

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة جيلالي بونعامة خميس مليانة

Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la terre

Département de Biologie



MÉMOIRE POUR L'OBTENTION DU DIPLÔME DE MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Hydrobiologie marine et continentale

Spécialité: Hydrobiologie appliquée

Thème :

**Validation d'une méthode d'analyse appliquée en traitement des eaux
potables**

(Cas des Nitrates)

Soutenu devant les jurys :

Promoteur : Mme Ladaidi .A

Président : Mr Ratta .M

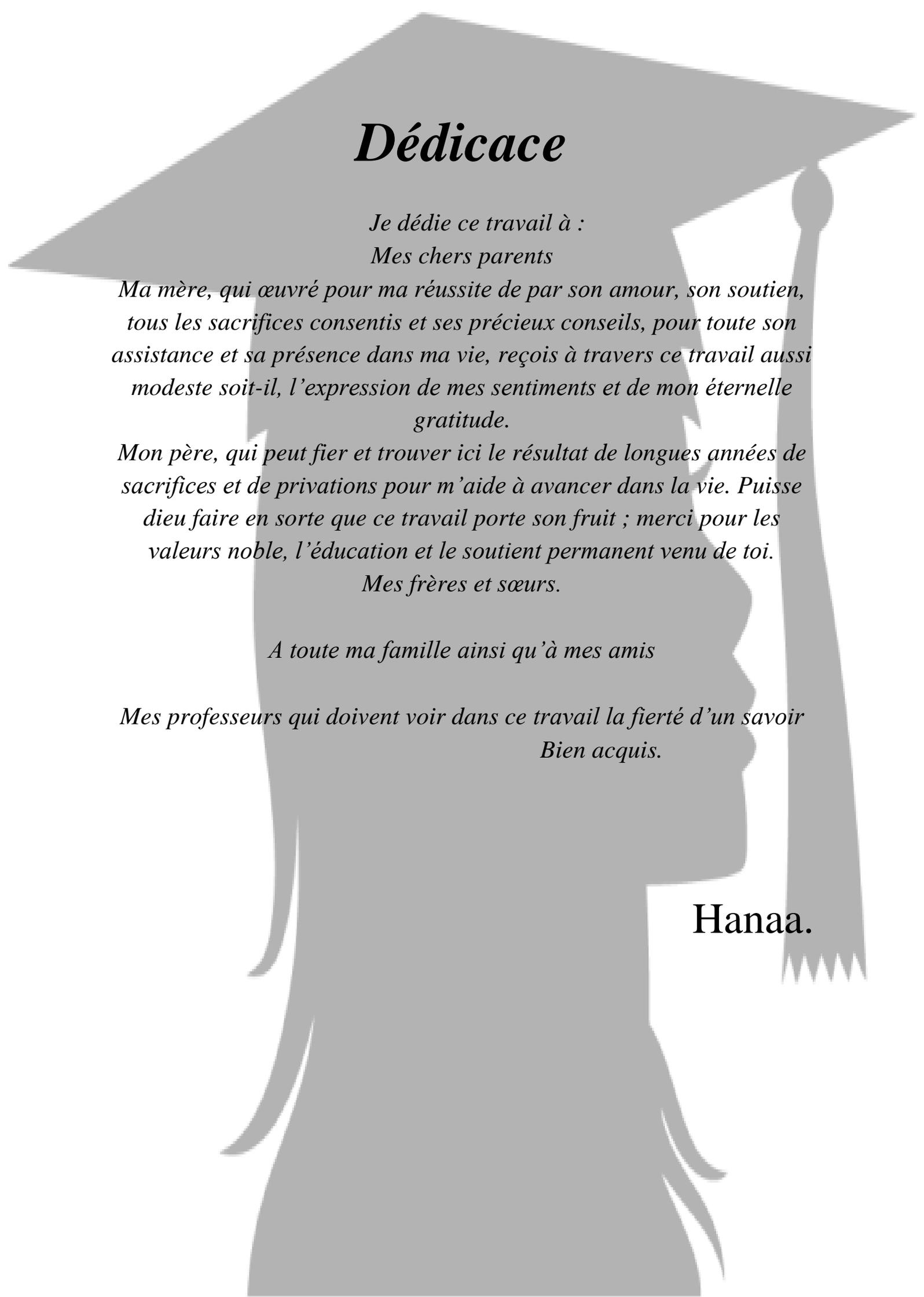
Examinatrice : Mme Nabti .dj

Présenté par :

Djellouli Hanaa

Cherfaoui Akila

Année universitaire: 2019/2020



Dédicace

Je dédie ce travail à :

Mes chers parents

Ma mère, qui œuvré pour ma réussite de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

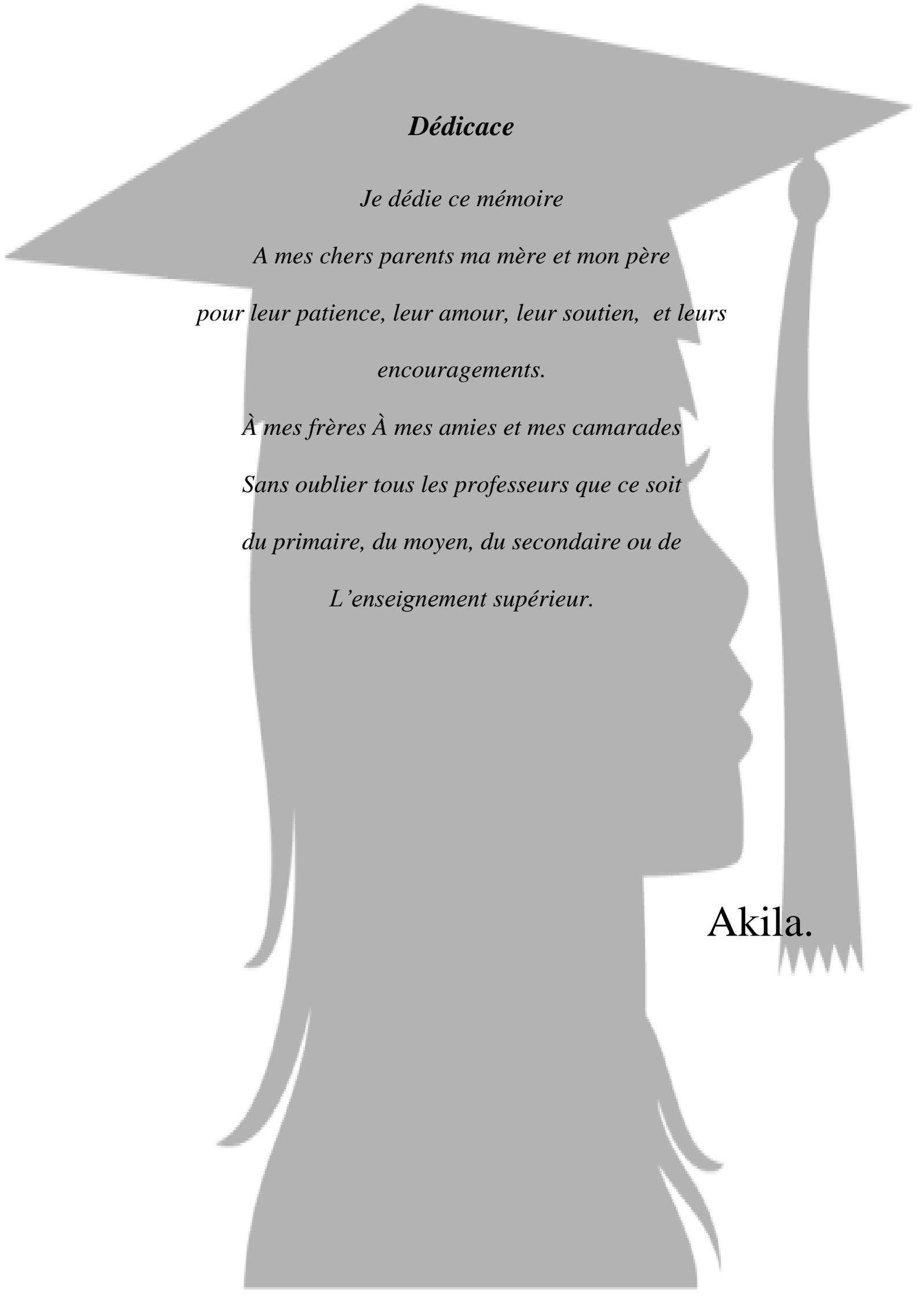
Mon père, qui peut fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aide à avancer dans la vie. Puisse dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; merci pour les valeurs noble, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

Mes frères et sœurs.

A toute ma famille ainsi qu'à mes amis

*Mes professeurs qui doivent voir dans ce travail la fierté d'un savoir
Bien acquis.*

Hanaa.

A large, light gray silhouette of a graduate wearing a mortarboard cap and a gown, facing right. The silhouette is positioned behind the text.

Dédicace

Je dédie ce mémoire

*A mes chers parents ma mère et mon père
pour leur patience, leur amour, leur soutien, et leurs
encouragements.*

*À mes frères À mes amies et mes camarades
Sans oublier tous les professeurs que ce soit
du primaire, du moyen, du secondaire ou de
L'enseignement supérieur.*

Akila.

Remerciement

Tout d'abord, on rend grâce à Dieu de nous avoir donné la volonté, la santé et la force nécessaire pour effectuer cette tâche.

Nous remercions chaleureusement tous les professeurs contribués à notre formation par leur Apports généreux en savoir.

Un grand et respectueux remerciement à Madame LADAIDI.A pour son aide précieuse et surtout pour tous ses conseils et ses remarques qui nous ont permis de réaliser ce travail.

Un grand et respectueux remerciement aux membres de jury d'avoir accepté d'examiner ce travail : Monsieur RATA en qualité du président et Madame NABTI en qualité d'examinatrice.

Nous exprimons nos profonds remerciements au chef de laboratoire de la station d'épuration

D'Arrib et à toute l'équipe de l'ADE et particulièrement monsieur LEMANI.R pour ses précieux conseils et pour le bon déroulement de ce projet.

Liste des abréviations

ADE : algérienne des eaux.

E-T : écart type.

E-R : écart relatif

DO : densité optique : absorbance (A)

MES : Matière en suspension

mg/l : milligramme par litre.

NO₂ : nitrite.

NO₃ : nitrate.

NA : norme algérien

LDM : limite de détection d'une méthode.

LQM : limite de quantification d'une méthode.

L.L : limite de linéarité.

LCS : limite de contrôle supérieur.

LCI : limite de contrôle inférieur.

LAS : limite d'alarme supérieur.

LAI : limite d'alarme inférieur.

µs/cm : micro siemens par centimètre.

R : ration.

T : température.

Liste des Figures

| | |
|---|----|
| Figure 1 : structure de L'ion de nitrate. (fr.wikipedia.org) | 06 |
| Figure 2:Spectrophotomètre DR.6000. (06 /10 /2020 LAB de unité de Arib) | 09 |
| Figure 3 : Carte de contrôle. [16] | 21 |
| Figure 4 : Gamme d'étalonnage.(12/09/2020 LAB de unité de Arib) | 25 |
| Figure 5 : Les résultats au spectrophotomètre.(12 /09/2020 LAB de unité de Arib) | 26 |
| Figure 6 : La courbe d'étalonnage de dosage des nitrates.(12 /09/2020 LAB de unité de Arib) | 26 |
| Figure 07 : la carte de contrôle.(13/09/2019 jusqu'à 17/09 /2020 LAB de unité de Arib) | 29 |

Liste des tableaux :

| | |
|---|----|
| Tableau 1 : Normes mondiales des Nitrate. | 08 |
| Tableau 2 : Mode d'opérateur de la courbe d'étalonnage. | 25 |
| Tableau 3 : résultats de la limite de détection. | 27 |
| Tableau 4 : les résultats Réplicabilité. | 27 |
| Tableau 5 : les résultats de la répétabilité. | 28 |
| Tableau 6 : les résultats de la sensibilité. | 28 |
| Tableau 7 : les résultats de la justesse. | 28 |
| Tableau 8 : les résultats de récupération. | 28 |

Résumé

On s'est intéressé dans le présent travail à l'analyse et à la validation d'une méthode de dosage des nitrates par spectrophotométrie UV visible. Le principe de la validation des procédures analytiques quantitatives est, aujourd'hui largement, répondu dans tous les domaines d'activité où des mesures sont réalisées. La validation est fondée sur une analyse statistique basée sur un certain nombre de critères aboutissant à des méthodes analytiques permettant de donner des résultats fiables et de démontrer qu'elles correspondent à l'utilisation pour laquelle elles sont proposées.

En appliquant les critères de validation (ISO17025) on a pu montrer que la méthode de dosage adoptée est spécifique, exacte, fidèle et linéaire. Les limite de détection et de quantification des nitrates sont respectivement de 0,93 mg mL⁻¹ et 3,1 mg mL⁻¹. Cette méthode validée est appliquée pour le dosage des nitrates dans l'eau potable avec un excellent taux de recouvrement 91.9%.

Mots clé : Nitrate, validation , ISO17025, limite de détection

Abstract

In this work, we are interested in the analysis and validation of a method for the determination of nitrates by UV visible spectrophotometry. The principle of the validation of quantitative analytical procedures is now widely answered in all areas of activity where measurements are carried out. The validation is based on a statistical analysis based on a number of criteria resulting in analytical methods to give reliable results and to demonstrate that they correspond to the use for which they are proposed.

By applying the validation criteria (ISO17025) it was possible to show that the assay method adopted is specific, exact, faithful and linear. The detection and quantification limits for nitrates are respectively 0.93 mg mL⁻¹ and 3.1 mg mL⁻¹. This validated method is applied for the determination of nitrates in drinking water with an excellent recovery rate of 91.1%.

Keywords: Nitrate, validation, ISO17025, limit of detection

ملخص

في هذا العمل ، اهتمنا بتحليل والتحقق من صحة طريقة لتحديد النترات عن طريق القياس الطيفي المرئي للأشعة فوق البنفسجية. يتم الآن تطبيق مبدأ التحقق من صحة الإجراءات التحليلية الكمية على نطاق واسع في جميع مجالات النشاط طريقة تحليل المواد على تحليل إحصائي قائم على عدد من المعايير حيث يتم إجراء القياسات. يعتمد التحقق من الصحة التي تؤدي إلى طرق تحليلية لإعطاء نتائج موثوقة وإثبات أنها تتوافق مع الاستخدام الذي تم اقتراحها من أجله.

من خلال تطبيق معايير التحقق (ISO17025)، تمكنا من إظهار أن طريقة الفحص المعتمدة محددة ودقيقة وصادقة

وخطية. حدود الكشف والقياس الكمي للنترات هي 0.93 مجم مل على التوالي و 3.1 مجم مل على التوالي. يتم تطبيق

هذه الطريقة التي تم التحقق من صحتها لتقدير النترات في مياه الشرب بمعدل استرداد ممتاز قدره 91.9%.

الكلمات المفتاحية: نترات ، تحقق ، حد الكشف، ايزو 17025

Sommaire

| | |
|--|----|
| Introduction | 01 |
| Chapitre 1 : Présentation de la société | |
| Présentation de l'E.P. Algérienne Des Eaux | 02 |
| Présentation des laboratoires de l'ADE | 02 |
| Organisation de l'Auto contrôle au niveau de l'EP. Algérienne des Eaux | 02 |
| Mission du laboratoire | 02 |
| Ressources en eau | 03 |
| Chapitre 2 : Revue bibliographique | |
| I. Approche théorique de l'eau potable | 04 |
| 1. Définition | 04 |
| 2. Composition chimique | 04 |
| II. Analyses quotidiennes du laboratoire | 05 |
| 1. Analyses physique. | 05 |
| 2. Paramètres chimiques | 06 |
| 3. Analyses bactériologiques | 06 |
| III. Généralités sur les nitrates | 06 |
| 1. Définition | 06 |
| 2. Description et origines | 07 |
| 3. Toxicité | 07 |
| 4. Nitrates et normes | 07 |
| IV. Spectrophotomètre UV | 08 |
| 1. Définition | 08 |
| 2. Principe de fonctionnement | 09 |
| V. Normes et protocole de validation | 10 |
| 1. Normes et accréditation | 10 |
| 2. Validation d'une méthode d'analyse | 12 |
| 3. Protocole du profil d'exactitude | 13 |
| 4. La carte de contrôle | 20 |
| Chapitre 3 : Partie expérimentale | |
| I. Etablissement de la courbe d'étalonnage | 24 |
| 1- Principe | 24 |
| 2- Réactifs | 24 |

| | |
|--|----|
| 3- L'appareillage | 24 |
| 4- Courbe d'étalonnage | 24 |
| 5- Expressions des résultats | 26 |
| II Validation de la méthode d'analyse des nitrates | 26 |
| 1- Dosage de nitrate | 26 |
| 2- Mesure et calcul des résultats | 27 |
| III Carte de contrôle | 29 |
| Conclusion | 30 |

Introduction

Introduction :

L'EAU est un élément essentiel pour la survie de tous les êtres vivants. Sans la présence de cette ressource naturelle précieuse et vitale, la vie serait extrêmement réduite car les êtres vivants sont composés en grande partie d'eau.

En raison de ses propriétés acido-basiques, ce composé chimique est l'un des principaux solvants qui a besoin d'être protégé contre les effets tordus de la pollution, car un grand pourcentage des maladies enregistrées dans les pays en voie de développement, sont manifestement liées à la consommation de l'eau. « L'eau y étant un vecteur de maladies graves voire mortelles ».
[1]

Actuellement, le laboratoire de contrôle de la qualité de l'eau potable de l'ADE de la wilaya de Ain defla, accorde une nette importance à la validation, par utilisation des procédures de contrôle interne de qualité, dans le but d'obtention d'une accréditation ISO /CEI 17025. Ceci permettra en effet d'adapter une démarche hautement qualifiée visant à assurer la distribution d'une eau saine conforme aux réglementations nationales et internationales.

Parmi les paramètres qui nécessitent un suivi rigoureux, on cite les nitrates, et est dans cette perspective qu'on essayera, à travers ce stage de fin d'étude de valider la méthode du dosage des ions azotés dans l'eau potable par spectrophotomètre qui sont considérés comme une cause de contamination de l'eau potable s'ils dépassent la norme prédite par NA (norme algérienne 50mg /l)

Ce dernier point, construit l'objectif principal de ce travail qui vise à valider cette technique de dosage des nitrates dans l'eau par spectromètre, via la stratégie recommandée par la norme ISO 5725 en illustrant une approche mieux adaptée qui débouche sur un autre outil décisionnel graphique appelé profil d'exactitude.

Ce travail a été organisé comme suit :

En premier temps, nous avons donné une présentation générale de la société où nous avons effectué notre stage ainsi que, ses activités et ses missions.

Le deuxième chapitre 'revue bibliographique' a pour objet d'élaborer une étude bibliographique qui traite les différents types d'analyses assurant la qualité de l'eau potable, et de fournir une caractérisation initiale de la validation en termes de critères de performance.

Finalement, une partie expérimentale dans laquelle on va illustrer les différents calculs indispensables à la construction du profil d'exactitude, ainsi que les performances obtenues et les conclusions déduites.

Chapitre I

Présentation de la société

1- Présentation de l'E.P. Algérienne Des Eaux

Crée en 2001, l'E.P Algérienne Des Eaux sous l'abréviation « ADE » est un établissement public national à caractère industriel et commercial régi par les lois et règlements en vigueur.

Sa mission consiste, le traitement, le stockage, l'adduction, la distribution et l'approvisionnement en eau potable et industrielle ainsi que le renouvellement des infrastructures s'y rapportant.

L'ADE dessert directement plus de 18 millions d'habitants (2001) en eau potable et elle compte aujourd'hui 3 millions clients abonnés. Elle gère et assure le fonctionnement et la maintenance de 60000 km de canalisations, de 2540 stations de forages et 68 stations de traitement de l'eau et de 1053 stations de pompage.

2- Présentation des laboratoires de l'ADE

Les laboratoires de l'EP. Algérienne des eaux a pour rôle principal l'autocontrôle et l'assurance de la qualité de l'eau produite et distribuée par l'établissement à travers tout le territoire national.

3- Organisation de l'Auto contrôle au niveau de l'EP. Algérienne des Eaux :

Afin d'assurer une auto contrôle efficace sur l'ensemble du réseau de production ainsi que sur le réseau distribution et garantir une eau de qualité conforme aux normes en vigueur, les structures suivantes ont été mises en place :

- **05** laboratoires régionaux.
- **42** laboratoires d'unité.
- **33** laboratoires de station de traitement.

4- Mission du laboratoire

Les laboratoires ont pour mission d'assurer une auto contrôle efficace sur l'ensemble du réseau de production ainsi que sur le réseau de distribution et garantir une eau de qualité conforme aux normes en vigueur.

Le rôle du Laboratoire est de veiller sur la qualité de l'eau livrée par l'ADE aux consommateurs, ses différentes missions sont essentiellement :

-  Contrôler et réaliser des enquêtes sur la qualité de l'eau.
-  Contrôler les opérations de nettoyage et de désinfection des réservoirs et des conduites.
-  Contrôler quotidiennement la qualité de l'eau par des analyses physico-chimique et bactériologiques.
-  Détecter la source d'une fuite au niveau du réseau de distribution.
-  Contrôler Chlore résiduel, sur l'ensemble du réseau

Le laboratoire est aussi chargé, de contrôler les opérations de nettoyage et de désinfection des conduites neuves, de réaliser des enquêtes la qualité de l'eau à la suite des réclamations

d'abonnés, ainsi que réaliser le contrôle des opérations de nettoyage des réservoirs effectués par le service d'exploitation.

5- Ressources en Eau

Station de sidi Ahmed ben Taïba.

Chapitre II

Revue bibliographique

L'eau est un élément vital pour l'humanité, mais parfois il devient un vecteur de transmission des maladies hydriques. Cependant différents types d'analyses se pratiquent à chaque jour dans les laboratoires pour contrôler de qualité de l'eau potable, et pour confirmer cette qualité, on fait appel à une validation analytique basée sur l'étude d'un ensemble des outils statistiques (justesse, fidélité,) indispensables pour caractériser une méthode et la validé.

Approche théorique de l'eau potable

1. Définition

L'eau est un composé de formule chimique H₂O, Elle se trouve dans la nature soit en état solide, liquide ou vapeur, et en fonction de leur origine sur le globe, elle est classée en trois grands groupes :

➤ Eau météorique

Il s'agit de l'eau liquide présente dans l'atmosphère et qui forme les nuages (eau de pluie). Les eaux météoriques sont chargées d'oxygène, et des gaz dissous présents dans l'atmosphère dont la concentration en sels minéraux est (10-100 ppm) et en substances organiques est faible. [2]

➤ Eau de surface

L'eau de surface est l'eau qui se trouve à la surface ou proche de la surface du sol. Sa température varie en fonction du climat et de ses saisons. Ses matières en suspension sont variables selon la nature et relief des terres à son voisinage. Sa composition en sels minéraux est variable en fonction du terrain ; elle retient peu de nitrates. Une eau de surface est ordinairement riche en oxygène et pauvre en dioxyde de carbone. [3]

➤ Eau souterraine

Les eaux souterraines sont toutes les eaux se trouvant sous la surface du sol, dans la zone de saturation et en contact direct avec le sol ou le sous-sol. Ces eaux sont caractérisées par leur conductivité élevée, l'absence de matière en suspension et la présence d'espèces chimiques sous forme réduite. En général elles répondent aux normes de potabilité car elles sont moins sensibles Es aux pollutions accidentelles. [4]

2. Composition chimique

L'eau est un élément vital qui possède des substances minérales et organiques, et donc il n'est pas considéré comme un composé chimique pur, c'est ainsi que les chimistes utilisent de l'eau distillée pour leurs solutions. Il contient des :

a) Matières minérales

Dont les principaux sont le calcium (Ca²⁺), le sodium (Na⁺), le potassium (K⁺), les sulfates (SO₄²⁻), les chlorures (Cl⁻) et les nitrates (NO₃⁻)... qui proviennent essentiellement du lessivage des sols par

les eaux de pluie, et qui peuvent varier du milligramme par litre au gramme par litre pour les eaux les plus salées, et des éléments qui ne sont présents qu'à l'état de trace (de 0,1 à 100 microgrammes par litre), comme le cuivre, le fer, le zinc, ... Ils proviennent des roches mais aussi parfois des activités industrielles et domestiques.

b) Matières organiques

Les matières organiques peuvent être présentes sous forme dissoute (pigments et composés d'origine artificielle comme les hydrocarbures, ou les pesticides, ...), ou en suspension (déchets végétaux, ...). Elles proviennent essentiellement de la dégradation de la matière organique présente dans le milieu ou dans les sols lessivés par les pluies (décomposition des plantes et des animaux), mais aussi de composés issus de l'activité humaine. Leur concentration peut atteindre quelques dizaines de milligrammes par litre dans les eaux de surface.

II. Analyses quotidiennes du laboratoire**1. Analyses physiques****a) Température**

La température est un facteur très important (réduit les teneurs en oxygène), sa mesure doit se faire au moment du prélèvement de l'échantillon à l'aide d'un thermomètre.

b) pH

Le pH est un indicateur de l'acidité ou de l'alcalinité de l'eau. Il dépend de la présence des ions H_3O^+ dans le milieu analysé selon la relation : [5]

$$PH = -\log [H_3O^+]$$

La mesure de pH de l'eau se fait par la méthode potentiométrique à l'aide d'un pH-mètre doté d'une électrode en verre, la mesure se fait directement sur l'échantillon d'eau.

c) Conductivité

La conductivité d'une eau est un critère qui donne une information sur sa composition chimique. Elle dépend de la concentration totale des ions, de leur concentration relative, de leur mobilité, de leur valence et de la température. Elle permet ainsi d'avoir une idée sur la salinité de l'eau. Une conductivité élevée traduit soit des pH anormaux, soit une salinité élevée. La conductivité est exprimée en micro Siemens par Centimètre ($\mu S/cm$) mesurée à la température de 20°C à l'aide d'un conductimètre. [6]

d) Turbidité

La turbidité désigne la teneur d'un liquide en matières qui le troublent. Elle est causée par des particules en suspension qui absorbent, diffusent et/ou réfléchissent la lumière. Elle est mesurée au laboratoire à l'aide d'un turbidimètre. Les unités de mesure sont les UTN (unités de turbidité néphélométriques). [7]

2. Paramètres chimiques (voir annexe) [8]

3. Analyses bactériologiques [9]

L'eau potable, selon les normes, doit être exempte de germes pathogènes et d'organismes parasites, car les risques sanitaires liés à ces micro-organismes sont grands. C'est pour cela les analyses bactériologiques sont nécessaires pour définir sa valeur hygiénique.

Les principaux germes pathogènes qu'on doit détecter en analysant une eau sont :

Germes totaux : Ce sont des micro-organismes aérobies représentant la teneur moyenne en bactéries d'une source naturelle. Ces germes n'ont pas d'effets directs sur la santé mais sous certaines conditions, ils peuvent générer des problèmes. Ce sont des indicateurs qui révèlent la présence possible d'une contamination bactériologique.

Coliformes totaux : ce sont des bactéries capables de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz à la température de 37 °C. Ils peuvent exister dans les matières fécales et dans certains milieux naturels (sol et végétation).

Coliformes fécaux : Ou coliformes thermotolérants, qui sont des bactéries capables de fermenter le lactose à une température de 44,5 °C. L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est *Escherichia Coli* (*E. Coli*).

Streptocoques fécaux : c'est un groupe de streptocoques qui ne sont pas tous d'origine fécale (groupe D). Toutefois, leur recherche associée à celle des coliformes fécaux constitue un bon indice de contamination fécale.

Les dénombrements des coliformes totaux et fécaux) et des Streptocoques fécaux sont effectués par la méthode de nombre le plus probable (NPP respectivement sur milieux BCPL et milieux Rothe appelée aussi Colimétrie) .

III. Généralités sur les nitrates

1. Définition

Les nitrates sont des composés inorganiques de formule NO_3^- et de masse moléculaire 62 g/mol. Ils existent naturellement dans les sols et les eaux. Ces ions sont, d'un point de vue chimique, des sels de l'acide nitrique. Ces sels sont caractérisés par la présence de l'ion nitrate NO_3^- , composé d'un atome d'azote et de trois atome d'oxygène comme il est montré dans la figure ci-dessous. [10]

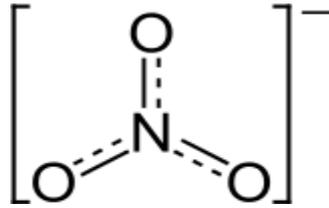


Figure 1 : Structure de l'ion nitrate (fr.wikipedia.org)

2. Description et origines

Le nitrate représente la plus stable des deux formes de l'azote, mais sous l'action microbienne, il peut être réduit en nitrite (NO_2^-), qui est la forme la plus toxique. Il est présent à l'état naturel partout dans l'environnement.

Il est le produit de l'oxydation de l'azote de l'atmosphère (représente 78%) par les microorganismes des plantes, Du sol ou de l'eau.

Toutes les sources d'azote sont des sources potentielles de nitrate. Dans l'eau, ces substances peuvent provenir de la décomposition de matières végétales ou animales, d'engrais utilisés en agriculture, du fumier, d'eaux usées domestiques et industrielles, des précipitations ou de formations géologiques renfermant des composés azotés solubles. Normalement, la concentration de nitrates dans les eaux souterraines et les eaux de surface est faible, mais elle peut atteindre des niveaux élevés à cause du lessivage des terres cultivées ou de la contamination par des déchets d'origine humaine ou animale.

3. Toxicité

Des concentrations excessives de nitrates dans l'eau potable peuvent causer des maladies graves et parfois mortelles, notamment chez les jeunes enfants. Chez les adultes et les nourrissons, l'effet néfaste est lié à la conversion de nitrate en nitrite dans l'organisme, ce qui interfère avec la capacité du sang à transporter l'oxygène (pouvoir oxyphorique). Cette condition est connue sous le nom de "méthémoglobinémie" ou de "maladie bleue", parce que les symptômes comprennent l'essoufflement et la cyanose (coloration bleue de la peau). Les nourrissons de moins de trois mois sont particulièrement vulnérables.

Dans le milieu aquatique, le nitrate est moins toxique que les autres formes de l'azote, comme le nitrite et l'ammoniaque. Toutefois, on trouve de plus en plus d'études qui indiquent qu'il peut avoir des effets néfastes sur le développement des organismes aquatiques aux premiers stades de vie en limitant la capacité du sang à transporter l'oxygène ou en perturbant l'équilibre acido-basique. Bien que le nitrate aux concentrations naturelles n'ait généralement pas d'effet mortel sur les organismes, il peut causer des retards de croissance ou une survie limitée en rendant ces organismes léthargiques. [11]

4. Nitrates et normes [12]

Les nitrates dans l'eau potable sont mesurés à la fois en terme de quantité d'azote présent ou en terme d'oxygène et d'azote. Les normes pour le nitrate dans l'eau potable est de 10 mg/L de nitrate-N, ou 50 mg/l de nitrate- NO_3^- . A part si c'est indiqué, les niveaux en nitrate se réfèrent généralement à la quantité d'azote présente, et la norme habituelle est ainsi de 10 mg/l.

Une exposition à court-terme à l'eau potable avec un niveau de nitrate supérieur à la norme est potentiellement dangereuse pour la santé, notamment pour les bébés. Les bébés boivent de fortes quantités d'eau comparativement à leur poids, spécialement si l'eau est utilisée pour mélanger les poudres ou les recettes ou les jus concentrés. De plus, leur système digestif

Est immature, et ainsi plus propice à la réduction des nitrates en nitrites. Les nitrites dans les appareils digestifs des bébés peuvent entraîner une méthémoglobinémie.

Selon l'organisation mondiale sur la santé, parmi les constituants qui, s'ils sont présents en quantités excessives dans l'eau, peuvent augmenter le risque de problème on trouve les nitrates, avec :

| Substance | Nature du trouble qui peut se produire | Niveau approximatif au-dessus duquel des troubles peuvent apparaître |
|---------------------------------------|--|---|
| Nitrate (entant que NO_3^-) | Danger de méthémoglobinémie infantile si l'eau est consommées par des nouveau-nés. | <ul style="list-style-type: none"> - Recommandé : moins de 50 mg/l. - Acceptable : 50 à 100 mg/l. - Non recommandé: plus de 100 mg/l |

Tableau 1 : Normes mondiales des nitrates

IV. Spectrophotométrie [13]

1. Définition

La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée, généralement en solution. Plus l'échantillon est concentré, plus il absorbe la lumière dans les limites de proportionnalité énoncées par la loi de Beer-Lambert.

Toutes les mesures effectuées au sein du laboratoire de L'ADE ont été réalisées avec le spectrophotomètre UV-visible mono-faisceau DR 6000 UV-VIS HACH LANGE avec écran tactile, avec détection automatique des erreurs pour une évaluation fiable. (Figure 2).



Figure 2: spectrophotomètre DR 6000
(06/10/2020)

2. Principe de fonctionnement

Lorsqu'une lumière d'intensité I_0 passe à travers une solution, une partie de celle-ci est absorbée par le(s) soluté(s). L'intensité I de la lumière transmise est donc inférieure à I_0 . On définit l'absorbance de la solution comme : $A = \text{Log} \left(\frac{I_0}{I} \right)$

On parle aussi de la transmittance définie par la relation suivante :

$$\text{C'est-à-dire que : } T = \frac{I}{I_0} \quad A = \log T$$

L'absorbance est une valeur positive, sans unité. Elle est d'autant plus grande que l'intensité transmise est faible.

La relation de Beer-Lambert décrit que, à une longueur d'onde λ donnée, l'absorbance d'une solution est proportionnelle à sa concentration, et à la longueur du trajet optique (distance sur laquelle la lumière traverse la solution).

On parle aussi de la transmittance définie par la relation suivante :

C'est-à-dire que $T = \frac{I}{I_0}$ $A = -\log T$

L'absorbance est une valeur positive, sans unité. Elle est d'autant plus grande que l'intensité transmise est faible.

La relation de Beer-Lambert décrit que, à une longueur d'onde λ donnée, l'absorbance d'une solution est proportionnelle à sa concentration, et à la longueur du trajet optique (distance sur laquelle la lumière traverse la solution).

Alors, pour une solution limpide contenant une seule substance absorbante :

$$A_A = \epsilon_A l C$$

Avec :

A_A : L'absorbance ou la densité optique (sans unité) de la solution pour une longueur d'onde λ ;

C : La Concentration de la substance colorée et absorbée dans la solution (en mol./l) ;

l : La longueur du trajet optique traversée par les faisceaux lumineux (en cm) ;

ϵ : coefficient d'extinction molaire de la substance absorbante en solution. Il rend compte de la capacité de toute substance à absorber la lumière, à la longueur d'onde λ (en $\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}\cdot\text{l}$)

V. Normes et protocole de validation

1. Normes et accréditations

a) Normes internationales

➤ Norme ISO 17025

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

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

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

Cette norme (ISO 17025) représente les prescriptions générales concernant la compétence des Laboratoires, des étalonnages et des essais, et contient toutes les exigences que doivent satisfaire ces laboratoires s'ils veulent apporter la preuve qu'ils gèrent bien un système de qualité, et qu'ils sont capables de produire des résultats techniquement valables. [14]

➤ Norme ISO5725

L'ISO 5725 est une norme internationale est de donner des indications sur la façon dont les données d'exactitude peuvent être utilisées dans différentes situations pratiques afin de valider une méthode. La validation se concevait alors surtout pour les méthodes normalisées qui servaient aux échanges commerciaux : c'était le rôle de la norme ISO 5725 de fixer ces critères d'intercomparaison.

Donc but de cette norme internationale est de :

- Donner les grandes lignes des principes généraux à comprendre lors de l'estimation de l'exactitude (justesse et fidélité) des méthodes et des résultats de mesure, et dans des applications, et d'établir des estimations pratiques des différentes mesures par l'expérience (ISO 5725-1) ;
- Fournir une méthode de base pour l'estimation des mesures extrêmes de la fidélité des méthodes de mesure par l'expérience (ISO 5725-2) ;
- Fournir une procédure pour l'obtention des mesures intermédiaires de fidélité donnant les circonstances dans lesquelles elles s'appliquent, et des méthodes pour les estimer (ISO 5725-3) ;
- Fournir des méthodes de base pour la détermination de la justesse d'une méthode de mesure (ISO 5725-4) ;
- Fournir des alternatives aux méthodes de base données dans l'ISO (5725-2) et l'ISO (5725-4), pour la détermination de la justesse et de la fidélité des méthodes de mesure pour utilisation dans certaines circonstances (ISO 5725-5).

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

b) Accréditation d'un laboratoire d'analyse selon la norme ISO 17025/2005

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

La compétence du personnel

L'adéquation des équipements de l'organisme et des conditions d'environnement Les méthodes d'analyses utilisées

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

Un audit est réalisé par un auditeur qualitatif et un ou plusieurs auditeurs techniques permettant d'évaluer la conformité du laboratoire aux exigences du référentiel NA ISO 17025. Lorsque les conclusions sont satisfaisantes, une attestation d'accréditation signée par ALGERAC (organisme Algérien d'accréditation) est remise au laboratoire, qui au bout de chaque année, subit un audit de

qualité de suivi, le renouvellement de cette attestation s'effectue chaque trois ans.

Dans le cas du laboratoire de l'ADE, il a déjà lancé une demande d'accréditation selon la norme ISO 17025, afin de donner plus de confiance

Aux consommateurs, et actuellement ils cherchent à valider les méthodes d'analyse effectuées au sein du laboratoire.

2. Validation d'une méthode d'analyse

La validation d'une méthode est le procédé par lequel on confirme que la procédure analytique employée pour mener un test en particulier répond aux exigences de l'usage auquel elle est destinée. Les résultats de la validation de méthodes peuvent être utilisés pour juger la qualité, la fiabilité et la cohérence des résultats analytiques. Ce procédé fait partie intégrante de toute bonne pratique analytique.

Les méthodes analytiques doivent être validées ou revalidées :

- Avant leur introduction dans l'usage routinier ;
- En cas de modifications des conditions de validation de méthodes (par exemple, un instrument avec des caractéristiques différentes ou des échantillons avec une matrice différente) ;
- En cas de changement de méthode et de changement en dehors de la portée initiale de la méthode

Il existe plusieurs degrés de validation suivant la nature de la méthode, ce à quoi elle est destinée et le domaine concerné :

- Méthode de contrôle en routine, utilisée sur plusieurs sites, contexte réglementaire fort : validation approfondie
- Méthode utilisée ponctuellement dans un seul laboratoire, contexte réglementaire
- Faible : validation rapide.

a) Définitions

❖ Domaine de validation

Ensemble des types de matrice auquel s'applique la méthode et gamme de concentrations sur laquelle a porté la validation.

❖ Domaine de validité

Ensemble des types de matrice auquel s'applique la méthode et gamme de concentrations sur laquelle a porté la validation et pour lequel les futurs résultats fournis par la méthode sont jugés valides.

❖ Méthode quantitative

Méthode d'analyse qui détermine la quantité ou la fraction pondérale d'une analyse de manière à

pouvoir l'exprimer sous forme de valeur numérique dans les unités appropriées.

Critères de performance : [15]

Toutes les méthodes utilisées par laboratoire doivent être validé pour les éléments suivants :

- Limite de détection
- Limite de quantification
- Réplicabilité
- Répétabilité
- Reproductibilité
- Justesse
- Pourcentage de récupération

De plus toutes les données brutes doivent être disponibles dans laboratoire pour consultation. Les données de validation doivent être actualisées annuellement.

Traçabilité l'information :

Tous les renseignements concernant les analyses. Doivent être enregistrés et disponible de façon à ce que le laboratoire puisse démontrer que ces opérations sont contrôlées.

3- Protocole du profile d'exactitude :**Elément de contrôle de la qualité des procédures analytiques :**

En fonction du contexte de la nature et du nombre d'échantillon, un contrôle adéquat de la qualité doit faire référence au divers éléments de contrôle suivent :

- Blanc de méthode analytique.
- Réplica ou duplicata de l'échantillon.
- Ajout dosé de l'échantillon.
- Matériaux de référence
- Etalon

Vérification du contrôle de l'assurance qualité :

Les éléments sont examinés lors des audits réalisés dans le cadre du programme accréditation.

- Les procédures de contrôle de la qualité.
- Les critères d'acceptabilité.
- Les fréquences d'insertion du contrôle
- Les chartes de contrôle de la qualité.

Il existe plusieurs définitions et de façons calculé les différents paramètres liés à la validation d'une méthode. A l'intérieur du suivi de la qualité des activités laboratoire ; il devient essentiel d'uniformiser ces définitions ainsi que les méthodes de calcul utilisées.

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

La limite de détection d'une méthode (LDM).

La limite de quantification d'une méthode (LQM).

La limite linéarité (LL).

La fidélité ; Réplicabilité ; répétabilité ; reproductibilité ; la justesse ; la sensibilité ; et finalement la récupération quelques paramètre de la validation peuvent ne pas s'appliquer à certaines méthodes.

1/ Limite de détection d'une méthode (LDM)

La limite de détection d'une méthode est la basse concentration pour un composé analyse dans une matrice réelle qui, lorsqu'il subit toutes les étapes d'une méthode complète ; incluant les extractions chimiques et le prétraitement ; produit un single détectable avec une fiabilité définie statiquement différent de celui produit par un (blanc) dans les mêmes conditions.

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

1. L'estimation de la LDM.
2. l'établissement de la LDM.
3. l'évaluation du ratio de conformité.

L'estimation de la limite de détection s'effectue selon l'une des façons suivantes :

1. la concentration indiquée dans la littérature pour une méthode équivalente.
2. la concentration correspondante à un apport signal/bruit de 3 :1 dans la matrice appropriée.
3. la concentration équivalente à trois fois l'écart type d'un étalon à bas niveau dans un solvant approprié.
4. la concentration correspondante à la limite instrumentale de détection (LID).

La LID est la plus basse concentration d'un composé dans l'eau ((pure)) ou dans un solvant approprié sans la présence de matrice qu'un instrument analytique puisse détecter avec une fiabilité définie. Cette fiabilité est statistiquement différente de la réponse du bruit de fond obtenu par l'instrument.

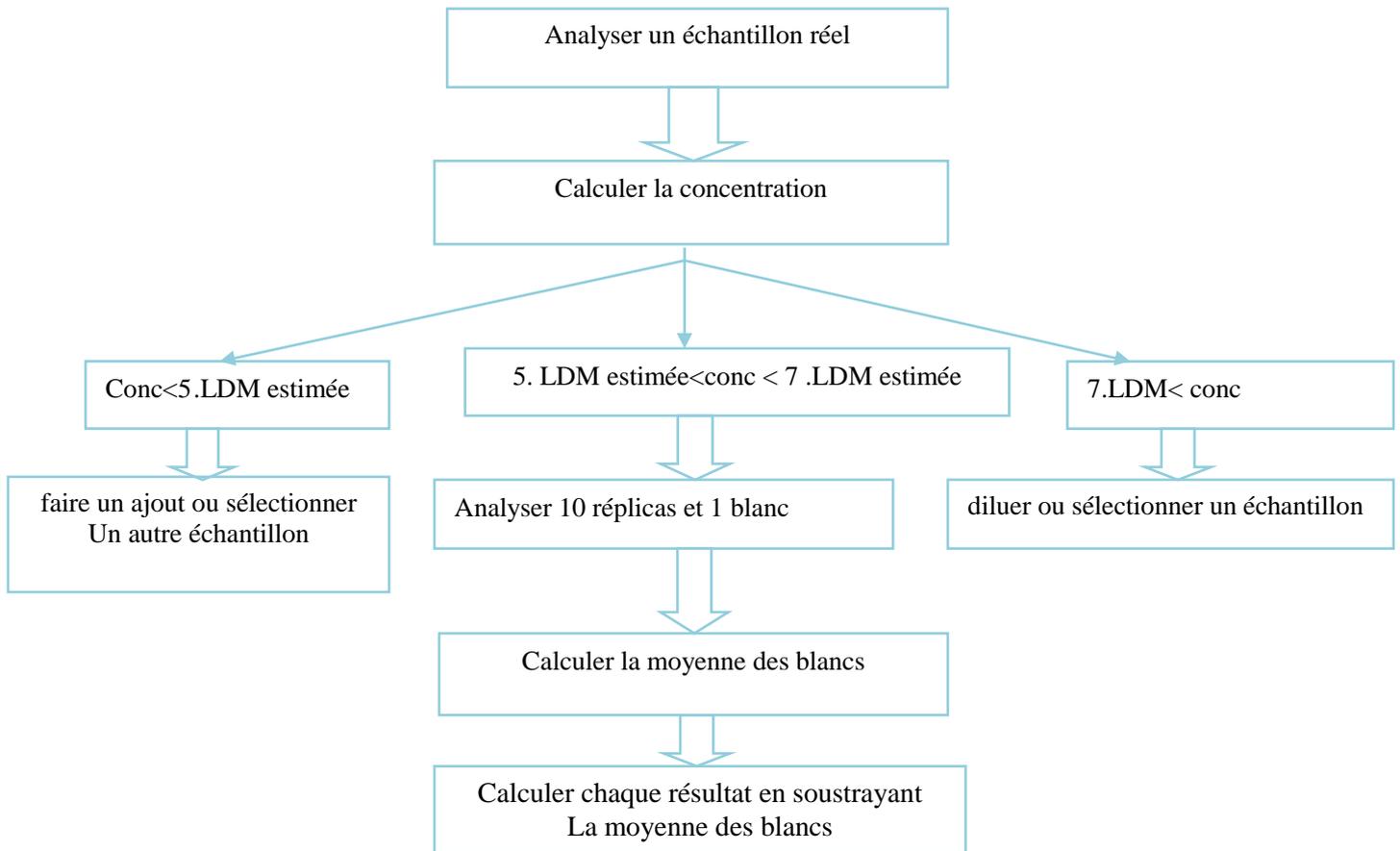
Etablissement de la limite de détection d'une méthode (LDM)

Il existe deux façons de calculer la LDM :

1. Sur une courte période à l'aide d'échantillon.
2. Sur une longue période à l'aide de duplicata.

Sur une courte période à l'aide d'échantillon [18]

A partir de la limite de détection estimée (LDM estimée) ; procéder aux étapes suivantes :



A partir des résultats obtenus ; calculer

Moyenne arithmétique des réplicas

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

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

X : moyenne arithmétique d'une série de mesure.

X_i : mesure individuelle.

N: Nombre de mesure.

s : écart type d'une série mesure.

Sur une longue période à l'aide de duplicata :

Utiliser les résultats d'analyse des duplicatas journaliers pour l'année en cours.

La concentration des duplicatas ; dans une matrice enrichie ; ou une matrice naturelle selon le besoin ; doit être entre 5 et 7 fois la limite de détection estimée.

A partir des différences entre duplicata ; (40 paires au minimum doivent être utilisées).

Calculer la variance (S^2) et l'écart type S.

$$S^2 = \frac{\sum d^2}{2k}$$

$$S = \sqrt{S^2}$$

Où d : différence entre les paires du duplicata.
 K : nombre de paires de duplicata.
 S : écart type de duplicata.

Méthode de calcul de la limite de détection d'une méthode (LDM) :

$$L.D.M = 3 * S$$

Où : L.D.M : limite de détection de la méthode.
 S : écart type des répliquas.

Méthode de calcul du Ratio de conformité (R) :

Le calcul de la ration de conformité ; nous permet de déterminer la validité d'une démarche pour l'établissement d'une limite de détection. En général ; si le résultat du calcul pour un ratio (R) qui sert à l'établissement d'une limite de détection n'est pas situé dans un intervalle compris entre 4 et 10 ; il faut recommencer la procédure d'établissement de la limite de détection avec un échantillon qui a concentration plus haut ou plus basse ; selon les besoin.

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

OÙ : R : ration de conformité ;
 X : moyenne arithmétique des n répliqua
 S : écart type des n répliqua
 LDM : limite de détection de la méthode.

Interprétation de la valeur de la ratio de conformité (R) :

Si $4 < R < 10$

La concentration utilisée est adéquate.

Si $R < 10$

Cette ration indique que la limite réelle de détection de la méthode est plus élevée que la limite de détection estimée lors des essais ; reprendre les essais en révisant la limite de détection estimée et la concentration de l'échantillon utilisé.

Si : $R > 10$

Cette ration indique que la limite réelle de détection de la méthode est plus basse que la limite de détection lors des essais ; reprendre les essais en révisant la limite de détection estimée et la concentration de l'échantillon utilisé.

Limite de quantification de la méthode :

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.

C'est la concentration équivalente à fois l'écart type obtenu lors de l'établissement de la LDM.

$$\text{L.Q.M} = 10 * S$$

Où : L.Q.M : limite de quantification d'une méthode.

S : écart type.

Note : lors de l'analyse d'échantillon ; les résultats d'analyse inférieurs à la limite de quantification doivent être interprétés en considérant que l'incertitude associée à la mesure es plus grande.

Limite de linéarité : (L.L)

La limite de linéarité est plus haut niveau fiable de mesure qu'on puisse utilisée en tentant compte de tous les facteurs à considérer dans une méthode.

L'étendu de concentration de l'étalon qui se situe entre la LQM est la zone quantifiable utilisée dans une méthode d'analyse. Le coefficient de corrélation doit être supérieur à 0,995 pour respecter le critère de linéarité.

Fidélité :

La fidélité à un niveau donné correspond a l'étroitesse de l'accord entre les résultats obtenus en appliquant la procédé expérimental à plusieurs reprises (n= 10 réplica) dans des conditions déterminées.

Selon les conditions d'exécution de l'essai ; cette caractéristique s'exprime sous forme de Réplicabilité ; de répétabilité ; ou de reproductibilité pour une méthode.

Réplicabilié :

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 des conditions suivantes : **même analyste ; même appareil ; même jour**. La valeur sera déterminée à partir de l'équation suivante :

$$\text{Réplicabilité} = \frac{t_{(0,975;n-1)} \times S_1}{\sqrt{n}}$$

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

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 dans moins l'un des éléments suivants est différent : l'analyste ; l'appareil ; le jour. La valeur sera déterminée à partir de l'équation suivante :

$$\text{Réplicabilité} = \frac{t_{(0,975;n-1)} \times S_2}{\sqrt{n}}$$

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

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 les conditions suivants : **analyste différent ; appareil différent ; jour différent ou même jour**. La valeur sera déterminée à partir de l'équation suivante :

$$\text{Reproductibilité} = \frac{t_{(0,975;n-1)} \times S_3}{\sqrt{n}}$$

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

Méthode de calcul de la Réplicabilité ; Répétabilité et la Reproductibilité :

Les trois termes précédents se rapportant à la fidélité s'expriment à l'aide d'un intervalle de confiance à une concentration donnée ; en fonction de l'écart type (S_n). À un niveau de confiance spécifié et pour un nombre donné de détermination ($n= 10$ réplique). Le niveau de confiance habituellement retenu est de 95%.

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

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

Lorsque $n \geq 30$ $t_{(0,975;n-1)} = 2$. Pour $n < 30$; il faut se référer à une table statistique de la distribution de student pour connaître la valeur de $t_{(0,975;n-1)}$ correspondant à la probabilité au dépassement bilatéral.

Justesse :

La justesse à un niveau donné correspond à l'étroitesse de l'accord entre la valeur certifiée par un organisme reconnu et les résultats moyens qui seraient obtenus en appliquant 10 fois le procédé expérimental ($n=10$ réplica). La justesse se mesure ; à un niveau donné de concentration ; dans la zone quantifiable pratique de la méthode. Elle s'exprime par l'erreur relative.

Méthode de calcul de la justesse :

Dans la zone quantifiable de la méthode ; applique 10 fois le procédé expérimental ($n=10$ réplica) sur un échantillon dont la valeur suggérée est fournie par un organisme reconnu (matériaux de référence).

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

$$\text{Erreur relative}(\%) = \frac{v_s - v_0}{v_s} \times 100$$

V_s : valeur suggérée.

V_0 : moyenne des valeurs observées.

Sensibilité :

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

Méthode de calcul de la sensibilité :

Lorsque l'on réfère à des paramètres qui ont une courbe d'étalonnage linéaire ; on peut exprimer la sensibilité comme étant la pente moyenne d'un minimum de deux courbes ; autrement ; on l'exprime par le rapport entre le signal obtenu et la concentration d'un étalon à l'intérieur de la plage pratique de la courbe.

$$\text{Pente} = \frac{y_2 - y_1}{x_2 - x_1}$$

La sensibilité = pente

Exemple de calcul pour la sensibilité

Pourcentage de récupération :

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

Le taux de récupération permet d'identifier ; pour un échantillon donné ; la présence d'interférence potentielle lors du processus d'analyse.

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

Méthode de calcul de la récupération :

Dans la zone quantifiable de la méthode, analyser cinq échantillons réels. Ajouter une concentration d'au moins 50% et d'au plus 100% de la concentration réelle de la substance à dos

$$\text{Récupération(\%)} = \frac{C_f - C}{C_a} * 100$$

C_f : concentration d'un échantillon fortifié ;

C : concentration d'un échantillon non fortifié ;

C_a : concentration de la substance ajoutée ;

4- La Carte de contrôle [16]

Définition

Une carte de contrôle est un outil statistique et graphique utilisé pour contrôler la stabilité d'une méthode d'analyse dans le temps ; c'est donc un contrôle de la qualité.

Cet outil se présente comme un tracé (graphique) dont les points représentent le suivi dans le temps d'une mesure statistique.

Ce tracé comporte cinq lignes :

-Une ligne centrale qui présente généralement **la moyenne arithmétique** de la mesure statistique évaluée sur l'ensemble des échantillons effectués.

-Deux lignes en rouge qui représentent respectivement **la limite de contrôle supérieur (LCS)** et **la**

limite de contrôle inférieur (LCI).

-Deux lignes en vert qui représentent respectivement **la limite d’alarme supérieur (LAS)** et **la limite d’alarme inférieur (LAI)**.

Les valeurs de la caractéristique contrôlée doivent se trouver à l’intérieur de ces limites ; sinon ces valeurs sont hors contrôle et doivent être examinées.

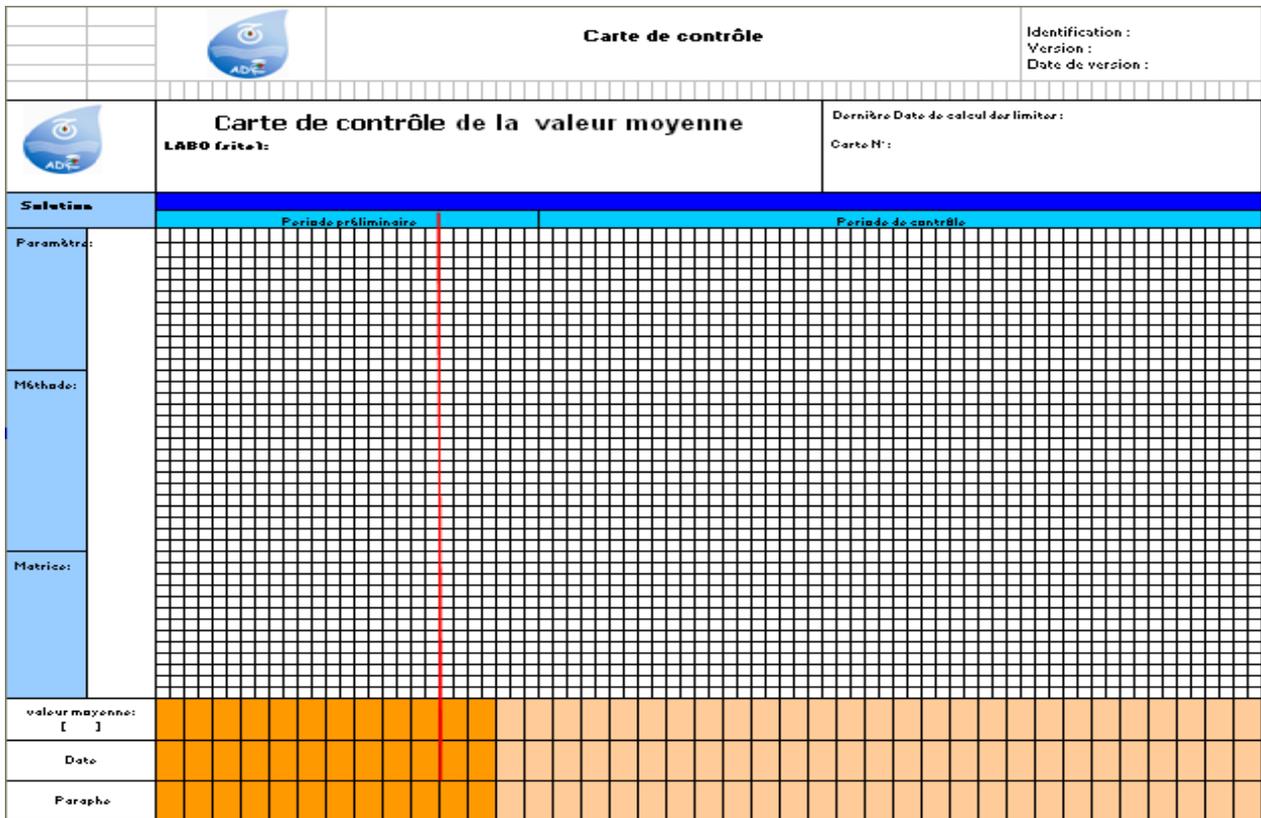


Figure 03 : carte de contrôle.[16]

Création d’une carte de contrôle :

- 1-Avoir au maximum 20 valeurs de la mesure statistique.
- 2-Ces valeurs sont obtenues en effectuant une analyse de contrôle sur au moins 10 jours consécutifs et par la même personne.
- 3-Remplir ces 20 valeurs et les dates d’analyse dans une feuille de saisie.
- 4- A partir des valeurs de contrôles ($n \geq 20$) ; on estime les paramètres statistiques suivants :

- La moyenne arithmétique :

$$\bar{X} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n X_i$$

L'écart type :

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

La limite de contrôle supérieur :

$$LCS = \bar{x} + 3s$$

La limite de contrôle inférieur :

$$LCI = \bar{x} - 3s$$

La limite d'alarme supérieure :

$$LAS = \bar{x} + 2s$$

La limite d'alarme inférieure :

$$LAS = \bar{x} - 2s$$

1- Trace sur la carte de contrôle une ligne centrale qui est représentée par la moyenne ; les limites de contrôle en rouge et limites d'alarme en vert.

2- La carte est prête à être utilisée.

La remplissez une carte de contrôle :

1- Identifier la carte de contrôle. (ex : carte de contrôle du nitrate)

2- Donner un numéro à la carte de contrôle. (ex : carte n^o1).

3- Inscrire la dernière date de calcul des limites.

4- Inscrire à gauche de la carte : la solution (concentration ; étalon ; ...), le paramètre effectué, la méthode d'analyse et la matrice.

5- Inscrire les valeurs des limites de contrôle et d'alarme, il faut choisir une échelle adaptée (occupant les $\frac{3}{4}$ du graphe en hauteur).

6- Inscrire les valeurs de la période préliminaire.

7- Sur chaque colonne divisant le graphe doivent figurer :

- La valeur mesurée qui est représentée par une croix.
- La date.
- Le paraphe du technicien ayant effectué le contrôle.

Interprétation d'une carte de contrôle :

1. Une carte de contrôle est dite idéale si :

- Les points présentent une fluctuation naturelle.
- Aucun point n'est en dehors des limites de contrôle.

2. On se trouve dans une situation hors contrôle si :

- Un point est en dehors des limites de contrôles.
- Deux points successifs sont en dehors des limites d'alarmes.
- Sept points successifs sont situés tous au-dessus ou au-dessous de la valeur cible.
- Sept point successifs sont positionnés du même côté de la ligne centrale.
- Huit points successifs indiquant une tendance systématique vers le haut ou vers le bas.

Facteur influençant une situation hors contrôle :

- 1- Valeur mesurée incorrectement.
- 2- Erreur de calcul ou mauvaise pointage.
- 3- Erreur du manipulateur.
- 4- Mauvaise calibration d'un instrument de mesure.
- 5- Qualité de réactifs.

Mesure à prendre dans situation hors contrôle :

- 1- Stoppez les analyses et informer le responsable.
- 2- Recommencer la mesure avec le même étalon en question.
- 3- Réétalonner l'appareil.
- 4- Refaire les réactifs.
- 5- Refaire la solution étalon.
- 6- Procéder à une maintenance.

Chapitre III

Partie expérimentale

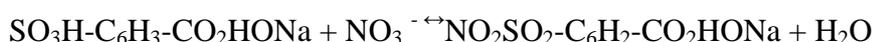
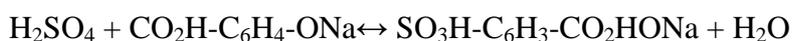
S'appuyant sur les concepts décrits dans la partie bibliographique consacrée à la validation des méthodes, cette partie concerne la mise en œuvre du profil d'exactitude en présentant différents compléments et, en particulier, le mode de calcul de la répétabilité et de la fidélité, limite de quantification et l'incertitude.

I. Etablissement de la courbe d'étalonnage : [17]

1. Principe :

En présence de salicylate de sodium, les nitrates donnent du paranitrosnylate de sodium coloré en jaune et susceptible d'un dosage colorimétrique.

Les réactions misent en jeu sont :



2. Réactifs :

- Solution de salicylate de sodium à 0,5% (renouveler toutes les 24h)
0,5 gr de salicylate de sodium dans 100 ml d'eau distillée.
- Solution d'hydroxyde de sodium à 30%.
30 gr de NaOH dans 100ml d'eau distillée.
- Acide sulfurique H_2SO_4 concentré.
- Tartrate double de sodium et de potassium.

Hydroxyde de sodium NaOH.....400 g.

Tartrate de sodium et de potassium 60 g.

Eau distillée Qsp 1000 ml.

Laisser refroidir avant de compléter à 1000 cc.

Cette solution doit être conservée dans flacon de polyéthylène.

Solution mère d'azote d'origine nitrique à 1000 mg/l.

• Nitrate de potassium anhydre 0,722 g

Eau distillée 1000 ml.

Chloroforme 1ml.

Solution fille d'azote d'origine nitrique à 5 mg/l.

3. Appareillage :

- Balance analytique de laboratoire précision 0,1 μg ;
- Capsules de 100 ml ;
- Pipettes 10 ml, 5ml, 2ml, 1ml ;
- Poires à pipeter ;
- Etuve pour séchage ;

- Spectrophotomètre UV-Visible.

4. Courbe d'étalonnage :

Dans une série de capsule de 60 ml, introduire successivement :

| N ⁰ de capsule | B | I | II | III | IV |
|--|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Solution étalon 5mg /l | 0 | 1 | 2 | 5 | 10 |
| Eau distillée ml | 10 | 9 | 8 | 5 | 0 |
| Solution de salicylate de Na | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Na OH 30 % | 3 gouttes | 3 gouttes | 3 gouttes | 3 gouttes | 3 gouttes |
| Correspondant en mg/l de N nitrique | 0 | 0,5 | 1 | 2,5 | 5 |

Evaporation à sec à 80° C

| | | | | | |
|--|---|---|---|---|---|
| H ₂ SO ₄ concentré (ml) | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
|--|---|---|---|---|---|

Laisser reposer 10 min

| | | | | | |
|---------------------------------|----|----|----|----|----|
| Tartrate double de Na et K (ml) | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 |
|---------------------------------|----|----|----|----|----|

Tableau 02 : mode d'opérateur de la courbe d'étalonnage.



Figure 04 : gamme d'étalonnage des nitrates.(12/09/2020)

Effectuer les lectures au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 420 nm, construire la courbe d'étalonnage.

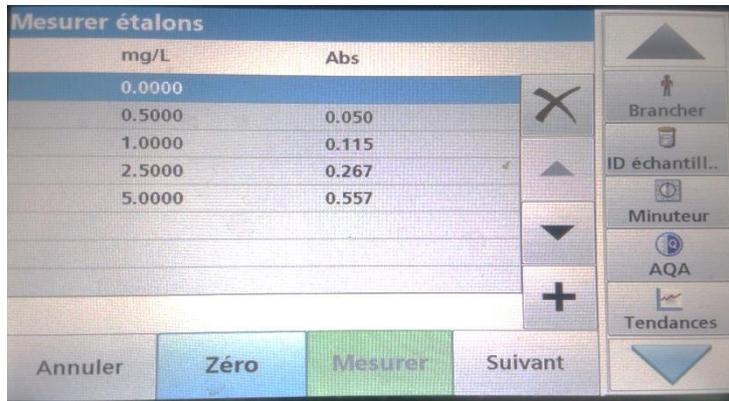


Figure 05 : résultat au spectrophotomètre (12 /09/2020)

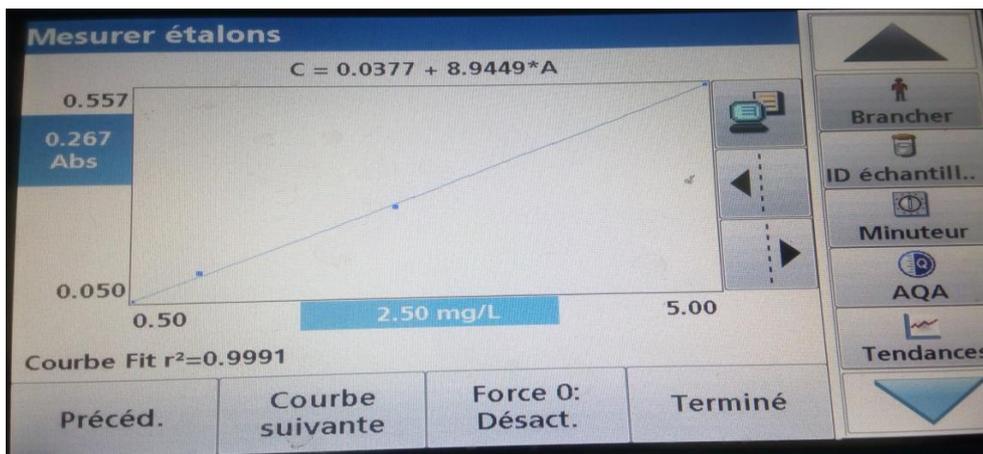


Figure 06 : la courbe d'étalonnage de dosage des nitrates (12 /09/2020)

La figure 6 montre que la courbe expérimentale d'étalonnage est linéaire dans le domaine de concentration allant de 0.5 à 5 mg/l. Elle permet de déterminer la concentration inconnue d'une eau contenant un par simple mesure de son absorbance et report sur le graphe(extrapolation) ou par calcul en insérant la valeur de l'absorbance dans l'équation de la droite. La loi de Lambert-Beer a des limites.

5. Expression des résultats :

Le résultat en nitrate est donné directement en mg/l à une longueur d'onde de 420 nm

$$[NO_3^-] = (8.94 \cdot DO + 0.0377) \cdot 4.43$$

II. Validation de la méthode d'analyse des nitrates

Pour utiliser le profil d'exactitude en vue de valider la méthode du dosage des nitrates, il faut avoir fixé les paramètres suivants :

- Le domaine de validation qui va de 0,5 à 5 mg/l ;
- Limites d'acceptabilité qui sont fixées à $\pm 20\%$;

1 Dosage de nitrate : (ce mode d'opérateur est applicable pour tous les dosages de la validation de nitrate)

Prendre 10 ml de l'échantillon à analyser.

- Ajouter 2 à 3 gouttes de NaOH à 30 %.
- Ajouter 1ml de salicylate de sodium.
- Evaporer à sec au bain marie ou à l'étuve 75-88° C. (ne pas surcharger ni surchauffer très longtemps) laisser refroidir.
- Reprendre le résidu avec 2 ml. H₂SO₄ laisser reposer 10 min.
- Ajouter 15 ml d'eau distillée.
- Ajouter 15 ml de tartrate double de sodium et de potassium puis passer au spectrophotomètre au 420 nm

2. Mesures et calcul des résultats :

Le dosage des nitrates en mg/l est donné par la formule suivante :

$$[\text{NO}_3^-] = (8.94 * \text{DO} + 0.0377) * 4.43$$

Limite de détection

| Essai | Concentration analysée | Calcul |
|-------|------------------------|---------------|
| 1 | 4,97 | Moyenne |
| 2 | 5,31 | 5,248 |
| 3 | 4,97 | E-T |
| 4 | 5,68 | 0,3099 |
| 5 | 5,05 | LDM |
| 6 | 4,97 | 0,93 |
| 7 | 5,88 | Ratio |
| 8 | 5,21 | 5,65 |
| 9 | 5,21 | LQM |
| 10 | 5,23 | 3,10 |

Réplicabilité

| Essai | Concentration analysée | Calcul |
|-------|------------------------|---------------|
| 1 | 10,64 | Moyenne |
| 2 | 9,87 | 10,162 |
| 3 | 10,12 | E-T |
| 4 | 10,28 | 0,3208 |
| 5 | 9,78 | Réplica |
| 6 | 10,38 | 10,162 |
| 7 | 9,87 | 0,2419 |
| 8 | 10,65 | Réplica % |
| 9 | 9,88 | 10,162 |
| 10 | 10,15 | 2,3799 |

Tableau 03: les résultats de la limite de détection **Tableau 04 : les résultats de la Réplicabilité.**

| Essai | Conc. analysée | Calcul |
|-------|----------------|---------------|
| 1 | 10,23 | Moyenne |
| 2 | 9,87 | 10,229 |
| 3 | 10,59 | E-T |
| 4 | 10,21 | 0,3427 |
| 5 | 9,97 | Répét. |
| 6 | 10,23 | 10,229 |
| 7 | 10,81 | 0,2584 |
| 8 | 9,71 | Répét. % |
| 9 | 10,11 | 10,229 |
| 10 | 10,56 | 2,53 |

| Essai | Conc. analysée | Volume | Pente |
|----------------------------|----------------|--------|---------------|
| 1 | 2,2 | 0,256 | 0,1423 |
| 2 | 4,43 | 0,591 | |
| 3 | 11,07 | 1,518 | |
| 1 | 2,2 | 0,255 | 0,1415 |
| 2 | 4,43 | 0,601 | |
| 3 | 11,07 | 1,51 | |
| 1 | 2,2 | 0,252 | 0,1416 |
| 2 | 4,43 | 0,622 | |
| 3 | 11,07 | 1,508 | |
| Moyenne sensibilité | | | |
| 0,1418 | | | |

Tableau 05 : les résultats de la Répétabilité. **Tableau 06 : les résultats de la Sensibilité.**

Justesse

Solution utilisée : 10 mg/l
DO d'une solution certifiée

| Essai | Concentration analysée | Calcul |
|-------|------------------------|-------------------------|
| 1 | 9,82 | Moyenne 10,15 |
| 2 | 10,28 | |
| 3 | 9,91 | E-T |
| 4 | 10,28 | 0,3954 |
| 5 | 9,68 | E-R % |
| 6 | 10,68 | 1,5 |
| 7 | 9,77 | |
| 8 | 10,42 | Justesse % |
| 9 | 9,87 | 98,5 |
| 10 | 10,79 | |

Récupération

Solution utilisée: 15 mg/l

| Essai | Conc. analysée | Conc. ajoutée | Résultats | Récup. % |
|-------|----------------|---------------|-----------|--------------|
| | 15,31 | 7,97 | 22,57 | 91,09 |

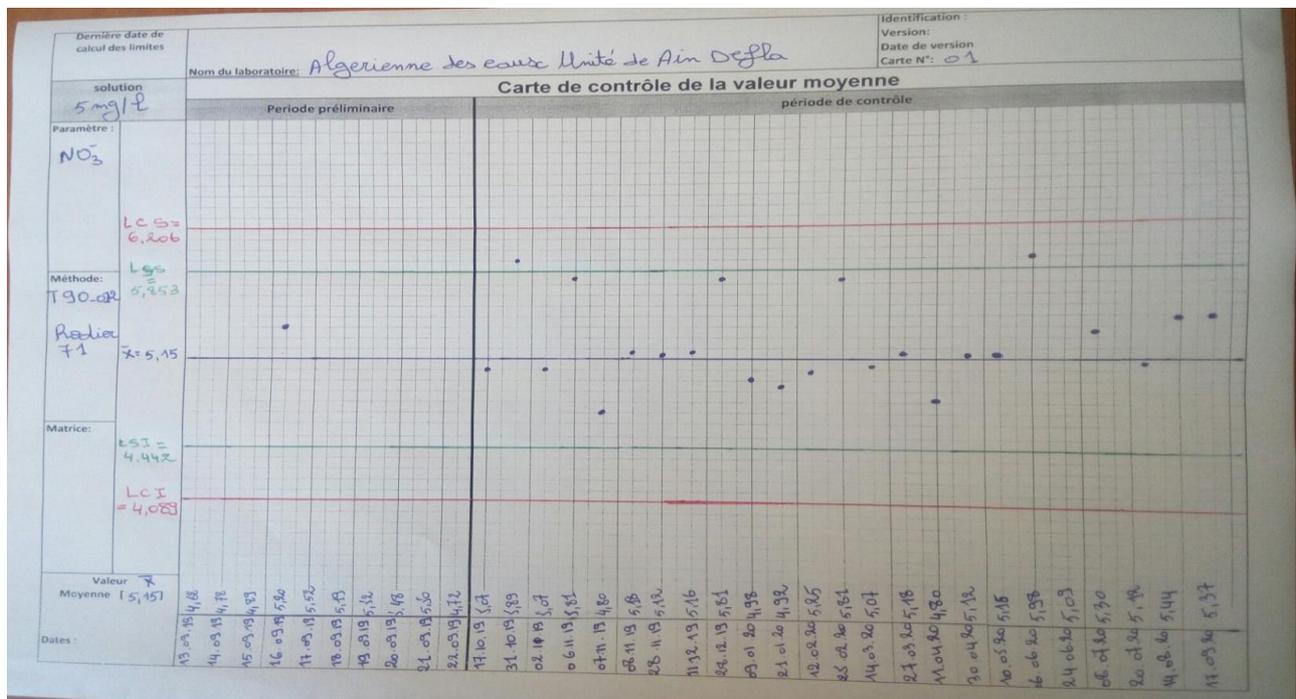
Tableau 07 : les résultats de la justesse.

Tableau 08 : les résultats de la récupération.

III. La Carte de contrôle

Dans toute la période des essais de la validation on a suivi le contrôle de tous les échantillons afin de déterminer la moyenne du dosage des nitrates.

D'après le tracé de la carte de contrôle on constate une meilleure distribution des résultats dans le domaine de confiance du dosage des nitrates. Comme conclusion on a trouvé des résultats juste et précis qui prouve que la méthode de dosage est stable.



Les résultats

Les résultats

IV. Interprétation des résultats : les résultats trouvés montrent que

La méthode est linéaire dans une gamme de concentration de 0.5 à 5mg / mL-1. Le coefficient de corrélation (R^2) de l'équations de régression est supérieur à 0,99. La précision de la méthode est démontrée par les valeurs des coefficients de variance inférieurs à 5%. La fidélité de la méthode est jugée acceptable. Aucune interférence des réactifs n'a été observée. Le ratio de la conformité trouvé indique que la concentration choisie est adéquate

Expérimentalement, la limite de détection correspond à la concentration permettant d'obtenir un pic

d'amplitude supérieure ou égale à trois fois celle de bruit de fond et la limite de quantification est égale à 10/3 fois la limite de détection donc LD = 0,93 mg mL-1 et LQ = 3,1 mg mL-1.

Pour la sensibilité de cette méthode on a trouvé une moyenne de 0.148, elle permet de nous renseigner sur le changement des conditions du système dans le temps.

Selon les résultats de la validation, la méthode proposée est simple, spécifique, linéaire, précise, exacte et peut être appliquée à l'analyse des nitrates avec un excellent taux de recouvrement 91.1%.

Conclusion

Conclusion

L'accréditation des laboratoires est devenue une obligation pour assurer la fiabilité des résultats et garantir la qualité des produits commercialisés, dans cette optique on s'est intéressé à la validation de la technique du dosage des nitrates dans l'eau potable par la spectrophotométrie appliquée au laboratoire de l'ADE.

Les résultats obtenus se résument comme suit :

- ✓ La méthode est spécifique, exacte, fidèle (des coefficients de variations <5%)
- ✓ La méthode est linéaire entre 0.5 mg mL⁻¹ et 5 mg mL⁻¹ avec un coefficient de corrélation supérieur à 0,99.
- ✓ La limite de détection et de quantification des nitrates sont respectivement de 0,93 mg mL⁻¹ et 3,1 mg. mL⁻¹.
- ✓ Cette méthode validée est appliquée pour le dosage des nitrates avec un excellent taux de recouvrement 91.1%.
- ✓ La carte de contrôle est vérifiée par le calcul de chacune des limite supérieure et inférieure pour la moyenne et l'étendue.

L'ensemble des résultats obtenus, nous permettent de confirmer, que la méthode de dosage des nitrates par spectrophotométrie est valide et ainsi cette méthode peut donc être appliquée sans problème pour le contrôle routinier des nitrates dans l'eau potable.

Référence bibliographique

Référence Bibliographique

Référence bibliographique :

- [1] Gharb, Caractérisation physico-chimique des eaux usées urbaines de la ville de Mechraa Belksiri, Science Lib Editions Mesernnes : Volume 3, 2011.
- [2] [https:// m.actu-environnement.com](https://m.actu-environnement.com).
- [3] A.Benabdelfadel , Variabilité et gestion des eaux de surface au Maroc,vol. 21, N° 1, 2010.
- [4] Danielopol, La colonisation d'environnement contraignants. GEOBIOS, M.S. n°21 : 55-66, 1997.
- [5] NF T90-008. Norme NF T90-008 : Qualité de l'eau détermination du pH
- [6] NF T90-031 ISO N°7888. ISO 7888:1985 - Qualité de l'eau — Détermination de la conductivité
- [7] NF T90-033 ISO 7027. ISO 7027-1:2016 - Qualité de l'eau — Détermination de turbidité
- [8] Décret exécutif n° 11-125 du Rabie Ethani 1432 correspondant au 22 mars 2011 relatif à la qualité de l'eau de consommation humaine.
- [9] Rejsek F, 2002. Analyse des eaux- Aspects réglementaires et techniques, Biologie technique CRDP d'aquitaine. 358p
- [10] <https://sante.lefigaro.fr/mieux-etre/environnement/nitrates/> [11] Sak..S ;Les effets toxique des nitrates ; laboratoire de biochimie et microbiologie appliquée ; université Badji Mokhtar ; Annaba ;24 avril 2007 ; p 385.
- [12] T90-012 Rodier 71.
- [13] P. Bouchareine - Spectrométrie Otiqne, Techniques de l'Ingénieur Volume R-6 .310
- [14] J. Mothes, Techniques modernes de Contrôle des fabrications DUNOD, 1952.
- [15] ISO 9001 système qualité – modèle pour l'assurance de la qualité en conception ; développement ; production ; installation et prestation associée.
- [16] Carte de contrôle ; formation aux métiers de l'eau àTizi-ouzou ; 2017.
- [17] J. Rodier, B. LEGUBE, N. MERLET et coll, Analyse de l'eau, Dunod paris, (2009).
- [18] LES CAHIERS TECHNIQUES DU STAGE T23 ; Assurance qualité analytique dans laboratoire (partie 02) ; Centre de formation aux métiers de l'eau de Tizi-Ouzou ; p 39 ; (2001)

ANNEXE

ANNEXE

PARAMETRES DE QUALITE DE L'EAU DE CONSOMMATION HUMAINE

Tableau 1 : PARAMETRES AVEC VALEURS LIMITES

| GROUPE DE PARAMETRES | PARAMETRES | UNITES | VALEURS LIMITES |
|----------------------|-------------|---------------------|-----------------|
| Paramètres chimiques | Aluminium | mg/l | 0,2 |
| | Ammonium | mg/l | 0,5 |
| | Baryum | mg/l | 0,7 |
| | Bore | mg/l | 1 |
| | Fer total | mg/l | 0,3 |
| | Fluorures | mg/l | 1,5 |
| | Manganèse | g/l | 50 |
| | Nitrates | mg/l | 50 |
| | Nitrites | mg/l | 0,2 |
| | Oxydabilité | mg/l O ₂ | 5 |
| | Phosphore | mg/l | 5 |
| | Acrylamide | g/l | 0,5 |
| | Antimoine | g/l | 20 |
| | Argent | g/l | 100 |
| | Arsenic | g/l | 10 |
| Cadmium | g/l | 3 | |

ANNEXE

| | | |
|--------------|------|----|
| Chrome total | g/l | 50 |
| Cuivre | mg/l | 2 |
| Cyanure | g/l | 70 |
| Mercure | g/l | 6 |
| Nickel | g/l | 70 |
| Plomb | g/l | 10 |
| Strontium | g/l | 10 |
| Zinc | mg/l | 5 |

ANNEXE

8
1432

JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N 18

1823 Rabie Ethani mars 2011

ANNEXE (suite)

| GROUPE DE PARAMETRES | PARAMETRES | UNITES | VALEURS LIMITES |
|--|--|--------|-----------------|
| Paramètres chimiques | Hydrocarbures polycycliques aromatiques (H.P.A) totaux | g/l | 0,2 |
| | fluoranthène, benzo (3,4) fluoranthène, benzo (11,12) fluoranthène, benzo (3,4) pyrène, benzo (1,12) pyréne, indène (1,2,3-cd) pyréne. | | |
| | benzo (3,4) pyrène | g/l | 0,01 |
| | Hydrocarbures dissous ou émulsions extraits au CCl4 | g/l | 10 |
| | Phénols | g/l | 0,5 |
| | benzène | g/l | 10 |
| | Toluène | g/l | 700 |
| | Ethylbenzène | g/l | 300 |
| | Xylènes | g/l | 500 |
| | Styrène | g/l | 100 |
| | Agents de surface réagissant au bleu de méthylène | mg/l | 0,2 |
| | Epychlorehydrine | g/l | 0,4 |
| | Microcystine LR | g/l | 0,1 |
| Pesticides par substance individualisée - Insecticides organochlorés persistants, organophosphorés et carbamates, les herbicides, les fongicides, les P.C.B. et P.C.T | g/l | 0,1 | |
| l'exception de aldrine et dieldrine | | 0,03 | |

ANNEXE

| | | |
|---|------|------|
| Pesticides (Totaux) | g/l | 0,5 |
| Bromates | g/l | 10 |
| Chlore | mg/l | 5 |
| Chlorite | mg/l | 0,07 |
| Trihalméthanes (THM) (Total) Chloroforme, Bromoforme, Dibromochlorométhane, Bromodichlorométhane | g/l | 100 |

ANNEXE

18 Rabie Ethani 1432
23 mars 2011

JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N 18

9

ANNEXE (suite)

| GROUPE DE PARAMETRES | PARAMETRES | UNITES | VALEURS LIMITES |
|------------------------------|---------------------------------|---------------------------|------------------------|
| Paramètres chimiques (suite) | Chlorure de vinyle | g/l | 0,3 |
| | 1,2 - Dichloroéthane | g/l | 30 |
| | 1,2 - Dichlorobenzène | g/l | 1000 |
| | 1,4 - Dichlorobenzène | g/l | 300 |
| | Trichloroéthylène | g/l | 20 |
| | Tetrachloroéthylène | g/l | 40 |
| | Concentration en ions hydrogène | Unité pH | $\geq 6,5$ et ≤ 9 |
| | Conductivité 20 C | S/cm | 2800 |
| | Dureté | mg/l en CaCO ₃ | 200 |
| | Potassium | mg/l | 12 |
| | Résidu sec | mg/l | 1500 |
| | Sodium | mg/l | 200 |
| | Sulfates | mg/l | 400 |
| Température | C | 25 | |