

Etablissement des limites de quantification sur les eaux de rejets

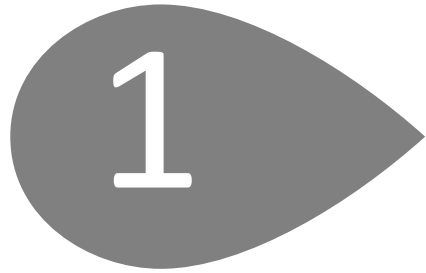
Gaëla LEROY, Veolia Environnement Recherche et Innovation
Gaëlle LESNIAREK, Centre d'analyses Environnementales



Etablissement des limites de quantification dans les eaux de rejets

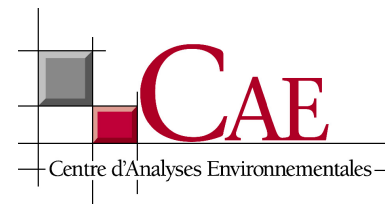


1. Contexte et généralités
2. Gestion des limites de quantification par la R&D
3. Gestion des limites de quantification par CAE
4. Conclusions



Contexte et généralités

VERI et CAE



• 4 Centres de Recherche

- Maisons Laffitte
 - Limay
 - RUEIL MALMAISON
 - SAINT MAURICE
- Département Analyse
- Pôle Analyse Innovation Chimie*
- Pôle Analyse Microbiologique*

• 8 Laboratoires en France

- Laboratoire Central à Saint Maurice (94)
- Arras
- Florange
- Lyon
- Toulouse
- Rennes
- Caen
- Maisons Laffitte (ATA)

VERI et CAE - Fonctionnement



Pôle Analyse Innovation Chimie



Laboratoire Central - Saint Maurice

Demande : cahier des charges

- **Développement des méthodes d'analyse**
 - Mise au point des méthodes
 - Vérification des performances de la méthode
 - « Prévalidation » des méthodes

Transfert de méthodes

- **Besoin de méthodes d'analyse**
 - Définition des besoins

- **Déploiement des méthodes d'analyse**
 - Validation des méthodes
 - Accréditation

Intérêt & Utilisation de la limite de quantification



• Objectif

- Caractériser les performances « basses » d'une méthode d'analyse

• Utilisation

- Un des éléments de caractérisation d'une méthode d'analyse
- Éléments de décision dans le choix d'un laboratoire

Aspects normatifs



- Plusieurs normes donnant des définitions et des modes de calculs différents

- Normes utilisées en analyse de l'eau :

- ➔ **XP T 90-210 – 1999**

- Protocole d'évaluation d'une méthode alternative d'analyse physico-chimique quantitative par rapport à une méthode de référence

- ➔ **NF T 90-210 – 2009**

- Protocole d'évaluation initiale des performances d'une méthode dans un laboratoire

- ➔ **ISO 13530 - 2009**

- Lignes directrices pour le contrôle qualité analytique pour l'analyse chimique et physico-chimique de l'eau

Définitions – Limite de détection



• XP T90-210 Décembre 1999

→ Plus petite quantité d'un analyte à examiner dans un échantillon, pouvant être détectée et considérée comme différente de la valeur du blanc (avec une probabilité donnée), mais non nécessairement quantifiée. En fait, il faut prendre en compte deux risques :

Le risque α de considérer la substance présente dans l'échantillon alors que de grandeur est nulle

Le risque β de considérer absente une substance alors que sa grandeur n'est pas nulle

• NF T90-210 Mai 2009

→ Plus petite quantité ou concentration d'un analyte dans l'échantillon d'essai qui peut être distinguée de manière fiable du zéro.

• ISO/TS 13530

→ Valeur ou signal de sortie au-delà desquels on peut affirmer avec un certain niveau de confiance, par exemple 95%, qu'un échantillon est différent d'un blanc ne contenant pas d'élément à déterminer.

Définitions – Limite de quantification



- XP T90-210 Décembre 1999

- Plus petite grandeur d'un analyte à examiner dans un échantillon pouvant être déterminée quantitativement dans des conditions expérimentales décrites dans la méthode avec une variabilité définie (coefficient de variation déterminé).

- NF T90-210 Mai 2009

- Plus petite grandeur d'un analyte à examiner dans un échantillon pouvant être déterminée quantitativement dans des conditions expérimentales décrites dans la méthode avec une exactitude définie.

- ISO/TS 13530

- Valeur ou signal de sortie calculé à partir de la limite de détection, par exemple 2 ou 3 fois la limite de détection à une concentration de l'élément à déterminer qui puisse raisonnablement être établie avec un niveau acceptable de justesse et de fidélité.

Critères d'établissement d'une limite de quantification



- Réglementation :

- RSDE : LQ imposées dans la circulaire
- Arrêté du 17/09/03 relatif aux méthodes d'analyse des échantillons d'eau et à leurs caractéristiques de performance

- Méthodes d'analyse

- Technologie disponible (HPLC / UHPLC, DAD / MS/MS)
- Nombre d'analytes d'intérêt

- Demandes clients

- Matrices

- Blancs analytiques (Phtalates, NP,...)

- Niveau de contamination environnementale

RSDE – Détermination des limites de quantification



- Performances à atteindre définies dans la circulaire
 - Limites de quantification fixées correspondent à la valeur que 50 % des prestataires sont capables d'atteindre le plus fréquemment. Ces valeurs sont issues de l'exploitation des LQ transmises par les laboratoires dans le cadre de l'action RSDE depuis 2005.

SUBSTANCES (CODE CAS, CODE SANDRE) ET PERFORMANCE A ATTEINDRE
Version du 14 juin 2010

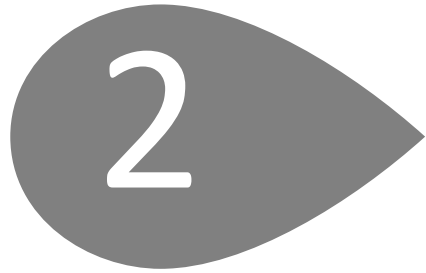
Famille	Substances	Codes CAS	Codes SANDRE ⁱ	LQ ⁱⁱ à atteindre par substance par les laboratoires prestataires en µg/l Eaux Résiduaires
	Nonylphénols	25154-52-3 84852-15-3	6598= 1957 ⁱⁱⁱ + 1958	0.1 pour la somme des deux substances (1957 et 1958)
	NP1OE	26027-38-3 28679-13-2 27986-36-3	6366	0.1* pour l'ensemble des substances

● Matrices

- Eaux usées industrielles
 - Grande variabilité et complexité des matrices



Limite de quantification instrumentale ≠ Limite de quantification de la méthode



Gestion des limites de quantification par VERI

Méthodes de détermination
Difficultés rencontrées



Méthode de détermination – Aspects normatifs



- Jusqu'à l'année dernière : XP T 90-210 – 1999 $\Rightarrow$ 3 méthodes de calcul

- Méthode issue de la linéarité

$$y_{LQ} = b_0 + 10 s(b_0)$$

- Méthode issue du blanc de matrice

$$y_{LQ} = \bar{y}_{blanc} + 10 s_{blanc}$$

- Méthode par vérification d'une LQ choisie (10 réplicats)

→ Critère de justesse $\left| \frac{LQ - \bar{u}_{LQ}}{\frac{s_{LQ}}{\sqrt{n}}} \right| < 10$

→ Critère de fidélité $s_{LQ} / LQ < 20\%$

Méthode de détermination – Aspects normatifs



- Méthode choisie par Veolia

- Méthode par vérification d'une LQ choisie

- Préconisations de la norme

- *Solution d'eau déionisée dopée*
- *Analyse complète en conditions de répétabilité*



- Adaptation Veolia

- *Matrice dopée dans la mesure du possible*
- *Analyse complète en conditions de reproductibilité*

Méthode de détermination – Aspects normatifs



Depuis 2010 : NF T 90-210 – 2009 $\Rightarrow$ 1 mode de calcul :

- Méthode par étude d'une LQ présumée

$\rightarrow$ Critère d'exactitude

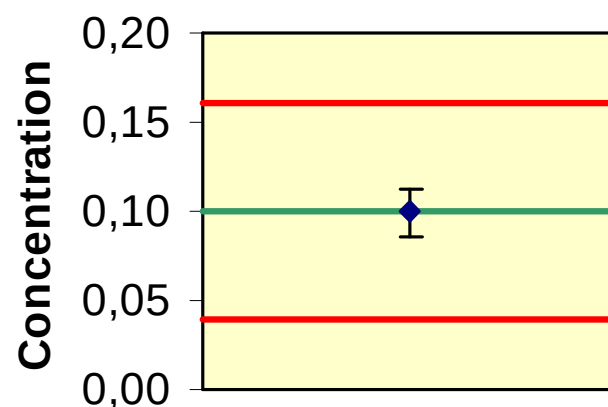
$$\overline{ZLQ} - 2 * SLQ > LQ - 60\% * LQ$$

$$\overline{ZLQ} + 2 * SLQ > LQ + 60\% * LQ$$

◆ valeur moyenne et dispersion

— valeurs limites

— LQ ciblée



Mise en œuvre de la norme NF T 90-210



• Indications de la norme :

- Sélection d'une eau représentative (!) dans laquelle l'analyte est absent si possible
- Dopage en analyte à la LQ supposée
- Fractionnement en 5 prises d'essais
- Analyse en double de chaque fraction

• Application Veolia

- Sélection d'1 à 5 échantillons représentatifs d'une matrice
- Dopage à la LQ supposée
- Analyse en double (répétabilité) de chaque échantillon
- Analyse des 5 échantillons dans des conditions de reproductibilité

Difficultés rencontrées lors de mise en œuvre de la norme NF T 90-210 en R&D



• Matrice représentative :



- Définition de types d'eaux au sein du CAE - SM:

- Filière EP : eau superficielle, eau souterraine, eau en cours de traitement, eau distribuée
- Filière EU : entrée de STEP, eau usée en cours de traitement, eau usée traitée
- Eaux industrielles : une multiplicité de type d'eau selon l'industrie



- Analyse en duplicat de 5 matrices dopées si possible

Difficultés rencontrées lors de mise en œuvre de la norme NF T 90-210 en R&D



• Blancs de matrice :

- Difficultés pour trouver une matrice ne contenant pas les analytes d'intérêts ou à des concentrations $\ll$ LQ
- Difficultés accrues lors des analyses multi-résidus



- Nécessite d'analyse au préalable des matrices
- Nécessite parfois une dilution de la matrice
- Nécessite parfois l'utilisation d'eau synthétique

Difficultés rencontrées lors de mise en œuvre de la norme NF T 90-210 en R&D

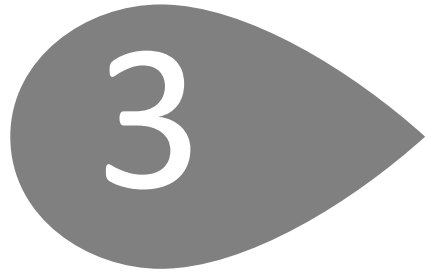


• Effets de matrice :

- Très grande variabilité des matrices dans le cadre des eaux industrielles
 - Variations des effets de matrices
- Cas de la LC/MS-MS
 - Suppression d'ions au niveau de l'ionisation ⇒ baisse du signal et donc diminution de la sensibilité



- Utilisation d'étalons internes pour la quantification
- Anticiper ces possibles effets de matrice en ne se fixant pas des limites de quantification trop basses



Gestion des limites de quantification par le CAE



Procédure Transfert R&D <-> Production



● R&D :

- Développement de la méthode
- 1^{er} niveau de caractérisation : Application de plans NF T 90-210 “réduits”:
 - Etalonnage
 - LQ
 - Rendements
 - Interférence
 - Exactitude

● Prod :

- Caractérisation complète selon NF T 90-210 :
 - Etalonnage
 - LQ
 - Rendements
 - Interférence
 - Exactitude

Choix des matrices



- RSDE : Grande variation des matrices possibles
 - Choix des différents échantillons pour la détermination des LQ car impossible d'avoir une seule matrice représentative d'une eau usée industrielle.
 - 5 échantillons avec des caractéristiques différentes
- Exemples des échantillons utilisés pour une méthode d'analyses de pesticides
 - EUI
 - EUT
 - EUB

Caractéristiques des échantillons



- Tableau avec les principaux paramètres

- MES
- DCO
- pH

	A EUB	B EUT	C EUB	D EUT
pH unité pH	8,00	8,05		
MES mg/L	340	8,6	170	44
DCO mgO ₂ /L	550	45	338	83

Procédures de détermination des LQ

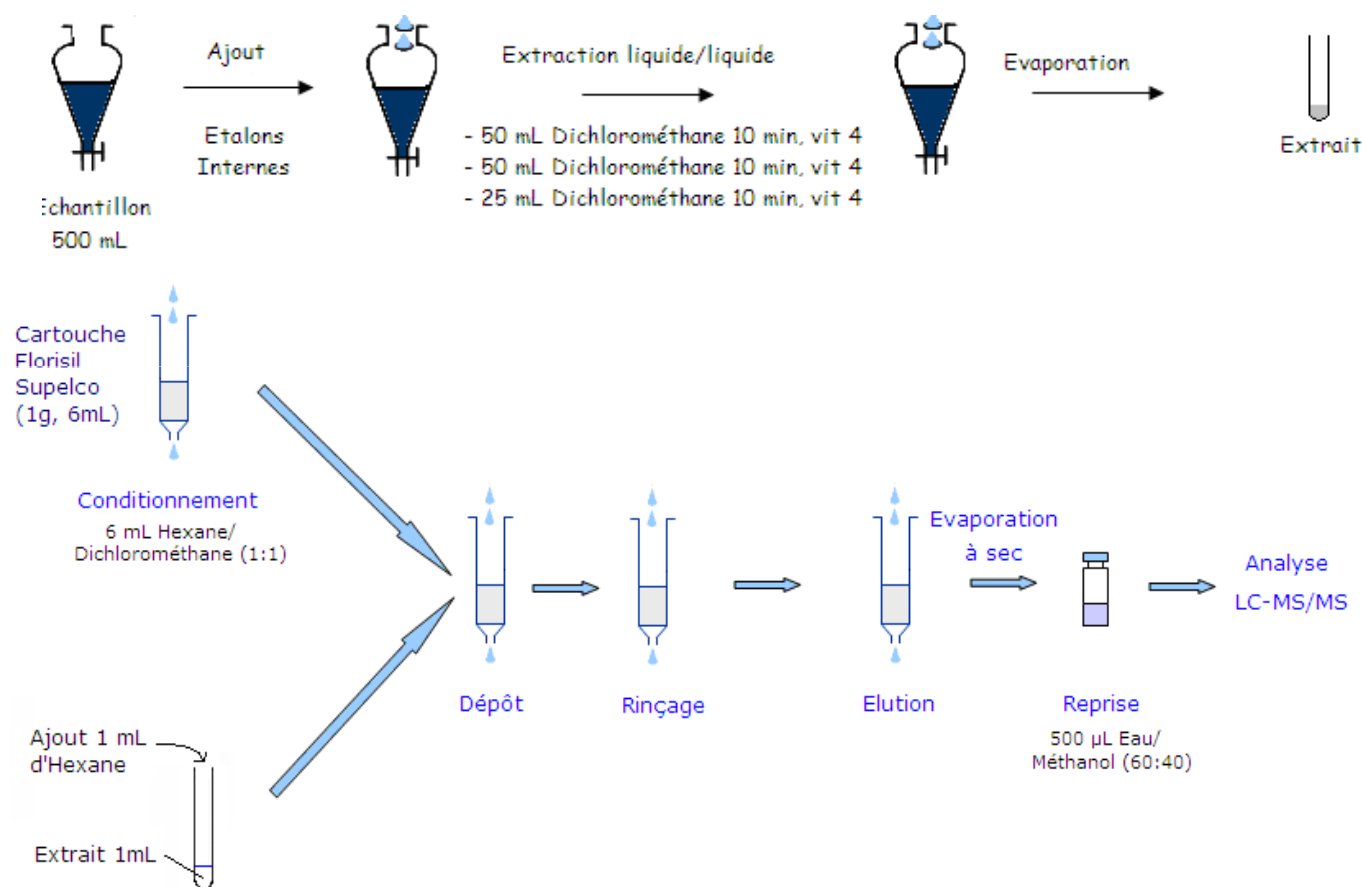


- 1^{er} screening des échantillons potentiels pour les tests LQ
 - Vérifier l'absence des composés cibles
 - Si présence à des concentrations faibles mais trop proches de la LQ
→ Possibilité de dilution (au maximum $\frac{1}{2}$)
- Préparation des échantillons
 - Dopage de l'échantillon à la valeur souhaitée de la LQ
 - Séparation de l'échantillon en 2
 - Dopage avec le ou les étalons internes
- Procédure d'extraction et analyse des échantillons en duplicats

Méthodes d'extraction – Exemple de pesticides



● Schéma d'extraction



Séries de validation

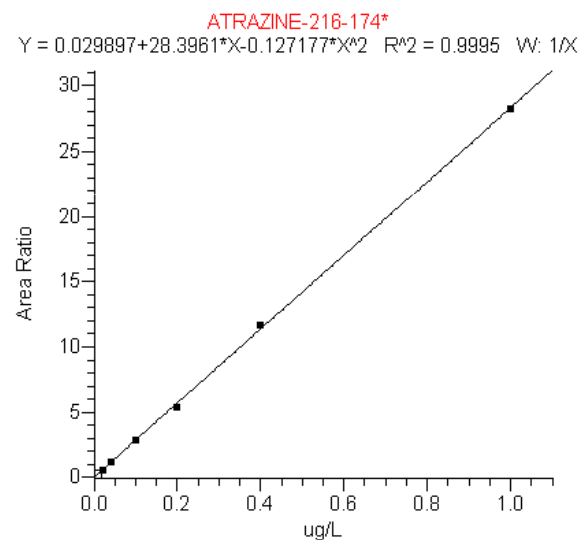
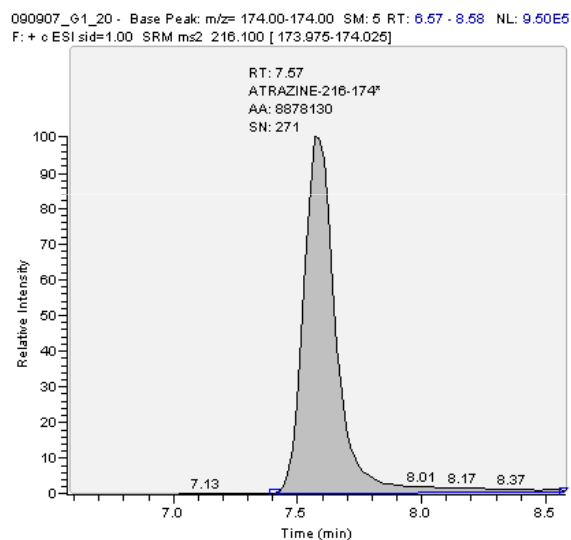


- 5 séries de validation réparties dans le temps
- 1 série de validation contient
 - 1 gamme
 - 2 LQ
 - Un échantillon
 - Echantillon non dopé
 - Echantillon dopé à 20 % de la gamme (analysé en duplicat)
 - Echantillon dopé à 80% de la gamme (analysé en duplicat)

Traitement des résultats



- Exemple d'un composé (Atrazine)
 - LQ ciblée pour le RSDE : 30 ng/L
 - LQ de la méthode développée : 20 ng/L



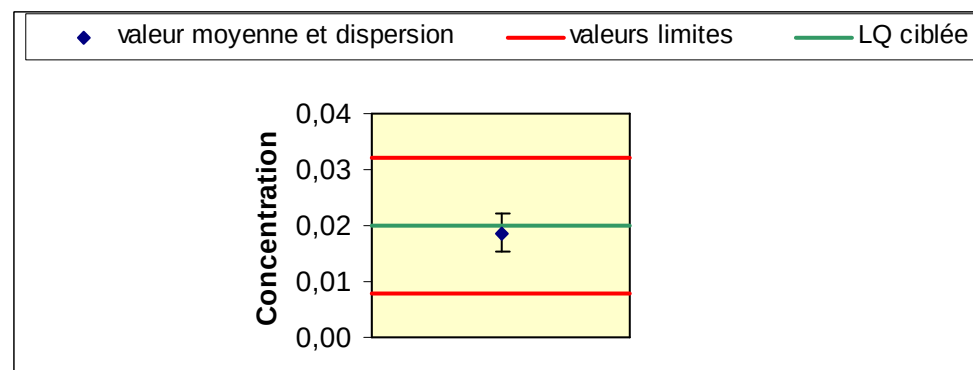
Traitement des résultats



- Concentrations obtenues pour les 5 échantillons analysés en duplicat

Dates	Echantillons	Concentration répétition n 1	Concentration répétition n 2
27/08/2009	1	0,0202	0,0199
01/09/2009	2	0,0191	0,0199
07/09/2009	3	0,0179	0,0167
14/09/2009	4	0,0160	0,0167
13/10/2009	5	0,0198	0,0199

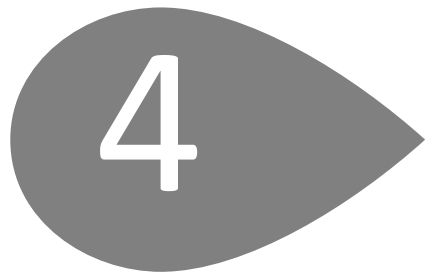
- Présentation après traitement statistique



CAE - Vérification au cours du temps



- 1^{er} point de gamme au niveau de la LQ
 - Pas de quantification en dessous de la LQ
- Calcul de la concentration du 1^{er} point de gamme à chaque gamme
- Critère d'acceptation : +/- 20%



Conclusions

Conclusions



- LQ = moyen pour caractériser les performances « basses » d'une méthode d'analyse
- Caractéristiques de la méthode pas facile à évaluer pour les matrices complexes
 - LQ Appareillage $\neq$ LQ Méthode
- Importance de « surveiller » les performances régulièrement des méthodes pour assurer le maintien des LQ

Merci de votre attention