



## Confirmation de validation de la méthode du dosage de nitrite, nitrate et orthophosphate dans l'eau par colorimètre (Confirmation of the validation of the assay method of nitrite, nitrate and orthophosphate in water by visible colorimeter)

M. El Ouchy<sup>(1,2)</sup>, A. El Oualti<sup>(1)</sup>, K. El Ouedghiri<sup>(1,3)</sup>, F. Ouazzani Chahdi<sup>(3)</sup>,  
F. Zerrouq<sup>(2)</sup>, A. El Ouali Lalami<sup>(1)\*</sup>.

<sup>(1)</sup> Laboratoire Régional de Diagnostic Epidémiologique et d'Hygiène du Milieu, Direction Régionale de la Santé, Hôpital EL GHASSANI, Fès Maroc.

<sup>(2)</sup> Laboratoire de Catalyse, Matériaux et Environnement, Ecole Supérieure de Technologie, Fès, Maroc.

<sup>(3)</sup> Laboratoire de Chimie Organique Appliquée, Faculté des Sciences et Techniques, Fès, Maroc.

\*Auteur correspondant : [loualilalami@yahoo.fr](mailto:loualilalami@yahoo.fr)

### Résumé

Le contrôle des indicateurs de pollution (composés chimiques toxiques, métaux lourds, ...) notamment dans les eaux et l'étude de leur impact sur la santé et sur l'environnement a acquis une importance croissante durant ces dernières années. Des méthodes d'analyse fiables sont donc nécessaires pour assurer la conformité avec les réglementations nationales et internationales. La validation de méthode est l'une des composantes essentielles dans les activités d'analyse et de mesure qu'un laboratoire devrait mettre en œuvre pour lui permettre de produire des données analytiques fiables. L'objectif de ce travail est d'étudier les critères de validation des méthodes analytiques colorimétriques du dosage du nitrite, du nitrate et de l'orthophosphate dans l'eau par colorimètre. Ces critères ont été étudiés selon les exigences des normes ISO6777, NM 03.7.014, NF T 90-2010, ISO 5725 et les documents Eurachem. Pour valider ces méthodes et confirmer qu'elles sont aptes à l'emploi prévu, nous avons procédé grâce à des travaux expérimentaux dans l'unité de toxicologie au niveau du Laboratoire Régional de Diagnostic Epidémiologique et d'Hygiène du Milieu de Fès (LRDEHMF) à l'étude et à la détermination des indicateurs et des caractéristiques de performance de ces méthodes d'analyse à savoir : la spécificité; l'étalonnage (linéarité), la justesse, la fidélité (répétabilité, fidélité intermédiaire, reproductibilité), la limite de quantification, la limite de détection et l'incertitude de la mesure. Les résultats obtenus par rapport à la spécification et la portée de la validation préalablement définies pour chaque méthode et paramètre, indiquent l'aptitude à l'essai, confirme et déclarent les méthodes étudiées valides pour leurs usages comme des méthodes de routine. Pour garantir la fiabilité des résultats des analyses des eaux, le LRDEHMF en plus adopte des procédures de contrôle (interne et externe) de la qualité selon les exigences de la norme internationale ISO/CEI 17025.

*Mots clés* : Eau, Analyse Chimique, Validation de méthodes d'analyse, Normes, Conformité.

### Abstract

Monitoring indicators of pollution (toxic chemicals, heavy metals, etc.), particularly in the water and its impact on health and the environment has become increasingly important in recent years. Reliable analytical methods are needed to ensure compliance with national and international regulations. Method validation is an essential component in analytical methods and laboratory measures that should be implemented to allow it to produce reliable analytical. The aim of this work is to study the validation criteria of analytical methods colorimetric assay of nitrite, nitrate and ortho phosphate in water by visible spectrophotometer. These criteria were studied according to the requirements of ISO6777 standards, NM 03.7.014, NF T 90-2010, ISO 5725 and Eurachem documents. To validate these methods and confirm that they are fit for purpose, we proceeded through experimental work in the toxicology unit at the Regional Diagnostic Laboratory Epidemiological and Environmental Hygiene Fez (LRDEHMF) the study and determination of indicators and performance characteristics of these methods of analysis are: the specificity and calibration (linearity), accuracy, precision (repeatability, intermediate precision, reproducibility) limit quantification, limit of detection, measurement uncertainty. The results obtained with respect to the specification and the scope of the pre-defined validation for each method and parameter indicates the ability to test and declare valid the methods studied for their use as routine methods. To ensure the reliability of the results of analyzes of waters, LRDEHMF increasingly adopt control procedures (internal and external) quality according to the requirements of the international standard ISO / IEC 17025.

*Keywords*: Water, Chemical Analysis, Validation of a method, Regulatory, Standard, Compliance.

## 1. Introduction

Depuis toujours l'eau est indissociable de l'activité humaine, elle joue un rôle déterminant dans la vie des hommes, des animaux et des plantes. Vu sa charge en éléments toxiques et en polluants, elle peut avoir un impact direct sur l'organisme sociale, sur l'environnement. Principalement, elle peut être à l'origine de maladies à transmission hydrique, telles que les intoxications, l'irritation, les maladies intestinales et le cancer [1].

Pour suivre les indicateurs de pollution il faut utiliser des méthodes d'analyse validées qui sont nécessaires pour assurer la conformité avec les réglementations nationales et internationales et surtout pour produire des résultats fiables. La validation de ces méthodes est donc l'une des composantes essentielles dans les procédures d'analyse et les mesures. Selon la norme ISO 17025 (chapitres 4 et 5) [2], la validation est une exigence technique qui permet l'évaluation des compétences des laboratoires d'étalonnage, d'essais et d'analyse. Les principaux éléments exigés pour la validation d'une méthode d'analyse sont :

- L'étude de la fonction d'étalonnage ;
- La limite de quantification et de détection ;
- La justesse, la fidélité (répétabilité, fidélité intermédiaire, reproductibilité), et l'incertitude de mesure [3].

Cependant, ces critères de validation et leurs méthodologies ont été largement définis dans la littérature scientifique [4]. Et des publications scientifiques, avaient pour objectif de donner une démarche statistique de la validation d'une méthode analytique [5], la validation des procédures analytique selon la nouvelle approche basée sur l'erreur total [6], et des études qui ont l'ambition de dévoiler une nouvelle stratégie pour évaluer la performance des procédures analytique[7]. Cette validation est devenu indispensable dans la majorité des laboratoires afin d'avoir des résultats fiables qui répondent aux exigences des normes [1][8].

Ce travail a été élaboré dans le but de confirmer la validation de protocole expérimental de la méthode de dosage de nitrite, nitrate et orthophosphate dans l'eau par colorimètre.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Critères étudiés

Les critères étudiés sont : La linéarité, la Répétabilité, la reproductibilité interne, la limite de quantification et de détection, la justesse, la précision et le taux de récupération...[9] [6].

- La linéarité est la capacité, à l'intérieur de l'intervalle de dosage, à fournir des résultats directement proportionnels à la concentration en substance présente dans l'échantillon.
- La répétabilité (r) c'est la fidélité dans des conditions de répétabilité (même opérateur, même laboratoire, même méthode, même matériel...). Elle est calculée par la formule :  $r = 2,8 S_r$
- La reproductibilité (R) est la fidélité dans des conditions de reproductibilité, au moins le changement d'une des conditions. Calculée par la formule :  $R = 2,8 S_R$
- La justesse est l'écart de l'accord entre la valeur moyenne obtenue et une valeur de référence certifiée. Elle est définie par  $\text{Justesse}\% = 100 - \text{Erreur relative}\%$ .
- L'incertitude de mesure est un Paramètre, associé au résultat d'un mesurage, qui caractérise la dispersion des valeurs qui pourraient raisonnablement être attribuées au mesurande. Calculée par la formule :  $IM = \frac{ts \cdot Et}{\sqrt{n}}$ . [10]

La légende des abréviations utilisées ci-dessus est donnée dans le tableau suivant.

Abréviation	Signification	Abréviation	Signification
LL	Limite de linéarité	LQ	Limite de quantification
I.C	L'intervalle de confiance	ER%	Erreur relative
r	Répétabilité	TR%	Taux de récupération
CV%	Coefficient de variation	I.M	Incertitude de mesure
V0	Moyenne des valeurs observées	Sr,R	Ecart type
Vs	Valeur suggérée	R	Reproductibilité
t <sub>st</sub>	Test student	E <sub>t</sub>	Ecart type

### 2.2. Terminologie et Principes

**Nitrites (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>):** sont des composés intermédiaires de l'azote entre l'ammoniac et les nitrates, apparaissant lors de la dégradation des substances azotées par des bactéries dans la filtration biologique. Les nitrites sont toxiques pour la majorité des êtres vivants. La procédure consiste à déterminer la concentration des nitrites dans l'eau par la méthode spectrophotométrique à une longueur d'onde de 540 nm.

**Nitrates ( $\text{NO}_3^-$ )** : constituent la forme azotée dominante dans les cours d'eau et dans les nappes d'eau souterraines. Ils proviennent généralement de la décomposition de la matière organique par oxydation bactérienne des nitrites [11]. La réaction des nitrates avec l'acide sulfosalicylique (formé par addition à l'échantillon de salicylate de sodium et d'acide sulfurique), une coloration jaune stable. La mesure spectrophotométrique est effectuée à une longueur d'onde de 415 nm.

**Orthophosphates ( $\text{PO}_4^{2-}$ )**: ils sont d'origine des détergents se caractérisent par la formation en milieu acide d'un complexe avec le Molybdate d'ammonium et le tartrate double d'antimoine et de potassium. La réaction est réalisée par l'acide ascorbique en un complexe coloré en bleu qui présente des valeurs maximales d'absorption vers 880 nm par un dosage colorimétrique par spectrophotométrie.

### 2.3. Méthodes et paramètres étudiés

L'analyse des nitrites, nitrate et orthophosphate a été effectuée par un colorimètre selon les normes citées dans le tableau ci dessous.

Paramètres	Réactifs	Références
Nitrite	- réactif coloré : + l'acide orthophosphorique à 15 mol/l + amino-4benzène sulfonamide + l'eau distillée + dichlorhydrate de N-naphyl-1) diamino1.2 éthane. - solution étalon : + nitrite de sodium séché à 105°C + eau distillée	Norme Marocain ISO 6777 [12]
Nitrate	- solution de salicylate de sodium à 5% - acide sulfurique (d=1.84) - solution d'hydroxyde de sodium et de tartrate double de sodium et potassium - solution mère étalon d'Azote nitrique à 0.1g/l + l'eau distillée + nitrate de potassium ahydre + chloroforme pour conserver	Rodier 2009 [13]
Orthophosphate	- acide sulfurique à 5 N - NaOH à 120g/l - Acide ascorbique à 20g/l - réactif combiné + tartrate de potassium et d'antimoine à 2.8g/l. + molybdate d'Ammonim à 40g/l + l'eau distillée - Solution mère étalon de phosphate	Rodier 2009 [13]

### 2.4. Outils statistiques

Nous avons utilisé le logiciel Microsoft office Excel 2007 pour le traitement des données et pour le calcul statistique.

## 3. Résultats et discussion :

La confirmation de la validation de la méthode de dosage colorimétrique des nitrites, des nitrates, et des orthophosphates dans l'eau est donnée dans la suite de ce travail en étudiant pour chaque paramètre les critères énoncés précédemment : la linéarité, la répétabilité, la reproductibilité interne, la limite de quantification et de détection, la justesse et le taux de récupération.

### 3.1. Nitrites

Les critères de validation de la méthode de dosage des nitrites que nous avons étudié sont comme suit :

#### 3.1.1 La linéarité

Les différentes mesures des points de gammes donnent une droite linéaire figures 1 et 2.

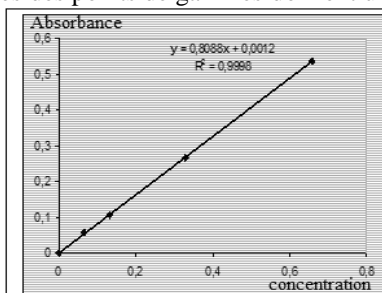


Figure 1 : Courbe d'étalonnage moyenne de 10 répétitions

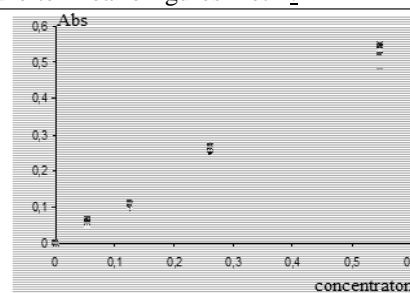


Figure 2 : Dispersion des points de gamme par rapport à la moyenne

Le coefficient de corrélation obtenu (0,9998) est supérieur à celui attendu ( $\leq 0,995$ ). La densité optique mesurée est bien corrélée à la concentration entre 0,00607 et 0,66 mg de  $\text{NO}_2/\text{l}$ .

La sensibilité est la pente de la droite de régression est de 0,8088 Abs/mg/l.  
 La limite de linéarité est LL= 0,66 mg de NO<sub>2</sub>/l (Tableau 1).

**Tableau 1** : Les fonctions de la linéarité

<i>Linéarité</i>	
<b>Equation de la droite</b>	Y=0,8088X+0,0012
<b>R<sup>2</sup></b>	0,9998
<b>Sensibilité</b>	0,8088
<b>Zone quantifiable</b>	<0,00607
<b>Zone semi-quantifiable</b>	[0,00182-0,00607]
<b>Zone inquantifiable</b>	<0,00182
<b>LL</b>	0,66 mg/l

### 3.1.2. La Répétabilité

La limite de Répétabilité est de : 0,0023 (0,033 mg de NO<sub>2</sub>/l), 0,0042 (0,16 mg de NO<sub>2</sub>/l) et 0,0150 (0,5 mg de NO<sub>2</sub>/l) (Tableau 2).

**Tableau 2** : Mesure de la Répétabilité

<i>Répétabilité</i>			
<b>Concentration</b>	<b>0,033</b>	<b>0,16</b>	<b>0,5</b>
<b>Moyenne</b>	0,0335	0,1634	0,5050
<b>Ecart type Sr</b>	0,0033	0,0056	0,0213
<b>CV%</b>	9,8270	3,4247	4,2162
<b>n</b>	10	9	10
<b>Racine(n)</b>	3,1623	3,0000	3,1623
<b>t(student)</b>	2,2280	2,2280	2,2280
<b>I.C</b>	[0,0312 - 0,0358]	[0,1593 - 0,1676]	[0,49 - 0,52]
<b>r</b>	0,0023	0,0042	0,0150

### 3.1.3. La Reproductibilité interne

Les coefficients de variation qui correspondent aux échantillons de concentrations 0,033 ; 0,16 et 0,5 mg de NO<sub>2</sub>/l (4,74% ; 3,89% et 3,40%) sont inférieurs à 5%. La fidélité intermédiaire (reproductibilité interne) pour les trois concentrations (0,03 ; 0,16 et 0,5 mg de NO<sub>2</sub> mg/l), respectivement (0,0103; 0,0238 et 0,0766) sont supérieurs à ceux de la répétabilité (0,0023; 0,0042 et 0,0150).

**Tableau 3** : La Reproductibilité interne

<i>Reproductibilité</i>			
<b>Concentration</b>	<b>0,033</b>	<b>0,16</b>	<b>0,5</b>
<b>Moyenne</b>	0,0326	0,1605	0,4922
<b>Ecart type</b>	0,0036	0,0084	0,0271
<b>CV%</b>	4,7442	3,8974	3,4014
<b>n</b>	10,0000	10,0000	10,0000
<b>Racine(n)</b>	3,1623	3,1623	3,1623
<b>t(student)</b>	2,2280	2,2280	2,2280
<b>I.C</b>	[0,095 - 0,109]	[0,1561 - 0,1649]	[0,4804 - 0,5040]
<b>R</b>	0,0103	0,0238	0,0766

### 3.1.4 La justesse

La justesse a été étudiée pour trois concentrations en nitrites en l'absence des MR et MRC.

Les concentrations utilisées pour cette étude sont 0,033 ; 0,16 et 0,5 mg de NO<sub>2</sub>/l (tableau 3).

Les justesses obtenues sont de l'ordre de 98,53% ; 97,84% et 99,01. Elles sont supérieures à celles attendues (90%≤).

**Tableau 4** : la justesse des mesures

<i>Justesse</i>			
<b>Concentration</b>	0,033	0,16	0,5
<b>Moyenne</b>	0,0335	0,1634	0,5050
<b>Ecart type</b>	0,0033	0,0056	0,0213
<b>V0</b>	0,0335	0,1634	0,5050
<b>Vs</b>	0,0330	0,1600	0,5000
<b>ER%</b>	1,4731	2,1557	0,9920
<b>Justesse%</b>	98,5269	97,8443	99,0080

### 3.1.5 Limite de détection et de quantification

La limite de détection est déterminée par la méthode des concentrations décroissantes jusqu'à disparition du signal à la longueur d'onde 540 nm. La limite de détection estimée est de 0,008 mg de NO<sub>2</sub>/l. La limite de quantification estimée a été de l'ordre de 0,0061 mg de NO<sub>2</sub> mg/l.

**Tableau 5** : Limite de quantification

<i>Limite de détection et de quantification</i>	
<b>Concentration Min</b>	0,008 mg de NO <sub>2</sub> /l
<b>Moyenne</b>	0,0076 mg de NO <sub>2</sub> /l
<b>Ecart type</b>	0,002
<b>LQ</b>	0,0061 mg de NO <sub>2</sub> /l

### 3.1.6 Taux de récupération

Le taux de récupération calculé est de 86,69%, ce dernier est supérieur à 75% (tableau 6).

**Tableau 6** : Taux de récupération

<i>Taux de récupération</i>	
<b>Concentration de l'échantillon non fortifié (C)</b>	0,5050
<b>Concentration de l'échantillon fortifié(Cf)</b>	0,6468
<b>Concentration de substance ajoutée (Ca)</b>	0,1636
<b>TR%</b>	86,69

### 3.1.7 Estimation de l'incertitude de mesure

L'incertitude de mesure estimée est égale à 0,003 mg de NO<sub>2</sub>/l (tableau7).

**Tableau 7** : Estimation de l'incertitude de mesure

<i>Incetitude de mesure</i>	
<b>Concentration</b>	0,16
<b>Moyenne</b>	0,162
<b>Ecart type</b>	0,0060
<b>n</b>	20
<b>Racine(n)</b>	4,47
<b>t(student)</b>	2,226
<b>I.M</b>	0,00297

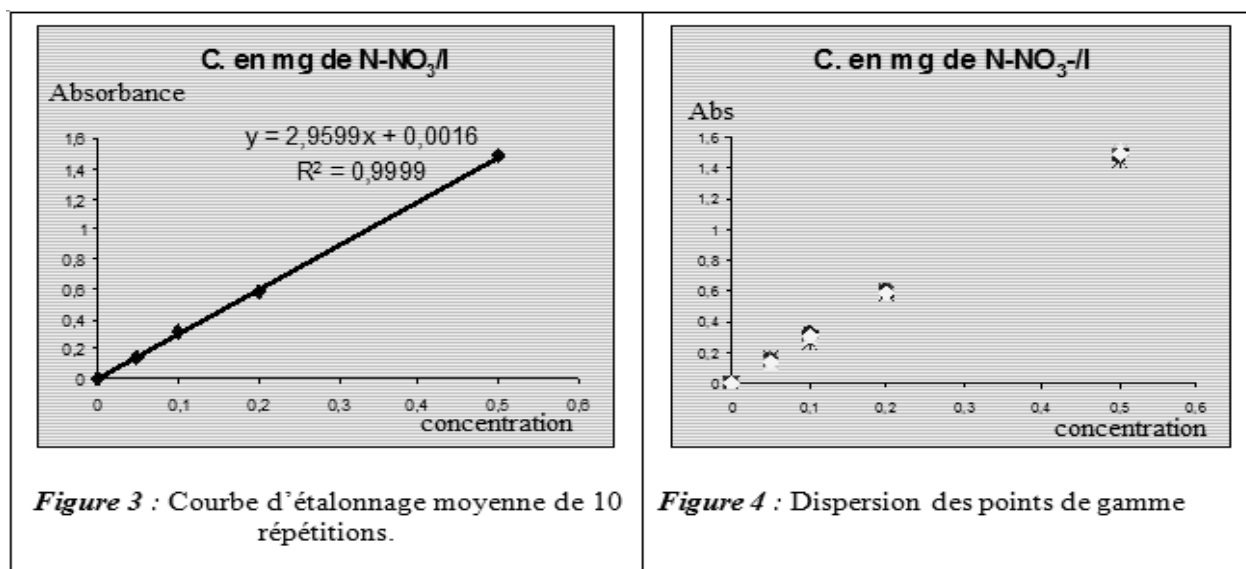
### 3.2 Nitrate

#### 3.2.1 La linéarité

Les points de gammes sont linéaires (figures 3 et 4) avec une limite de linéarité de l'ordre de LL= 0,5 mg de N-NO<sub>3</sub>/l.

**Tableau 8** : La linéarité

<i>Linéarité</i>	
Equation de la droite	Y=2,9599x + 0,0016
R <sup>2</sup>	0,9999
Sensibilité	2,9599
Zone quantifiable	[0,032-0,5]
Zone semi-quantifiable	[0,0096-0,032]
Zone inquantifiable	[0-0,0096]
LL	0,5 mg de N-NO <sub>3</sub> /l



**Figure 3** : Courbe d'étalonnage moyenne de 10 répétitions.

**Figure 4** : Dispersion des points de gamme

Le coefficient de corrélation obtenu (0,9999) est supérieur à celui attendu ( $\leq 0,995$ ) (Tableau 8).

#### 3.2.2 La répétabilité

La limite de Répétabilité est de : 0,0212 (pour une concentration de 0,443 mg de NO<sub>3</sub>/l), 0,0238 (pour une concentration de 0,886 mg de NO<sub>3</sub>/l) et 0,0847 (pour une concentration de 2,215 mg de NO<sub>3</sub>/l), donc la méthode est répétable (Tableau 9).

**Tableau 9** : La répétabilité

<i>Répétabilité( r )</i>			
Concentration (mg NO <sub>3</sub> /l)	0,443	0,886	2,215
Moyenne	0,4731	0,9274	2,2101
Ecart type	0,0301	0,0338	0,1202
CV%	6,3673	3,6401	5,4381
N (nbre de répétition)	10	10	10
Racine (n)	3,1623	3,1623	3,1623
T (Student)	2,228	2,228	2,228
L.C	[0,4519 - 0,4944]	[0,9036 - 0,9512]	[2,1341 - 2,2862]
r	0,0212	0,0238	0,0847

#### 3.2.3 La reproductibilité interne

Les coefficients de variation qui correspondent aux échantillons de concentrations 0,443 et 0,886 et 2,215 mg de NO<sub>3</sub>/l, ont été trouvées de l'ordre de 3,70% ; 4,06% et 2,80%. Elles sont inférieures à 5%. Les limites de reproductibilité interne sont respectivement : 0,0983 ; 0,1114 et 0,2999. Nous pouvons conclure que la méthode est reproductible (Tableau 10).

**Tableau 10** : La reproductibilité interne

reproductibilité interne			
<b>Concentration (mg NO<sub>3</sub>/l)</b>	0,443	0,886	2,215
<b>Moyenne</b>	0,469	0,908	2,163
<b>Ecart type</b>	0,0348	0,0500	0,1346
<b>CV%</b>	3,70	4,06	2,80
<b>n</b>	10	10	10
<b>Racine(n)</b>	3,16	3,16	3,16
<b>t(student)</b>	2,228	2,228	2,228
<b>IC</b>	[2,1341 - 2,2862]	[0,8821 - 0,9341]	[2,1206 - 2,2017]
<b>R. interne</b>	0,0983	0,1114	0,2999

### 3.2.4 La justesse

La justesse a été étudiée après dilution d'un échantillon MR de concentration en nitrate 10,2 mg de NO<sub>3</sub>/l. Les concentrations utilisées pour cette étude sont 0,098 ; 0,16 et 0,41 mg de NO<sub>3</sub>/l (Tableau11). Les justesses obtenues sont 90,02 ; 91,20 et 94,97 sont supérieures à celles attendues (90%≤).

**Tableau 11** : La justesse

Justesse			
<b>Concentration (mg NO<sub>3</sub>/l)</b>	0,098	0,16	0,41
<b>Moyenne</b>	0,0882	0,1741	0,4306
<b>Ecart type</b>	0,0032	0,0039	0,0207
<b>Valeur théorique</b>	0,0882	0,1741	0,4306
<b>Valeur mesurée</b>	0,098	0,16	0,41
<b>ER%</b>	-9,9826	8,8020	5,0272
<b>Justesse%</b>	90,02	91,20	94,97

### 3.2.5 La limite de détection et de quantification

La limite de détection est déterminée par la méthode des concentrations décroissantes jusqu'à disparition du signal à la longueur d'onde 540 nm. La limite de détection estimée est comprise entre 0,008 et 0,01 mg de N-NO<sub>3</sub>/l soient 0,035 et 0,0443 mg de NO<sub>3</sub>/l (Tableau12).

**Tableau 12** : La limite de quantification

<i>Limite de détection et de quantification</i>	
<b>Concentration Min</b>	0,009 mg de N-NO <sub>3</sub> /l
<b>Moyenne</b>	0,0096 mg de N-NO <sub>3</sub> /l
<b>Ecart type</b>	0,004
<b>CV%</b>	4,54
<b>LQ</b>	0,04 mg de N-NO <sub>3</sub> /l

La limite de quantification estimée est égale à 0,04 mg de N-NO<sub>3</sub> mg/l (soit 0,177 mg de NO<sub>3</sub>/l).

### 3.2.6. Taux de récupération

Le taux de récupération calculé est de 96,5%, ce dernier est supérieur à 75% (Tableau13).

**Tableau 13** : Taux de récupération

Taux de récupération	
<b>Concentration de l'échantillon non fortifié (C)</b>	0,2110
<b>Concentration de l'échantillon fortifié(Cf)</b>	0,3141
<b>Concentration de substance ajoutée (Ca)</b>	0,1068
<b>TR%</b>	96,50

### 3.2.7 Estimation de l'incertitude de mesure

L'incertitude de mesure estimée est égale à 0,0165 mg de NO<sub>3</sub>/l (Tableau14).

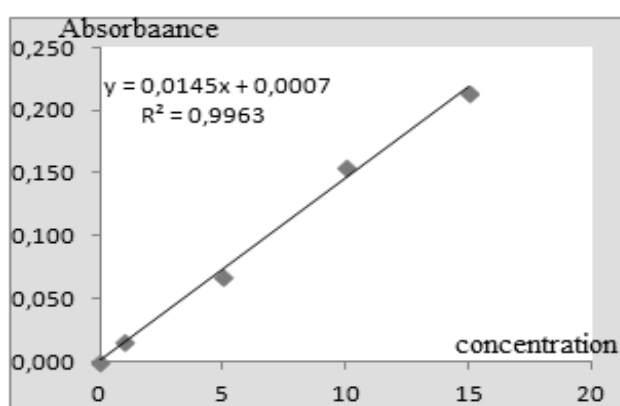
**Tableau 14** : Estimation de l'incertitude de mesure

Incertitude de mesure	
Concentration (mg de NO <sub>3</sub> /l)	0,886
Moyenne	0,918
Ecart type	0,0358
n	20
Racine(n)	4,472
t(student)	2,06
I.M	0,016

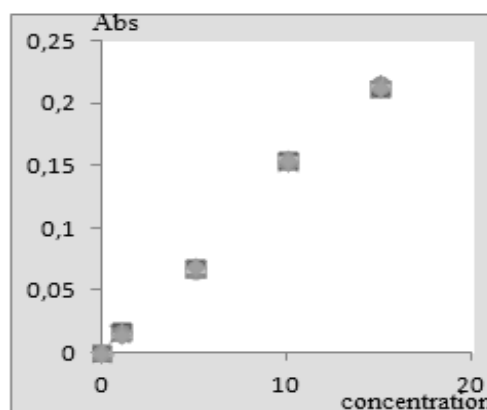
### 3.3. Orthophosphate

#### 3.3.1 La linéarité

Les points de la gamme sont linéaires avec une limite de linéarité LL= 15 mg de p/l (figures 5 et 6).



**Figure 5** : Courbe d'étalonnage moyenne de 10 répétitions.



**Figure 6** : Dispersion des points de gamme

Le coefficient de corrélation obtenu (0,9963) est supérieur à celui attendu ( $\leq 0,995$ ) (Tableau 15).

**Tableau 15** : La linéarité

Linéarité	
Equation de la droite	Y=0,0145x + 0,0007
R <sup>2</sup>	0,9963
Sensibilité	0,0145
Zone quantifiable	[1,24-15]
LL	15 mg de p/l

#### 3.3.2 La répétabilité

La limite de répétabilité est de : 0,2610 (2,5 mg de p/l), 0,2768 (7,5 mg de p/l) et 0,1709(12,5 mg de p/l), aussi leurs CV% sont inférieures à 5%. Donc la méthode est répétable (Tableau16).

**Tableau 16** : La répétabilité

Concentration	Répétabilité( r )		
	2,5	7,5	12,5
Moyenne	2,5241	7,559	12,634
Ecart type	0,0922	0,0978	0,0604
CV%	3,65	1,29	0,48
N (nbre de répétition)	10	10	10
Racine (n)	3,1623	3,1623	3,1623
T (Student)	2,228	2,228	2,228
I.C	[0,215 - 0,238]	[0,1595 - 0,1674]	[0,49 - 0,52]
r	0,2610	0,2768	0,1709

#### 3.3.3 La reproductibilité interne



Les coefficients de variation qui correspondent aux échantillons de concentrations 2,5 et 7,5 et 12,5 mg de p/l sont inférieures à 5%. Les limites de reproductibilité interne sont respectivement : 0,2477 ; 0,2098 et 0,2108. Donc la méthode est reproductible (Tableau 17).

**Tableau 17** : La reproductibilité interne

<i>reproductibilité interne</i>			
Concentration (mg NO <sub>3</sub> /l)	2,5	7,5	12,5
Moyenne	2,469	7,566	12,607
Ecart type	0,0875	0,0741	0,0745
CV%	3,55	0,98	0,59
n	10	10	10
Racine(n)	3,16	3,16	3,16
t(student)	2,228	2,228	2,228
IC	[0,095 - 0,109]	[0,1561 - 0,1649]	[0,4804 - 0,5040]
R. interne	0,2477	0,2098	0,2108

#### 3.4.4 La justesse

Les justesses obtenues sont 99,03% ; 99,22% et 98,92%. Elles sont supérieures à celles attendues (90%≤) (Tableau 18).

**Tableau 18** : La justesse

<i>Justesse</i>			
Concentration	2,5	7,5	12,5
Moyenne	2,5241	7,5586	12,6345
Ecart type	0,0922	0,0978	0,0604
Valeur théorique	2,5	7,5	12,5
Valeur mesurée	2,5241	7,5586	12,6345
ER%	0,9655	0,7816	1,0759
Justesse%	99,03	99,22	98,92

#### 3.3.5 La limite de détection et de quantification

La limite de détection est déterminée par la méthode des concentrations décroissantes jusqu'à disparition du signal à la longueur d'onde 540 nm (Tableau 19).

**Tableau 19** : La limite de quantification

<b>Limite de détection et de quantification</b>	
<b>Concentration Min</b>	0,003 mg p/l
<b>Moyenne</b>	0,0035 mg p/l
<b>Ecart type</b>	0,006
<b>CV%</b>	3,54
<b>LQ</b>	0,06 mg p/l

La limite de quantification estimée est égale à mg p/l.

#### 3.4.6 Estimation de l'incertitude de mesure

L'incertitude de mesure estimée est égale à 0,03894 mg p/l d'orthophosphate (Tableau 20).

**Tableau 20** : Estimation de l'incertitude de mesure

<b>Incrtitude de mesure</b>	
<b>Concentration (mg de NO<sub>3</sub>/l)</b>	7,5
<b>Moyenne</b>	7,562
<b>Ecart type</b>	0,0845
<b>n</b>	20
<b>Racine(n)</b>	4,472
<b>t(student)</b>	2,06
<b>I.M</b>	0,03894

La confirmation de la validation de notre méthode de dosage de ces différents paramètres s'appuie sur une étude intra laboratoire à travers des caractéristiques quantifiées et vérifiées. Ces caractéristiques ont démontré la performance de la

méthode et constituent ainsi la structure d'un dossier de validation de la méthode dans le cadre d'une démarche qualité [14] [15] [16].

### Conclusion

Dans ce travail nous avons visé la confirmation de la validation des protocoles expérimentaux des méthodes de dosage des nitrites, nitrates et orthophosphates dans l'eau par colorimétrie.

L'acceptation de cette validation est vérifiée sur la base des calculs statistiques à savoir :

1. L'étude de la fonction d'étalonnage, la linéarité de courbe d'étalonnage des trois paramètres.
2. La limite de quantification et de détection.
3. La justesse, la fidélité (répétabilité, fidélité intermédiaire, reproductibilité), et l'incertitude de mesure qui assure fiabilité des résultats.

Les résultats obtenus indiquent que les méthodes de dosage des nitrites, nitrates et orthophosphate sont justes, précises et fidèles avec une incertitude de mesure de l'ordre de 0,00297 mg p/l pour le nitrite, de 0,016 mg p/l pour le nitrate et de 0,03894 mg p/l pour l'orthophosphate.

Les méthodes analytiques colorimétriques du dosage de ces paramètres dans l'eau par spectrophotomètre visible sont aptes à l'emploi prévu.

Ce travail pourrait être complété par la confirmation de validation des critères d'autres paramètres telles que pH, conductivité électrique, sulfate, chlorure...

### Références

1. A. Rachidi, Validation de la méthode du dosage de l'histamine dans les produits de la pêche par HPLC. *Les Technologies de Laboratoire*, volume 5, N°20 (2010).
2. La norme ISO 17025, chapitres 4 et 5, les exigences techniques de validation.
3. NF T 90-210 qualités de l'eau protocole d'évaluation initiale des performances d'une méthode dans un laboratoire (ICS : 03.120.30 ; 13.060.50 ; 13.060.60 /ISSN 0335-3931/Mai 2009).
4. Ph. Hubert, validation of quantitative analytical procedures. *Harmonization of approaches*, 13(3), (May-June 2003) 101-131.
5. A. Bouklouze et K. Digua, démarche statistique de la validation analytique dans le domaine pharmaceutique, les technologies de laboratoire, N°1 (2006) 20-25.
6. A. Bouklouze et Y. CHERRAH, validation des procédures analytique selon la nouvelle approche basée sur l'erreur total, les technologies de laboratoire, N°14 (2009).
7. F. Jhilal, B. Ihssane, H. Bouchafra, M. Sfaira, EL. Elhadrami et T. Seffaj, une nouvelle stratégie globale pour la validation analytique et l'estimation de l'incertitude de mesure, *Les Technologies de Laboratoire*, volume 8, N°30 (2013) 1-7.
8. A. Amine, J. Mandli et M. haddam, Etude et validation d'une méthode de dosage des orthodiphénols dans l'huile d'olive. *Les Technologies de Laboratoire*. Volume 7, N°28 (2012) 1-14.
9. k. Digua et A. bouklouze, *Les Technologie de Laboratoire*, N° 1 (2006) 15-19.
10. Centre d'expertise en analyse environnemental du Québec (CEEQ), Protocole de la validation d'une méthode d'analyse en chimie, DR-12-VMC, Edition 9 juin 2009.
11. E. Derwich, L. Benaabidate, A.Zian, O. Sadki, D. Belghity, Caractérisation physico-chimique des eaux de la nappe alluviale du haut Sebou en aval de sa confluence avec oued Fès, *Larhyss Journal*, ISSN 1112-3680, n° 08 (Juin 2010) 101-112.
12. Norme Marocain ISO 6777, qualité de l'eau, dosages des nitrites, méthodes par spectrométrie d'absorption moléculaire, (1999).
13. J. Rodier, B. LEGUBE, N. MERLET et coll, Analyse de l'eau, Dunod paris, (2009).
14. NF ISO 5725-1, application de la statistique – Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthode de mesure – Partie 1 : principes généraux et définitions.
15. NF ISO 5725-2, application de la statistique – Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthode de mesure – Partie 2 : méthodes de base pour la détermination de la répétabilité et de la reproductibilité d'une méthode de mesure normalisée.
16. NF ISO 5725-3, partie 3 : mesure de la fidélité intermédiaire de la fidélité d'une méthode.

(2014) ; <http://www.jmaterenvironsci.com>