

LISTE DES ABREVIATIONS

- \bar{x} : La moyenne arithmétique d'une série de mesures
- x_i : les mesures individuelles
- n : le nombre de répétitions
- S : l'écart type d'une série de mesures
- S^2 : la variance
- t_{95} : la valeur donnée par la table de Student
- C : la concentration connue
- m : la moyenne obtenue lors d'une série de concentration
- σ ou σ' : l'écart type à calculer
- A : est l'absorbance correspondant à la concentration connue,
- m' : la moyenne obtenue lors d'une série de l'absorbance
- LDM : la limite de détection d'une méthode
- LQM : la limite de quantification d'une méthode
- LL : la limite de linéarité
- K : le nombre de niveaux de concentration
- x_{Ref} : la valeur de référence accepté
- \bar{x}_l : la valeur moyenne obtenue à partir d'une large série de résultats d'essais
- U_i : l'écart type de la valeur x_i
- U_{Ref} : l'écart type de la valeur x_{Ref}
- E_N : l'écart normalisé de la justesse
- $t_{(0,95 ; n-1)}$: la valeur indiquée de la table de Student pour un niveau de confiance de 95% correspondant au nombre de $n-1$ mesures.
- S_1 : écart type d'une série de mesure se référant à la replicabilité
- S_2 : écart type d'une série de mesure se référant à la répétabilité
- S_3 : écart type d'une série de mesure se référant à la reproductibilité
- ϵ : est le coefficient d'extinction molaire ($\text{l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)
- L : est le chemin optique.
- I/I_0 : le rapport de la transmission (aussi appelée « transmittance » et notée T)
- D : la densité optique
- ΔC : la variation de la concentration (mg/l)
- ΔA : la variation de l'absorbance correspondance

LISTE DES TABLEAUX

Tableau n° I : Etalonnage des ions nitrites NO_2^-

Tableau n°II : Etalonnages des ions nitrates NO_3^-

Tableau n°III: Représentation des résultats des essais de la détermination de la teneur en nitrite

Tableau n°IV: Représentation de la valeur minimale de la concentration du dosage en nitrite

Tableau n°V: Représentation des résultats en vue de l'évaluation de la linéarité et de la sensibilité de la teneur en nitrite

Tableau n°VI: Représentation des résultats en vue de l'évaluation de la justesse de la teneur en nitrite

Tableau n°VII: Résultats en vue de l'estimation de réplicabilité de la teneur en nitrite

Tableau n°VIII: Résultats en vue de l'estimation de répétabilité de la teneur en nitrite

Tableau n°IX: Résultats en vue de l'estimation de reproductibilité de la teneur en nitrite

Tableau n°X: Résultats des essais de la détermination de teneur en nitrate

Tableau n°XI: Représentation de la valeur minimale de la concentration du dosage en nitrate

Tableau n°XII: Résultats en vue de l'évaluation de la linéarité et de la sensibilité de la teneur en nitrate

Tableau n°XIII: Résultats en vue de l'évaluation de la justesse de la teneur en nitrate

Tableau n°XIV : Résultats en vue de l'estimation de réplicabilité de la teneur en nitrate

Tableau n°XV: Résultats en vue de l'estimation de répétabilité de la teneur en nitrate

Tableau n°XVI: Résultats en vue de l'estimation de reproductibilité de la teneur en nitrate

Tableau n°XVII : Evaluation de La linéarité et de la sensibilité des ions nitrites

Tableau n°XVII: Evaluation de la justesse des ions nitrites

Tableau n°XIX: Evaluation de la spécificité et de la sélectivité des ions nitrites

Tableau n°XX: Evaluation de La linéarité et de la sensibilité des ions nitrates

Tableau n°XXI: Evaluation de la justesse des ions nitrates

Tableau n°XXII : Evaluation de la spécificité et de la sélectivité des ions nitrates

Tableau n°XXIII: Récapitulation des résultats de la méthode de Zambelli

Tableau n°XXIV : Récapitulation des résultats de la méthode de Salicylate de sodium

LISTE DES FIGURES

Figure n° 01: Courbe d'étalonnage des ions Nitrites

Figure n°02 : Courbe d'étalonnage des ions Nitrates

Figure n°03 : Diagramme de la linéarité et de la sensibilité des ions nitrites

Figure n°04 : Diagramme de la linéarité et de la sensibilité des ions nitrates

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Dans le domaine de la recherche scientifique, l'évolution de la technique d'analyse ne cesse pas de s'améliorer surtout dans les activités de mesure d'échantillon dans un laboratoire. Pourtant les laboratoires d'analyses chimiques ont une longue expérience et une longue tradition concernant leur méthode d'analyse mais éprouve parfois des difficultés pour évaluer l'incertitude de la mesure effectuée. Parmi celle-ci, la statistique appliquée apporte une grande opportunité dans le cas où on rencontre des problèmes de fiabilité des résultats de mesures. Elle offre une méthode de validation de mesure pour évaluer l'incertitude de résultats obtenus. En effet, cette étude caractérise les performances des méthodes d'analyse statistique en évaluant au travers des travaux expérimentaux. Afin de s'assurer de l'efficacité de la méthode spectrophotométrique appliquée à l'hydrologique, nous allons utiliser l'analyse statistique. L'intérêt de ce travail est donc démontré que la méthode mise en œuvre utilisée par le laboratoire est fiable et les résultats obtenus doivent être efficace et apte à l'emploi au besoin du client d'où s'intitule « étude de la validation des méthodes d'analyse des eaux dans un laboratoire hydrologique »

Ainsi, les travaux réalisés dans le cadre de ce mémoire se divisent en trois parties, à savoir : La première partie est consacrée aux contextes de la partie théorique qui font l'objet de rappel des travaux antérieurs et actuels effectués. La deuxième partie décrit la partie expérimentale qui présente les résultats d'analyses effectués selon les méthodes étudiées et le calcul pour la validation d'une méthode d'analyse en chimie. Et la troisième partie porte sur l'interprétation des résultats obtenus.

**1^{ère} PARTIE : ETUDE
BIBLIOGRAPHIQUE**

Rapport-Gratuit.com

CHAPITRE I- PRESENTATION DU THEME D'ETUDE

I-L'objectif de travail

Cette étude entre dans le cadre de la recherche des méthodes fiables menée par le laboratoire central de la JIRAMA « Jiro sy Rano Malagasy » à Mandrozeza Antananarivo dans sa démarche qualité.

L'objectif principal de l'étude consiste à évaluer deux méthodes spectrophotométriques en termes d'analyse de nitrites et nitrates au laboratoire d'analyse hydrologique. Le but est de s'assurer de l'efficacité des mesures par la validation de la méthode elle-même. Il s'agit plus précisément d'évaluer la réponse obtenue par une série de mesures expérimentales pour démontrer que la méthode mise en œuvre par le laboratoire est apte à l'emploi prévu au besoin du client.

II-Méthodologie générale :

II-1 Les performances d'une méthode d'analyse [1]

Depuis de très nombreuses années, l'approche des chimistes a été de caractériser les performances des méthodes d'analyse par évaluation de leurs caractéristiques à travers des travaux expérimentaux.

Ces caractéristiques sont décrites dans différents ouvrages ou documents qui sont généralement publiés dans des normes régionales, nationales ou internationales par des organisations techniques réputées ou des revues scientifiques spécialisées. Les prescriptions particulières en vue d'une utilisation prévue déterminée sont remplies par la norme internationale ISO/CEI 17025.

Voici la liste des caractéristiques les plus souvent citées :

- ✚ Sélectivité, spécificité
- ✚ Réplicabilité
- ✚ Répétabilité
- ✚ Reproductibilité
- ✚ Linéarité
- ✚ Sensibilité
- ✚ Capacité de détection
- ✚ Robustesse
- ✚ Justesse

II-2 Procédure de contrôle qualité

Beaucoup de problèmes d'analyse sont plus faciles à résoudre lorsque la méthode analytique utilisée sur des substances à analyser doit être appliquée et accompagnée de procédure de contrôle qualité. Cependant, quelle que soit la complexité du problème, le chimiste doit savoir la procédure de contrôle qualité.

Les descriptions détaillées ci-dessous sont donc des preuves documentaires à appliquer pour représenter cette procédure de contrôle qualité et pour assurer l'homogénéité de résultats obtenus.

Les méthodes :

- Effectuer des essais à blanc au préalable
- Utiliser des méthodes normalisées (type AFNOR par exemple)
- Effectuer un étalonnage de la méthode à utiliser

Utilisation des appareils analytiques et des réactifs chimiques analytiques :

- Utiliser des poids étalons ou effectuer un étalonnage des balances analytiques
- Effectuer un étalonnage de la verrerie (pour déceler les défauts de fabrication et pour supprimer les effets de la température)
- Effectuer un étalonnage du matériel de mesure
- Effectuer un étalonnage des titres des réactifs chimiques à utiliser

Les manipulations et les qualités de l'opérateur :

- Il est strictement exigé d'apporter des soins à la conduite des opérations et surtout des lectures des résultats
- Augmenter le nombre des essais et appliquer les méthodes statistiques de test pour éliminer les erreurs aberrantes

CHAPITRE II-LA METHODE D'ANALYSE [2]

Les résultats des analyses doivent être rattachés au choix de la méthode d'analyse avec un point de référence quantitatif. Le choix de la méthode d'analyse doit donc tenir compte de la nature des résultats recherchés. On doit connaître les caractéristiques de performance "interne" d'une méthode analytique pendant la période considérée lorsqu'on l'utilise sur des substances à analyser. Les principales spécifications techniques que l'on doit prendre en considération sont les suivantes:

I- La Précision

La précision est une absence d'erreur systématique, autrement dit c'est l'étroitesse de l'accord entre les résultats de plusieurs dosages et la valeur "vraie", en particulier lorsqu'ils sont proches de la concentration qui déclenche une intervention ou, pour une enquête, lorsqu'ils sortent de la fourchette des concentrations prévues.

II- La Fidélité

La fidélité est une étroitesse de l'accord entre les dosages indépendants répétés concernant une même substance, en particulier à des concentrations proches de celles qui déclenchent une intervention ou, pour une enquête, dépassent la fourchette des concentrations attendues.

III- La limite de détection

La limite de détection sert essentiellement à définir le domaine minimal de l'utilisation de la méthode d'analyse. Elle a une importance sur la façon de rapporter les résultats, notamment lorsque les valeurs estimées du mesurande sont inférieures à la limite de détection.

IV- La limite de dosage

La limite de dosage s'exprime comme le plus faible niveau auquel une concentration peut être mesurée avec un degré de confiance donné.

V- La 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

VI- La Spécificité

La Spécificité mesure l'influence dans laquelle d'autres substances (connues) peuvent donner lieu à un signal parasite.

VII- Le champ d'application

Le champ d'application est une gamme de matrices auxquelles s'appliquent les caractéristiques de performance. Par exemple, pour le dosage colorimétrique des ions nitrite et nitrate, la méthode d'analyse est basée sur un changement de couleur lors de l'équivalence, cette méthode s'utilise lors du dosage d'oxydoréduction et la mesure est applicable sur une gamme de concentrations bien définie.

VIII- La Fiabilité

La Fiabilité dépend relativement des compétences de l'opérateur, de la bonne représentativité de l'échantillon utilisée et de l'efficacité de l'instrument.

CHAPITRE III LES PROCEDURES D'ANALYSE DE L'EAU DANS UN LABORATOIRE CHIMIQUE [3]

Toute méthode d'analyse hydrologique doit utiliser différentes procédures pour obtenir un résultat qui soit une estimation correcte de la concentration moyenne réelle du produit analysé. Les procédures d'analyses sont donc les suivants

- ✚ Le contrôle d'échantillonnage
- ✚ La préparation de la solution
- ✚ L'étalonnage
- ✚ La traçabilité

I- Contrôle d'échantillonnage

Pour assurer l'homogénéité de l'état physique des certains échantillons, il faut stocker pendant une durée déterminée avant que l'analyse se commence. On prend généralement des mesures très simples: stockage à basse température, élimination de l'oxygène, élimination de l'humidité, élimination de l'évaporation, conservation à l'abri de la lumière et limitation de la durée de stockage. Comme un gain ou une perte d'eau modifie la composition chimique des réactifs, il est souvent judicieux de sécher les échantillons justes avant de commencer une analyse.

Dans certains cas, il peut être important de s'assurer que la prise d'essai est représentative de l'échantillon reçu et que les résultats d'une série de prises d'essai prélevées dans un même échantillon présentent un accord au degré attendu des caractéristiques connues de répétabilité de la méthode.

II- Mise en solutions des échantillons

La plupart des analyses s'effectuent sur des solutions de l'échantillon. Idéalement, le solvant doit dissoudre rapidement la totalité de l'échantillon. Les conditions de dissolution doivent être suffisamment performantes pour éviter toute perte d'échantillon.

III- Le blanc

Un blanc est une solution qui contient le solvant et tous les réactifs utilisés lors d'une analyse, à l'exception de l'échantillon lui-même.

Les dosages à blanc sont utilisés pour détecter certains types d'erreurs constantes. Dans une mesure à blanc, ou blanc, toutes les étapes de l'analyse sont effectuées en l'absence d'échantillon. Les résultats du blanc sont utilisés pour corriger les mesures sur l'échantillon. **Les dosages à blanc révèlent les erreurs dues à des contaminants interférant provenant des réactifs et des récipients utilisés pour l'analyse.** Les blancs permettent également de corriger les données de titrages en évaluant l'excès de réactifs requis pour détecter le virage de l'indicateur au point de fin de titrage.

IV- Mesure et étalonnage de mesure

Pour déterminer la qualité de mesure dans chaque échantillon, on a utilisé un appareil qui mesure l'intensité de la couleur. Cet appareil affiche un nombre, appelé absorbance, qui dépend de l'intensité de la couleur et qui est proportionnel à la concentration de la substance responsable de la couleur ; pour utiliser l'absorbance à des fins analytiques, il faut préparer une courbe d'étalonnage en mesurant l'absorbance d'une série de solution étalons qui contiennent des concentrations connues du complexe à déterminer. L'étalonnage est donc la détermination empirique de la relation qui lie la quantité mesurée ou « l'absorbance » et la concentration d'étalon. Notons que l'étalonnage de mesure est réalisé avec de réactif d'étalon.

V- Traçabilité de mesure

La traçabilité détermine la propriété du résultat d'un mesurage ou d'un étalon tel qu'il puisse être relié à des références déterminées.

Afin de s'assurer que le chiffre communiqué est exact, la procédure d'analyse doit être fondée sur une "étalon", à laquelle on peut remonter directement à partir de la valeur mesurée. Dans un grand nombre de cas, cette "substance-étalon" sera un échantillon de la substance recherchée pure. La traçabilité est ensuite fondée habituellement sur des preuves telles que:

- La balance correctement étalonnée fonctionne convenablement

- la verrerie (pipette, flacons mélangeurs, etc.) a été bien stérilisée pour vérifier la pureté de la matière-étalon primaire
- la longueur d'onde et l'absorbance des instruments doivent être étalonnées afin de vérifier de la matière-étalon primaire
- la preuve de comparaison de la mesure analytique à la réponse issue d'une substance-étalon doit être vérifiée et que toutes les mesures analytiques ont été effectuées à l'intérieur de cette gamme linéaire
- la traçabilité des caractéristiques globales de performance de la méthode analytique. doit toujours être vérifiable à partir des annotations documentaires.

CHAPITRE IV-LES ERREURS DANS LES ANALYSES CHIMIQUES

D'une façon générale, il est possible de distinguer deux types d'erreurs. Ils peuvent être dus soit à la méthode analytique, soit à la méthode d'échantillonnage. Pour déceler ces erreurs et pour améliorer par la suite la précision des résultats analytiques, l'emploi des méthodes statistiques est recommandé.

Les deux types d'erreurs sont :

- L'erreur systématique
- L'erreur aléatoire

I- L'erreur systématique [4]

Il existe trois types d'erreurs systématiques :

Les erreurs instrumentales, les erreurs dues à la méthode, les erreurs personnelles.

I-1 Les erreurs instrumentales:

Tous les dispositifs de mesure sont à l'origine d'erreurs systématiques. Ainsi, les pipettes, les burettes et les fioles jugées peuvent contenir ou délivrer des volumes légèrement différents de ce qu'indiquent leurs graduations. Les différences peuvent être dues au chauffage lors du séchage, de l'erreur dans l'étalonnage initial, ou de la présence de contaminants sur les surfaces internes de récipients. L'étalonnage élimine la plupart de ces types d'erreurs systématiques.

Les appareils électroniques sont sujets à des erreurs systématiques instrumentales. Ces incertitudes ont de nombreuses origines. Par exemple:

✚ Des erreurs apparaissent lorsque la tension d'une alimentation sur piles diminue au cours du temps.

✚ Des erreurs résultent de l'augmentation de résistance des circuits à cause de contacts électriques défectueux. En effet des variations de température provoquent des modifications de la valeur des résistances et des sources de tension de référence.

✚ Des courants induits par le réseau peuvent affecter les instruments électroniques. Mais les erreurs de ce type peuvent être détectées et corrigées.

I-2 Les erreurs dues à la méthode

Le comportement chimique ou physique non idéal des réactifs et des réactions sur lesquels repose une analyse peut être à l'origine d'erreurs systématiques dues à la méthode. Ces causes de non idéalité comprennent les lenteurs de certaines réactions, le fait que d'autres ne soient pas complet, l'instabilité de certaines espèces, la non spécificité de la plupart des réactifs et l'existence éventuelle de réactions secondaires qui interfèrent avec la mesure. Par exemple une erreur courante dans les méthodes volumétriques résulte du petit excès de réactif nécessaire pour qu'un indicateur subisse le changement qui signale que la réaction est complète. L'exactitude de ce type d'analyse est donc limitée par le phénomène même qui rend le titrage possible.

I-3 Les erreurs personnelles

Beaucoup de mesures nécessitent des jugements personnels comme l'estimation de la position d'une aiguille entre deux graduations, de la couleur de la solution au point de fin de titrage, ou au niveau d'un liquide par rapport au traits d'une pipette ou d'une burette. Des jugements de ce type font souvent l'objet d'erreurs systématiques unidirectionnelles.

Ainsi une personne peut lire la position d'une aiguille systématiquement trop haute, une autre peut déclencher un chronomètre un peu trop tard et l'utilisation de réactifs en excès lors de l'analyse peut influencer les variations de couleur.

Des handicaps physiques sont souvent aussi à l'origine d'erreurs déterminés personnelles.

La plupart des expérimentateurs, en dépit de leur bonne foi, ont une tendance naturelle à estimer les lectures des graduations dans un sens qui améliore la précision d'une série de résultats. Ils peuvent avoir une idée préconçue de la valeur réelle de la mesure et rapprocher inconsciemment les résultats de cette valeur.

II- L'erreur aléatoire [4]

Un type d'erreur appelé l'erreur aléatoire (ou indéterminée), est la cause de la dispersion des résultats, plus ou moins systématiquement autour d'une valeur moyenne. L'erreur aléatoire s'exprime par la précision.

C'est donc une erreur due à la manipulation au hasard ou à la négligence, aux lectures des mesures ou aux appréciations des points de termes de transformations des réactions.

CHAPITRE V- LES PARAMÈTRES À ETUDIER POUR UNE VALIDATION D'UNE METHODE D'ANALYSE

La validation d'une méthode d'analyse peut en principe servir aux analyses officielles de l'eau potable. Elle se définit comme la « confirmation par examen statistique » lorsque les laboratoires utilisent des méthodes non normalisées ou hors du domaine d'application de la norme et elle demande également d'évaluer l'incertitude des résultats fournis.

La norme ISO/CEI 17025 [5] demande de valider les méthodes. Cette norme est décrite dans différents ouvrages ou documents émanant de l'association européenne Eurachem [6] Selon cette norme ISO/CEI 17025, les différents paramètres pour la validation d'une méthode sont les suivants :

- L'estimation d'une erreur systématique
- L'évaluation des caractéristiques de la méthode d'analyse tels que la limite de détection ,la limite de quantification, la limite de linéarité et la sensibilité, la justesse, la sélectivité et la spécificité, et finalement la fidélité (réplicabilité, répétabilité, reproductibilité).

La partie suivante définit donc les processus relatifs de la validation d'une méthode d'analyse, mais avant cela on doit connaître l'incertitude de mesure

I- Incertitude de mesure [7]

L'incertitude de mesure est un paramètre associé au résultat de mesurage (mesure effectuée par des différents échantillons à analyser), qui caractérise la dispersion des valeurs qui pourraient raisonnablement être attribuées au mesurande (mesure effectuée par la matière étalon primaire). Les paramètres peuvent être par exemple la moyenne, la variance et l'écart type.

I-1 La moyenne

La moyenne arithmétique est égale à la valeur vraie d'une grandeur mesurée, La moyenne arithmétique pour n mesures de la grandeur x est donné par :

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad (1)$$

I-2 Ecart-type

En statistique et en probabilité, l'écart type mesure la dispersion d'une série de valeurs autour de la moyenne.

L'écart type est donné par :

$$S_n = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\bar{x} - x_i)^2}{n-1}} \quad (2)$$

Où \bar{x} : moyenne arithmétique d'une série de mesures

x_i : mesures individuelles

n : nombre de mesures

S : écart type d'une série de mesures

I-3 La variance :

La variance est égale au carrée de l'écart type. Notez que l'écart type a les mêmes unités que les données, alors la variance a les unités des données au carré.

La variance S^2 est donné par :

$$S^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (\bar{x} - x_i)^2}{n-1} \quad (3)$$

Où \bar{x} : moyenne arithmétique d'une série de mesures

x_i : mesures individuelles

n : nombre de mesures

S^2 : La variance

II-Estimation d'une erreur systématique [8]

Avant d'être utilisée, toute méthode analytique ou tout appareil analytique (en particulier d'analyses) ou tout réactif chimique doit faire l'objet d'un ETALONNAGE ou ESSAI A BLANC afin de vérifier si les résultats qu'ils permettent d'obtenir sont affectés d'une erreur systématique.

II-1 Estimation d'une erreur systématique due à la méthode ou due au réactif chimique

Le contrôle sera réalisé en effectuant n dosages sur un échantillon de concentration C connue.

A partir des n résultats sur la concentration x_i , l'écart-type σ , on compare la valeur de $\frac{C-m}{\frac{\sigma}{\sqrt{n}}}$ et la valeur t_{95} donnée par la table de Student pour (n-1) observations (où C est la concentration connue, m la moyenne obtenue lors d'une série de concentration, σ est l'écart type à calculer):

- Si $\frac{C-m}{\frac{\sigma}{\sqrt{n}}} < t_{95}$, les résultats fournis par la méthode ou les réactifs ne diffèrent pas systématiquement de la vraie valeur, donc il n'y a pas d'erreur systématique.
- Si $\frac{C-m}{\frac{\sigma}{\sqrt{n}}} > t_{95}$, la valeur de $|C - m|$ est significative d'une erreur systématique introduite par la méthode ou le réactif chimique utilisé.

Donc les résultats fournis par cette méthode ou ce réactif chimique devront être corrigés et le terme correctif est : $|C - m|$

II-2 Estimation d'une erreur systématique due à l'utilisation de l'appareil

Le contrôle sera réalisé en effectuant n dosages sur un échantillon de concentration C connue et soit A l'absorbance correspondant.

A partir des n résultats sur l'absorbance A, l'écart-type σ' , on compare la valeur de $\frac{A-m'}{\frac{\sigma'}{\sqrt{n}}}$ et la valeur t_{95} donnée par la table de Student pour (n-1) observations (où A est l'absorbance correspondant à la concentration connue, m' la moyenne obtenue lors d'une série de l'absorbance, σ' est l'écart type à calculer):

- Si $\frac{A-m'}{\frac{\sigma'}{\sqrt{n}}} < t_{95}$, les résultats fournis par la méthode ou les réactifs ne diffèrent pas systématiquement de la vraie valeur, donc il n'y a pas d'erreur systématique.
- Si $\frac{A-m'}{\frac{\sigma'}{\sqrt{n}}} > t_{95}$, la valeur de $|A - m'|$ est significative d'une erreur systématique introduite par l'appareil utilisé.

Donc les résultats fournis par l'appareil devront être corrigés et le terme correctif est $|A - m|$

III- Evaluation de caractéristiques de la méthode d'analyse [9]

III-1 La limite de détection d'une méthode (LDM)

La limite de détection d'une méthode de mesure est la valeur minimale que doit avoir la grandeur mesurée pour que le résultat soit significativement différent de celui obtenu pour le mesurage du blanc.

L'estimation de la limite de détection d'une méthode (LDM) s'effectue selon l'une des façons suivantes:

- La concentration indiquée dans la littérature pour une méthode équivalente
- La concentration correspondante à un rapport signal/bruit de 3 : 1 dans la matrice appropriée
- La concentration équivalente à 3 fois l'écart type d'un étalon à bas niveau dans un solvant appropriée. Pour cette méthode:

$$\text{On a } LDM = 3.S \quad (4)$$

Où LDM : la limite de détection d'une méthode

S : écart type des replica c'est-à-dire écart type de plusieurs parties aliquotes distinctes obtenues à partir d'un même échantillon et soumises aux mêmes procédures analytiques du prétraitement au dosage

III-2 La limite de quantification d'une méthode (LQM)

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

Techniquement, c'est la concentration équivalente à 10 fois l'écart type obtenu lors de l'établissement de la LDM

$$LQM = 10.S \quad (5)$$

Où LQM : La limite de quantification d'une méthode

S : écart type obtenu lors de la détermination de la LDM

- **Différence entre la Limite de détection d'une Méthode (L.D.M) et la Limite de Quantification d'une méthode (L.Q.M)**

C'est la concentration la plus basse différente de zéro, mais les gammes sur les mesures de la L.D.M sont plus élargies par rapport à la L.Q.M.

Autrement dit la limite de détection est la plus petite quantité d'analyte dont on puisse dire avec un niveau de confiance donné qu'il est présent dans l'échantillon tandis que la limite de quantification est la plus petite quantité d'analyte qui peut être quantifiée avec un niveau de confiance donné.

III-3 Evaluation de la linéarité et de la sensibilité

La limite de linéarité (LL) est le plus haut niveau fiable de mesure qu'on puisse utiliser en tenant compte de tous les facteurs à considérer dans une méthode.

La sensibilité d'une méthode est caractérisée par la variation minimale qu'il faut imposer à la grandeur mesurée pour obtenir une variation significative du résultat de mesure, c'est-à-dire pour que la différence entre les résultats ne puissent pas être expliqués par l'existence des erreurs de répétabilité.

La linéarité et la sensibilité sont deux caractéristiques qui sont évaluées simultanément. Des expérimentations proches de ce qui a été décrit pour l'évaluation de l'écart type de répétabilité peuvent être mises en œuvre. Le guide Eurachem préconise K= 6 niveaux et n=3 répétitions où K est le nombre d'échantillons de concentrations connues.

Le test statistique consiste à

- comparer les écarts entre les moyennes des points expérimentaux et la droite estimée selon la courbe d'étalonnage
- estimer l'erreur résiduelle (c'est-à-dire la répétabilité) par une analyse de variance.

L'évaluation de cette caractéristique permet de préciser le domaine d'utilisation de la méthode en fonction de « l'erreur de linéarité » que l'on est prêt à accepter.

III-4 Evaluation de la 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 en appliquant huit fois le procédé expérimental.

On doit disposer des valeurs de référence acceptées qui peuvent provenir

- d'un matériau de référence
- d'une méthode de référence
- de la technique des ajouts dosés

Bien évidemment la « qualité » de la valeur de référence est primordiale

Soit x_{Ref} la valeur de référence acceptée et \bar{x}_i la valeur moyenne obtenue à partir d'une large série de résultats d'essais, U_i l'écart type de la valeur x_i ; U_{Ref} l'écart type de la valeur x_{Ref}

L'écart normalisé (caractéristique de la justesse) E_N est calculé par la relation :

$$E_N = \left| \frac{\bar{x}_i - x_{Ref}}{\sqrt{U_i^2 + U_{Ref}^2}} \right| \quad (6)$$

Si $E_N < 2$, l'écart n'est pas significatif

On cherche à améliorer la méthode jusqu'à ce que cet écart devienne faible par rapport aux incertitudes sur la mesure et sur la valeur de référence.

III-5 Evaluation de la sélectivité et de la spécificité:

La sélectivité peut se définir comme l'aptitude d'un élément de la méthode d'analyse (appareil de mesure, milieu de culture, etc...) à discerner un échantillon donné dans un mélange complexe.

La spécificité est la propriété d'une méthode d'analyse de convenir exclusivement à la caractéristique, avec la garantie que le résultat de l'analyse ne provient que de l'échantillon. Très souvent la spécificité se fonde sur une absence d'interférence.

METHODE DES AJOUTS DOSES [10]

C'est une technique d'emploi commode permettant d'évaluer l'influence de certaines interférences, elle consiste à ajouter dans l'échantillon pendant ou après sa préparation des quantités connues de la solution d'échantillon. On examine alors si la réponse de l'instrument de mesure correspond au signal initial augmenté du signal correspondant à la quantité ajoutée.

III-6 Estimation de la réplicabilité

La réplicabilité à un niveau donné correspond à l'étroitesse de l'accord entre les résultats individuels successifs obtenus sur le même échantillon soumis à l'essai dans le même laboratoire et dans les conditions suivantes: même analyste, même appareil, même jour. La valeur sera déterminée à partir de l'équation suivante :

$$\frac{t_{(0,95; n-1)} \cdot S_1}{\sqrt{n}} \quad (7)$$

Où S_1 écart type d'une série de mesure se référant à la replicabilité

$t_{(0,95; n-1)}$: Valeur indiquée de la table Student pour un niveau de confiance de 95% correspondant au nombre de n-1 mesures.

III-7 Estimation de la répétabilité

La répétabilité à un niveau donné correspond à 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 suivantes est différent : l'analyste, l'appareil, le jour. La valeur sera déterminée à partir de l'équation suivante :

$$\frac{t_{(0,95; n-1)} \cdot S_2}{\sqrt{n}} \quad (8)$$

Où S_2 écart type d'une série de mesure se référant à la répétabilité

$t_{(0,95 ; n-1)}$: Valeur indiquée de la table Student pour un niveau de confiance de 95% correspondant au nombre de $n-1$ mesures.

III-8 Estimation de la reproductibilité

La reproductibilité à un niveau donné correspond à l'étroitesse de l'accord entre les résultats individuels obtenus sur le même échantillon soumis à l'essai dans des laboratoires différents et dans des conditions suivantes : analyste différent, appareil différent, jour différent ou même jour. La valeur sera déterminée à partir de l'équation suivante :

$$\frac{t_{(0,95 ; n-1)} \cdot S_3}{\sqrt{n}} \quad (9)$$

Où S_3 écart type d'une série de mesure se référant à la reproductibilité

$t_{(0,95 ; n-1)}$: Valeur indiquée de la table Student pour un niveau de confiance de 95% correspondant au nombre de $n-1$ mesures.

Remarque :

Intervenant dans les formules d'estimation de la réplicabilité, de la répétabilité, et de la reproductibilité; ces tests statistiques font intervenir la grandeur $t_{(0,95 ; n-1)}$ que l'on peut déterminer par la table Student pour une valeur de confiance 95% et au nombre $n-1$ mesures.

2^{ème} PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : PRESENTATION DE RESULTATS D'ETALONNAGE DE LA METHODE ETUDIÉE

On rappelle qu'avant d'être utilisée, toute méthode analytique doit faire l'objet d'un étalonnage ou d'un essai à blanc afin de vérifier si les résultats qu'ils permettent d'obtenir sont affectés d'une erreur systématique. Les solutions d'étalonnage sont fabriquées à partir de la concentration de solution sans matrice (eau distillée) et mélangés aux réactifs chimiques pour l'étalonnage de base. Toutes les mesures ont été réalisées avec le spectrophotomètre

I-Méthode étudiée :

I-1 Principe de l'appareil de mesure de la méthode étudiée « le spectrophotomètre »:

Parmi les nombreuses méthodes instrumentales utilisées pour déterminer la concentration d'une espèce chimique en solution, les méthodes les plus courantes sont celles basées sur la mesure de l'intensité d'absorption ou d'émission (spectrophotométrie) d'un rayon lumineux par les espèces à doser. Autrement dit, le principe de l'utilisation de la spectrophotométrie pour l'analyse quantitative est basé sur le fait que l'intensité d'absorption (ou d'émission) est fonction de la concentration de la particule qui absorbe (ou qui émet) de la lumière. Les rayonnements les plus souvent utilisés sont l'ultraviolet (UV), la lumière visible est l'infra rouge (IR). Son emploi est de plus en plus réservé à l'analyse quantitative à partir de la loi de Beer-Lambert, et qui s'exprime sous la forme suivante :

$$\text{Log} \left(\frac{I_0}{I} \right) = \epsilon c L = D \quad (10)$$

Où ϵ est le coefficient d'extinction molaire ($\text{l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$), c est la concentration de la solution en ($\text{mol}^{-1}.\text{l}$), L est le chemin optique. Le rapport I/I_0 est appelé la transmission (aussi appelée « transmittance » et notée T), celle-ci est reliée à la densité optique D (aussi appelée « absorbance ») par la relation : Un spectre d'absorption (ou d'émission) présente la variation de l'absorption (ou d'émission) en fonction de la longueur d'onde.

I-2 Méthodologie de réalisation des essais d'étalonnage de la méthode :

Puisqu'il s'agit d'analyse de l'eau par la méthode spectrophotométrique, donc nous choisissons comme éléments à déterminer dans l'eau le nitrite et le nitrate à titre d'expérimentation. Le nitrite sera dosé selon la méthode de Zambelli et le nitrate sera dosé selon la méthode de Salicylate de sodium.

II- Etalonnage d'analyse spectrophotométrique des ions nitrites:

II-1-Principe et théorie d'analyse spectrophotométrique des ions nitrites :

L'acide sulfaniqué en milieu chlorhydrique, en présence d'ion ammonium et de phénol, forme avec les ions NO_2^- un complexe coloré jaune dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en nitrites. Effectuer à la longueur d'onde de 435nm et tenir compte de la valeur lue pour le témoin se rapporter à la courbe d'étalonnage.

Concernant la gamme d'étalonnage à utiliser:

La gamme d'étalon est comprise entre 0 à 5ml pour le nitrite. Cette gamme étalon doit être préparée pour chaque série de manipulation des échantillons.

II-2 Mode opératoire et résultats

Date : 02 Septembre 2010

Laboratoire : traitements des eaux « JIRAMA » Mandroseza

Appareil utilisé :

Spectrophotométrie PRIM

Balance de précision

Bécher 150 ml

Pipette de 25ml, 10ml, 5ml

Produits utilisés pour les nitrites :

Solution fille étalon à 0,0023g/l de NO_2^-

Eau distillée

Réactif de Zambelli

Ammoniaque pure

Prendre six béchers jaugés de 150ml numérotés T et n°1 à 5. Prélever 50ml d'eau à analyser, ajouter 2ml de réactif de Zambelli. Agiter et laisser au repos de 10 minutes. Ajouter ensuite 2 ml d'ammoniaque pure puis effectuer la lecture du spectrophotomètre à la longueur d'onde 435nm.

On a fait varier la concentration et mesurer l'absorbance correspondante.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant

Tableau n°I : Etalonnage des ions nitrites NO_2^-

n°de solution étalon	T	n°1	n°2	n°3	n°4	n°5
Concentration (mg/L)	0	0,046	0,230	0,490	0,690	0,920
Absorbance	0,001	0,026	0,112	0,322	0,352	0,470

II-3 La courbe d'étalonnage :

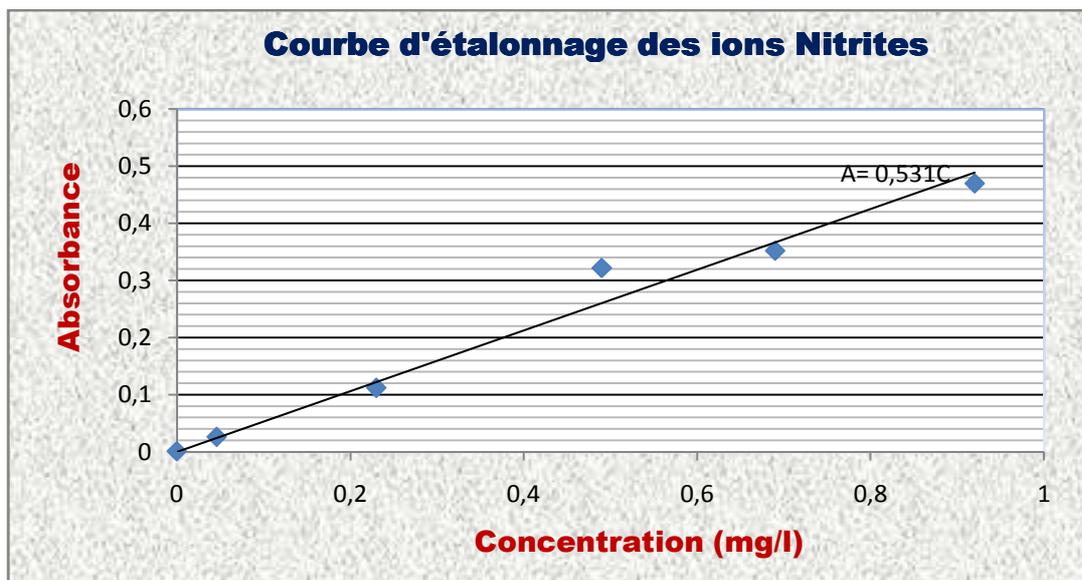


Figure n°1 : Courbe d'étalonnage des ions Nitrites

III- Etalonnage d'analyse spectrophotométrique des ions nitrates

III-1 Principe et théorie d'analyse spectrophotométrique des ions nitrates

En présence de salicylate de sodium, les nitrates donnent du paranitrosalicylate de sodium, coloré en jaune. Effectuer la mesure à la longueur d'onde de 414nm et tenir compte de la valeur lue pour le témoin et se rapporter à la courbe d'étalonnage.

Concernant la gamme d'étalonnage à utiliser, la gamme d'étalon est comprise entre 0 à 0,92ml pour le nitrate. Cette gamme étalon doit être préparée pour chaque série de manipulation des échantillons.

III-2 Mode opératoire et résultats

Date : 02 Septembre 2010

Laboratoire : traitements des eaux « JIRAMA » Mandroseza

Appareil utilisé :

Spectrophotométrie PRIM

Balance de précision

Bécher 150 ml

Pipette de 25ml, 10ml, 5ml

Produits utilisés pour les nitrates :

Solution étalon d'azote nitrique

Eau distillée

Solution de salicylate de sodium

Soude (NaOH)

Acide sulfurique concentré

Solution hydroxyde de sodium et de tartrate double de sodium et de potassium

Prendre six béchers jaugés de 150ml numérotés T et n°1 à 4. Prélever 10ml d'eau à analyser, ajouter 5ml de la solution de salicylate de sodium puis effectuer la lecture du spectrophotomètre à la longueur d'onde 415nm.

On a fait varier la concentration et on mesure l'absorbance correspondante.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant

Tableau n°II Etalonnages des ions nitrates NO_3^- :

n° de solution étalon	T	n°1	n°2	n°3	n° 4
Concentration (mg/l)	0	0,5	1	2,5	5
Absorbance	0	0,065	0,173	0,675	0,129

III-3 La courbe d'étalonnage :

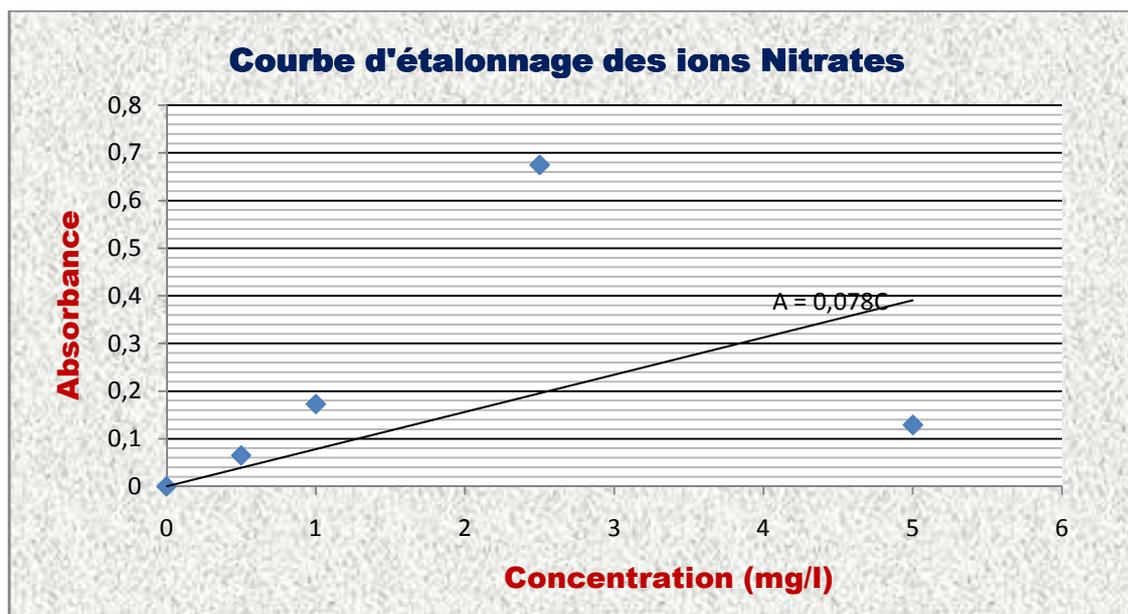


Figure n°2 : Courbe d'étalonnage des ions Nitrates

CHAPITRE II PRESENTATION DES RESULTATS D'ANALYSE D'ECHANTILLON D'EAU SELON LA METHODE ETUDIEE

I-Présentation générale de la méthodologie :

En vue d'évaluer l'efficacité de la méthode d'analyse étudiée, des séries d'essais d'analyse à des conditions opératoires variées seront effectuées dans le cadre de la détermination des ions nitrites et des ions nitrates selon les méthodes mentionnées précédemment avec les mêmes modes opératoires utilisées lors de l'étalonnage de la méthode (appareil, produits utilisés, et modalité).

II-Présentation des résultats de la série d'essai effectuée

II-1 Détermination de la teneur en nitrite « NO₂ »

II-1-1 Résultats des essais de la détermination de teneur en nitrite « NO₂⁻ » dans l'échantillon de l'eau

Tableau n°III : Représentation des résultats des essais de la détermination de teneur en nitrite. On effectue une série de n=8 mesures pour chaque concentration.

Pour le blanc : la concentration est 0,000 et l'absorbance est 0,000

Echantillon n°1		Echantillon n°2		Echantillon n°3		Echantillon n°4		Echantillon n°5	
C° (mg/l)	Abs								
0,011	0,016	0,164	0,096	0,491	0,323	0,672	0,359	0,914	0,485
0,012	0,017	0,160	0,094	0,495	0,325	0,673	0,360	0,916	0,486
0,011	0,016	0,164	0,096	0,494	0,324	0,670	0,358	0,917	0,487
0,010	0,015	0,165	0,097	0,490	0,322	0,669	0,357	0,912	0,484
0,013	0,018	0,167	0,099	0,491	0,323	0,670	0,358	0,916	0,486
0,010	0,015	0,166	0,098	0,489	0,320	0,669	0,357	0,911	0,483
0,015	0,019	0,165	0,097	0,496	0,326	0,673	0,360	0,916	0,486
0,012	0,017	0,167	0,099	0,491	0,323	0,672	0,359	0,917	0,487

II-1-2 Résultats en vue d'estimation de la Limite de Détection de la Méthode (LDM) des ions nitrites

Le seuil de la limite de détection d'une méthode est obtenu en tenant compte de la valeur minimale de la concentration pour un composé analysé dans une matrice réelle.

Pour la pratique, dans le cas de la méthode spectrophotométrique, On peut considérer comme la L.D.M pour cette méthode une concentration minimale correspondant à une absorbance A égale zéro ou A est sensiblement égale zéro

D'après les essais que nous avons faits, la valeur minimale de la concentration mesurable par la méthode correspond à la dilution 1/10 fois; On ne peut pas détecter les valeurs en dessous de cette valeur minimale obtenue.

Par la suite la moyenne et l'écart type sont calculés sur les 10 répliques (c'est-à-dire 10 parties aliquotes distinctes obtenus à partir d'un même échantillon et soumises aux mêmes procédures analytiques du prétraitement au dosage).

On a $LDM=3.S$ (a) Où S : écart type des répliques

❖ **Tableau représentant la valeur minimale de la concentration en nitrite dans une série de n = 10 aliquotes**

Tableau n°IV : Représentation de la valeur minimale de la concentration du dosage en nitrite

Numéros d'aliquotes	Concentration minimale en (mg/l)
n°1	0,003
n°2	0,002
n°3	0,003
n°4	0,004
n°5	0,004
n°6	0,003
n°7	0,003
n°8	0,003
n°9	0,002
n°10	0,004
Moyenne(\bar{x})	0,003
Ecart type(σ)	0,0006

II-1-3 Résultats en vue d'évaluation de la linéarité et de la sensibilité de la teneur en nitrite :

En vue d'évaluation de la linéarité et de la sensibilité, le tableau suivant présente les moyennes des points expérimentaux c'est-à-dire les moyennes de concentrations mesurées (du tableau III page 22) et la valeur de référence c'est-à-dire les concentrations obtenues lors de l'étalonnage effectuée (du tableau I page 19)

Tableau n°V : Représentation des résultats en vue d'évaluation de la linéarité et de la sensibilité de la teneur en nitrite :

Numéros de l'échantillon	n°1	n°2	n°3	n°4	n°5
Concentration de référence (mg/l)	0,046	0,230	0,490	0,690	0,920
Moyennes de concentrations mesurées (mg/l)	0,012	0,164	0,492	0,671	0,915

II-1-4 Résultats en vue d'évaluation de la justesse de la teneur en nitrite:

On considère l'échantillon n°4 (du tableau I, page 19) et on a répété trois fois la mesure de l'étalonnage et on a obtenu les résultats suivants :

Tableau n°VI : Représentation des résultats en vue d'évaluation de la justesse de la teneur en nitrite.

Concentration (mg/l)	Absorbance
0,690	0,352
0,653	0,349
0,649	0,345

II-1-5 Résultats en vue d'estimation de la réplicabilité de la teneur en nitrite

On considère l'échantillon n°4 (du tableau III page 22), avec le même analyste, le même appareil, le même jour, le même échantillon, ce contrôle sera réalisé sur un échantillon connu $C=0,69\text{mg/l}$

Tableau de résultats

Tableau n°VII : Résultats en vue d'estimation de la réplicabilité de la teneur en nitrite.

On fixe l'échantillon n°4 et on mesure l'absorbance correspondance

On effectue une série de $n=8$ mesures pour chaque concentration.

Premier série d'essais:

Date : 09septembre 2010 à 10H	
Laboratoire : JIRAMA Mandroseza	
Appareil : Spectrophotomètre	
« PRIM »	
C° mg/l	Abs
0,672	0,359
0,673	0,360
0,670	0,358
0,669	0,357
0,670	0,358
0,669	0,357
0,673	0,360
0,672	0,359

Deuxième série d'essais:

Date : 09septembre 2010 à 14H	
Laboratoire : JIRAMA Mandroseza	
Appareil : Spectrophotomètre	
« PRIM »	
C° mg/l	Abs
0,681	0,364
0,685	0,367
0,689	0,370
0,690	0,371
0,681	0,364
0,681	0,364
0,689	0,370
0,689	0,370

II-1-6 Résultats en vue d'estimation de la répétabilité de la teneur en nitrite

On considère l'échantillon n°3 (du tableau III page 22), avec le même analyste, le même appareil mais le jour différent. Ce contrôle sera réalisé sur un échantillon connu $C=0,49\text{mg/l}$

Tableau de résultats

Tableau n°VIII: Résultats en vue d'estimation de la répétabilité de la teneur en nitrite.

On fixe l'échantillon n°3 et on mesure l'absorbance correspondance

On effectue une série de $n=8$ mesures pour chaque

Premier série d'essais:

Date : 09septembre 2010	
Laboratoire : JIRAMA Mandroseza	
Appareil : Spectrophotomètre	
« PRIM »	
C° mg/l	Abs
0,491	0,323
0,495	0,325
0,494	0,324
0,490	0,322
0,491	0,323
0,489	0,320
0,496	0,326
0,491	0,323

Deuxième série d'essais:

Date : 10septembre 2010	
Laboratoire : JIRAMA Mandroseza	
Appareil : Spectrophotomètre	
« PRIM »	
C° mg/l	Abs
0,487	0,317
0,491	0,321
0,490	0,320
0,485	0,316
0,488	0,318
0,489	0,319
0,493	0,323
0,488	0,318

II-1-7 Résultats en vue d'estimation de reproductibilité de la teneur en nitrite

On considère l'échantillon n°2 (du tableau III, page 22), dans le laboratoire CNRE, donc appareil différent, operateur différent, jour différent. Ce contrôle sera réalisé sur un échantillon connu $C=0,23\text{mg/l}$

Tableau de résultats

Tableau n°IX Résultats en vue d'estimation de reproductibilité de la teneur en nitrite.

On fixe l'échantillon n°2 et on mesure l'absorbance correspondance

On effectue une série de $n=8$ mesures pour chaque concentration

Premier série d'essais:

Date : 09septembre 2010	
Laboratoire : JIRAMA Mandroseza	
Appareil : Spectrophotomètre	
« PRIM »	
C° mg/l	Abs
0,164	0,096
0,160	0,094
0,164	0,096
0,165	0,097
0,167	0,099
0,166	0,98
0,165	0,097
0,167	0,099

Deuxième série d'essais:

Date : 16septembre 2010	
Laboratoire: CNRE Tsimbazaza	
Appareil: Spectrophotomètre	
« Perken Elmer »	
C° mg/l	Abs
0,168	0,098
0,168	0,098
0,167	0,097
0,168	0,098
0,169	0,099
0,170	0,100
0,169	0,099
0,168	0,098

II-2 Détermination de la teneur en nitrate « NO₃ - »

II-2-1 Résultats des essais de la détermination de teneur en nitrate « NO₃⁻ » dans l'échantillon de l'eau

Tableau n°X : Représentation des Résultats des essais de la détermination de teneur en nitrate.

Pour le blanc : la concentration est 0,000 et l'absorbance est 0,000

Echantillon n°1		Echantillon n°2		Echantillon n°3		Echantillon n°4	
C° (mg/l)	Abs	C° (mg/l)	Abs	C° (mg/l)	Abs	C° (mg/l)	Abs
0,342	0,063	0,885	0,193	2,125	0,485	5,316	1,216
0,339	0,059	0,886	0,195	2,127	0,486	5,320	1,241
0,341	0,061	0,886	0,195	2,131	0,489	5,339	1,247
0,340	0,060	0,888	0,196	2,143	0,494	5,338	1,246
0,342	0,063	0,891	0,197	2,148	0,496	5,331	1,244
0,338	0,058	0,895	0,199	2,203	0,570	5,328	1,243
0,339	0,059	0,896	0,200	2,204	0,573	5,320	1,241
0,342	0,063	0,896	0,200	2,208	0,576	5,314	1,215

II-2-2 Résultats en vue d'estimation de la Limite de Détection de la Méthode (LDM) des ions nitrates

Le seuil de la limite de détection d'une méthode est obtenu en tenant compte la valeur minimale de la concentration pour un composé analysé dans une matrice réelle.

Pour la pratique, dans le cas de la méthode spectrophotométrique, On peut considérer comme la L.D.M pour cette méthode une concentration minimale correspondant à une absorbance A égale zéro

D'après l'essai que nous avons fait, on obtient la valeur minimale de la concentration en diluant 1/10 fois la concentration de l'échantillon n°1 du tableau d'étalonnage; On ne peut pas détecter les valeurs en dessous de cette valeur minimale obtenue.

Par la suite la moyenne et l'écart type sont calculés sur les 10 répliques (c'est-à-dire 10 parties aliquotes distinctes obtenus à partir d'un même échantillon et soumises aux mêmes procédures analytiques du prétraitement au dosage).

On a $LDM=3.S$ (b) Où S : écart type des répliques

Tableau représentant la valeur minimale de la concentration en nitrate dans une série de $n = 10$ aliquotes

Tableau n°XI Représentation de la valeur minimale de la concentration du dosage en nitrate:

numéros d'aliquotes	Concentration minimale en (mg/l)
n°1	0,017
n°2	0,008
n°3	0,014
n°4	0,016
n°5	0,008
n°6	0,014
n°7	0,016
n°8	0,008
n°9	0,008
n°10	0,017
Moyenne(\bar{x})	0,012
Ecart type(σ)	0,004

II-2-3 Résultats en vue d'évaluation de la linéarité et de la sensibilité de la teneur en nitrate :

En vue d'évaluation de la linéarité et de la sensibilité, le tableau suivant présente les moyennes des points expérimentaux c'est-à-dire les moyennes de concentrations mesurées (du tableau X, page 28) et la valeur de référence c'est-à-dire les concentrations obtenues lors de l'étalonnage effectuée (du tableau II page 21)

Tableau n°XII Résultats en vue d'évaluation de la linéarité et de la sensibilité de la

teneur en nitrate :

Numéros de l'échantillon	n°1	n°2	n°3	n°4
Concentration de référence (mg/l)	0,5	1	2,5	5
Moyennes de concentrations mesurées (mg/l)	0,340	0,890	2,161	5,325

II-2-4 Résultats en vue d'évaluation de la justesse de la teneur en nitrate:

On considère l'échantillon n°4 (du tableau II page 21) et on a répété trois fois la mesure de l'étalonnage et on a obtenue les résultats suivant

Tableau n°XIII : Résultats en vue d'évaluation de la justesse de la teneur en nitrate.

Concentration (mg/l)	Absorbance
5	0,129
4 ,894	0,190
4,899	0,197

II-2-5 Résultats en vue d'estimation de réplicabilité de la teneur en nitrate:

On considère l'échantillon n°4 (du tableau n°X page 28), avec le même analyste, le même appareil, le même jour, le même échantillon, ce contrôle sera réalisé sur un échantillon connu C=5mg/l

Tableau de résultats

Tableau n°XIV : Résultats en vue d'estimation de réplicabilité de la teneur en nitrate.

On fixe l'échantillon n°4 et on mesure l'absorbance correspondance

On effectue une série de n=8 mesures pour chaque concentration

Premier série d'essais:

Date : 07septembre 2010 à 10 heure	
Laboratoire : JIRAMA Mandroseza	
Appareil : Spectrophotomètre	
« PRIM »	
C° mg/l	Abs
5,316	1,216
5,320	1,241
5,339	1,247
5,338	1,246
5,331	1,244
5,328	1,243
5,320	1,241
5,314	1,215

Deuxième série d'essais :

Date : 07septembre 2010 à 14 heure	
Laboratoire : JIRAMA Mandroseza	
Appareil : Spectrophotomètre	
« PRIM »	
C° mg/l	Abs
5,311	1,240
5,310	1,239
5,309	1,238
5,312	1,241
5,312	1,241
5,310	1,239
5,310	1,239
5,312	1,241

II-2-6 Résultats en vue d'estimation de répétabilité de la teneur en nitrate

On considère l'échantillon n°3 (du tableau n° X page28), avec le même analyste, le même appareil mais le jour différent. Ce contrôle sera réalisé sur un échantillon connu $C=2,5\text{mg/l}$

Tableau de résultats

Tableau n°XV : Résultats en vue d'estimation de répétabilité de la teneur en nitrate.

On fixe l'échantillon n°3 et on mesure l'absorbance correspondance

On effectue une série de $n=8$ mesures pour chaque concentration

Premier série d'essais:

Date : 07Septembre 2010	
Laboratoire :JIRAMA Mandroseza	
Appareil:Spectrophotomètre	
« PRIM»	
C° mg/l	Abs
2,125	0,485
2,127	0,486
2,131	0,489
2,143	0,494
2,148	0,496
2,203	0,570
2,204	0,573
2,208	0,576

Deuxième série d'essais:

Date : 08 Septembre 2010	
Laboratoire : JIRAMA Mandroseza	
Appareil :Spectrophotomètre	
« PRIM»	
C° mg/l	Abs
2,120	0,483
2,121	0,484
2,126	0,487
2,136	0,492
2,139	0,496
2,194	0,564
2,195	0,567
2,199	0,569

II-2-7 Résultats en vue d'estimation de reproductibilité de la teneur en nitrate

On considère l'échantillon n°2 (du tableau X page28) dans le laboratoire CNRE, donc appareil différent, operateur différent, jour différent. Ce contrôle sera réalisé sur un échantillon connu C=1mg/l

Tableau de résultats

Tableau n°XVI: Résultats en vue d'estimation de reproductibilité de la teneur en nitrate.

On fixe l'échantillon n°2 et on mesure l'absorbance correspondance

On effectue une série de n=8 mesures pour chaque concentration

Premier série d'essais:

Date : 07septembre 2010	
Laboratoire:JIRAMA	
Mandroseza	
Appareil : Spectrophotomètre « PRIM»	
C° mg/l	Abs
0,885	0,193
0,886	0,195
0,886	0,195
0,888	0,196
0,891	0,197
0,895	0,199
0,896	0,200
0,896	0,200

Deuxième série d'essais:

Date : 16septembre 2010	
Laboratoire :CNRE	
Tsimbazaza	
Appareil: Spectrophotomètre « Perken Elmer»	
C° mg/l	Abs
0,975	0,215
0,978	0,216
0,979	0,217
0,981	0,219
0,982	0,220
0,988	0,225
0,989	0,227
0,989	0,227

CHAPITRE III : NOTE DE CALCUL POUR LA VALIDATION DE LA MÉTHODE D'ANALYSE EN CHIMIE

I-Méthodologie

Il existe plusieurs définitions et façons de calculer les différents paramètres liés à la validation d'une méthode. A l'intérieur du suivi de la qualité des activités de laboratoire, il devient essentiel d'uniformiser ces définitions ainsi que les méthodes de calcul utilisées. Vue dans la partie théorique, la norme Internationale ISO/CEI 17025 demande de valider les méthodes non normalisées.

Cette validation d'une méthode d'analyse nécessite la détermination de deux paramètres :

1^{ère} Paramètre : L'estimation expérimentale des erreurs systématiques

2^{ème} Paramètre : L'évaluation des caractéristiques d'une méthode d'analyse tels que: la limite de détection, la limite de quantification, la limite de linéarité et la sensibilité, la justesse, la spécificité et la sélectivité, et finalement la fidélité (réplicabilité, répétabilité, reproductibilité).

La partie suivante définit donc les processus relatifs à la fiabilité et à la validation d'une méthode d'analyse en se référant à la norme internationale ISO/CEI 17025.

A-Estimation expérimentale des erreurs systématiques

I-La méthode de Zambelli pour la détermination de la teneur en nitrite

I-1 Calcul d'erreur systématique due à la méthode et à l'utilisation des produits :

Le calcul sera réalisé en effectuant $n=8$ dosages sur un échantillon n°3 de concentration connue $C= 0,49\text{mg/l}$

La question qui se pose est : L'utilisation de la concentration $C = 0,49\text{mg/l}$ introduit-elle une erreur systématique ?

Pour répondre cette question posée, on compare la valeur de $\frac{C-m}{\frac{\sigma}{\sqrt{n}}}$ et la valeur de t_{95} donnée par la table de student pour (n-1) observations.

Où C est la concentration utilisée, m ou \bar{x} la moyenne arithmétique d'une série de mesures, σ est l'écart type d'une série de mesure et n est le nombre de mesure.

D'après le calcul, on trouve que :

$$\left. \begin{array}{l} m = 0,492 \\ \sigma = 2,535 \cdot 10^{-3} \end{array} \right\} \Rightarrow \frac{C-m}{\frac{\sigma}{\sqrt{n}}} = 2,231 \quad (11)$$

Pour un niveau de confiance de 95% et pour n-1=7, la table Student donne $t_{95}=2,45$

Où le coefficient t_{95} ou $t_{(0,95; n-1)}$ est un coefficient que l'on peut déterminer par la table de student pour une valeur de niveau de confiance 95% et au nombre n-1 mesure

$$\text{D'où } \frac{C-m}{\frac{\sigma}{\sqrt{n}}} < t_{95} \text{ d'où il n'y a pas d'erreur systématique due à la méthode et à}$$

l'utilisation des produits :

I-2 Calcul d'erreur systématique due à l'appareil :

Le calcul sera réalisé en effectuant n=8 dosages sur un échantillon n°3 de concentration connue C= 0,49mg/l et l'absorbance correspondant est A= 0,322

La question qui se pose est : L'absorbance A = 0,322 introduit-elle une erreur systématique due à l'appareil?

Pour répondre cette question posée, on compare la valeur de $\frac{A-m'}{\frac{\sigma'}{\sqrt{n}}}$ et la valeur de t_{95} donnée par la table de student pour (n-1) observations.

Où A est l'absorbance utilisée, m' ou \bar{x}' la moyenne arithmétique d'une série de l'absorbance, σ' est l'écart type d'une série l'absorbance et n est le nombre de mesure.

D'après le calcul, on trouve que :

$$\left. \begin{array}{l} m' = 0,323 \\ \sigma' = 1,8 \cdot 10^{-3} \end{array} \right\} \Rightarrow \frac{A-m'}{\frac{\sigma'}{\sqrt{n}}} = 1,571 \quad (12)$$

Pour un niveau de confiance de 95% et pour n-1=7, la table student donne $t_{95}=2,45$

D'où $\frac{A-m'}{\frac{\sigma'}{\sqrt{n}}} < t_{95}$ d'où il n'y a pas d'erreur systématique due à l'appareil.

II-La méthode de Salicylate de sodium pour la détermination de la teneur en nitrate

II-1 Calcul d'erreur systématique due à la méthode et à l'utilisation des produits :

Le calcul sera réalisé en effectuant $n=8$ dosages sur un échantillon $n^{\circ}3$ de concentration connue $C= 2,5\text{mg/l}$

La question qui se pose est : L'utilisation de la concentration $C =2,5\text{mg/l}$ introduit-elle une erreur systématique ?

Pour répondre cette question posée, on compare la valeur de $\frac{C-m}{\frac{\sigma}{\sqrt{n}}}$ et la valeur de t_{95} donnée par la table de student pour $(n-1)$ observations.

Où C est la concentration utilisée, m ou \bar{x} la moyenne arithmétique d'une série de mesures, σ est l'écart type d'une série de mesure et n est le nombre de mesure.

D'après le calcul, on trouve que :

$$\left. \begin{array}{l} m = 2,161 \\ \sigma = 0,037 \end{array} \right\} \Rightarrow \frac{C-m}{\frac{\sigma}{\sqrt{n}}} = 25,914 \quad (c)$$

Pour un niveau de confiance de 95% et pour $n-1=7$, la table student donne $t_{95}=2,45$

D'où $\frac{C-m}{\frac{\sigma}{\sqrt{n}}} > t_{95}$ d'où la valeur est significative d'une erreur systématique due à la méthode et à l'utilisation des produits

II-2 Calcul d'erreur systématique due à l'appareil :

Le calcul sera réalisé en effectuant $n=8$ dosages sur un échantillon $n^{\circ}3$ de concentration connue $C= 2,5\text{mg/l}$ et l'absorbance correspondant est $A= 0,675$

La question qui se pose est : L'utilisation de l'absorbance $A = 0,675$ introduit-elle une erreur systématique due à l'appareil?

Pour répondre cette question posée, on compare la valeur de $\frac{A-m'}{\frac{\sigma'}{\sqrt{n}}}$ et la valeur de t_{95} donnée par la table de student pour $(n-1)$ observations.

Où A est l'absorbance utilisée, m' ou \bar{x}' la moyenne arithmétique d'une série de l'absorbance, σ' est l'écart type d'une série l'absorbance et n est le nombre de mesure.

D'après le calcul, on trouve que :

$$\left. \begin{array}{l} m' = 0,521 \\ \sigma' = 0,043 \end{array} \right\} \Rightarrow \frac{A-m'}{\frac{\sigma'}{\sqrt{n}}} = 10,129 \quad (d)$$

Pour un niveau de confiance de 95% et pour $n-1=7$, la table student donne $t_{95}=2,45$

D'où $\frac{A-m'}{\frac{\sigma'}{\sqrt{n}}} > t_{95}$ d'où la valeur est significative d'une erreur systématique due à l'appareil

B-Evaluation de caractéristiques de méthode d'analyse :

I -La méthode de Zambelli

I-1 Limite de détection de la méthode utilisée (LDM):

La limite de détection d'une méthode est la plus basse concentration pour un composé analysé, elle est différente de celui produit par un « blanc » dans les mêmes conditions.

$$LDM = 3.S \quad (e)$$

Où LDM : limite de détection d'une méthode;

S : écart type des replica

Application. Numérique : le calcul s'effectue sur le tableau n°IV page 24, on

LDM = 0,0018 obtient:

$$S=0,0006$$

I-2 Limite de quantification de la méthode utilisée (LQM) :

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

$$LQM = 10.S \quad (f)$$

Où LQM : limite de quantification d'une méthode;

S : écart type.

Application. Numérique : le calcul s'effectue sur le tableau n°IV page 23, on obtient :

$$S=0,0006$$

$$LQM = 0,006$$

I-3 Evaluation de La linéarité et de la sensibilité:

La technique consiste à comparer les écarts entre les moyennes des points expérimentaux et la droite estimée à l'erreur résiduelle (c'est-à-dire la répétabilité) par une analyse de variance. Et on peut préciser le domaine d'utilisation de la méthode en fonction de « l'erreur de linéarité » que l'on est prêt à accepter.

D'après le tableau n°V page 25, on a calculé les écarts et le pourcentage des écarts entre les moyennes des points expérimentaux et la valeur de référence et on a obtenu le tableau suivant

Tableau n° XVII : Evaluation de La linéarité et de la sensibilité des ions nitrites

Numéros de l'échantillon	n°1	n°2	n°3	n°4	n°5
Ecart	0,034	0,066	0,002	0,019	0,005
Pourcentage d'écart (%)	73,913	28,695	0,004	0,275	0,543

Ecart = Concentration de référence - Moyennes de concentrations mesurées

$$\text{Pourcentage d'écart} = \frac{\text{Ecart}}{\text{Concentration de référence}} \times 100$$

Courbe de la linéarité et de la sensibilité

Tracer la courbe en présentant l'écart entre les points expérimentaux et la droite estimée. Puis préciser le domaine d'utilisation de la méthode en fonction de l'erreur de linéarité qu'on est prêt à accepter.

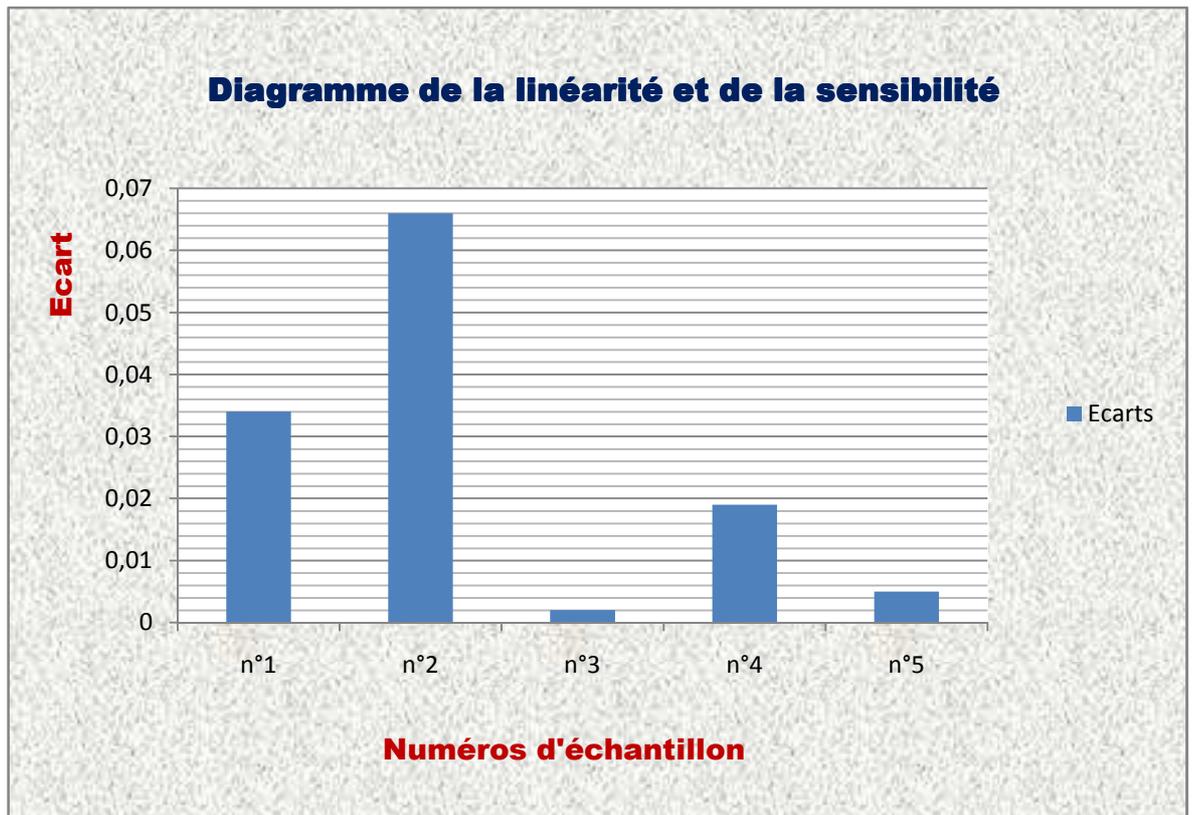


Figure n°3 : Diagramme de la linéarité et de la sensibilité des ions nitrites

I-4 Evaluation de la justesse:

Pour la répétition de mesure de l'étalonnage de l'échantillon n°4 (voir tableau n°VI page 25) on a relevé les valeurs suivant : $x_{Ref} = 0,690$

Tableau n°XVIII Evaluation de la justesse des ions nitrites

$\bar{x}_{Ref} = 0,664$	$U_{Ref} = 0,023$
$\bar{x}_i = 0,671$	$U_i = 1,690.10^{-3}$

Où x_{Ref} la valeur de référence acceptée obtenue par le premier étalonnage effectuée; \bar{x}_{Ref} la valeur moyenne obtenue à partir de la répétition de la mesure de l'étalonnage; \bar{x}_i la valeur moyenne obtenue à partir d'une large série de résultats d'essais des échantillons; U_{Ref} l'écart type de la valeur \bar{x}_{Ref} ; U_i l'écart type de la valeur x_i

$$E_N = \left| \frac{\bar{x}_i - x_{Ref}}{\sqrt{U_i^2 + U_{Ref}^2}} \right| = 0,824 \quad (g)$$

I-5 Evaluation de la spécificité et de la sélectivité:

Méthode des ajouts dosés :

Elle consiste à ajouter dans l'échantillon pendant ou après sa préparation des quantités connues de l'analyte. On examine alors si la réponse de l'instrument de mesure correspond au signal initial augmenté du signal correspondant à la quantité ajoutée.

Selon l'échantillon n°1, n°2, n°3 de l'étalonnage du tableau n°I page 20, la variation de concentration et d'absorbance sont résumées dans le tableau suivant

Tableau n° IX Evaluation de la spécificité et de la sélectivité des ions nitrites

	1 ^{ère} ajout	2 ^{ème} ajout	Conclusion
Variation de concentration (mg/l)	$\Delta C_1 = 0,184$	$\Delta C_2 = 0,444$	$\Delta C_2 = 2,41$ fois ΔC_1
Variation d'absorbance correspondante	$\Delta A_1 = 0,086$	$\Delta A_2 = 0,296$	$\Delta A_2 = 3,44$ fois ΔA_1

I-6 Estimation de la replicabilité

La replicabilité à la concentration connue de 0,69mg/l sur le même échantillon n°4 (voir tableau n°VII page26), soumis à l'essai dans le même laboratoire par le même operateur, avec le même appareil et le même jour; est déterminée à partir de l'équation suivante :

$$\frac{t_{(0,95; n-1)} \cdot S_1}{\sqrt{n}} \quad (h)$$

Où : S_1 : écart type d'une série de mesure se référant à la replicabilité

$t_{(0,95; n-1)}$: coefficient que l'on peut déterminer par la table de student pour une valeur de niveau de confiance 95% et au nombre n-1 mesure

Application numérique : $t_{(0,95; n-1)} = 2,45$ d'après la table Student; et $S_1 = 2,923 \cdot 10^{-3}$

$$\frac{t_{(0,95; n-1)} \cdot S_1}{\sqrt{n}} = 2,531 \cdot 10^{-3}$$

I-7 Estimation de la répétabilité

La répétabilité à la concentration connue de 0,49mg/l sur le même échantillon n°3 (voir tableau n°VIII page 27), soumis à l'essai dans le même laboratoire, le même opérateur, le même appareil mais le jour est différent est déterminée à partir de l'équation suivante :

$$\frac{t_{(0,95; n-1)} \cdot S_2}{\sqrt{n}} \quad (i)$$

Où S_2 : écart type d'une série de mesure se référant à la répétabilité

$t_{(0,95; n-1)}$: coefficient que l'on peut déterminer par la table de student pour une valeur de niveau de confiance 95% et au nombre n-1 mesure

Application numérique : $t_{(0,95; n-1)} = 2,45$ d'après table student; et $S_2 = 2,59 \cdot 10^{-3}$

$$\frac{t_{(0,95; n-1)} \cdot S_2}{\sqrt{n}} = 2,243 \cdot 10^{-3}$$

I-8 Estimation de la reproductibilité

La reproductibilité à la concentration connue 0,23mg/l sur le même échantillon n°2 (voir tableau n°IX page 28), soumis à l'essai dans les différents laboratoires : « JIRAMA (traitement des eaux Mandroseza) et CNRE (Tsimbazaza) » dont les conditions sont les suivantes : opérateur différent, appareil différent, jours différents. La valeur sera déterminée à partir de l'équation suivante :

$$\frac{t_{(0,95; n-1)} \cdot S_3}{\sqrt{n}} \quad (j)$$

Où S_3 : écart type d'une série de mesure se référant à la reproductibilité

$t_{(0,95; n-1)}$: coefficient que l'on peut déterminer par la table de student pour une valeur de niveau de confiance 95% et au nombre n-1 mesure

Application numérique: $t_{(0,95; n-1)} = 2,45$ d'après table student; et $S_3 = 1,633 \cdot 10^{-3}$

$$\frac{t_{(0,95; n-1)} \cdot S_3}{\sqrt{n}} = 1,414 \cdot 10^{-3}$$

II-La méthode de Salicylate de sodium

II-1 Limite de détection de la méthode utilisée (LDM):

La limite de détection d'une méthode (LDM) est la plus basse concentration pour un composé analysé, elle est différente de celui produit par un « blanc » dans les mêmes conditions.

$$\text{LDM} = 3.S \quad (k)$$

Où LDM : limite de détection d'une méthode;

S : écart type des replica

Application. Numérique : le calcul s'effectue sur le tableau n°XI page 30), on obtient :

$$\text{LDM} = 0,012$$

II-2 Limite de quantification de la méthode utilisée (LQM) :

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

$$\text{LQM} = 10.S \quad (l)$$

Où LQM : limite de quantification d'une méthode;

S : écart type.

Application .Numérique : LQM = 0,04

II-3 Evaluation de La linéarité et de la sensibilité:

La technique consiste à comparer les écarts entre les moyennes des points expérimentaux et la droite estimée, à l'erreur résiduelle (c'est-à-dire la répétabilité) par une analyse de variance. Et on peut préciser le domaine d'utilisation de la méthode en fonction de « l'erreur de linéarité » que l'on est prêt à accepter

D'après le tableau n°XII page 31, On calcul les écarts et le pourcentage des écarts entre les moyennes des points expérimentaux et la valeur de référence et on a obtenu le tableau suivant:

Tableau n° XX: Evaluation de La linéarité et de la sensibilité:

Numéros de l'échantillon	n°1	n°2	n°3	n°4
Ecart	0,16	0,110	0,339	0,325
Pourcentage d'écart (%)	32	0,001	13,56	6,5

Ecart = Concentration de référence - Moyennes de concentrations mesurées

$$\text{Pourcentage d'écart} = \frac{\text{Ecart}}{\text{Concentration de référence}} \times 100$$

Courbe de la linéarité et de la sensibilité

Tracer la courbe en présentant l'écart entre les points expérimentaux et la droite estimée. Puis préciser le domaine d'utilisation de la méthode en fonction de l'erreur de linéarité qu'on est prêt à accepter

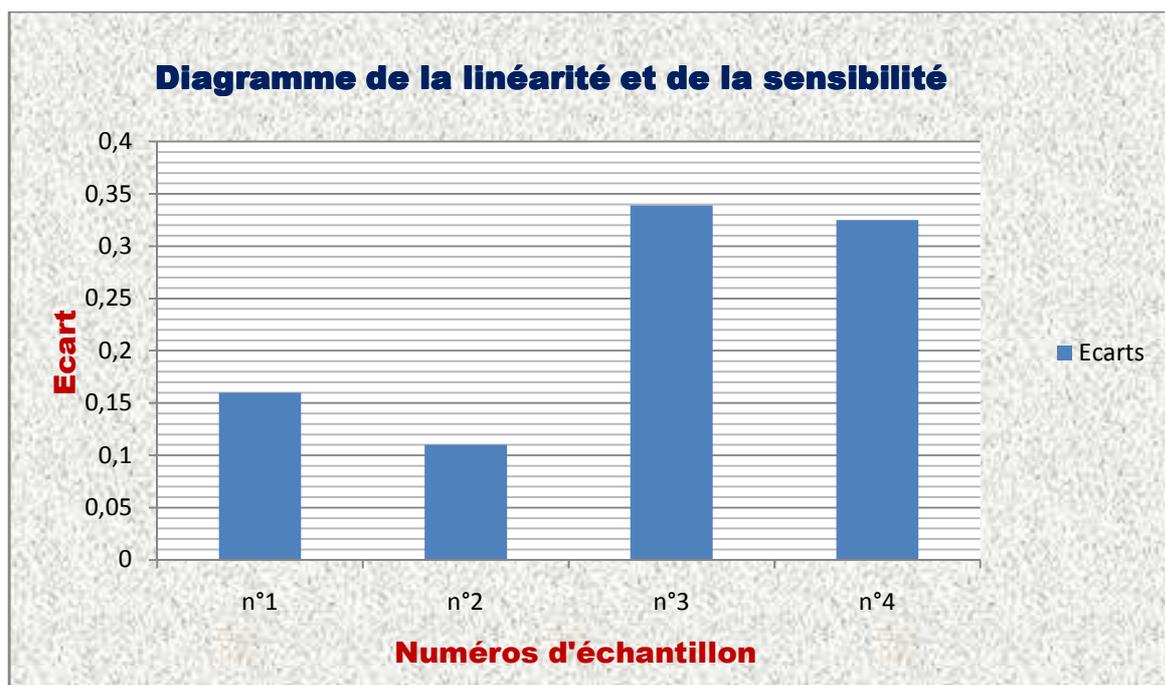


Figure n°4 : Diagramme de la linéarité et de la sensibilité des ions nitrates:

II-4 Evaluation de la justesse:

Pour la répétition de mesure de l'étalonnage de l'échantillon n°4 (voir tableau n°XIII, page31) ; on a relevé les valeurs suivant : $x_{Ref} = 5$

Tableau n°XXI : Evaluation de la justesse des ions nitrites

$\bar{x}_{Ref} = 4,931$	$U_{Ref} = 0,059$
$\bar{x}_i = 5,325$	$U_i = 9,725.10^{-3}$

Où x_{Ref} la valeur de référence acceptée obtenue par le premier étalonnage effectuée; \bar{x}_{Ref} la valeur moyenne obtenue à partir de la répétition de la mesure de l'étalonnage; \bar{x}_i la valeur moyenne obtenue à partir d'une large série de résultats d'essais des échantillons; U_{Ref} l'écart type de la valeur \bar{x}_{Ref} ; U_i l'écart type de la valeur x_i

$$E_N = \left| \frac{\bar{x}_i - x_{Ref}}{\sqrt{U_i^2 + U_{Ref}^2}} \right| = 6,589 \quad (m)$$

II-5 Evaluation de la spécificité et de la sélectivité:

Méthode des ajouts dosés :

Elle consiste d'ajouter dans l'échantillon pendant ou après sa préparation des quantités connues de l'analyte. On examine alors si la réponse de l'instrument de mesure correspond au signal initial augmenté du signal correspondant à la quantité ajoutée.

Selon l'échantillon n°1, n°2, n°3 de l'étalonnage (voir tableau n°II page 22), la variation de concentration et d'absorbance sont résumée dans le tableau suivant

Tableau n° XXII : Evaluation de la spécificité et de la sélectivité des ions nitrates

	1 ^{ère} ajout	2 ^{ème} ajout	Conclusion
Variation de concentration	$\Delta C_1 = 0,5$	$\Delta C_2 = 2$	$\Delta C_2 = 4 \text{ fois } \Delta C_1$
Variation d'absorbance correspondance	$\Delta A_1 = 0,108$	$\Delta A_2 = 0,610$	$\Delta A_2 \cong 6 \text{ fois } \Delta A_1$

II-6 Estimation de la replicabilité

La replicabilité à la concentration connue de 2,5mg/l sur le même échantillon n°4 (voir tableau n°XIV page32), soumis à l'essai dans le même laboratoire avec le même operateur, sur le même appareil et le même jour; est déterminée à partir de l'équation suivante :

$$\frac{t_{(0,95; n-1)} \cdot S_1}{\sqrt{n}} \quad (n)$$

Où S_1 écart type d'une série de mesure se référant à la replicabilité

$t_{(0,95; n-1)}$: coefficient que l'on peut déterminer par la table de student pour une valeur de niveau de confiance 95% et au nombre n-1 mesure

Application numérique : $t_{(0,95; n-1)} = 2,45$ d'après table student et $S_1=5,569.10^{-3}$

$$\frac{t_{(0,95; n-1)} \cdot S_1}{\sqrt{n}} = 4,824.10^{-3}$$

II-7 Estimation de la répétabilité

La répétabilité à la concentration connue de 1mg/l sur le même échantillon n°2, (voir tableau n°XV page33) soumis à l'essai dans le même laboratoire, avec le même operateur, sur le même appareil mais le jour est différent est déterminée à partir de l'équation suivante :

$$\frac{t_{(0,95; n-1)} \cdot S_2}{\sqrt{n}} \quad (o)$$

Où S_2 écart type d'une série de mesure se référant à la répétabilité

$t_{(0,95; n-1)}$: coefficient que l'on peut déterminer par la table de student pour une valeur de niveau de confiance 95% et au nombre n-1 mesure

Application numérique : $t_{(0,95; n-1)} = 2,45$ d'après table student et $S_2=0,036$

$$\frac{t_{(0,95; n-1)} \cdot S_2}{\sqrt{n}} = 0,031$$

II-8 Estimation de la reproductibilité

La reproductibilité à la concentration connue 2,5mg/l sur le même échantillon n°3, (voir tableau n°XVI page34) soumis à l'essai dans les différents laboratoires : « JIRAMA (traitement des eaux Mandroseza) et CNRE (Tsimbazaza) » dont les conditions sont les suivantes : opérateur différent, appareil différent, jours différent. La valeur sera déterminée à partir de l'équation suivante :

$$\frac{t_{(0,95; n-1)} \cdot S_3}{\sqrt{n}} \quad (p)$$

Où S_3 écart type d'une série de mesure se référant à la reproductibilité

$t_{(0,95; n-1)}$: coefficient que l'on peut déterminer par la table de student pour une valeur de niveau de confiance 95% et au nombre n-1 mesure

Application numérique: $t_{(0,95; n-1)} = 2,45$ d'après table student et $S_3 = 4,027 \cdot 10^{-3}$

$$\frac{t_{(0,95; n-1)} \cdot S_3}{\sqrt{n}} = 3,488 \cdot 10^{-3}$$

3^{ème} PARTIE :
INTERPRETATION
DES RESULTATS SUR
LES PARAMETRES DE
VALIDATION

I-Introduction

L'interprétation sera réalisée principalement à partir des résultats obtenus dans la partie expérimentale. Notre étude concerne la validation de deux méthodes, donc nous allons interpréter les résultats de ces deux méthodes.

Pour permettre la lecture nécessaire sur les résultats des paramètres à étudier, nous avons volontairement rassemblé dans un tableau récapitulatif tous les résultats obtenus. Puis nous allons interpréter les résultats

II-Interprétation sur les résultats des différents paramètres de validation de la méthode de Zambelli sur la détermination des ions nitrite:

II-1 Récapitulation des résultats :

D'après le calcul de la partie expérimentale ci-dessous, on a résumé les résultats obtenus dans le tableau suivant:

Tableau n°XXIII : Récapitulation des résultats :

Paramètre étudié	Méthode de Zambelli: détermination des ions nitrite « NO ₂ ⁻ »
Erreur systématique due à la méthode	$\frac{C-m}{\frac{\sigma}{\sqrt{n}}} = 2,231$
Erreur systématique due à la l'appareil	$\frac{A-m'}{\frac{\sigma}{\sqrt{n}}} = 1,571$
Limite de détection de la méthode (LDM)	LDM=0,0018
Limite de quantification de la méthode (LQM)	LQM=0,006
Evaluation de la justesse	$E_N = \left \frac{\bar{x}_i - x_{Ref}}{\sqrt{U_i^2 + U_{Ref}^2}} \right = 0,824$
Estimation de Réplicabilité	$\frac{t_{(0,95; n-1)} \cdot S1}{\sqrt{n}} = 2,531 \cdot 10^{-3}$
Estimation de Répétabilité	$\frac{t_{(0,95; n-1)} \cdot S2}{\sqrt{n}} = 2,243 \cdot 10^{-3}$
Estimation de Reproductibilité	$\frac{t_{(0,95; n-1)} \cdot S3}{\sqrt{n}} = 1,414 \cdot 10^{-3}$

II-2 Interprétation du paramètre d'une erreur systématique:

D'après le calcul de la page 35, paragraphe I-1, Partie A on a :

$$\left. \begin{array}{l} \frac{C-m}{\frac{\sigma}{\sqrt{n}}} = 2,231 \\ t_{95} = 2,35 \end{array} \right\} \Longrightarrow \frac{C-m}{\frac{\sigma}{\sqrt{n}}} < t_{95} \quad (q)$$

Pour un niveau de confiance de 95% et pour $n-1=7$, la table Student donne $t_{95}=2,37$

D'où $\frac{C-m}{\frac{\sigma}{\sqrt{n}}} < t_{95}$, les résultats fournis par la méthode ou par l'utilisation des produits ne diffèrent pas systématiquement de la valeur, donc pas d'erreur systématique due à la méthode ou à l'utilisation des produits.

D'après le calcul de la page 36, paragraphe I-2, Partie A on a :

$$\left. \begin{array}{l} \frac{A-m'}{\frac{\sigma'}{\sqrt{n}}} = 2,231 \\ t_{95} = 2,35 \end{array} \right\} \Longrightarrow \frac{A-m'}{\frac{\sigma'}{\sqrt{n}}} = 2,231 < t_{95} = 2,37 \quad (r)$$

Pour un niveau de confiance de 95% et pour $n-1=7$, la table student donne $t_{95}=2,37$

D'où $\frac{A-m'}{\frac{\sigma'}{\sqrt{n}}} < t_{95}$, les résultats fournis par l'appareil ne diffère pas systématiquement de la vraie valeur, donc pas d'erreur systématique due à l'appareil.

II-3 Interprétation sur les résultats de la Limite de Détection et Quantification d'une Méthode utilisée :

Pratiquement, les limites de détection et quantification sont obtenus en tenant compte une concentration minimale différent de zéro, correspondant à l'absorbance égale à zéros ou sensiblement égale à zéro. D'après l'essai expérimental de la page 38, partie B, on a:

$$L.D.M = 0,0018 \quad (s)$$

$$L.Q.M = 0,006 \quad (t)$$

On peut dire alors que la méthode spectrophotométrique utilisée est beaucoup plus sensible « de l'ordre de 10^{-3} » par rapport à la méthode colorimétrique utilisée dans une étude antérieure [14], où la LDM est de 8.10^{-2} mg/l dans un domaine d'application entre 0,02 à 2,7mg/l pour le nitrite

II-4 Interprétation sur les résultats du paramètre de la linéarité et de la sensibilité :

Selon la théorie, le domaine d'utilisation correspond au minimale d'écart (c'est-à-dire l'écart entre la concentration de référence et les moyennes de concentration obtenus). D'après page 40, le courbe n°3, paragraphe I-3, On est prêt à accepter le domaine de concentration de linéarité et de la sensibilité entre 0,49mg/l jusqu'à 0,9mg/l c'est à dire entre l'échantillon numéros trois jusqu'à numéros cinq.

Pour les concentrations strictement inférieures à 0,49 mg/l, il y a un grand écart entre la valeur de référence et la valeur mesurée donc on ne peut pas accepter ces domaines, ce qui permet de conclure la non adaptation de cette méthode dans l'analyse des eaux potables où la valeur maximale admissible est de 0,1 mg /l

II-5 Interprétation sur les résultats d'évaluation de justesse

La justesse d'une analyse est vérifiée par la méthode de comparaison des moyennes des résultats qui serait obtenus en appliquant cette méthode en n=8 fois avec une méthode de référence. On cherche à améliorer la méthode jusqu'à l'écart devienne faible par rapport aux incertitudes sur la mesure et sur la valeur de référence.

Pour la méthode de Zambelli (selon le tableau n°XVIII, page 40, paragraphe I-4)

$$\text{On a: } E_N = \left| \frac{\bar{x}_i - x_{Ref}}{\sqrt{U_i^2 + U_{Ref}^2}} \right| = 0,824 < 2 \quad (u) ; \text{ d'où l'écart n'est pas significatif}$$

On peut dire alors que l'interférence n'existe pas. Ce qui montre qu'une parfaite préparation de l'échantillon et la mesure des différentes échantillons liée plus particulièrement à l'étalonnage est représentative. L'étroitesse entre la valeur de référence et les résultats obtenus par cette méthode est acceptable

II-6 Interprétation sur les résultats d'évaluation de la fidélité

Dans tous les cas, on doit tenir compte l'estimation de la réplicabilité, la répétabilité et la reproductibilité. Théoriquement l'estimation doit être identique ou voisine, donc d'après les résultats obtenus (voir page 41 et 42), les trois valeurs sont à peu près très voisines en particulier la réplicabilité et la répétabilité car la fidélité est relatif à un même opérateur travaillant dans le même laboratoire avec le même appareil et le même réactif. Mais la reproductibilité est tout à fait différente, elle correspond au cas de différents opérateurs, de différents laboratoires et de différents appareils. Ce qui ne valide pas la méthode car deux laboratoires différents opérant dans les mêmes conditions, sur la base d'un même principe d'analyse auraient dû avoir le même ordre de grandeur de l'élément dosé.

II-7 Interprétation sur les résultats d'évaluation de la spécificité et de la sensibilité

L'objectif permet d'évaluer l'influence de certaines interférences pendant ou après sa préparation des quantités connues de l'analyte. On examine alors si la réponse de l'instrument de mesure correspond au signal initial augmenté du signal correspond à la quantité ajoutée.

Selon le tableau n°IX, page 41, paragraphe I-5, On compare le taux de la variation de concentration et le taux de la variation de l'absorbance. D'après le calcul qu'on a fait : si on a utilisé un 2^{ème} ajout de concentration correspond au double de 1^{ère} ajout, on obtient au 2^{ème} ajout de l'absorbance une augmentation correspondant à 3 fois l'augmentation au 1^{ère} ajout. Cela veut dire que la réponse de l'instrument de mesure ne correspond pas au signal initial augmenté du signal correspond à la quantité ajoutée. Ce qui signifie que l'ajout dosé est non récupéré, il se peut qu'il y ait une source d'interférence non identifiée et on a besoin de vérifier en faisant l'analyse au laboratoire.

On note que l'évaluation de la spécificité et de la sensibilité est facultative pour la méthode de validation de l'analyse chimique, c'est-à-dire, on n'est pas obligé de vérifier ces caractéristiques mais on l'a fait pour voir l'effet des ajouts dosés sur la méthode sélectionnée .

III-Interprétation sur les résultats des différents paramètres de validation de la méthode de Salicylate de sodium sur la détermination des ions nitrate

III-1 Récapitulation des résultats :

D'après le calcul de la partie expérimentale ci-dessous, on a résumé les résultats obtenus dans le tableau suivant:

Tableau n°XXIV Récapitulation des résultats :

Paramètre étudié	Méthode de Salicylate de sodium: détermination des ions nitrate « NO ₃ ⁻ »
Erreur systématique due à la méthode	$\frac{C-m}{\frac{\sigma}{\sqrt{n}}} = 25,914$
Erreur systématique due à la l'appareil	$\frac{A-m'}{\frac{\sigma}{\sqrt{n}}} = 10,129$
Limite de détection d'une méthode (LDM)	LDM=0,012
Limite de quantification d'une méthode (LQM)	LQM=0,04
Evaluation de la justesse	$E_N = \left \frac{\bar{x}_i - x_{Ref}}{\sqrt{U_i^2 + U_{Ref}^2}} \right = 6,589$
Estimation de Réplicabilité	$\frac{t_{(0,95; n-1)} \cdot S1}{\sqrt{n}} = 4,824 \cdot 10^{-3}$
Estimation de Répétabilité	$\frac{t_{(0,95; n-1)} \cdot S2}{\sqrt{n}} = 0,031$
Estimation de Reproductibilité	$\frac{t_{(0,95; n-1)} \cdot S3}{\sqrt{n}} = 3,488 \cdot 10^{-3}$

III-2 Interprétation du paramètre d'une erreur systématique:

D'après le calcul de la page 36, paragraphe II-1, Partie A on a :

$$\left. \begin{array}{l} \frac{C-m'}{\frac{\sigma'}{\sqrt{n}}} = 25,914 \\ t_{95} = 2,35 \end{array} \right\} \implies \frac{C-m'}{\frac{\sigma'}{\sqrt{n}}} = 25,914 > t_{95} \quad (v)$$

Pour un niveau de confiance de 95% et pour $n-1=7$, la table student donne $t_{95}=2,35$

Et $\frac{C-m'}{\frac{\sigma'}{\sqrt{n}}} > t_{95}$, D'où la valeur $|C - m|$ est significative d'une erreur systématique introduite

à la méthode ou à l'utilisation des produits, donc les résultats fournis par cette méthode ou les réactifs chimiques devront être corrigés et le terme correctif est : $|C - m|$

D'après le calcul de la page 37, paragraphe II-2, Partie A on a :

$$\left. \begin{array}{l} \frac{A-m'}{\frac{\sigma'}{\sqrt{n}}} = 10,129 \\ t_{95} = 2,35 \end{array} \right\} \implies \frac{A-m'}{\frac{\sigma'}{\sqrt{n}}} > t_{95} \quad (w)$$

Pour un niveau de confiance de 95 % et pour $n-1=7$ la table student donne $t_{95}=2,35$

Et $\frac{A-m'}{\frac{\sigma'}{\sqrt{n}}} > t_{95}$, D'où la valeur $|A - m'|$ est significative d'une erreur systématique

introduite à l'appareil, donc les résultats fournis par l'appareil devront être corrigés et le terme correctif est : $|A - m'|$

III-3 Interprétation sur les résultats de la Limite de Détection et de Quantification d'une Méthode utilisée

Pratiquement, les seuils de détection et quantification sont obtenus en tenant compte une concentration minimale différent de zéro, correspondant à l'absorbance égale à zéros ou sensiblement égale à zéro. D'après l'essai expérimental de la page 43, on a:

$$L.D.M = 0,012 \quad (x)$$

$$L.Q.M = 0,04 \quad (y)$$

On peut dire alors que la méthode spectrophotométrique utilisée est beaucoup plus sensible « de l'ordre de 10^{-2} » par rapport à la méthode colorimétrique utilisée dans une étude antérieure [14], où la LDM est de 5.10^{-2} mg/l dans un domaine d'application entre 0,05 à 4,5mg/l pour le nitrate.

III-4 Interprétation sur les résultats du paramètre de la linéarité et de la sensibilité :

Selon la théorie, le domaine d'utilisation correspond au minimale d'écart (c'est-à-dire l'écart entre la concentration de référence et les moyennes de concentration obtenus). D'après le tableau n° XX, courbe n°4, page 44. On ne peut pas obtenir le domaine de concentration de linéarité et de la sensibilité car l'écart entre la concentration de référence et les moyennes de concentrations obtenues sont élevées.

III-5 Interprétation sur les résultats d'évaluation de justesse

La justesse d'une analyse est vérifiée par la méthode de comparaison des moyennes des résultats qui serait obtenus en appliquant cette méthode en n=8 fois avec une méthode de référence. On cherche à améliorer la méthode jusqu'à l'écart devienne faible par rapport aux incertitudes sur la mesure et sur la valeur de référence.

Pour la méthode de Salicylate de sodium (selon le tableau n°XXI, page45, paragraphe II-4); on a:

$$E_N = \left| \frac{\bar{x}_i - x_{Ref}}{\sqrt{U_i^2 + U_{Ref}^2}} \right| = 6,589 > 2 \quad (z) \text{ d'où l'écart est significatif}$$

On peut dire alors que l'interférence existe. Ce qui montre qu'une mauvaise préparation de l'échantillon et de mesure liée plus particulièrement à l'étalonnage ou la méthode utilisée n'a pas été parfaite, et l'écart entre la valeur de référence et les résultats obtenus par cette méthode ne sont pas acceptés.

III-6 Interprétation sur les résultats d'évaluation de la fidélité:

Dans tous les cas, on doit tenir compte de l'estimation de la réplicabilité, la répétabilité et la reproductibilité. Théoriquement l'estimation doit être identique ou voisine, mais d'après les résultats obtenus (voir page 46 et 47), les trois estimations sont tout à fait différentes alors qu'elles ont été assez voisines en ce qui concerne la méthode de Zambelli.

On peut dire donc que la méthode au salicylate de sodium n'est pas fidèle.

III-7 Interprétation sur les résultats d'évaluation de la spécificité et de la sensibilité

L'objectif permet d'évaluer l'influence de certaines interférences pendant ou après sa préparation des quantités connues de l'analyte. On examine alors si la réponse de l'instrument de mesure correspond au signal initial augmenté du signal correspond à la quantité ajoutée.

Selon Le tableau n°XXII, page 45, paragraphe II-5, On compare le taux de la variation de concentration et le taux de la variation de l'absorbance. D'après le calcul, si on a utilisé un 2^{ème} ajout de concentration correspond aux quatre fois de 1^{ère} ajout, on obtient au 2^{ème} ajout de l'absorbance une augmentation correspondant à 6 fois l'augmentation au 1^{ère} ajout. Cela veut dire que la réponse de l'instrument de mesure ne correspond pas au signal initial augmenté du signal correspond à la quantité ajoutée. Ce qui signifie que l'ajout dosé est non récupéré, il se peut qu'il y ait une source d'interférence non identifiée et on a besoin de vérifier en faisant l'analyse au laboratoire.

On note que l'évaluation de la spécificité et de la sensibilité est facultative pour la méthode de validation de l'analyse chimique, c'est-à-dire, on n'est pas obligé de vérifier ces caractéristiques mais on l'a fait pour voir l'effet des ajouts dosés sur la méthode sélectionnée.

IV-Conclusion :

La mesure expérimentale ci-dessus nous permet de connaître et de répondre que : les méthodes d'analyses chimiques utilisées sont-elles acceptables? D'après les résultats obtenus, on peut conclure que:

Selon l'estimation systématique, les résultats fournis par la méthode de Zambelli ne diffèrent pas systématiquement de la valeur donc on n'a pas d'erreur systématique due à l'appareil ou à la méthode ou aux produits utilisés ; tandis que la méthode de salicylate de sodium ne peut pas donner des résultats acceptables.

Selon l'évaluation caractéristique de la linéarité et de la sensibilité, la méthode est utilisable entre la concentration 0,49mg/l jusqu'à 0,67mg/l pour le dosage nitrite mais on n'a pas pu obtenir le domaine d'utilisation pour le dosage en nitrate.

Selon l'évaluation de la justesse, l'écart n'est pas significatif pour le dosage des nitrites tandis que l'écart est significatif pour le dosage des nitrates.

On a trouvé aussi que la Limite de Détection de la Méthode est respectivement de l'ordre de 10^{-3} ; 10^{-2} pour les deux méthodes, ce qui démontre que l'appareil spectrophotométrique est plus sensible pour la détermination des ions nitrites et nitrates.

On peut en conclure que la méthode de Zambelli est validée tandis que la méthode au salicylate de sodium n'est pas validée.

V- Perspectives :

Notre étude a montré que l'utilisation de méthode de mesure non normalisée a des impacts sur la fiabilité des résultats de par l'insuffisance de sensibilité, fidélité, spécificité, sélectivité, linéarité; ce qui amène le laboratoire a utilisé des méthodes validées ou normalisés. En ce qui concerne la JIRAMA, ces deux méthodes ont été abandonnées et remplacé par une autre méthode spectrophotométrique (méthode au réduction au cadmium).

Aussi, nous proposons de valider dans la prochaine étude la méthode au laboratoire de l'E.S.P.A en termes d'analyse de nitrate en utilisant l'azote ammoniacale (les composés ammoniacaux se combinent avec le chlore).

Toutefois si on veut encore utiliser cette méthode au salicylate de sodium, l'insertion des termes correctifs est à considérer pour avoir un résultat valable.

Dans ce cas, la valeur corrigée = f_c .valeur mesurée (où f_c : facteur corrigé). Et f_c devront être corrigés par le terme correctif : $|C - m|$ et : $|A - m'|$

CONCLUSION GENERALE

D'une façon générale, afin de s'assurer de l'efficacité technique de la méthode spectrophotométrique, la norme internationale ISO/CEI demande de valider la méthode. Il faut considérer en même temps les différents paramètres :

L'estimation d'une erreur systématique

L'évaluation des caractéristiques de méthode d'analyse.

D'après les résultats des méthodes utilisées, les paramètres systématiques des résultats fournis par la méthode de Zambelli ne diffèrent pas systématiquement de la valeur acceptée tandis que les erreurs systématiques sont très élevées par la méthode de salicylate de sodium. Cet effet est encore confirmé par l'examen simultané de quatre paramètres (la fidélité, la justesse, la linéarité et la spécificité). Ce qui montre la fiabilité de la méthode de Zambelli, mais la méthode au salicylate de sodium n'est pas acceptable.

Nous avons conclu que: en tenant compte des résultats obtenus et des interprétations émis, la méthode de Zambelli pour la détermination des ions nitrites est validée tandis que la méthode au salicylate de sodium pour la détermination des ions nitrates n'est pas validée De l'analyse des résultats obtenus par la méthode de Zambelli on peut annoncer que cette méthode est fiable dans la gamme supérieure à 0,49mg/l en utilisant l'appareil UPRIM de la JIRAMA.

Enfin, durant toute notre étude, le travail a été très intéressant et nous a permis d'acquérir beaucoup de connaissance théorique et expérimentales sur la technique de validation de la méthode analytique, d'expérience en matière d'analyse des eaux et ces méthodes peuvent faire l'objet et application dans d'autres domaines d'analyse.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] W.J.YOUDEN: Graphical diagnosis of interlaboratory tests results. Industrial Control (1959)
- [2] J.VIAL: Qualité de l'eau- Protocole d'évaluation d'une méthode alternative d'analyse physico chimique quantitative par rapport à une méthode de référence (1996)
- [3] J. JARDY: Spectra Analyse, Phase chromatographic method for analysis of carboxylic acids (2001)
- [4] RAKOTOARIVONIZAKA. IGNACE : Cours de Chimie en 4^{ème} année à l'ESPA Département Génie Chimique. Edition: « Validation pour l'analyse des eaux potable»
- [5] Max. Feinberg : La validation des méthodes d'analyse, Masson, (1996)
- [6] ISO/DTS 21748 Application of statistics-Guide to the Use of repeatability, reproductibility and trueness estimates in measurement uncertainty estimation (1999).
- [7] M. JONH : Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure, Document publié par l'ISO (1993), commun à BIPM, ISO repris à l'identiques sous forme de norme française X 0-020 (1993)
- [8] NEUILLY.M : Modélisation et calcul de l'incertitude d'un résultat de mesure. P260, traité Analyse et caractérisation, Techniques de l'ingénieur.Janv 1996
- [9] Eurachem Guide: The fitness for Purpose of Analytical Methods- A Laboratory guide to method validation and related topics (1998)
- [10] COURTIER .J.C : Vocabulaire de la mesure .R 113, traité Mesures et contrôle, Techniques de l'ingénieur.Oct 1996
- [11] E.DESTANDU: Robustness study of a reversed, phase liquid chromatographic method for the analysis of carboxylic acids in industrial reaction mixtures (2000)
- [12] Y. VANDER: Expérimental Design A
- [13] A.HENRIKSEN. Intercalibration methods for chemical analysis of water (1956)
- [14] J.RAHANTARIVELO: Appropriation de la méthode de la chromatographie ionique par l'analyse des ions fluorures, chlorures, nitrites, nitrates, phosphates et sulfates des différents échantillons. Mémoire de fin d'étude. Département physique (1999), université Antananarivo
- [15] J.SCHEIDHAUER : Analyse de l'eau, eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer (2000)

- [16] B.RAZAFINDRAIBE : Etude statistique de l'eau d'infiltration Fac de la science physique, Mécanique et physique Environnementale (1997), université Antananarivo
- [17] D.RAHARINIRINA : Mise au point d'un système de chromatographie ionique pour l'analyse des cations alcalins et ammonium de l'eau de consommation. Mémoire de fin d'étude 2000. Département physique (1999), université Antananarivo
- [18] M. RAKOTONDRAISOA: Application du protocole basé sur le facteur d'étalonnage en termes de dose absorbée dans l'eau à la dosimétrie en radiothérapie externe Mémoire de fin d'étude 2001. Département science physique (2001), université Antananarivo
- [20] Rodier. Protocole d'analyse de l'eau

ANNEXES

ANNEXE I : DOSAGE SPCTROPHOTOMETRIQUE DES IONS NITRITES ET NITRATES

I- METHODE AU SALICYLATE DE SODIUM (dosage des nitrate « NO₃-»)

Principe

En présence de salicylate de sodium, les nitrates donnent du paranitrosalicylate de sodium, coloré en jaune. Effectuer les lectures à la spectrométrie à la longueur d'onde de 415nm et tenir compte de la valeur lue pour le témoin, se rapporter au courbe étalonnage.

Réactifs :

- Solution de salicylate de sodium à 0,5%, à renouveler toutes les 24 heures.
- Acide sulfurique concentré (d=1,84)
- Solution d'hydroxyde de sodium et de tartrate double de sodium et de potassium :
Hydroxyde de sodium.....400g
Tartrate double de potassium.....60g
Eau distillée.....1000ml

Faire dissoudre les sels dans l'eau. Laisser refroidir et compléter à 1000ml. A conserver dans un flacon en polyéthylène

- **Solution mère étalon d'azote nitrite à 0,1g/l :**
 - ✓ Nitrate de potassium anhydre.....0,722g
 - ✓ Eau distillée.....1000ml
 - ✓ Chloroforme (pour conserver).....1ml
- **Solution fille étalon azote nitrique à 0,005g/l :**
Amener 50ml de la solution mère à 1000ml avec de l'eau distillée.

Etablissement de la courbe d'étalonnage :

Dans une série de capsules de 60ml, introduire successivement

Numéros des capsules	T	I	II	III	IV
Solution étalon d'azote nitrique à 0,005g/l (ml)	0	1	2	5	10
Eau distillée (ml)	10	9	8	5	0
Correspondance en mg/l d'azote nitrique	0	0,5	1	2,5	5

Solution de salicylate de sodium (ml)	1	1	1	1	1
---------------------------------------	---	---	---	---	---

Evaporer à sec au bain-marie ou dans une étuve portée à 75-80°C (ne pas surchauffer, ni chauffer trop longtemps). Laisser refroidir. Reprendre le résidu par 2ml d'acide sulfurique concentré en ayant soin de l'humecter complètement. Attendre 10mn, ajouter 15ml d'eau bidistillée puis 15 ml de la solution d'hydroxyde de sodium et de tartrate double de sodium et de potassium qui développe la couleur jaune. Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 415nm. Construire la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire :

Introduire 100ml d'eau dans une capsule de 60ml (pour les teneurs en azote nitrique supérieures à 10mg/l, opérer une dilution)

Alcaliniser faiblement avec la solution d'hydroxyde de sodium. Ajouter 1ml de solution de salicylate de sodium puis poursuivre le dosage comme pour la courbe d'étalonnage. Préparer de la même façon un témoin avec 10ml d'eau bi distillée. Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 415nm et tenir compte de la valeur lue pour le témoin. Se rapporter à la courbe d'étalonnage.

II- METHODES DE ZAMBELLI (dosage des nitrites « NO₂⁻ »)

Principe :

L'acide sulfaniqué en milieu chloridrique, en présence d'ion ammonium et de phénol, forme avec les ions NO₂⁻ un complexe coloré jaune dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en nitrites. Puis effectuer à la longueur d'onde de 435nm et tenir compte de la valeur lue pour le témoin se rapporter à la courbe d'étalonnage.

Réactifs

- Ammoniaque pure (d=0,925)
- Réactifs de Zambelli :
 - ✓ Acide chloridrique pure (d=1,19).....260ml
 - ✓ Acide sulfaniqués.....5g
 - ✓ Phénol cristallisé.....7,5g
 - ✓ Chlorure d'ammoniac.....135g
 - ✓ Eau distillée (exempte d'ion NO₂⁻).....625ml

Introduire dans une fiole jaugée d'un litre, l'acide sulfaniqué et le phénol en chauffant légèrement au bain-marie. Après dissolution complète ajouter le chlorure d'ammonium et agiter jusqu'à dissolution. Après refroidissement ajuster s'il y a lieu le volume de la solution à un litre avec de l'eau distillée.

- **Solution mère étalon de NO₂⁻ à 0,23g/l**
 - ✓ Nitrite de sodium.....0,345g
 - ✓ Eau fraîchement distillée.....1000ml

Cette solution se conserve mieux si l'on prend la précaution d'y ajouter 1ml de chloroforme.

- **Solution fille étalon d'ion NO₂⁻ à 0,0023g/l :**

Amener 1ml de la solution mère à 100ml avec de l'eau distillée.

Etablissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série de fioles jaugées à 50 ml et numérotées introduire successivement en agitant après chaque addition

Numéros des fioles	T	I	II	III	IV	V
Solution fille étalon à 0,0023g/l de	0	1	5	10	15	20

NO ₂ ⁻ (ml)						
Eau distillée (ml)	50	49	45	40	35	30
Réactif de Zambelli	2	2	2	2	2	2
	Attendre 10minutes et ajouter					
Ammoniaque pure	2	2	2	2	2	2
Correspondance en mg/l de NO ₂ ⁻	0	0,046	0,23	0,46	0,69	0,92

Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 435nm. Construire la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire :

Prélever 50ml d'eau à analyser, ajouter 2ml de réactif de Zambelli. Agiter et laisser au repos 10 minutes. Ajouter ensuite 2ml d'ammoniaque pure, effectuer la lecture au spectromètre à la longueur d'onde de 435nm et tenir compte de la valeur lue pour le témoin. Se reporter à la courbe d'étalonnage.

ANNEXE II : NOTION DE LA VALIDATION D'ANALYSE CHIMIQUE DE L'EAU

I-LA VALIDATION :

Définition :

C'est la procédure par laquelle on démontre, preuves expérimentales à l'appui, que les performances des méthodes permettent de répondre aux exigences de l'usage auquel elle est destinée.

Principe :

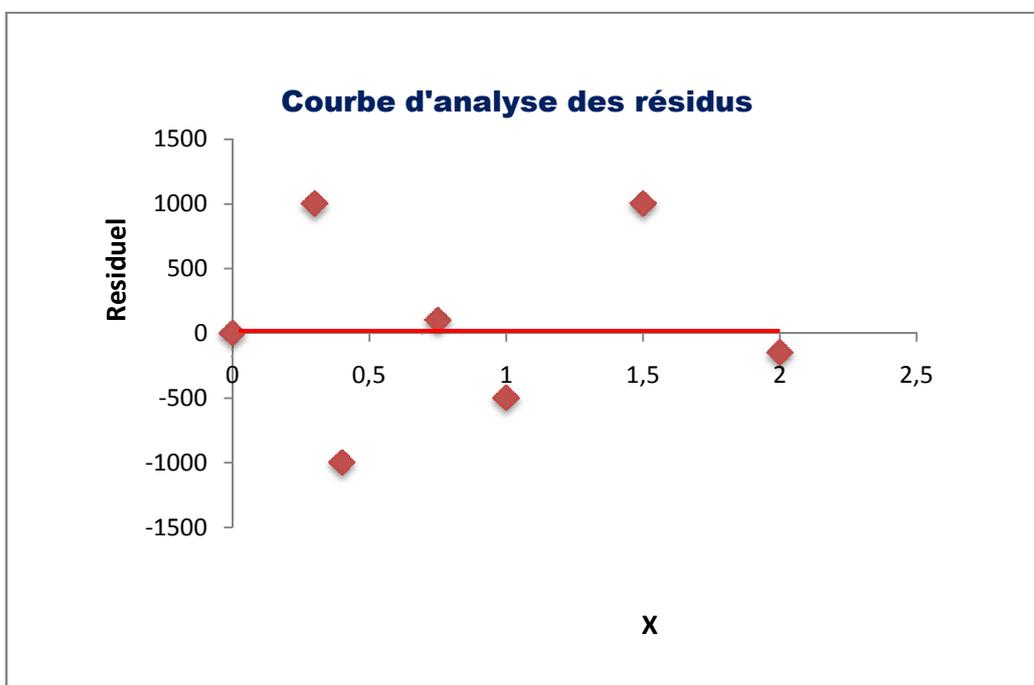
Lors de la validation, on doit utiliser deux types d'échantillons :

- ❖ Etalon : établissement d'une courbe d'étalonnage
- ❖ Témoins de validation : échantillons traités comme des inconnus.

Il faut comparer des résultats obtenus par un opérateur à une valeur de référence (test de justesse). L'estimation des caractéristiques de fidélité et de justesse sont trouvés à partir des valeurs retrouvées sur les témoins de validation. L'approche est basée sur le concept d'erreur totale = justesse + fidélité

Analyse des résidus:

Résidus= écarts entre les points expérimentaux et la droite de régression



- Acceptable en première approche

Note : Les outils statistiques sont des outils de diagnostic indispensable pour caractériser une méthode et la valider. La méthode de validation nécessite de pouvoir garantir la fiabilité et la traçabilité des résultats fournis. Il faut mettre la mise en place d'un système organisationnel pour répondre à ce besoin.

II-LES FORMULES STATISTIQUES DE LA VALIDATION :

Dans les tableaux, les données seront exprimées selon la forme suivante :

L.D.M 3. S	L.Q.M 10. S	Moyenne arithmétique $\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$
Variance $S^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}$	Ecart type $S_n = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\bar{x} - x_i)^2}{n-1}}$	Ecart type à partir de la variance $S = \sqrt{S^2}$
Justesse $E_N = \left \frac{\bar{x}_i - x_{Ref}}{\sqrt{U_i^2 + U_{Ref}^2}} \right $	Répliquabilité $\frac{t_{(0,95; n-1)} \cdot S_1}{\sqrt{n}}$	Répétabilité $\frac{t_{(0,95; n-1)} \cdot S_2}{\sqrt{n}}$
Reproductibilité $\frac{t_{(0,95; n-1)} \cdot S_3}{\sqrt{n}}$	Estimation d'une erreur systématique due à la méthode $\frac{C - m}{\frac{\sigma}{\sqrt{n}}}$	Estimation d'une erreur systématique due aux appareils $\frac{A - m'}{\frac{\sigma'}{\sqrt{n}}}$

Où \bar{x} : moyenne arithmétique d'une série de mesures

x_i : mesures individuelles

n : nombre de mesures

S : écart type d'une série de mesures

S^2 : La variance

C est la concentration connue,

m la moyenne obtenue lors d'une série de concentration,

σ et σ' sont des écarts types à calculer

A est l'absorbance correspondant à la concentration connue

m' la moyenne obtenue lors d'une série de l'absorbance

LDM : la limite de détection d'une méthode

LQM : La limite de quantification d'une méthode

S_1 écart type d'une série de mesure se référant à la replicabilité

S_2 écart type d'une série de mesure se référant à la répétabilité

S_3 écart type d'une série de mesure se référant à la reproductibilité

**ANNEXE III : ESTIMATION DE L'INTERVALLE DE CONFIANCE
SUIVANT LA METHODE DE STUDENT ET LA METHODE DE
L'ETENDUE**

I-TABLEAU REPRESENTATIF DE LA VALEUR DE LA VARIABLE $t_{\alpha}(\mu)$ DE STUDENT

Tableau: d'estimation de l'intervalle de confiance

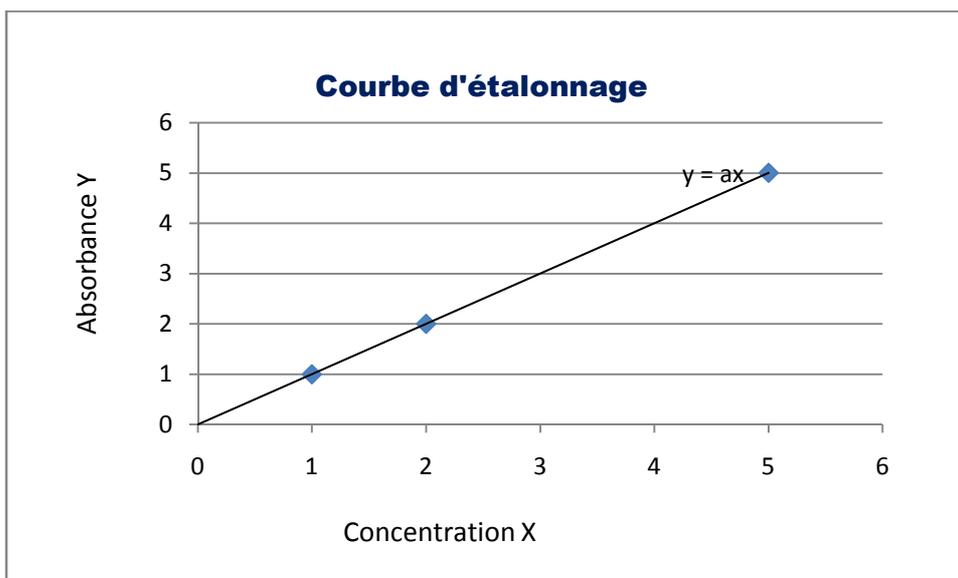
n	t (95%)	t (99%)
2	12,7	63,7
3	4,30	9,93
4	3,18	5,84
5	2,78	4,60
6	2,57	4,03
7	2,45	3,71
8	2,37	3,50
9	2,31	3,36
10	2,26	3,25
12	2,20	3,11
14	2,16	3,01
16	2,13	2,95
18	2,11	2,90
20	2,09	2,86
25	2,06	2,79
30	2,04	2,76
40	2,02	2,70
50	2,01	2,68
100	1,98	2,63
∞	1,96	2,57

ANNEXE VI : L'ÉTALONNAGE

I-LA GAMME D'ÉTALONNAGE :

Il faut trouver la relation entre l'intensité de la coloration en nitrite et nitrate dissous. La première opération consiste à cerner le domaine d'applicabilité de la méthode, c'est-à-dire la gamme de concentration où on pourra appliquer la loi de Beer-Lambert, généralement pour une absorbance inférieure. Pour cela, préparer une solution de nitrite et de nitrate à une concentration connue comprise dans la gamme de mesure. Le but est de tracer une courbe d'étalonnage à l'aide d'une solution de différentes concentrations connues en mesurant ainsi leur absorbance. Une fois tracée, la courbe d'étalonnage permettra de définir la concentration inconnue d'une même solution. Et là, c'est toute une histoire de précision, que l'on retrouve dans la pente d'étalonnage.

Figure de la courbe d'étalonnage :



Mesurer alors directement le nitrite et le nitrate dans les échantillons proposés. La concentration des ions nitrite et nitrate dans la solution est obtenue par la régression linéaire $Y = aX$

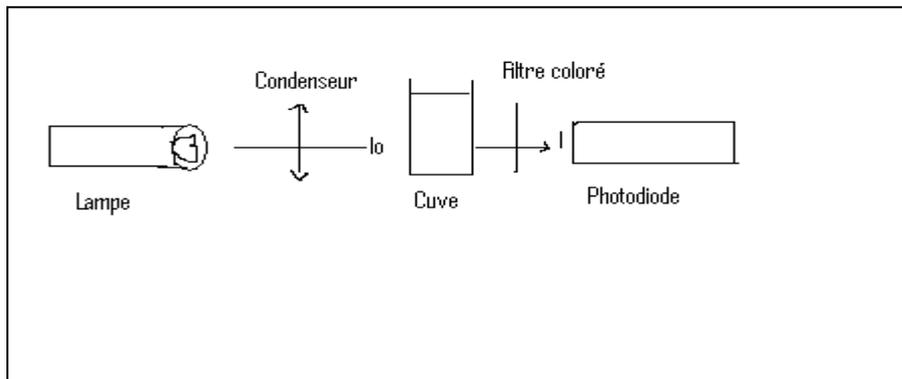
Avec : X : la concentration des ions correspondante à l'absorbance mesurée.

Y : l'absorbance ou la densité optique mesurée par le spectrophotomètre

a : la pente de la courbe d'étalonnage

II-PASSAGE AU COLORIMETRE :

Figure : Principe du colorimètre



La photodiode délivre un courant proportionnel à l'intensité lumineuse, c'est-à-dire à la lumière transmise. Pour utiliser cet appareil, il est nécessaire de « faire le zéro » de temps en temps avec une cuve remplie d'eau. On fixe ainsi la valeur de I_0 . L'appareil affiche alors $\log \left(\frac{I_0}{I} \right)$. On évitera soigneusement la présence de bulles et de traces sur les parois transparentes de la cuve.

Le principe de l'utilisation de la spectrophotométrie pour l'analyse quantitative est basé sur le fait que l'intensité d'absorption (ou émission) est en fonction de la concentration de la particule qui absorbe (ou qui émet) de la lumière.

Lorsque la lumière monochromatique d'intensité I_0 traverse un milieu homogène, l'intensité de la lumière émergente I décroît selon une fonction exponentielle lorsque l'épaisseur L du milieu absorbant augmente. Si on étudie principalement des solutions, la loi de Beer-Lambert fait intervenir les concentrations et s'exprime sous la forme suivante :

$$\text{Log} \left(\frac{I_0}{I} \right) = \epsilon c L$$

Où ϵ est le coefficient d'extinction molaire ($\text{l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$), c est la concentration de la solution ($\text{mol}^{-1} \cdot \text{l}$). L est le **chemin optique** (cm). Le rapport I/I_0 est appelé **la transmission** (aussi appelée « **transmittance** » et notée T), celle-ci est reliée à **la densité optique** D (aussi appelée « **absorbance** ») par la relation :

$$D = \log \left(\frac{1}{T} \right)$$

Un spectre d'absorption (ou d'émission) présente la variation de l'absorption (ou d'émission) en fonction de la longueur d'onde.

TABLE DE MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS.....	i
LISTE DES TABLEAUX.....	iii
LISTE DES FIGURES.....	v
INTRODUCTION	
PREMIERE PARTIE: PARTIE THEORIQUE.....	01
CHAPITRE I- PRESENTATION DU THEME D'ETUDE.....	01
I-L'objectif de travail.....	01
II-Méthodologie générale.....	01
II-1 Les performances d'une méthode d'analyse.....	01
II-2 Procédure de contrôle qualité.....	02
CHAPITRE II-LA METHODE D'ANALYSE.....	03
I- La Précision.....	03
II- La Fidélité.....	03
III-La limite de détection.....	03
IV-La limite de dosage.....	03
V- La Sensibilité.....	03
VI- La Spécificité.....	04
VII-Le champ d'application:.....	04
VIII-La Fiabilité:.....	04
CHAPITRE III LES PROCEDURES D'ANALYSE DE L'EAU DANS UN LABORATOIRE CHIMIQUE	
I- Contrôle d'échantillonnage	05
II- Les solutions des échantillons.....	05
III- Le blanc	06
IV- Mesure et étalonnage de mesure	06
V- Traçabilité de mesure	06

CHAPITRE IV-LES ERREURS DANS LES ANALYSES

I- L'erreur systématique.....	08
I-1 Les erreurs instrumentales:.....	08
I-2 Les erreurs dues à la méthode.....	09
I-3 Les erreurs personnelles.....	09
II- L'erreur aléatoire	09

CHAPITRE V- LES PARAMÈTRES A ETUDIER POUR UNE VALIDATION D'UNE METHODE D'ANALYSE

I- Incertitude de mesure.....	10
I-1 La moyenne.....	11
I-2 Ecart-type.....	11
I-3 La variance.....	11
II-Estimation d'une erreur systématique.....	12
II-1 Estimation d'une erreur systématique due à la méthode ou due au réactif chimique.....	12
II-2 Estimation d'une erreur systématique due à l'utilisation de l'appareil.....	12
III- Evaluation de caractéristiques de la méthode d'analyse.....	13
III-1 La limite de détection d'une méthode (LDM).....	13
III-2 La limite de quantification d'une méthode (LQM).....	14
III-3 Evaluation de la linéarité et de la sensibilité.....	14
III-4 Evaluation de la justesse.....	15
III-5 Evaluation de la sélectivité et de la spécificité.....	16
III-6 Estimation de la réplicabilité.....	16
III-7 Estimation de la répétabilité.....	16
III-8 Estimation de la reproductibilité.....	17

DEUXIEME PARTIE: PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : PRESENTATION DE RESULTATS D'ETALONNAGE.....	18
I-Méthode étudiée.....	18
I-1 Principe de l'appareil de mesure de la méthode étudiée « le spectrophotomètre ».....	18
I-2 Méthodologie de réalisation des essais d'étalonnage de la méthode.....	19
II- Etalonnage d'analyse spectrophotométrique des ions nitrites.....	19
II-1-Principe et théorie d'analyse spectrophotométrique des ions nitrites.....	19

II-2 Mode opératoire et résultats.....	19
II-3 La courbe d'étalonnage.....	20
III- Etalonnage d'analyse spectrophotométrique des ions nitrates.....	21
III-1 Principe et théorie d'analyse spectrophotométrique des ions nitrates.....	21
III-2 Mode opératoire et résultats.....	21
III-3 La courbe d'étalonnage.....	22
CHAPITRE II PRESENTATION DES RESULTATS D'ANALYSE D'ECHANTILLON D'EAU SELON LA METHODE ETUDIE.....	23
I-Présentation générale de la méthodologie.....	23
II-Présentation des résultats de la série d'essai effectuée.....	23
II-1 Détermination de la teneur en nitrite « NO₂⁻ ».....	23
II-1-1 Résultats des essais de la détermination de teneur en nitrite « NO ₂ ⁻ » dans l'échantillon de l'eau.....	23
II-1-2 Résultats en vue d'estimation de la Limite de Détection de la Méthode (LDM) des ions nitrites.....	24
II-1-3 Résultats en vue d'évaluation de la linéarité et de la sensibilité de la teneur.....	25
II-1-4 Résultats en vue d'évaluation de la justesse de la teneur en nitrite.....	25
II-1-5 Résultats en vue d'estimation de la réplicabilité de la teneur en nitrite.....	26
II-1-6 Résultats en vue d'estimation de la répétabilité de la teneur en nitrite.....	27
II-1-7 Résultats en vue d'estimation de reproductibilité de la teneur en nitrite.....	28
II-2 Détermination de la teneur en nitrate « NO₃⁻ ».....	29
II-2-1 Résultats des essais de la détermination de teneur en nitrate « NO ₃ ⁻ » dans l'échantillon de l'eau.....	29
II-2-2 Résultats en vue d'estimation de la Limite de Détection de la Méthode (LDM) des ions nitrates.....	29
II-2-3 Résultats en vue d'évaluation de la linéarité et de la sensibilité	31
II-2-4 Résultats en vue d'évaluation de la justesse de la teneur en nitrate.....	31
II-2-5 Résultats en vue d'estimation de réplicabilité de la teneur en nitrate.....	32
II-2-6 Résultats en vue d'estimation de répétabilité de la teneur en nitrate.....	33
II-2-7 Résultats en vue d'estimation de reproductibilité de la teneur en nitrate.....	34

CHAPITRE III : NOTE DE CALCUL POUR LA VALIDATION DE LA MÉTHODE D'ANALYSE EN CHIMIE.....	35
I-Méthodologie.....	35
A-Estimation expérimentale des erreurs systématiques.....	35
I- La méthode de Zambelli pour la détermination de la teneur en nitrite.....	35
I-1 Calcul d'erreur systématique due à la méthode et à l'utilisation des produits.....	35
I-2 Calcul d'erreur systématique due à l'appareil.....	36
II-La méthode de Salicylate de sodium pour la détermination de la teneur en nitrate.....	37
II-1 Calcul d'erreur systématique due à la méthode et à l'utilisation des produits.....	37
II-2 Calcul d'erreur systématique due à l'appareil.....	37
B-Evaluation de caractéristiques de méthode d'analyse.....	38
I -La méthode de Zambelli.....	38
I-1 Limite de détection de la méthode utilisée (LDM).....	38
I-2 Limite de quantification de la méthode utilisée (LQM).....	38
I-3 Evaluation de La linéarité et de la sensibilité.....	39
I-4 Evaluation de la justesse.....	40
I-5 Evaluation de la spécificité et de la sélectivité.....	41
I-6 Estimation de la replicabilité.....	41
I-7 Estimation de la répétabilité.....	42
I-8 Estimation de la reproductibilité.....	42
II-La méthode de Salicylate de sodium.....	43
II-1 Limite de détection de la méthode utilisée (LDM).....	43
II-2 Limite de quantification de la méthode utilisée (LQM).....	43
II-3 Evaluation de La linéarité et de la sensibilité.....	43
II-4 Evaluation de la justesse.....	45
II-5 Evaluation de la spécificité et de la sélectivité.....	45
II-6 Estimation de la réplabilité.....	46
II-7 Estimation de la répétabilité.....	46
II-8 Estimation de la reproductibilité.....	47

TROISIEME PARTIE: INTERPRETATION DES RESULTATS SUR LES PARAMETRES DE VALIDATION.....	48
I-Introduction.....	48
II-Interprétation sur les résultats des différents paramètres de validation de la méthode de Zambelli sur la détermination des ions nitrite.....	48
II-1 Récapitulation des résultats.....	48
II-2 Interprétation du paramètre d'une erreur systématique.....	48
II-3 Interprétation sur les résultats de la Limite de Détection et Quantification d'une Méthode utilisée.....	50
II-4 Interprétation sur les résultats du paramètre de la linéarité et de la sensibilité.....	50
II-5 Interprétation sur les résultats d'évaluation de justesse.....	50
II-6 Interprétation sur les résultats d'évaluation de la spécificité et de la sensibilité.....	51
II-7 Interprétation sur les résultats d'évaluation de la fidélité.....	51
III-Interprétation sur les résultats des différents paramètres de validation de la méthode de Salicylate de sodium sur la détermination des ions nitrate.....	52
III-1 Récapitulation des résultats.....	52
III-2 Interprétation du paramètre d'une erreur systématique.....	53
III-3 Interprétation sur les résultats de la Limite de Détection et de Quantification d'une méthode utilisée.....	53
III-4 Interprétation sur les résultats du paramètre de la linéarité et de la sensibilité.....	54
III-5 Interprétation sur les résultats d'évaluation de justesse.....	54
III-6 Interprétation sur les résultats d'évaluation de la spécificité et de la sensibilité.....	54
III-7 Interprétation sur les résultats d'évaluation de la fidélité.....	55
IV-Conclusion.....	55
V-Propositions	56
Conclusion générale	
Bibliographie.....	I
ANNEXES I.....	a
ANNEXES II.....	e
ANNEXES III.....	h

Auteur : RAMIANDRISOA Antsa Lalaina
Adresse : Lot IIIJ4 Ankadimbahoaka
Téléphone : 032 57 999 80

Titre : « ETUDE DE LA VALIDATION DE LA METHODE D'ANALYSE DE L'EAU DANS UN LABORATOIRE HYDRAULIQUE »

Nombre de pages : 57

Nombre de tableaux : 24

Nombre de figures : 04

Résumé :

Dans un laboratoire de mesure d'échantillon d'eau, la statistique appliquée offre une méthode de validation de mesure pour évaluer l'incertitude de résultats obtenus.

D'après les résultats des méthodes utilisées et les interprétations émises ; on a conclu que :

La méthode de Zambelli pour la détermination des ions nitrites ne diffère pas systématiquement de la valeur acceptée et cette méthode est validée tandis que la méthode au salicylate de sodium pour la détermination des ions nitrates n'est pas validée, cette méthode ne peut pas être acceptée.

De l'analyse des résultats obtenus par la méthode de Zambelli, on peut annoncer que cette méthode est fiable dans la gamme supérieure à 0,49mg/l en utilisant l'appareil UPRIM de la JIRAMA.

Summary :

In a laboratory which measures water samples, applied statistics provides a validation method to evaluate the measurement uncertainty of results.

From the results of methods used and interpretations made, it was concluded that: Zambelli method for the determination of nitrite ions does not differ systematically from the accepted value and this method is validated whereas the sodium salicylate method to determine the nitrate ions is not validated, this method cannot be accepted.

From the analysis of the results obtained by Zambelli method, one can say that this method is reliable in range greater than 0, 49 mg/l using the device of Uprima JIRAMA.

Mots clés : Incertitude, Analyse, Validation de la méthode, Méthode de Zambelli, Méthode de salicylate de sodium

Directeur pédagogique: **Professeur ANDRIANARY Philippe**

