



# Estimation de l'incertitude de mesure intra laboratoire pour les analyses physico-chimiques : exemple de l'analyse de l'atrazine dans l'eau

Rapport final

BRGM/RP-54734-FR

juin 2006



# Estimation de l'incertitude de mesure intra laboratoire pour les analyses physico-chimiques : exemple de l'analyse de l'atrazine dans l'eau

Rapport final

**BRGM/RP-54734-FR**

juin 2006

Étude réalisée dans le cadre des projets  
de Service public du BRGM 2005

**L. Amalric**

**Vérificateur :**

Nom : J.P. GHESTEM

Date :

Signature :

**Approbateur :**

Nom : A.M. FOUILLAC

Date :

Signature :

Le système de management de la qualité du BRGM est certifié AFAQ ISO 9001:2000.

Mots clés : Incertitude, GUM, Atrazine, Extraction liquide/liquide, LC/MS.

En bibliographie, ce rapport sera cité de la façon suivante :

**Amalric L.** (2006) – Estimation de l'incertitude intra laboratoire pour les analyses physico-chimiques : exemple de l'atrazine dans l'eau. Rapport final BRGM/RP-54734-FR, 25 p., 10 ill.

## Synthèse

Cette étude a été réalisée dans le cadre des projets du Service public du BRGM de l'année 2005, et à la demande du service Eau pour le MEDD.

Les laboratoires d'analyses environnementales accrédités Cofrac ont l'obligation d'estimer les incertitudes de mesures. Le système de normalisation français dispose du document XPT 90-220, un guide qui propose quatre approches pour estimer l'incertitude et établit la façon de l'exprimer. L'incertitude doit être exprimée sous la forme d'une incertitude élargie (en multipliant par 2) et arrondie. À travers l'exemple de la concentration de l'atrazine dans l'eau analysée par HPLC/MS après une extraction liquide/liquide, trois des approches de la norme XPT 90-220 sont appliquées.

L'approche GUM permet d'identifier l'importance de chaque source d'incertitude et de les quantifier séparément. Elle consiste à modéliser le processus d'analyse, identifier les sources d'incertitude et leur associer une incertitude type (calculée ou estimée), puis appliquer la loi mathématique de propagation des incertitudes. On obtient des valeurs d'incertitudes pour l'ensemble du domaine de concentration. Les incertitudes élargies obtenues pour l'atrazine décroissent de 50 à 5 % pour des concentrations en atrazine dans l'eau de 0,02 à 0,2 µg/l.

Avec l'approche contrôle interne, l'estimation de l'incertitude est réalisée en utilisant la reproductibilité intralaboratoire. Un échantillon de concentration connue, matériau synthétique dopé ou de référence..., est analysé de façon régulière. On calcule l'écart type de la série de mesures et le coefficient de variation correspond à l'incertitude. Cette approche prend bien en compte le changement des conditions opératoires, mais elle n'est disponible que pour le niveau de concentration du matériau de contrôle. La nature de la matrice de ce matériau est importante ; s'il s'agit d'un matériau synthétique l'incertitude est a priori minimisée car elle ne prend pas en compte l'effet matrice de l'échantillon. Pour l'atrazine, le suivi du taux de récupération de l'atrazine deutérée ajoutée dans chaque échantillon reçu par le laboratoire, donne une incertitude élargie de 30 % pour une concentration de 1 µg/l.

Le principe de l'approche essais interlaboratoires consiste à exploiter les résultats des essais d'intercomparaison. Le laboratoire rassemble les écarts types et les coefficients de variation de reproductibilité interlaboratoire des essais auxquels il a participé, en fonction des concentrations des essais. L'incertitude est exprimée avec le coefficient de variation, pour une concentration précise ou pour l'ensemble d'un domaine, selon le modèle obtenu. Pour l'atrazine on obtient une incertitude élargie de 40 % pour un domaine de 0,11 à 0,61 µg/l ; il s'agit de l'incertitude de la profession et non de celle propre au laboratoire. Pour obtenir une incertitude plus représentative du laboratoire, on utilise l'outil fourni par AGLAE, basé sur la même approche mais en utilisant les coefficients de variation de reproductibilité intralaboratoire. On obtient ainsi une incertitude élargie de 15 % pour un domaine 0,12 à 0,61 µg/l, pour l'analyse de l'atrazine par HPLC/MS.

Les résultats des différentes approches donnent des valeurs parfois différentes. Nous préconisons l'approche contrôle interne avec le traitement des cartes de contrôle du laboratoire car elle nous semble être au plus près de la réalité quotidienne du laboratoire, lorsque la matrice est bien choisie.



# Sommaire

<b>1. Introduction</b> .....	<b>7</b>
<b>2. Estimation de l'incertitude</b> .....	<b>9</b>
2.1. DESCRIPTION DU PROCESSUS .....	9
2.1.1. Définition du mesurande et description du processus .....	9
2.1.2. Analyse du processus.....	10
2.2. APPROCHE DU GUM.....	11
2.2.1. Estimation de $u_{\text{étalonnage}}$ .....	12
2.2.2. Estimation de $u_{\text{Véchantillon}}$ et $u_{\text{Vextract}}$ .....	14
2.2.3. Estimation de $u_{\text{R}}$ .....	14
2.2.4. Bilan des incertitudes .....	15
2.3. APPROCHE CONTRÔLE INTERNE .....	16
2.4. APPROCHE PLANS D'EXPÉRIENCES SPÉCIFIQUES .....	18
2.5. APPROCHE ESSAIS INTERLABORATOIRES .....	18
2.6. PRÉSENTATION DE L'INCERTITUDE .....	20
<b>3. Comparaison des différentes approches</b> .....	<b>21</b>
<b>4. Conclusion</b> .....	<b>23</b>
<b>5. Bibliographie</b> .....	<b>25</b>

## Liste des illustrations

Illustration 1 - Définition du mesurande et description du processus pour l'analyse de l'atrazine. ....	10
Illustration 2 - Analyse du processus par la méthode des 5 M. ....	11
Illustration 3 - Estimation du coefficient de variation ( $u(C_E)/C_E$ ) pour les concentrations de l'étalonnage. ....	13
Illustration 4 - Estimation du coefficient de variation ( $s(C_E)/C_E$ ) pour les concentrations de l'étalonnage. ....	13
Illustration 5 - Bilan de l'incertitude pour la détermination de l'atrazine par extraction L/L et analyse LC/MS par l'approche GUM. ....	15
Illustration 6 - Contribution de chaque source d'incertitude identifiée sur l'incertitude composée. ....	15
Illustration 7 - Carte de contrôle pour le dosage de l'atrazine par extraction L/L et analyse LC/MS. ....	17
Illustration 8 - Incertitude par l'approche essai interlaboratoire fournie par AGLAE. ....	20
Illustration 9 - Avantages et inconvénients des approches possibles pour l'estimation de l'incertitude. ....	21
Illustration 10 - Tableau comparatif des valeurs d'incertitudes obtenues par les différentes approches. ....	22

# 1. Introduction

**D**e nombreuses exigences, telles que l'évaluation de la conformité d'un produit, la maîtrise des risques environnementaux ou technologiques, le choix de valeurs seuils ou encore l'estimation de données économiques (coût, rentabilité) sont basées sur des résultats d'analyse. Dans ce cadre il est essentiel de fournir l'incertitude qui accompagne le résultat, afin de donner une indication quantitative sur sa qualité et d'en estimer sa fiabilité. Cette incertitude est indispensable pour une comparaison de produits ou de données et dans la déclaration de conformité à des spécifications. Sans incertitude, les résultats de mesure ne peuvent être comparés ni entre eux, ni par rapport à des valeurs de référence.

Dans le domaine de l'analyse environnementale, les laboratoires d'analyses doivent déterminer les incertitudes liées aux résultats qu'ils produisent. La norme européenne NF EN ISO/CEI 17025 qui définit les exigences générales permettant de reconnaître un laboratoire comme compétent et fiable mentionne que « les laboratoires doivent posséder et appliquer des procédures pour estimer l'incertitude de mesure » (§ 5.4.6.2) et que le rapport doit inclure « s'il y a lieu, une déclaration relative à l'incertitude de mesure estimée ; l'information relative à l'incertitude est nécessaire dans les rapports d'essai lorsqu'elle est importante pour la validité ou l'application des résultats d'essai, lorsque les instructions de client l'exigent ou lorsque l'incertitude affecte la conformité aux limites d'une spécification » (§ 5.10.3.1). La norme NF EN ISO/CEI 17025 est le référentiel du Cofrac (organisme d'accréditation français) pour accréditer les laboratoires d'analyses.

Les laboratoires d'analyses disposent de plusieurs documents pour établir leur procédure de calcul d'incertitude. Un grand nombre de documents de référence a été publié au niveau international (GUM, Guide Eurachem...). Au niveau français le document XPT 90-220 « Qualité de l'eau - protocole d'estimation de l'incertitude de mesure associée à un résultat d'analyse pour les méthodes d'analyse physico-chimiques » a été publié en août 2003. Ce document est un guide pour les laboratoires ; il décrit quatre approches qualifiées de complémentaires :

- une approche découlant de la norme NF EN 13005, communément appelée GUM, qui nécessite de modéliser le processus d'analyse et de le décomposer mathématiquement. Les principales sources d'incertitude intervenant dans le processus sont ensuite estimées individuellement puis comptabilisées en incertitude composée ;
- deux approches utilisant les valeurs de reproductibilité **intra**laboratoires issues pour l'une du suivi contrôle interne du laboratoire et issues de plans d'expérience spécifiques pour l'autre ;
- une approche découlant de la norme NF ISO 5725-2 utilisant les valeurs de reproductibilité **inter**laboratoires.

Ce document donne également des recommandations concernant la façon d'exprimer l'incertitude de mesure. C'est un point important pour l'utilisateur des données, comme nous le verrons au cours de ce rapport.

Les laboratoires peuvent appliquer une ou plusieurs de ces méthodes. Ils ont donc le choix entre quatre méthodes, avec pour exigence de respecter le § 5.4.6.2 de la norme NF EN ISO/CEI 17025 : « le laboratoire doit au moins tenter d'identifier toutes les composantes de l'incertitude et



faire une estimation raisonnable », et le § 5.4.6.3 « Lorsqu'on estime l'incertitude de mesure, il faut prendre en compte, en utilisant des méthodes d'analyse appropriées, toutes les composantes de l'incertitude qui ont une importance dans la situation donnée ».

L'objet de ce rapport est de présenter synthétiquement les quatre approches mises à disposition des laboratoires décrites dans la norme XPT 90-220 avec des exemples d'application réalisés dans le même laboratoire afin d'éclairer l'utilisateur de résultats d'analyse environnementale sur la complémentarité ou non de ces méthodes de calcul, sur la signification de l'incertitude selon la méthode utilisée, sur l'expression de la valeur d'incertitude, et de le mettre en garde sur une comparaison ou un classement trop hâtif de différents résultats ou laboratoires en fonction des valeurs d'incertitude.

Le domaine traité dans ce rapport est celui de l'analyse des phytosanitaires dans les échantillons d'eaux. Il est illustré avec l'analyse de l'atrazine, comme exemple principal.

## 2. Estimation de l'incertitude

La définition de l'incertitude de mesure est la suivante : paramètre, associé au résultat d'un mesurage, qui caractérise la dispersion des valeurs qui pourraient raisonnablement être attribuées au mesurande (NF X 07-001).

Une incertitude de mesure est associée à un résultat d'analyse et donc à un mode opératoire. Sa détermination commence par la description de tout le processus d'analyse avec la définition du mesurande, la description de la méthode d'extraction et de la méthode d'analyse. On procède ensuite à l'estimation de l'incertitude de mesure suivant les approches GUM, contrôle interne ou **interlaboratoire** des processus d'extraction et de mesure, selon l'une des quatre approches proposées. Ces approches permettent d'estimer une incertitude type composée.

Dans le cadre de la norme XPT 90-220 l'incertitude associée au résultat doit être exprimée par une incertitude élargie soit sous la forme de deux fois l'écart type ou de deux fois le coefficient de variation. C'est-à-dire que l'on applique un facteur d'élargissement de 2 (parfois 3) à la valeur de l'incertitude type composée obtenue. Cette valeur peut ensuite être arrondie de 5 en 5 dans le cas d'une expression en écart type ou au 5 % supérieur dans le cas d'une expression en coefficient de variation.

### 2.1. DESCRIPTION DU PROCESSUS

#### 2.1.1. Définition du mesurande et description du processus

Le mesurande doit être tout d'abord clairement défini en précisant l'objet de la mesure, la grandeur mesurée et la relation entre le mesurande et les grandeurs dont il dépend. Les conditions opératoires sont ensuite indiquées. Il s'agit de décrire toutes les conditions qui permettent l'observation de ce mesurande.

Dans le cas de l'analyse des phytosanitaires dans les eaux le cas de l'atrazine est traité tout au long de ce rapport pour illustrer la démarche.

**Mesurande :**

Concentration en µg/l de l'atrazine dans les eaux naturelles par extraction en phase liquide et analyse par chromatographie en phase liquide et détection par spectrométrie de masse (LC/MS) selon le mode opératoire interne n° 218.

**Description de l'extraction :**

Homogénéisation, mesure du pH, ajustement du pH si nécessaire et transfert de 1 litre de l'échantillon ( $V_{\text{initial}}$ ) dans une ampoule à décanter

Ajout d'un étalon traceur (permet le contrôle de l'étape d'extraction principalement)

Extraction liquide-liquide par ajout du solvant d'extraction

Concentration du solvant d'extraction

Transfert dans le solvant pour analyse

Ajustement à 1 ml ( $V_{\text{final}}$ )

En parallèle, réalisation d'un blanc avec de l'eau pure

**Description de l'analyse :**

Préparation des 6 solutions d'étalonnage par dilutions de la solution fille préparée à partir d'une solution mère

Injection des étalons et détermination de l'équation de la droite d'étalonnage

Injection de l'échantillon, traitement du chromatogramme et lecture de la concentration avec la droite d'étalonnage :  $C_{\text{étalonnage}}$  en µg/l

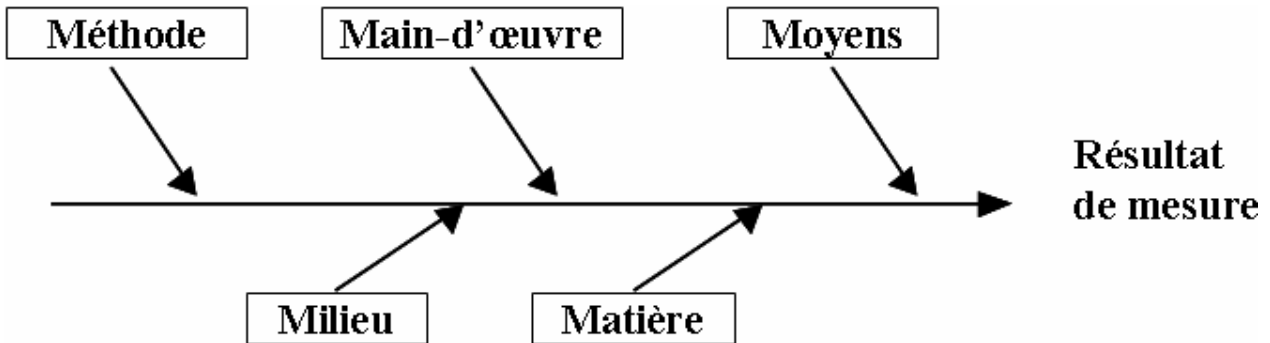
**Calcul de la concentration dans l'échantillon d'eau ( R = rendement d'extraction) :**

$$C_{\text{eau}} = C_{\text{étalonnage}} \times \frac{V_{\text{extrait}}}{V_{\text{échantillon}} \times R}$$

*Illustration 1 - Définition du mesurande et description du processus pour l'analyse de l'atrazine.*

**2.1.2. Analyse du processus**

Le processus extraction/analyse peut être analysé en identifiant et recensant les différentes sources d'incertitude qui peuvent apparaître tout au long du processus à partir d'un diagramme causes-effets (diagramme d'Ishikawa) selon la méthode des 5 M : Méthode, Moyens, Milieu, Main-d'œuvre, Matière.



**Méthode** application du mode opératoire (nombre de mesures, conditions opératoires ...)

**Moyens** : ampoule à décanter, concentrateur, passeur d'échantillon, chromatographe en phase liquide, spectromètre de masse

**Milieu** : (température, pression, éclairage, humidité ...)

**Main-d'œuvre** : (effet opérateur) : préparation de l'étalon traceur et des solutions d'étalonnage d'atrazine, réalisation de l'extraction, traitement du chromatogramme avec détection et identification de l'atrazine

**Matière** : effet échantillon (homogénéité, stabilité..) et consommables (étalons, produit pur, solvants...) : l'échantillon, la pureté du solvant d'extraction, du solvant d'analyse, la solution mère commerciale d'atrazine, la pureté de la solution pour ajuster le pH.

*Illustration 2 - Analyse du processus par la méthode des 5 M.*

Cette étape permet, pour un mode opératoire/processus donné, de s'interroger sur les différentes sources possibles d'incertitude. L'estimation de l'importance relative de ces différentes sources est un travail difficile. Seule l'approche GUM permet cette estimation.

## 2.2. APPROCHE DU GUM

Le principe de cette approche est de quantifier les incertitudes identifiées dans l'analyse du processus. Cette approche peut être utilisée dans tous les cas.

Elle consiste dans un premier temps à modéliser le processus d'analyse et identifier les sources d'incertitude. On associe ensuite à chaque source une incertitude type qui peut être calculée à partir de données expérimentales en appliquant des outils statistiques à une série de déterminations répétées, ou bien estimée à partir d'informations telles que certificat d'étalonnage, les spécifications du fabricant, la bibliographie sur lesquelles on applique une loi de distribution. Les incertitudes types sont ensuite composées par application de la loi mathématique de

propagation des incertitudes pour obtenir l'incertitude type composée qui sera associée au résultat d'analyse.

Par exemple dans le cas de l'analyse de l'atrazine, la concentration dans l'échantillon d'eau est donnée par :

$$C_{\text{eau}} = C_{\text{étalonnage}} \times \frac{V_{\text{extrait}}}{V_{\text{échantillon}} \times R}$$

où  $C_{\text{étalonnage}}$  = concentration en atrazine quantifiée dans l'extrait avec l'étalonnage

$V_{\text{extrait}}$  = volume final de l'extrait après extraction de l'échantillon

$V_{\text{échantillon}}$  = volume de l'échantillon d'eau extrait

R = rendement d'extraction

La loi de propagation des incertitudes s'écrit :

$$UC_{\text{eau}} = C_{\text{eau}} \times \sqrt{\left[ \frac{u(C_{\text{étalonnage}})}{C_{\text{étalonnage}}} \right]^2 + \left[ \frac{u(V_{\text{extrait}})}{V_{\text{extrait}}} \right]^2 + \left[ \frac{u(V_{\text{échantillon}})}{V_{\text{échantillon}}} \right]^2 + \left[ \frac{u(R)}{R} \right]^2}$$

### 2.2.1. Estimation de $u_{\text{étalonnage}}$

L'incertitude sur l'étalonnage est composée de :

- $u_{\text{étalonnage, A}}$  : incertitude type liée aux sources d'incertitude qui existent dans l'étalonnage et qui sont prises en compte par le plan A de la norme XPT 90-210 en prenant l'écart type des teneurs estimées. On exploite les résultats de cinq gammes d'étalonnage ;
- $u_{\text{étalonnage, B}}$  : incertitude type liée aux sources d'incertitude qui existent dans l'étalonnage et qui ne sont pas prises en compte dans les répétitions du plan A de la norme XP T90-210. Il s'agit de l'incertitude sur les étalons apportée par l'erreur de justesse sur la solution mère et sur le matériel utilisé.

#### **a) Incertitude liée à la partie expérimentale de l'étalonnage : $u_A$**

Cas n° 1 : elle est estimée par le plan A de la norme XPT 90-210 en exploitant les résultats de cinq gammes d'étalonnage. On considère l'écart type des concentrations estimées.

Cela prend en compte les sources d'incertitude suivantes : préparation des solutions d'étalonnage, matériels utilisés, système d'intégration, mesure de la réponse, sensibilité de l'appareil, erreur de modèle d'étalonnage utilisé.

Pour l'atrazine par LC/MS, le domaine d'étalonnage s'étend de 0,05 à 0,52 mg/l, ce qui correspond à une concentration dans l'échantillon d'eau de 0,025 à 0,26 µg/l. Le coefficient de variation est différent selon la concentration et varie de 64 à 6 %.

$C_{\text{Etalon}}$ mg/l	0,05	0,07	0,13	0,26	0,52
$u(C_{\text{Etalon}})$	0,025	0,025	0,025	0,025	0,027
$u(C_{\text{Etalon}})/C_{\text{Etalon}}$	50 %	36 %	19 %	10 %	5 %

*Illustration 3 - Estimation du coefficient de variation ( $u(C_E)/C_E$ ) pour les concentrations de l'étalonnage.*

Cas 2 : elle est estimée par l'étude des suivis des deux points étalons 0,10 et 0,50 mg/l qui sont analysés à chaque gamme d'étalonnage pour vérifier la validité de l'étalonnage dans le temps. On utilise l'écart type de fidélité obtenu par le suivi des solutions étalons dans le temps (carte de contrôle). Le coefficient de variation est de 18 et 7 % pour les étalons de 0,10 et 0,50 mg/l, respectivement.

$C_{\text{Etalon}}$ mg/l	0,10	0,49
$u(C_{\text{Etalon}})$	0,019	0,033
$u(C_{\text{Etalon}})/C_{\text{Etalon}}$	19 %	7 %

*Illustration 4 - Estimation du coefficient de variation ( $s(C_E)/C_E$ ) pour les concentrations de l'étalonnage.*

On remarque que ces deux calculs donnent des résultats proches pour les deux étalons, cependant la carte de contrôle des 2 étalons donne des coefficients de variation plus élevés pour les concentrations de 0,10 et 0,59 µg/l. Cela peut s'expliquer par le fait que la carte de contrôle est suivie sur une période de temps plus longue que le test avec les 5 étalonnages réalisés en 24 heures.

Ce mode de détermination de l'incertitude lié à la partie expérimentale de l'étalonnage ne sera pas utilisé par la suite. Nous lui préférons le mode de calcul sur tout le domaine d'étalonnage. L'exemple traité permet simplement de montrer que l'on peut obtenir des résultats différents selon le cas utilisé pour la détermination de l'incertitude liée à la partie expérimentale de l'étalonnage.

### ***b) Incertitude sur les étalons apportée par l'erreur de justesse du matériel et des réactifs : $u_B$***

On utilise des produits purs pour préparer une solution mère pour chaque composé analysé en LC/MS avec la méthode des triazines. Une solution fille est préparée avec toutes les triazines à analyser pour préparer ensuite les 6 solutions étalons. Les sources d'incertitude considérées sont la pureté du produit pur, la masse volumique des solvants, la balance (les préparations se font par

pesées). Pour chacune des solutions étalons on comptabilise l'incertitude sur sa préparation, l'incertitude sur la préparation de la solution fille et l'incertitude sur la préparation de la solution mère.

Pour les 6 étalons on obtient les valeurs d'incertitude  $u(\text{Ce})/\text{Ce}$  suivantes :

Etalon mg/l	0,05	0,07	0,13	0,26	0,52
$u(\text{Ce})/\text{Ce}$	0,00542	0,00599	0,00521	0,00525	0,00538

### **c) Incertitude sur l'intégration des chromatogrammes**

Les chromatogrammes (étalons et échantillons) sont traités par le logiciel puis retraités par les opérateurs. Pour estimer l'incertitude due à ce retraitement manuel, deux chromatogrammes étalon répartis sur l'ensemble de l'étalonnage ont été traités trois fois de suite par l'opérateur et par trois opérateurs différents. L'absence d'un effet opérateur a été vérifiée avant de pouvoir fusionner les différents écarts types afin de calculer un coefficient de variation à partir de la moyenne générale sur les 3 opérateurs.

Les résultats donnent des coefficients de variation de 1,2 % pour l'étalon de concentration 0,09 mg/l et 0,33 % pour l'étalon de concentration 0,5 mg/l.

On peut considérer que l'influence du retraitement manuel est déjà prise en compte dans l'incertitude liée à la partie expérimentale de l'étalonnage puisque les 5 étalonnages ont été retraités. Elle ne sera pas prise en compte dans le calcul final. Néanmoins cette détermination de l'incertitude sur l'intégration des chromatogrammes permet de l'identifier et de la calculer précisément.

#### **2.2.2. Estimation de $u_{V\text{échantillon}}$ et $u_{V\text{extrait}}$**

Le volume d'eau (V) est mesuré au moyen d'une éprouvette dont l'incertitude est donnée par le fabricant :  $\pm 2,5$  ml. L'incertitude type sur la détermination du volume est obtenue par le calcul de  $s(V)/V = 0,003$ , ce qui donne  $s^2(V)/V^2 = 0,00001$ .

La détermination du volume de l'extrait est obtenue par la pesée (m) sur la balance de l'extrait obtenu après les étapes de concentration. Pour une masse de 0,04931 g, le calcul donne une incertitude de  $s(m)/m = 5,847 \times 10^{-5}$ , avec  $s(m^2)/m^2 = 3,42 \times 10^{-5}$ .

#### **2.2.3. Estimation de $u_R$**

Le rendement d'extraction moyen d'un composé est obtenu par la comparaison des pentes de deux étalonnages, l'un réalisé avec des solutions étalons, l'autre réalisé à partir d'eaux dopées aux mêmes concentrations que les étalons puis extraites. Le rapport des pentes des deux étalonnages,  $R = a/a'$ , donne la valeur du rendement d'extraction, que l'on exprime en pourcent. Dans le cas de l'extraction liquide/liquide de l'atrazine, le rendement moyen est de 98 % dans le cas d'une eau propre type eau embouteillée du commerce.

La détermination de l'incertitude sur le rendement d'extraction est obtenue par :

$$\left(\frac{uR}{R}\right)^2 = \left(\frac{ua}{a}\right)^2 + \left(\frac{ua'}{a'}\right)^2$$

avec

a : pente de la droite d'étalonnage réalisé avec les solutions étalons

a' : pente de la droite d'étalonnage réalisé avec les eaux dopées.

Ce calcul donne un coefficient de variation de 1,38 % pour l'extraction de l'atrazine en mode liquide/liquide, pour tout le domaine d'étalonnage.

#### 2.2.4. Bilan des incertitudes

Afin de calculer l'incertitude type composée, on utilise la loi de propagation des incertitudes. On somme les différentes incertitudes types déterminées, pour tout le domaine de travail.

C <sub>étalon</sub> mg/l		0,05	0,07	0,13	0,26	0,52
C <sub>eau</sub> mg/l		0,02	0,029	0,053	0,11	0,21
Préparation des étalons	U(Ce)/Ce	0,00543	0,00599	0,00521	0,00525	0,00538
Etalonnage	U(C)/C	0,5	0,36	0,19	0,10	0,05
Prise d'essai	U(V)/V	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003
Volume de l'extrait	U(m)/m	5,84E-05	5,84E-05	5,84E-05	5,84E-05	5,84E-05
Taux de récupération	uR/R	0,0138	0,0138	0,0138	0,0138	0,0138
Incertitude composée		50 %	36 %	19 %	10 %	5 %
Incertitude élargie		100 %	72 %	38 %	20 %	10 %
Incertitude élargie arrondie		100 %	75 %	40 %	20 %	10 %

Illustration 5 - Bilan de l'incertitude pour la détermination de l'atrazine par extraction L/L et analyse LC/MS par l'approche GUM.

**Cette approche GUM permet d'identifier l'importance de chaque source d'incertitude et de les quantifier séparément. En représentant graphiquement la contribution de chaque source par rapport à l'incertitude composée on peut déterminer la composante principale de l'incertitude et donc connaître le paramètre sur lequel on pourrait éventuellement intervenir pour réduire l'incertitude composée.**

C <sub>eau</sub> mg/l	0,02	0,029	0,053	0,11	0,21
% Préparation des étalons	< 0,5 %	< 0,5 %	< 0,5 %	< 0,5 %	1,1 %
% Etalonnage	99,9 %	99,8 %	99,4 %	97,8 %	91,6 %
% Prise d'essai	< 0,5 %	< 0,5 %	< 0,5 %	< 0,5 %	< 0,5 %
% Volume de l'extrait	< 0,5 %	< 0,5 %	< 0,5 %	< 0,5 %	< 0,5 %
% Taux de récupération	< 0,5 %	< 0,5 %	0,5 %	1,9 %	7,0 %

Illustration 6 - Contribution de chaque source d'incertitude identifiée sur l'incertitude composée.



## 2.3. APPROCHE CONTRÔLE INTERNE

Le principe est d'analyser de façon régulière un échantillon de concentration connue. Cela constitue le contrôle interne des laboratoires d'analyse, habituellement présenté sous la forme d'une carte de contrôle. Cet échantillon de contrôle peut être un matériau synthétique dopé préparé par le laboratoire ou un matériau de référence commercialisé et dont les teneurs sont certifiées.

Dans cette approche, l'estimation de l'incertitude est obtenue en utilisant la reproductibilité intralaboratoire.

Pour le domaine de l'analyse des phytosanitaires dans les eaux, on utilise en général au laboratoire une eau propre dans laquelle on ajoute une quantité connue de pesticides. En effet, il n'existe pas de matériau de référence pour les eaux. Il s'agit là d'une matrice précise et d'une valeur de concentration unique. Cet échantillon de contrôle est préparé rigoureusement de la même façon à chaque fois, puis extrait et analysé en même temps que la série d'échantillons, à une fréquence propre à chaque laboratoire. Le laboratoire collecte les résultats obtenus à des jours différents. Dans le cadre de sa carte de contrôle, le résultat obtenu est comparé à la valeur de référence afin de pouvoir déclarer la série conforme. On obtient alors une carte de contrôle pour une matrice qui est l'eau propre et pour une concentration définie.

L'échantillon de contrôle peut être différent. Il peut s'agir de plusieurs échantillons d'eau propre dopée sur l'ensemble de la gamme de travail ; le laboratoire dispose alors de plusieurs cartes de contrôle pour la même matrice mais avec des concentrations différentes. On peut également ajouter le pesticide recherché sous sa forme deutérée (donc non présente naturellement dans l'environnement) à chaque échantillon traité par le laboratoire avant son extraction (étalon traceur du § 2.1.1). On dispose ainsi d'une carte de contrôle pour une seule concentration mais pour plusieurs matrices bien représentatives de celle pratiquées par le laboratoire. Ce procédé est cependant très coûteux surtout si on doit l'étendre à tous les pesticides recherchés.

À partir de la carte de contrôle obtenue (pour un minimum de 20 valeurs) on calcule l'écart type de la série de mesures (reproductibilité intralaboratoire) et le coefficient de variation correspond à l'incertitude.

Cas de l'atrazine : carte de contrôle obtenue par ajout de l'atrazine deutérée dans les échantillons d'eaux traités par le laboratoire, à une concentration de 1 µg/l.

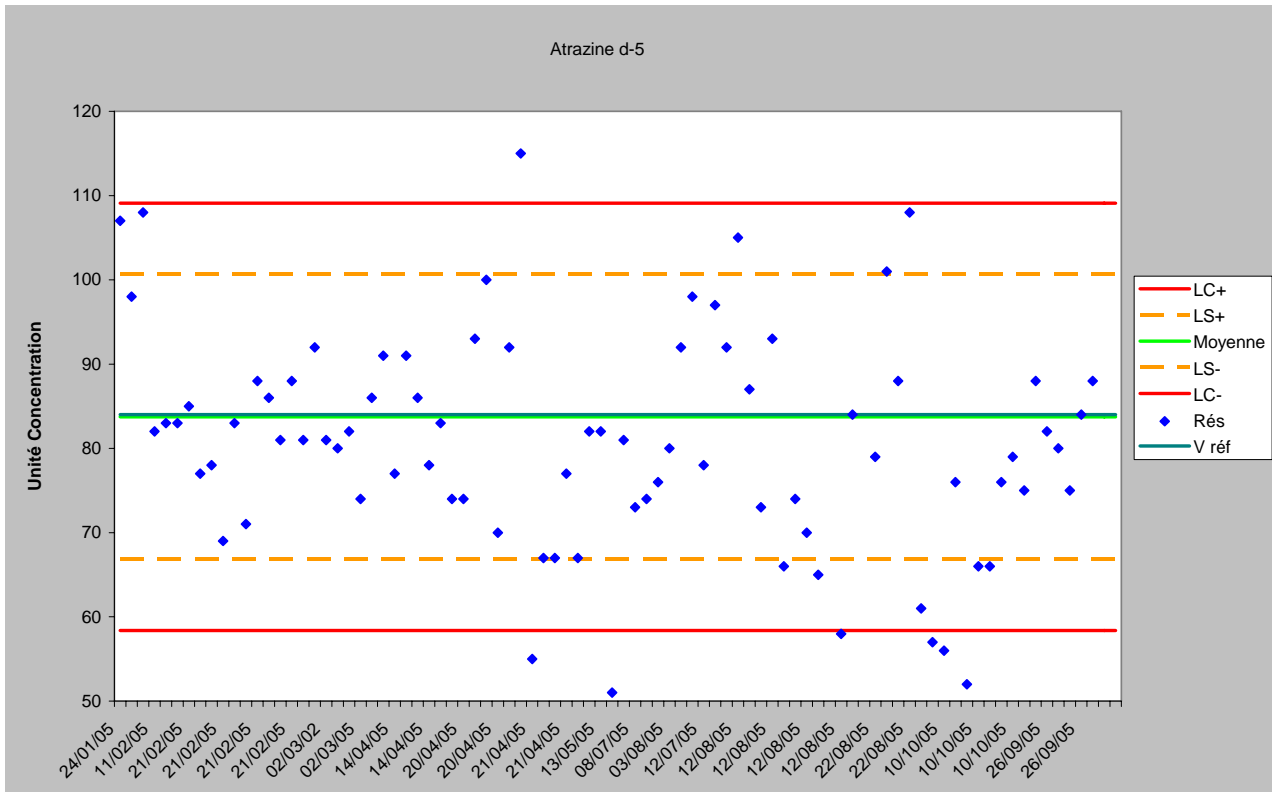


Illustration 7 - Carte de contrôle pour le dosage de l'atrazine par extraction L/L et analyse LC/MS.

Le coefficient de variation calculé pour la totalité de ces résultats pour une concentration en atrazine deutérée de 1 µg/l dans des échantillons d'eaux d'origine différente est de 14 %.

L'incertitude élargie arrondie est donc de 30 % pour une concentration en atrazine de 1 µg/l.

**Cette approche prend bien en compte le changement des conditions opératoires puisque la préparation des étalonnages, la réalisation des étalonnages, les extractions, les analyses sont effectuées par différents opérateurs tout au long de la vie du laboratoire.**

**Si elle est réalisée sur un matériau de référence représentatif de la matrice à un niveau de concentration, elle permet d'obtenir une incertitude exploitable directement à ce niveau de concentration.**

**En revanche si elle est réalisée sur un matériau synthétique dopé à un niveau de concentration, ce qui est le cas en général pour les phytosanitaires en raison de l'absence de matériau de référence eau, l'incertitude représente a priori une incertitude minimisée qui ne tient pas compte de l'effet matrice de l'échantillon à ce niveau de concentration.**

## 2.4. APPROCHE PLANS D'EXPÉRIENCES SPÉCIFIQUES

Le principe est de réaliser 10 analyses sur un échantillon réel en changeant les conditions de réalisation, chaque analyse étant répétée deux fois. Le changement des conditions opératoires doit être représentatif des sources d'incertitudes. On calcule ensuite la reproductibilité intralaboratoire pour ce niveau de concentration. On répètera ce plan d'expériences pour d'autres niveaux de concentration. Pour que cette approche soit significative, il faut que le changement des conditions opératoires soit représentatif des sources d'incertitude les plus importantes (qu'il faut donc avoir listées et pondérées). Un test statistique est appliqué aux valeurs obtenues afin de valider cet effet « changement des conditions opératoires ».

Pour le cas de l'atrazine cela représente 10 litres d'eau pour un même échantillon, extraits et analysés en double, pour un seul niveau de concentration ; soit un total de 30 extractions et 60 analyses si on désire étudier par exemple 3 niveaux de concentrations.

**L'approche plans spécifiques ne peut être utilisée qu'avec des échantillons réels stables dans le temps. Cela présente une difficulté particulière pour l'analyse des phytosanitaires qui exigent des délais d'extraction très courts, de 24 à 72 heures selon les molécules.**

**Les laboratoires pourront réaliser cette approche à la seule condition de se procurer suffisamment d'échantillon et de pratiquer les essais dans un délai de temps compatible avec la conservation des échantillons, mais qui prendra en compte néanmoins le changement de conditions opératoires (préparation des étalonnages, réalisation des étalonnages et extractions effectuées par différents opérateurs).**

Cette approche n'a pas été réalisée dans le cadre de cette étude.

## 2.5. APPROCHE ESSAIS INTERLABORATOIRES

Les intercomparaisons consistent à faire analyser un même échantillon (eau enrichie en phytosanitaires, par exemple) à plusieurs laboratoires. Chaque laboratoire applique la méthode de son choix. Idéalement tous les résultats rendus par les différents laboratoires devraient être égaux mais en réalité ils se dispersent autour de la valeur effective du paramètre. Pour quantifier cette dispersion l'écart type de reproductibilité est calculé. A partir de cet écart type de reproductibilité et après traitement mathématique on dispose au final du coefficient de variation de reproductibilité ( $CV_R$ ) de la profession en fonction du niveau de concentration et du type de matrice, pour chaque molécule. On obtient donc l'incertitude de mesure de la profession en fonction de la concentration mesurée, ou incertitude interlaboratoire.

Les rapports d'essais d'intercomparaison transmettent au laboratoire le z-score qui est la position du résultat du laboratoire par rapport à la moyenne générale de l'essai (plus le z-score est proche de 0 plus l'essai est satisfaisant, l'intervalle toléré, résultat satisfaisant ou discutable, s'étendant de -3 à +3), l'écart type de reproductibilité interlaboratoire et le coefficient de variation de reproductibilité interlaboratoire. Il faut souligner qu'aucune méthode d'analyse n'est imposée. Le laboratoire est donc évalué pour un paramètre, une matrice et une concentration déterminées, par rapport à l'ensemble de la profession utilisant des méthodes différentes.

Le principe de l'approche essais interlaboratoires consiste à exploiter les résultats des essais interlaboratoires auquel le laboratoire a participé. Le laboratoire rassemble les écarts types de reproductibilité interlaboratoire ( $s_{Rinter}$ ) et les coefficients de variation de reproductibilité interlaboratoire ( $CV_{Rinter}$ ) des essais auxquels il a participé. En fonction du nombre de résultats dont dispose le laboratoire, deux calculs sont possibles.

Si le nombre de données d'essais interlaboratoires dont dispose le laboratoire est réduit, le laboratoire exploitera l'écart type de reproductibilité interlaboratoire, ou le coefficient de variation de reproductibilité interlaboratoire de l'essai auquel il a participé, à la valeur consensuelle de l'essai.

Si le laboratoire dispose de nombreuses données d'essais interlaboratoires à différents niveaux de concentrations auxquels il participe, le laboratoire trace l'écart type de reproductibilité interlaboratoire en fonction de la valeur consensuelle de l'essai. Si l'écart type de reproductibilité interlaboratoire ou le coefficient de variation de reproductibilité interlaboratoire est constant, l'incertitude peut être exprimée directement **sur tout le domaine d'application de la méthode** à partir de l'écart type de reproductibilité interlaboratoire ou le coefficient de variation de reproductibilité interlaboratoire. Si aucun de ces deux paramètres n'est constant, l'incertitude sera exprimée à partir de l'écart type de reproductibilité interlaboratoire ou le coefficient de variation de reproductibilité interlaboratoire pour des **domaines d'application séparés**.

**L'approche interlaboratoire peut être utilisée uniquement lorsque le laboratoire a participé aux essais interlaboratoire. Tous les laboratoires accrédités Cofrac ont l'obligation de réaliser ce contrôle externe. Cependant un très petit nombre de molécules phytosanitaires est étudié dans les essais.**

L'organisme d'essais d'intercomparaison AGLAE qui fournit actuellement les rapports d'essais les plus complets et les plus détaillés tant sur la qualité des matériaux des essais que sur l'exploitation des résultats des essais, a réalisé une étude pour l'estimation de l'incertitude de mesure en exploitant les données des essais obtenues depuis 10 ans pour plusieurs matrices et de nombreux paramètres. Ce traitement mathématique permet d'obtenir d'une part le coefficient de variation de reproductibilité ( $CV_R$ ) de la profession en fonction du niveau de concentration et du type de matrice, pour chaque molécule et d'autre part le coefficient de reproductibilité intra-laboratoire propre à chaque laboratoire. À partir des fichiers de calcul fournis par AGLAE, chaque participant aux essais peut calculer son incertitude de mesure à partir de ses propres z-scores sur tout le domaine d'application. Il peut également la comparer à celle de la profession obtenue à partir du coefficient de variation de reproductibilité interlaboratoire (c'est-à-dire obtenue avec la méthode décrite dans la norme T90-220 à partir de tous les z-scores de tous les participants).

L'illustration 8 montre les résultats du traitement mathématique pour l'atrazine dans l'eau douce. À partir de nos résultats aux essais AGLAE pour le dosage de l'atrazine par HPLC/MS, on obtient un coefficient de variation qui s'étend de 6,4 à 6,0 % pour un domaine 0,12 à 0,61 µg/l, soit une incertitude élargie arrondie de 15 % pour ce domaine. L'incertitude élargie de la profession est de 40 % (coefficient de variation de reproductibilité de 20 %).

Sélectionner le paramètre dans la liste déroulante :

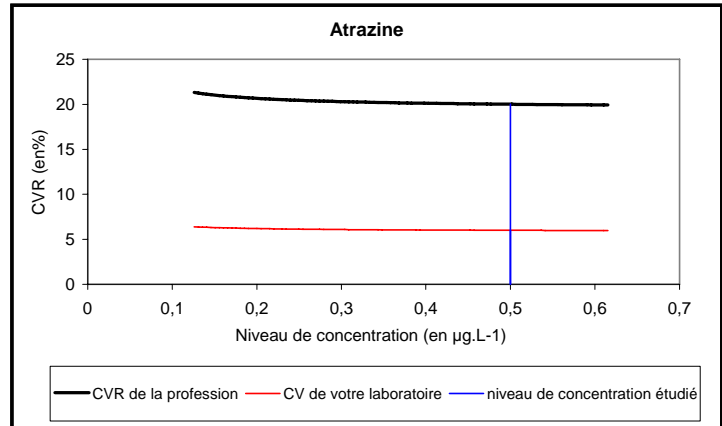
Atrazine

en µg.L-1

Bornes du domaine expérimental	
Valeur inférieure	0,126000002
Valeur supérieure	0,61532557

**Evaluation du CVR pour un niveau de concentration donné :**

Niveau du paramètre	0,5
<b>CVR de la profession (en %)</b>	<b>20,0%</b>



Votre incertitude de mesure exprimée en CV%, au niveau de concentration souhaité	borne inférieure à 1%	borne inférieure à 5%	estimateur	borne supérieure à 5%	borne supérieure à 1%
	2,6%	3,1%	6,0%	37,7%	84,8%

Illustration 8 - Incertitude par l'approche essai interlaboratoire fournie par AGLAE.

## 2.6. PRÉSENTATION DE L'INCERTITUDE

L'incertitude s'exprime sous la forme d'un écart type ou d'un coefficient de variation, multiplié par 2 pour exprimer la dispersion des valeurs pouvant raisonnablement être attribuées au mesurande. Cela constitue l'incertitude élargie.

Dans le cas de l'expression d'un écart type, l'arrondi de la valeur d'incertitude doit être cohérent avec le format du résultat d'analyse.

Dans le cas de l'expression d'un coefficient de variation, l'arrondi de la valeur d'incertitude se fait de 5 en 5 à la valeur supérieure.

Si d'un écart type, coefficient de variation est constant sur tout le domaine, de concentration, l'incertitude pourra être exprimée directement sur tout le domaine ; dans le cas contraire, elle sera exprimée pour des domaines de concentration séparés.

Le laboratoire doit exprimer l'incertitude de mesure associée à un résultat d'essai en précisant l'approche utilisée.

La norme T90-220 précise qu'une comparaison entre les valeurs des incertitudes types composée (absolue ou relative) obtenues par les 4 approches peut être réalisée par le laboratoire. On indiquera bien dans le comparatif le domaine de concentration concerné.

### 3. Comparaison des différentes approches

Les méthodes GUM, contrôle interne et inter laboratoires présentent chacune des avantages particuliers mais également certains inconvénients qui sont résumés dans l'illustration 9.

Méthode	Avantages	Inconvénients
Approche GUM	Permet de connaître l'importance de chaque source d'incertitude et d'améliorer la méthode	Nécessite une excellente connaissance du processus  Peut conduire à une mauvaise estimation de l'incertitude (oubli de facteurs, difficile à isoler)  Processus long
Approche carte de contrôle ou contrôle interne	Simple et rapide à utiliser  Incetitude estimée à partir d'essais sur matériaux de référence, l'effet matrice est estimé  En adéquation avec les analyses réalisées au laboratoire au quotidien	Ne permet pas de connaître les grandeurs qui contribuent le plus à l'incertitude finale  Incetitude connue à un seul niveau de concentration : celui du matériau de référence ou de l'échantillon de contrôle
Approche inter laboratoires	Simple et rapide à utiliser	Ne permet pas de connaître les grandeurs qui contribuent le plus à l'incertitude finale  Souvent l'incertitude est connue à un seul niveau de concentration : celui de l'essai  Incetitude majorée car toutes méthodes confondues  Peu de molécules traitées dans les EIL

*Illustration 9 - Avantages et inconvénients des approches possibles pour l'estimation de l'incertitude.*

La première différence entre ces approches est que l'approche inter laboratoire n'est pas une approche intra laboratoire. L'approche inter laboratoire peut surestimer la valeur de l'incertitude. En effet l'incertitude est calculée à partir des z-scores qui sont attribués au laboratoire par rapport à un résultat moyen issu des résultats de tous les laboratoires participants utilisant des techniques différentes, c'est-à-dire que la technique du laboratoire est « classée » par rapport à de nombreux résultats obtenus avec des techniques d'extraction différentes (liquide/liquide, liquide/solide), des volumes d'échantillons différents, des méthodes analytiques différentes.

Les valeurs de l'incertitude élargie arrondie pour le dosage de l'atrazine par extraction liquide/liquide et analyse par LC/MS obtenues par les différentes approches sont présentées dans l'illustration 10 en fonction du domaine de concentration.

Niveau de concentration µg/l	0,020	0,029	0,053	0,11	0,21	0,61	1
Approche GUM	100 %	75 %	40 %	20 %	10 %		
Approche carte de contrôle							30 %
Approche inter laboratoires propre au laboratoire (AGLAE)				15 %	15 %	15 %	
Approche inter laboratoires incertitude de la profession (AGLAE)				40 %	40 %	40 %	

*Illustration 10 - Tableau comparatif des valeurs d'incertitudes obtenues par les différentes approches.*

Il n'est pas aisé de comparer ces différentes estimations car elles n'ont pas été obtenues pour les mêmes concentrations, en raison du domaine de travail du laboratoire, des concentrations des échantillons des essais d'intercomparaison.

L'approche GUM montre une estimation de l'incertitude qui décroît avec l'augmentation de la concentration dans l'échantillon. Pour le seuil réglementaire de potabilité, 0,1 µg/l, l'incertitude de mesure est de 20 %.

Pour les niveaux 0,11 et 0,21 µg/l du domaine de travail, l'approche inter laboratoires propre au laboratoire donne une valeur identique de 15 %, tandis que l'approche GUM permet d'attribuer des valeurs différentes. Néanmoins, ces estimations de l'incertitude sont du même ordre de grandeur.

L'approche carte de contrôle donne une incertitude plus élevée que les approches GUM et inter laboratoires propre au laboratoire au niveau de 1 µg/l. Cela peut paraître surprenant puisque la concentration étudiée est largement plus élevée. Cependant l'approche carte de contrôle est réalisée avec des matrices réelles par ajout du traceur dans les échantillons d'eaux à analyser, sur une période plus longue et avec un nombre de résultats bien plus important que les essais inter laboratoires. Tous ces paramètres peuvent expliquer cette valeur de 30 %.

L'incertitude de la profession fournie par AGLAE est de 40 % ; elle est supérieure aux autres déterminations, pour le domaine disponible de 0,12 à 0,61 µg/l, comme on pouvait s'y attendre.

## 4. Conclusion

Les approches proposées dans la norme XPT 90-220 sont plus ou moins complexes à mettre en œuvre. Elles fournissent des informations différentes, qui peuvent être complémentaires. L'approche GUM permet de décortiquer tout le processus analytique, tandis que les autres approches donnent un résultat global. Les valeurs des incertitudes estimées peuvent être différentes pour une même concentration, selon l'approche utilisée. La norme n'est qu'un guide et le laboratoire a toute liberté de choisir son procédé, en fonction de sa pratique. Il apparaît donc très important de communiquer l'approche qui a été utilisée pour estimer l'incertitude ainsi que le domaine de concentration, comme le préconise la norme T90-220.

Pour pouvoir disposer de valeurs d'incertitudes comparables, aucune valeur d'incertitude ne doit être annoncée sans les précisions indispensables suivantes :

- paramètre analysé ;
- niveau de concentration ;
- matrice ;
- méthode d'analyse appliquée ;
- méthode d'estimation de l'incertitude ;
- facteur d'élargissement ( $k = 2$  en général).

Cependant, avec une même approche, le procédé peut être différent selon les laboratoires. Dans l'approche GUM par exemple, un nombre plus ou moins grand de sources peut être pris en compte ; cela peut sous estimer ou au contraire surestimer la valeur de l'incertitude. Elle est délicate à mettre en œuvre car elle nécessite une parfaite estimation de tous les facteurs, sans pour autant que certains soit considérés plusieurs fois. L'approche essai inter laboratoire peut surestimer la valeur de l'incertitude puisque les z-scores du laboratoire sont chiffrés par comparaison des résultats de plusieurs laboratoires employant des pratiques et des méthodes différentes.

Nous préconisons l'approche contrôle interne avec le traitement des cartes de contrôle du laboratoire car elle nous semble être au plus près de la réalité quotidienne du laboratoire. Il faut néanmoins que la matrice de l'échantillon et la concentration de l'élément suivi périodiquement soit convenablement choisi afin d'être le plus représentatif possible des échantillons traités par le laboratoire. Cela n'est pas toujours aisé à réaliser. Au moyen de la carte de contrôle, l'incertitude peut être réactualisée ou personnalisée très facilement ; on peut recalculer à loisir le coefficient de variation sur une période donnée, afin de déterminer par exemple l'incertitude sur un suivi annuel ou pluriannuel de la concentration en phytosanitaires sur un point de prélèvement confié au même laboratoire.

L'utilisateur des résultats d'analyse qui va en plus de son résultat pouvoir disposer de l'estimation de l'incertitude associée ne sera pas pour autant au bout de ses hésitations concernant la comparaison de données ou la déclaration de conformité à des spécifications. Il devra être vigilant quant à l'expression de cette incertitude de mesure et à son mode de calcul.





## 5. Bibliographie

NFX 07-001 (décembre 1994) - Vocabulaire international des termes fondamentaux et généraux de métrologie (VIM).

NF ENV 13005 (juin 96) - Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure (GUM).

ISO 5725 -1,5 (94-98) - Exactitude des résultats et méthodes de mesure.

Guide EURACHEM/CITAC (avril 2000) - Quantifying uncertainty in Analytical Measurement.

XP T 90-220 (août 2003) - Protocole d'estimation de l'incertitude de mesure associée à un résultat d'analyse pour les méthodes d'analyses physico-chimiques.

XP T 90-210 (décembre 1999) - Protocole d'évaluation d'une méthode alternative d'analyses physico-chimiques quantitative par rapport à une méthode de référence.

V 03-111 (octobre 1995) - Protocole d'évaluation intra-laboratoire d'une méthode alternative quantitative par rapport à une méthode de référence.

« La validation des méthodes d'analyse » M. FEINBERG.

AGLAE (2004) - Estimation des incertitudes grâce aux essais interlaboratoires, mars 2004, 28 pages - "Validation - Calculs pour micropolluants sur eaux propres.pdf" - "Micropolluants organiques sur eaux propres.pdf" - document confidentiel.



**Centre scientifique et technique**  
**Service métrologie, monitoring, analyse**  
3, avenue Claude-Guillemin  
BP 36009 – 45060 Orléans Cedex 2 – France – Tél. : 02 38 64 34 34