO}_3^-)}{\text{Abs}(\text{NO}_2^-)} \times 100$ et puisqu'on a $\text{Abs}(\text{NO}_3^-) = 0,651$
 $\text{Abs}(\text{NO}_2^-) = 0,776$

Avec :

- $\text{Abs}(\text{NO}_3^-)$: l'absorbance de la solution étalon de nitrates après réduction
- $\text{Abs}(\text{NO}_2^-)$: l'absorbance de la solution étalon de nitrites ayant la même concentration en azotes que la solution étalon de nitrates.

Donc $F = 84\%$ et par conséquent cette colonne est efficace.

Conclusion :

Dans le cadre du projet de fin d'études, réalisé au laboratoire régional de l'ONEE-BO, nous avons travaillé sur la validation de la méthode du dosage des nitrates dans l'eau par spectrophotométrie d'UV visible.

D'après l'étude de l'ensemble des critères de validation d'une méthode d'analyse :

- ✓ La courbe d'étalonnage
- ✓ La limite de détection et de quantification
- ✓ La fidélité et la justesse
- ✓ La sensibilité.

On remarque que tous ces paramètres sont conformes aux critères d'acceptation des données de validation adoptés par l'ONEE-BO. Donc la méthode du dosage des nitrates est validée.

Ce stage a été pour moi une occasion, d'une part, d'approfondir mes connaissances dans le domaine de contrôle de qualité de l'eau et les procédés de traitement utilisés dans la station, ainsi que le protocole utilisé pour la validation des méthodes d'analyse. D'autre part j'ai pu développer des compétences professionnelles et relationnelles avec l'équipe du laboratoire de l'ONEE-BO.

Annexe 1 : Valeur du t de student pour un intervalle bilatéral à un seuil de confiance de 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

Références bibliographiques :

Norme marocaine de la qualité des eaux d'alimentation humaine

Manuels des analyses physico-chimiques et bactériologiques de l'ONNE-BO

<https://hmf.enseeiht.fr/travaux/CD0304/optsee/bei/5/binome4/coag.htm>

<https://www.quebec.ca/agriculture-environnement-et-ressources-naturelles/eau-potable/contamination-de-l-eau-potable-d-un-puits/nitrates-nitrites#>

Manuel de protocole de la validation selon l'ONEE-BO