

Lignes directrices pour la conduite et la validation d'études de stabilité des paramètres physico-chimiques dans le domaine de l'eau

S. LARDY-FONTAN, B. LALERE (LNE)

**Avec la collaboration de
P. MOREAU, J.P. GHESTEM (BRGM), B. LEHOT, S. NGO
(Ineris), C. MARGOUM (Irstea)**

Mars 2017

Document final

En partenariat avec



Avec le soutien de



Contexte de programmation et de réalisation

Ce rapport a été réalisé dans le cadre du programme scientifique et technique AQUAREF pour l'année 2016, dans le cadre du thème C - "Améliorer les opérations d'échantillonnage" et D- "Amélioration des opérations d'analyses physico-chimiques".

Auteur (s) :

Sophie LARDY-FONTAN
LNE
sophie.lardy-fontan@lne.fr

Pauline MOREAU
BRGM
p.moreau@brgm.fr

Bénédicte LEPOT
Ineris
benedicte.Lepot@ineris.fr

Béatrice LALERE
LNE
beatrice.lalere@lne.fr

Jean-Philippe GHESTEM
BRGM
jp.ghestim@brgm.fr

Christelle MARGOUM
Irstea
c.margoum@irstea.fr

Approbateur :

Sophie VASLIN-REIMANN
sophie.vaslin-reimann@lne.fr

Vérification du document :

Pauline MOREAU
BRGM
p.moreau@brgm.fr

Bénédicte LEPOT
Ineris
benedicte.Lepot@ineris.fr

Jean-Philippe GHESTEM
BRGM
jp.ghestim@brgm.fr

Les correspondants

Onema : Pierre-Francois Staub (pierre-francois.staub@afbiobiodiversite.fr)

LNE : Sophie Vaslin-Reimann. sophie.vaslin-reimann@lne.fr

Référence du document : Sophie Lardy-Fontan et Béatrice Lalere - Lignes directrices pour la conduite et la validation d'études de stabilité des paramètres physico-chimiques dans le domaine de l'eau - Rapport AQUAREF 2006 -45 p.

Droits d'usage :	Accès public
Couverture géographique :	International
Niveau géographique :	National
Niveau de lecture :	Professionnels, experts
Nature de la ressource :	Guide

Avec le soutien de



SOMMAIRE

1. DOMAINE D'APPLICATION.....	8
2. REFERENCES NORMATIVES	8
3. TERMES, DEFINITIONS ET SYMBOLES.....	8
4. PRINCIPE	10
5. DEFINITION DU BESOIN ET PLANS D'EXPERIENCE.....	12
5.1 Définition du besoin.....	12
5.2 Cas général	12
5.2.1 Durée de l'étude	13
5.2.2 Contenant	14
5.2.3 Etude de l'influence de la température	14
5.2.4 Niveaux de concentrations du paramètre mesuré	14
5.2.5 Sélection des Matrices :	14
5.2.6 Nombre d'essais	15
5.3 Lignes directrices pour les études de stabilité sur des produits de transformation	15
5.4 Plan d'expériences	16
5.4.1 Matrices aqueuses	16
5.4.2 Matrices solides.....	16
5.4.3 Randomisation	16
5.4.4 Assurance qualité/contrôle qualité	16
6. MISE EN ŒUVRE DE L'ETUDE DE STABILITE.....	16
6.1 Préparation des matériaux d'essai.....	16
6.1.1 Enjeux du dopage en matrice	17
6.1.2 Matrices aqueuses	17
6.1.3 Matrices solides.....	17
6.2 Conduite de l'étude.....	17
6.2.1 Approche chronologique.....	17
6.2.2 Approche pseudo-isochrone type 1	18
6.2.3 Approche pseudo-isochrone type 2	18
6.2.4 Approche isochrone	19
7. INTERPRETATION DES RESULTATS.....	19
7.1 Représentation graphique des résultats	20
7.2 Validation initiale de l'étude à J0	21
7.2.1 Estimation de la valeur J0 et de son incertitude	22

Avec le soutien de



7.2.2	Estimation de la valeur théorique et de son incertitude	23
7.2.3	Vérification de l'exactitude.....	23
7.3	Vérification des hypothèses nécessaires à la sélection des tests statistiques appropriés	24
7.3.1	Vérification de la distribution des données	24
7.3.2	Vérification de l'homogénéité des variances des données.....	24
7.4	Etude de la stabilité et des facteurs d'influences.....	24
7.4.1	Tests paramétriques : Analyse ANOVA et test Dunnett	24
7.4.2	Tests non paramétriques : Analyse Kruskal-Wallis et boîte à moustaches	24
8.	.EVALUATION OPERATIONNELLE ET EXPRESSION DE LA STABILITE	25
8.1	Evaluation des résultats	25
8.2	Expression de la stabilité.....	26
9.	.BIBLIOGRAPHIE.....	27
	ANNEXE A NOTIONS FONDAMENTALES	28
A.1	LA MESURE.....	28
A.2	LES ETUDES DE STABILITE	28
	ANNEXE B FICHE SYNTHETIQUE DE L'ETUDE DE STABILITE	31
B.1	FICHE SYNTHETIQUE MATRICE « EAUX ».....	31
B.2	FICHE SYNTHETIQUE MATRICE « SEDIMENTS/BIOTE »	35
	ANNEXE C EXEMPLE DE MISE EN ŒUVRE	39

Avec le soutien de



Lignes directrices pour la conduite et la validation d'études de stabilité des paramètres physico-chimiques dans le domaine de l'eau
Sophie LARDY-FONTAN, Béatrice LALERE

RESUME

Ce document a pour objectif de faire des recommandations pour la réalisation d'études de stabilité de paramètres au cours de la chaîne de mesure de paramètres physico-chimiques : micropolluants organiques, micropolluants inorganiques et organométalliques, nutriments et macropolluants dans les matrices aqueuses : eaux de surface (ESU), eaux souterraines (ESO), eaux résiduaires (ERU, ERI) et les matrices solides : matières en suspension (MES), sédiments, biote, boues. Il couvre les opérations de prélèvements, les opérations de transports et les opérations de stockage en laboratoire.

Ce document a pour objet de :

- Définir les concepts, éléments clés nécessaires à la compréhension de la problématique de stabilité des paramètres chimiques et physico-chimiques dans le cadre des programmes de surveillance ;
- Proposer des stratégies et des outils méthodologiques de mise en œuvre des études de stabilité, en les comparant et les discutant ;
- Proposer la méthodologie de définition des critères d'acceptabilité pour les couples paramètres-supports d'intérêt.

La période de stabilité à laquelle s'intéresse ce document couvre le délai qui s'étend de la fin de l'échantillonnage au démarrage de la première opération du processus d'analyse en vue de limiter l'évolution du paramètre considéré.

Mots clés (thématique et géographique) : stabilité ; délai maximal avant analyse ; qualité des données,

Avec le soutien de



GUIDELINES FOR THE CONDUCT AND VALIDATION OF STABILITY STUDIES OF PHYSICO-CHEMICAL PARAMETERS IN THE FIELD OF WATER
Sophie LARDY-FONTAN, Béatrice LALERE

ABSTRACTS

The aim of this document is to make recommendations for performing stability studies of parameters during the chain of measurement of physico-chemical parameters-organic micropollutants, inorganic and organometallic micropollutants, nutrients and macropollutants in aqueous matrices: surface waters, ground waters, wastewaters (ERU, ERI) and solid matrices: suspended solids (SS), sediments, biota, and sludge. It covers sampling operations, transport operations and laboratory storage operations.

The purpose of this document is to:

- Define the concepts, the necessary key elements for understanding the stability problem of chemical and physico-chemical parameters in the framework of monitoring programs;
- Propose strategies and methodological tools for the implementation of stability studies, by comparing and discussing them;
- Propose methodologies to define acceptability criteria for key “parameter-support” couples of interest.

The stability period covered by this document covers the period from the end of sampling to the start of the first operation of the analysis process in order to limit the evolution of the parameter under consideration.

Key words (thematic and geographical area): stability, maximal delay before analysis; quality of data;

Avec le soutien de



1. DOMAINE D'APPLICATION

Ce document a pour objectif de faire des recommandations pour la réalisation d'études de stabilité de paramètres au cours de la chaîne de mesure de paramètres physico-chimiques : micropolluants organiques, micropolluants inorganiques et organométalliques, nutriments et macropolluants dans les matrices aqueuses : eaux de surface (ESU), eaux souterraines (ESO), eaux résiduaires (ERU, ERI) et les matrices solides : matières en suspension (MES), sédiments, biote, boues. Il couvre les opérations de prélèvements, les opérations de transports et les opérations de stockage en laboratoire.

Ce document a pour objet de :

- Définir les concepts, éléments clés nécessaires à la compréhension de la problématique de stabilité des paramètres chimiques et physico-chimiques dans le cadre des programmes de surveillance ;
- Proposer des stratégies et des outils méthodologiques de mise en œuvre des études de stabilité, en les comparant et les discutant ;
- Proposer la méthodologie de définition des critères d'acceptabilité pour les couples paramètres-supports d'intérêt.

La période de stabilité à laquelle s'intéresse ce document couvre le délai qui s'étend de la fin de l'échantillonnage au démarrage de la première opération du processus d'analyse en vue de limiter l'évolution du paramètre considéré.

Note : La philosophie et les méthodologies présentées sont applicables à d'autres types d'études de stabilité notamment extraits analytiques.

2. REFERENCES NORMATIVES

Ce document comporte par référence datée ou non datée des dispositions d'autres publications. Ces références normatives sont citées aux endroits appropriés dans le texte et les publications sont énumérées ci-après. Pour les références datées, les amendements ou révisions ultérieurs de l'une quelconque de ces publications ne s'appliquent à ce document que s'ils y ont été incorporés par amendement ou révision. Pour les références non datées, la dernière édition de la publication à laquelle il est fait référence s'applique.

NF EN ISO 13528 (2005) : Méthodes statistiques utilisées dans les essais d'aptitude par comparaisons inter-laboratoires, AFNOR, Ed Paris, 66 pages.

NF EN ISO 5667-3 (2013) : Qualité de l'eau — Échantillonnage — Partie 3 : Conservation et manipulation des échantillons d'eau. AFNOR, Ed Paris, 64 pages

NF EN ISO 5667-15 (2009) : Qualité de l'eau Échantillonnage Partie 15 : Lignes directrices pour la conservation et le traitement des échantillons de boues et de sédiments. AFNOR, Ed Paris, 28 pages

ISO GUIDE 30 (1992): Terms and definitions used in connection with reference materials. Termes et définitions utilisés en rapport avec les matériaux de référence. AFNOR, Ed Paris, 16 pages.

ISO GUIDE 35 (2006) : Matériaux de référence Principes généraux et statistiques en vue de la certification. AFNOR, Ed Paris, 74 pages.

Terminology in Analytical Measurement: Introduction to VIM 3 (2011) : EURACHEM, Ed Vicki Barwick et Elizabeth Prichard. http://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/TAM_2011_Final_web.pdf

3. TERMES, DEFINITIONS ET SYMBOLES

Pour les besoins du présent document, les définitions et symboles suivants s'appliquent :

Approche chronologique : Etude de stabilité dont les résultats de mesure sont acquis dans des conditions de fidélité intermédiaire.

Approche isochrone : Etude de stabilité dont les résultats de mesure sont acquis dans des conditions de répétabilité.

Conditions de répétabilité : conditions de mesurage dans un ensemble de conditions qui comprennent la même procédure de mesure, les mêmes opérateurs, le même système de mesure, les mêmes conditions de fonctionnement et le même lieu, ainsi que des mesurages répétés sur le même objet ou des objets similaires pendant une courte période de temps

NOTE 1 : Une condition de mesurage n'est une condition de répétabilité que par rapport à un ensemble donné de conditions de répétabilité.

NOTE 2 : En chimie, on utilise quelquefois le terme "condition de fidélité intra-série" pour désigner ce concept. [VIM ed3]

Conditions de fidélité intermédiaire : conditions de mesurage dans un ensemble de conditions qui comprennent la même procédure de mesure, le même lieu et des mesurages répétés sur le même objet ou des objets similaires pendant une période de temps étendue, mais peuvent comprendre d'autres conditions que l'on fait varier.

NOTE 1 : Les conditions que l'on fait varier peuvent comprendre de nouveaux étalonnages, étalons, opérateurs et systèmes de mesure. [VIM ed3]

Conditions de reproductibilité : conditions de mesurage dans un ensemble de conditions qui comprennent des lieux, des opérateurs et des systèmes de mesure différents, ainsi que des mesurages répétés sur le même objet ou des objets similaires.

NOTE 1 Les différents systèmes de mesure peuvent utiliser des procédures de mesure différentes.

NOTE 2 Il convient qu'une spécification relative aux conditions contienne, dans la mesure du possible, les conditions que l'on fait varier et celles qui restent inchangées. [SOURCE : VIM ed3]

Conservation d'un échantillon : toute procédure visant à stabiliser un échantillon, c'est-à-dire à stabiliser les propriétés à étudier, depuis l'étape du prélèvement jusqu'à celle de la préparation pour analyse. [ISO 11074 :2005, 4.4.20, reprise dans ISO 5667-3]

Délai Maximal Admissible avant Analyse (DMAA) : délai maximal admissible entre la fin du processus d'échantillonnage et le début des opérations d'analyse, résultat de l'étude de stabilité, qui sera utilisé par le laboratoire pour organiser la planification des analyses.

Durée de stockage : période entre le remplissage du récipient et le traitement ultérieur de l'échantillon au laboratoire, si l'échantillon est conservé dans des conditions prédéfinies.

Note 1 : L'échantillonnage prend fin dès que le récipient a été rempli avec l'échantillon. La durée de conservation prend fin lorsque l'échantillon est prélevé par l'analyste pour commencer la préparation de l'échantillon avant l'analyse.

Note 2 : Pour la plupart des analytes, le traitement ultérieur est une extraction au solvant ou une minéralisation à l'acide. Les étapes initiales de préparation de l'échantillon peuvent être des étapes complémentaires aux conditions de stockage visant à stabiliser les concentrations en analytes. [SOURCE : ISO 5667-3]

Fidélité (de mesure) : étroitesse de l'accord entre les indications ou les valeurs mesurées obtenues par des mesurages répétés du même objet ou d'objets similaires dans des conditions spécifiées.

NOTE 1 La fidélité est en général exprimée numériquement par des caractéristiques telles que l'écart-type, la variance ou le coefficient de variation dans les conditions spécifiées.

NOTE 2 Les conditions spécifiées peuvent être, par exemple, des conditions de répétabilité, des conditions de fidélité intermédiaire ou des conditions de reproductibilité [voir ISO 5725-1 :1994].

NOTE 3 La fidélité sert à définir la répétabilité de mesure, la fidélité intermédiaire de mesure et la reproductibilité de mesure.

NOTE 4 Le terme «fidélité de mesure» est quelquefois utilisé improprement pour désigner l'exactitude de mesure. [SOURCE : VIM ed3]

Fidélité intermédiaire (de mesure) : fidélité de mesure selon un ensemble de conditions de fidélité intermédiaire.

NOTE Des termes statistiques pertinents sont donnés dans l'ISO 5725-3:1994. [SOURCE : VIM ed3]

Homogénéité : Condition d'être d'une structure ou d'une composition régulière vis-à-vis d'une (ou de plusieurs) propriété(s) spécifiée(s). On peut dire qu'un matériau de référence est homogène vis-à-vis d'un caractère spécifié, si la valeur de propriété, telle qu'elle est déterminée par les essais sur des échantillons de dimensions spécifiées,

se trouve située dans des limites d'incertitude spécifiées, les échantillons provenant soit de différentes unités d'approvisionnement (bouteilles, emballages, etc.), soit d'une seule unité d'approvisionnement. [ISO guide 30]

Instabilité Maximale Admissible (IMA) : Ecart maximal admissible par rapport à la valeur paramétrique de référence à J0.

Instabilité minimale Observable (ImO) : Ecart minimal observable pouvant être attribué à une instabilité du paramètre. Il tient compte de l'inhomogénéité du matériau d'essai et de la variabilité intrinsèque des résultats de mesure.

Intégrité : propriété assurant que le(s) paramètre(s) d'intérêt, l'information ou le contenu du récipient de l'échantillon, n'a pas été altéré ou perdu d'une manière non autorisée ou qu'aucune perte de représentativité de l'échantillon ne s'est produite. [ISO 5667-3]

Intégrité de l'échantillon : caractère d'un échantillon qui ne subit aucune altération, volontaire ou accidentelle, pendant son prélèvement, sa conservation et son traitement.

Lot (de production, de matériau) : Quantité définie d'une marchandise déterminée, produite par un fournisseur à un moment donné dans des conditions présumées uniformes. [ISO guide 30].

Paramètre d'influence de la matrice : Caractéristique intrinsèque de la matrice, indépendante de la concentration en analytes, dont la seule variation est susceptible de modifier le résultat d'analyse. [FD T90-230]

Paramètre d'influence des conditions de la conservation : Caractéristique liée aux conditions de stockage et de préservation de l'échantillon, indépendante de la concentration en analytes, par exemple : matériau du flaconnage, température de stockage, influence de la lumière et/ou hygrométrie, ...

Matrice : ensemble des constituants de l'échantillon pour laboratoire autres que l'analyte. Par extension, une matrice est définie par l'analyste comme un ensemble d'eaux caractérisées par un comportement homogène vis-à-vis de la méthode d'analyse utilisée. [FD T90-210]

Matrice représentative : échantillon dont l'ensemble des caractéristiques intrinsèques sont caractéristiques d'un type d'eau ou de la provenance d'un groupe d'échantillons. [FD T90-230]

Processus d'analyse : description détaillée d'une mesure conformément à un ou plusieurs principes de mesure et à une méthode de mesure donnée, et incluant tout calcul destiné à obtenir un résultat de mesure.

Répétabilité (de mesure) : fidélité de mesure selon un ensemble de conditions de répétabilité. [VIM ed3]

Reproductibilité de mesure : Fidélité de mesure selon un ensemble de conditions de reproductibilité. C'est à dire des conditions de mesurage dans un ensemble de conditions qui comprennent des lieux, des opérateurs et des systèmes de mesure différents, ainsi que des mesurages répétés sur le même objet ou des objets similaires. [VIM ed3]

Stabilité : Capacité d'un matériau de référence, lorsqu'il est entreposé dans des conditions spécifiées à conserver une valeur de propriété donnée dans des limites spécifiées pour une période de temps spécifiée. [ISO guide 30]

Stockage d'un échantillon : processus, et son résultat, consistant à garder un échantillon disponible dans des conditions prédéfinies, pour un laps de temps (en général) déterminé entre le prélèvement et le traitement de cet échantillon.

Note 1 : adaptée de l'ISO 11074 :2005, 4.4.22.

Note 2 : Le temps déterminé est le laps de temps maximal. [ISO 5667-3]

4. PRINCIPE

Le respect de l'intégrité de l'échantillon doit permettre de garantir que la donnée de mesure reflète bien la valeur initiale dans le milieu, la matrice ou le matériau à renseigner. Il est indispensable d'en assurer le respect tout au long de la chaîne de mesure.

Pour ce faire, il faut :

- Définir le besoin (substance, matrice, niveau de concentration),
- Elaborer le plan d'expérience,

- Mettre en œuvre les essais et valider les données,
- Evaluer les résultats,
- Exprimer la stabilité (substance, matrice, niveau de concentration).

La période de stabilité doit couvrir la durée s'étendant de la fin de l'échantillonnage (F) au démarrage de la première opération du processus d'analyse limitant l'évolution des échantillons (D). Elle détermine le délai maximal admissible avant analyse DMMA. Suivant l'organisation de la chaîne de mesure, plusieurs cas peuvent être rencontrés :

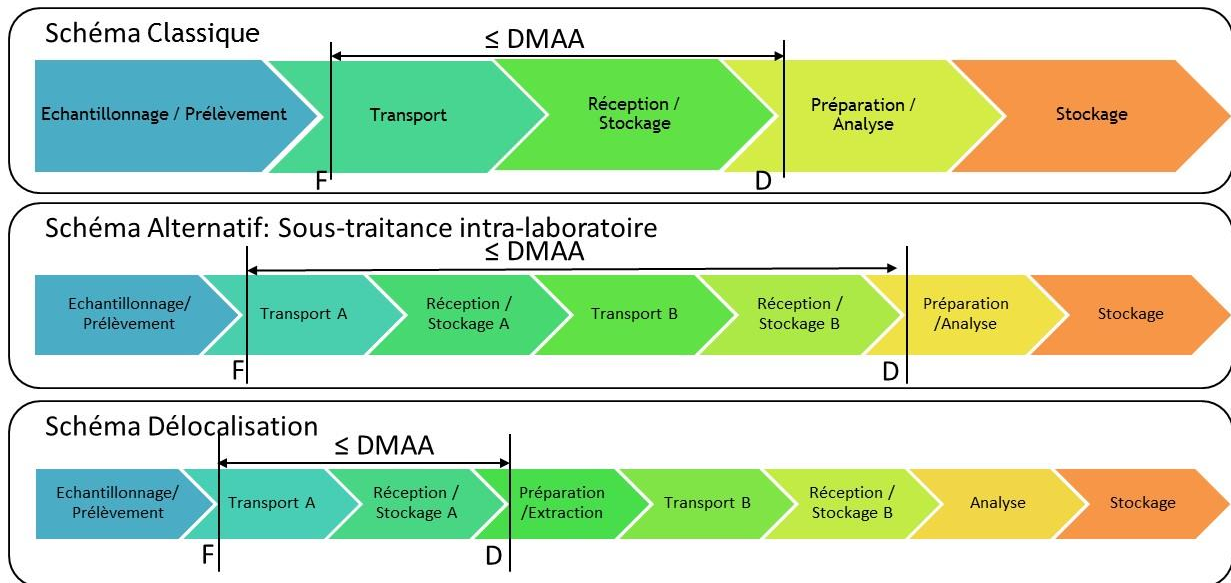


Figure 1 : Organisation de la chaîne de mesure et délai maximal avant analyse.

Le logigramme ci-dessous présente une vision globale du processus général à mettre en œuvre pour la conduite et la validation d'études de stabilité des paramètres physico-chimiques dans le domaine de l'eau.

De manière schématique, en travaillant avec des matériaux représentatifs du domaine d'application de la méthode, l'objectif est de réaliser des essais permettant d'étudier les variations d'un paramètre donné entre un temps initial (par exemple dopage de l'échantillon) et un temps final. Les conclusions de ces études permettent de déterminer, le DMAA, dans les conditions de l'étude.

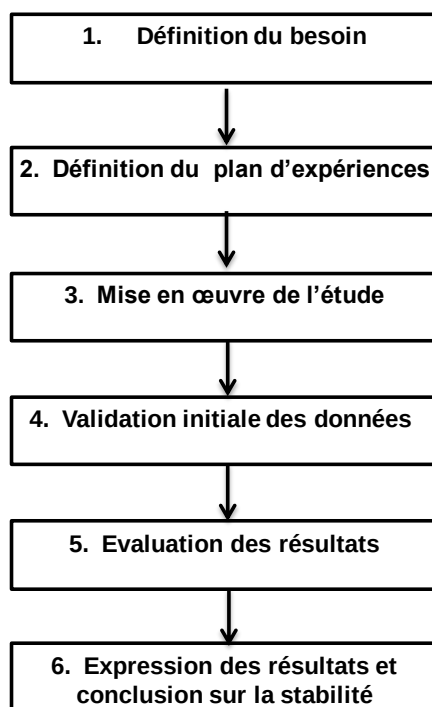


Figure 2 : Illustration du schéma général de conduite d'une étude de stabilité.

5. DEFINITION DU BESOIN ET PLANS D'EXPERIENCE

5.1 DEFINITION DU BESOIN

Le DMAA est une information susceptible de conditionner la qualité des résultats de l'analyse davantage que certaines données de performances (biais). C'est pourquoi le DMAA doit être établi et connu avant la réception des échantillons au laboratoire.

Les facteurs susceptibles d'impacter ce DMAA peuvent être, notamment :

- le matériau du flaconnage (plastique, verre,...) afin d'éviter les pertes par adsorption, diffusion, transfert d'additifs de fabrication, ... ;
- la température (ambiante, réfrigération, congélation,...), qui influera sur la partition des substances entre phase dissoute et particulaire, ou la forme énantiomère en cas de congélation, et sur leur dégradation biologique ;
- la lumière, de manière à éviter la photodégradation de certaines molécules organiques ;
- l'ajout dans l'échantillon d'agents chimiques stabilisants (ex : acide pour les métaux, soude pour les cyanures...) ;
- l'hygrométrie (dessicateur,...) ;
- les risques de contamination ;
- ...

5.2 CAS GENERAL

L'objectif de base d'une étude de stabilité est d'étudier l'influence des conditions de l'environnement ou de la matrice, ou la combinaison des deux, sur la stabilité des paramètres eux-mêmes. En principe, une étude de stabilité doit être accompagnée/précédée d'une étude d'homogénéité du matériau.

Trois approches permettent de conduire des études de stabilité : l'approche chronologique, l'approche isochrone, et une approche intermédiaire dite approche pseudo-isochrone (Annexe A). Le tableau 1 présente les avantages comparés des principales approches.

Le principe de la méthode analytique retenue pour l'étude doit être compatible avec le besoin défini. La méthode doit être validée sur les matrices représentatives sélectionnées, de manière à assurer sa robustesse vis-à-vis des paramètres d'influence.

Ses performances doivent permettre de conclure sur la stabilité, en particulier sa répétabilité ou sa fidélité intermédiaire doivent permettre de différencier l'inhomogénéité ou l'instabilité du matériau d'essai de la variabilité intrinsèque des résultats de mesure. L'ensemble doit être documenté (cf Annexe B).

Il convient que chaque laboratoire justifie ses choix.

Tableau 1 : Description des différentes approches d'étude de stabilité

	Approche chronologique	Approche isochrone
Définition	▪ Etude de stabilité dont les résultats de mesure sont acquis dans des conditions de fidélité intermédiaire.	▪ Etude de stabilité dont les résultats de mesure sont acquis dans des conditions de répétabilité
Avantages	▪ Facilité de mise en œuvre ▪ Acquisition des résultats au cours de l'étude ▪ Réalisation du matériau d'essai en un lot	▪ Réalisation des mesures dans des conditions de répétabilité ▪ Très discriminante pour mettre en évidence inhomogénéité et instabilité ▪ Réalisation du matériau d'essai en un lot
Inconvénients	▪ Nécessite de disposer d'une méthode de mesure très stable (très bonne fidélité intermédiaire) ▪ Moins discriminante pour mettre en évidence inhomogénéité et instabilité	▪ Nécessite de pouvoir stocker de manière temporaire les échantillons dans des conditions de stabilité ▪ Acquisition des résultats à la fin de l'étude

5.2.1 DUREE DE L'ETUDE

La durée de l'étude doit couvrir le DMAA initialement envisagé. Il est nécessaire d'acquérir des informations intermédiaires à différents pas de temps, afin de pouvoir adapter le DMAA en fonction des évolutions constatées. Il est nécessaire de diviser le DMAA en a minima 4 pas de temps entre J_0 et $J_{\max}$.

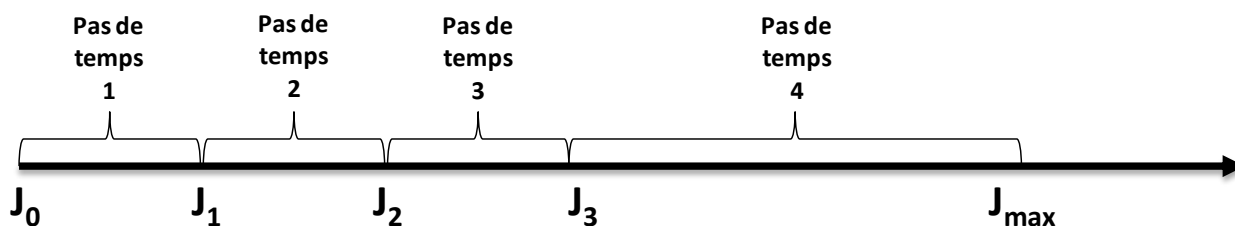


Figure 3 : Illustration schématique de la notion de pas de temps.

Afin d'assurer l'interopérabilité de données acquises par différents laboratoires, les pas de temps sont fixés à :

- Pour les matrices aqueuses : J_0 , J_1 , J_2 , J_3 , et $J_{\max}$ (par exemple 4 jours ou 7 jours) ;
- Pour les sédiments : J_0 , J_1 , J_2 , J_3 et $J_{\max}$ (par exemple 5 jours ou 15 jours) lorsqu'il s'agit d'une étude de stabilité au cours de transport,

J_0 , $J_{1\text{mois}}$, $J_{3\text{mois}}$, $J_{6\text{mois}}$ et $J_{\max}$ lorsqu'il s'agit d'une étude de stabilité pour un stockage long terme en laboratoire.

Il convient que chaque laboratoire justifie ses choix, notamment s'il déroge aux pas de temps.

Les paramètres d'influence de la stabilité qui peuvent être évalués sont présentés ci-dessous, par ordre croissant d'intérêt.

5.2.2 CONTENANT

La norme NF EN ISO 5667-3 ou les normes d'analyse en vigueur pour l'élaboration des spécifications techniques pour la surveillance des milieux aquatiques d'AQUAREF précisent les contenants recommandés pour le transport des échantillons sur la base des connaissances actuelles et ce pour les molécules réglementées dans la surveillance. Cependant pour certaines classes de molécules pour lesquels aucun support normatif n'existe, il convient de s'assurer de la compatibilité de ces recommandations générales.

5.2.3 ETUDE DE L'INFLUENCE DE LA TEMPERATURE

La norme NF EN ISO 5667-3 préconise la conservation des échantillons durant le transport à $5 \pm 3^\circ\text{C}$. Cette plage de température constitue donc la référence en l'absence d'autres exigences.

D'autres températures peuvent être choisies pour l'étude si le laboratoire veut justifier d'une conservation dans des conditions spécifiées différentes de celles de la norme NF EN ISO 5667-3, par exemple lorsqu'il s'agit de démontrer la stabilité d'extrait analytique en laboratoire. Il convient que chaque laboratoire justifie ses choix. Les conditions de température de l'essai doivent être clairement indiquées et leur suivi doit être assuré tout au cours de l'étude de stabilité.

5.2.4 NIVEAUX DE CONCENTRATIONS DU PARAMETRE MESURE

Les niveaux de concentrations testés sont choisis en fonction des données d'occurrence dans l'environnement, des exigences réglementaires si elles existent mais également des performances de la méthode d'analyse et de son domaine d'application.

- Un minimum de 2 niveaux de concentrations par échantillons représentatifs de la matrice du domaine d'application doit être considéré :
 - Un niveau de concentration bas différent de la LQ dans la première moitié du domaine d'application de la méthode,
 - Un niveau de concentration haut dans la deuxième moitié du domaine d'application de la méthode.

Il convient que chaque laboratoire justifie ses choix, notamment s'il déroge au nombre minimum de niveaux de concentrations.

Note : Réaliser des études de stabilité à la limite de quantification (LQ) n'est généralement pas pertinent. En effet, l'incertitude des méthodes à la LQ, telle que définie par la norme NF T 90-210, ne permet pas l'interprétation univoque des données.

Note : Lorsqu'il n'est pas possible de trouver de matrices représentatives exemptes de contamination, il convient d'intégrer ce bruit de fond pour déterminer le niveau bas de l'étude de stabilité.

5.2.5 SELECTION DES MATRICES :

La question de la représentativité des matrices de l'étude de stabilité est un point critique. Deux stratégies peuvent être envisagées i) le recours à des matrices naturelles, éventuellement dopées, et, ii) le recours à des matrices synthétiques (pour les eaux voir FD T 90-230 ; selon NF XP X31-131 pour les sédiments). Le tableau 2 présente les principaux avantages et inconvénients de chacune de ces stratégies. En conséquence, l'idéal serait de panacher les études de stabilité sur des échantillons synthétiques et des échantillons naturels pour une matrice donnée.

Il revient à chaque laboratoire de justifier ses choix par rapport au domaine d'application de la méthode.

Tableau 2 : Avantages / Inconvénients des matrices naturelles et des matrices synthétiques d'eaux représentatives pour la conduite d'étude de stabilité

	AVANTAGES	INCONVENIENTS
Matrice synthétique représentative	▪ Matrice exempte des composés d'intérêts d'où meilleure maîtrise des dopages et des quantifications ▪ Exhaustivité des types matrices ▪ Connaissance des paramètres caractéristiques d'influence de la matrice ▪ Facilité d'accès à des volumes d'échantillons suffisants ▪ Comparabilité des études de stabilité entre laboratoires	▪ Pas une matrice naturelle ▪ Manque de représentativité

Matrice naturelle représentative	Matrice la plus représentative	- Difficultés de disposer de matrices exemptes des paramètres d'intérêt - Difficultés de prélever et transporter des volumes de matrices suffisants - Tous les paramètres qui caractérisent la matrice peuvent ne pas être maîtrisés dans le temps
----------------------------------	--	--

Chaque type de matrice revendiquée par le domaine d'application de la méthode (selon FD T90-230 pour les eaux ; selon NF XP X31-131 pour les sédiments), doit être étudié. Les paramètres d'influence de chaque matrice devront être mesurés et enregistrés à minima à J0.

Pour assurer la représentativité de l'étude et couvrir l'ensemble de la gamme des paramètres d'influence pour la (les) paramètre(s) d'intérêt, un minimum de 2 matrices présentant des caractéristiques intrinsèques différentes par type de matrice représentative (ESU, ESO, par exemple) du domaine d'application doit être examiné, chacune de ces matrices présentant les facteurs d'influence extrêmes. Par exemple, teneur en MES et pH pour les méthodes d'analyse des paramètres organiques, ou teneur en MES et conductivité pour les nutriments.

5.2.6 NOMBRE D'ESSAIS

Le nombre de mesures à réaliser à chaque pas de temps dépend du pas de temps.

Les données à J0 orientant l'acceptation et l'interprétation de l'étude de stabilité, il est essentiel de fiabiliser ces données. En effet, les mesures à J0 sont utilisées pour déterminer la valeur dite de référence des niveaux de concentration choisis dans les matériaux d'étude et de l'homogénéité de ceux-ci. Pour ce faire, le nombre minimum d'essai à réaliser au temps initial J0 doit être défini en fonction des performances de la méthode d'analyse (Kiwa, 2003).

écart-type relatif de fidélité (CVr)	Nombre minimal de réplicats à J0
CVr<5%	6
5%< CVr<10%	8
CVr>10%	10

Pour les autres pas de temps, un nombre minimal de 3 répétitions par condition (échantillon, pas de temps) est recommandé.

5.3 LIGNES DIRECTRICES POUR LES ETUDES DE STABILITE SUR DES PRODUITS DE TRANSFORMATION

Dès lors qu'une étude de stabilité porte sur une substance qui est connue pour être un produit de transformation (métabolite, sous-produits d'oxydation, d'hydrolyse, etc.), il est impératif d'inclure le composé parent dans l'évaluation de la stabilité du produit de transformation (Figure 4). En effet, les produits de transformation ont généralement des temps de $\frac{1}{2}$ vie plus longs que le composé parent. En conséquence, il pourrait être conclu à la stabilité (a) du produit de transformation alors que, en matrice et en mélange, la molécule est instable (b).

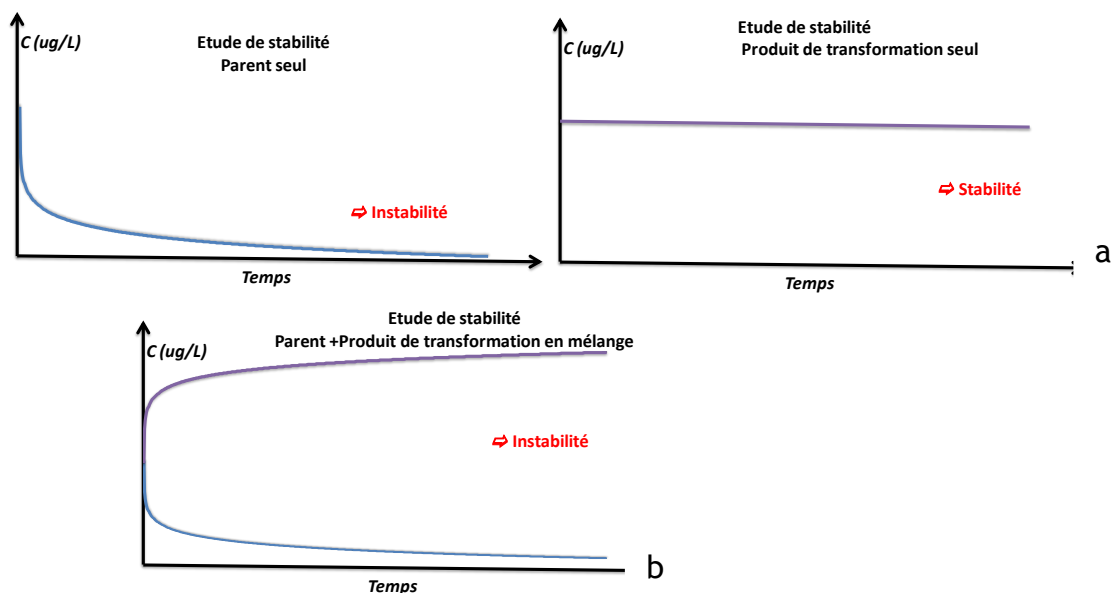


Figure 4 : Illustration de la problématique d'étude de stabilité sur des mélanges parents/produit de transformation.

Quels que soient les résultats obtenus sur l'étude de stabilité du métabolite, le délai fixé pour le métabolite ne peut être supérieur au délai de stabilité du parent. En effet, si cette condition n'est pas remplie, un risque d'un biais dans l'estimation de la concentration du produit de transformation dans l'échantillon au laboratoire existe.

Pour résumer, la puissance et la pertinence d'une étude de stabilité reposent sur :

- Une bonne connaissance et maîtrise de la méthode de détermination mise en œuvre : répétabilité, fidélité intermédiaire, facteurs d'influences des performances de la méthode, etc. ;
- Une bonne définition et connaissance du matériau «échantillon» de l'étude de stabilité : propriétés physico-chimiques, etc. ;
- Une bonne définition des facteurs d'influences évalués dans le cadre de l'étude de stabilité : temps, température, ajout de stabilisants, etc. ;
- La maîtrise des conditions de stockage et de transport, si étudiées. ;
- Des critères d'acceptabilité - instabilité maximale admissible IMA – clairement définis auxquels comparer les résultats de l'étude.

5.4 PLAN D'EXPERIENCES

Afin de faciliter la compréhension des plans d'expériences, se référer à l'Annexe A.

5.4.1 MATRICES AQUEUSES

Il est recommandé de mettre en œuvre une approche pseudo isochrone afin de minimiser l'effet de la fidélité intermédiaire sur les résultats de l'essai.

Il existe deux types d'approche pseudo-isochrone dont les principes sont détaillés en Annexe A :

La première approche diffère de l'approche isochrone dans le sens où les matériaux de l'essai ne sont pas préparés en un lot unique à $J_{initial}$ de l'étude mais à chaque pas de temps de l'étude de stabilité. L'avantage de cette approche étant que les analyses (préparation de l'échantillon et analyse instrumentale) pourront être effectuées dans des conditions de répétabilité.

La seconde approche diffère de l'approche chronologique dans le sens où les échantillons subissent les étapes de préparation à chaque pas de temps défini dans l'étude de la stabilité. Les extraits analytiques sont stockés dans des conditions de référence jusqu'à la fin de l'étude avant d'être analysés sur l'instrument de mesure dans des conditions de répétabilité.

5.4.2 MATRICES SOLIDES

Il est recommandé de mettre en œuvre une approche isochrone, car elle permet de travailler dans des conditions de répétabilité. L'approche pseudo isochrone peut cependant être une alternative.

5.4.3 RANDOMISATION

Quel que soit le plan d'essai, il est recommandé d'appliquer un échantillonnage aléatoire destiné à réduire ou supprimer l'interférence de variables autres que celles qui sont étudiées, notamment au niveau de :

- la préparation des matériaux : dopage et sous échantillonnage ;
- l'échantillonnage des sous unités à chaque pas de temps de l'étude ;
- l'analyse instrumentale afin de minimiser les effets de dérive.

5.4.4 ASSURANCE QUALITE/CONTROLE QUALITE

La recevabilité de l'étude de stabilité suppose de disposer de mesures fiables. Par conséquent il est indispensable de mettre en place des contrôles qualités internes : blanc, rendement, limite de quantification au cours de l'étude. En outre, il est indispensable que l'ensemble des équipements mis en œuvre soit étalonné et vérifié au préalable à leur usage.

6. MISE EN ŒUVRE DE L'ETUDE DE STABILITE

6.1 PREPARATION DES MATERIAUX D'ESSAI

La préparation des matériaux d'essai est un point critique des études de stabilité. En effet si cette étape est mal maîtrisée, elle pourra conduire à i) un manque d'homogénéité du matériau d'essai empêchant l'interprétation des

résultats et conduisant à renouveler l'étude ii) une sous-estimation ou sur estimation de l'instabilité et donc à une mauvaise décision avec comme voie de conséquence un manque de qualité des données de surveillance.

6.1.1 ENJEUX DU DOPAGE EN MATRICE

En général, les essais de stabilité sont réalisés sur des échantillons naturels qui seront dopés. Le dopage doit s'effectuer sur une matrice à température ambiante.

Les moyens gravimétriques ou volumétriques mis en œuvre pour les ajouts doivent être étalonnés et vérifiés au préalable.

Avant tout échantillonnage et tout sous échantillonnage, il convient d'homogénéiser l'échantillon et d'attendre l'atteinte de conditions d'équilibre entre la matrice et l'ajout.

6.1.2 MATRICES AQUEUSES

Les plans d'expériences nécessaires à la conduite des études de stabilité nécessitent généralement de disposer de grands volumes d'échantillons qui doivent dans la très grande majorité des cas, être ajustés afin de répondre aux besoins de représentativité de la matrice. Ceci implique notamment de procéder à des ajouts (dopage) du paramètre d'intérêt. Cette étape représente des difficultés techniques importantes, dont par exemple la nécessité de disposer d'un contenant de grand volume compatible avec les exigences de l'analyse de micropolluants à l'état de traces (nature du contenant, nettoyable). En outre, cette étape de préparation sera également dépendante du choix de l'approche de l'étude de stabilité : chronologique, isochrone ou pseudo-isochrone.

Deux méthodes de préparation peuvent être mises en œuvre : le dopage en lot ou le dopage au flacon. Afin de préciser ces points, le lecteur est invité à consulter les travaux Aquaref sur les organisations de comparaisons inter laboratoires comme par exemple les rapports (Amalric et al., 2011 ; Lepot ,2013).

6.1.3 MATRICES SOLIDES

Pour les matrices solides, les difficultés techniques liées à la quantité d'échantillons nécessaires à l'étude de stabilité apparaissent moindres que pour les matrices aqueuses. Cependant, ceux liés à leur préparation notamment l'homogénéisation sont critiques. La pratique généralement rencontrée est de faire un dopage en lot ce qui implique de vérifier la bonne homogénéité du matériau d'essai.

Cela ne veut à aucun moment signifier que les difficultés liées à la maîtrise des ajouts sont à négliger. Pour les matrices solides, le lecteur est invité à consulter le livrable Aquaref sur le dopage des sédiments (Amalric et al., 2012). En effet, dans le cas des échantillons solides, il n'existe pas réellement de matrices synthétiques représentatives (sable de fontainebleau, etc.). Il pourrait être recommandé de conduire des échantillonnages sur des zones de référence (faiblement contaminées en composés d'intérêt), notamment pour les matrices de type sédiment ou d'avoir recours à des produits de consommation ou d'élevage contrôlé dans le cas des matrices biologiques (poissons).

6.2 CONDUITE DE L'ETUDE

La conduite de l'étude au niveau expérimental sera conditionnée par le choix du modèle de l'étude de stabilité (Annexe A).

Avant de démarrer l'étude, il convient de vérifier la valeur du paramètre afin de pouvoir définir le besoin de recourir à un dopage et/ou de définir la valeur de ce dernier.

Si des ajouts dosés sont réalisés il convient de garder un aliquot non dopé de l'échantillon afin de pouvoir réaliser une analyse de celui-ci et ainsi déterminer le niveau initial de contamination.

6.2.1 APPROCHE CHRONOLOGIQUE

A JO,

- Préparer l'ensemble du lot de flacons nécessaire à toute l'étude de stabilité.
- Réaliser une caractérisation physicochimique du matériau d'essai, notamment pour les propriétés caractéristiques des échantillons vis-à-vis de la matrice testée.
- Prélever de manière aléatoire n flacons du lot tel que défini en 5.2.6.
- Procéder le jour même à l'analyse de ces n flacons à l'aide de la méthode de mesure sélectionnée.
- Mettre l'ensemble des autres flacons du lot dans les conditions de stockage spécifiées de l'étude de stabilité.

A chaque pas de temps de l'étude y compris à J final :

- Prélever de manière aléatoire m flacons du lot tel que défini en 5.2.6.
- Procéder le jour même à l'analyse de ces m flacons à l'aide de la méthode de mesure sélectionnée. Avant cette étape, les m flacons doivent être ramenés dans les conditions d'analyse (par exemple température ambiante).

Les analyses de chaque pas de temps sont acquises dans des conditions de répétabilité. Les données de l'étude sont acquises dans des conditions de fidélité intermédiaire.

6.2.2 APPROCHE PSEUDO-ISOCHRONE TYPE 1

Il est important de préciser ici que les pas de temps expérimentaux sont inversés.

Au premier jour de l'étude,

- Préparer m flacons tel que défini en 5.2.6. nécessaire à l'étude de stabilité J final.
- Réaliser une caractérisation physicochimique du matériau d'essai, notamment pour les propriétés caractéristiques des échantillons vis-à-vis de la matrice testée.
- Mettre l'ensemble des flacons dans les conditions de stockage spécifiées de l'étude de stabilité.

A chaque pas de temps de l'étude:

- Préparer m flacons tel que défini en 5.2.6. nécessaire à l'étude de stabilité J intermédiaires.
- Réaliser une caractérisation physicochimique du matériau d'essai à chaque pas de temps intermédiaire, notamment pour les propriétés caractéristiques des échantillons vis-à-vis de la matrice testée.
- Mettre l'ensemble des flacons dans les conditions de stockage spécifiées de l'étude de stabilité.

Au dernier jour de l'étude:

- Préparer n flacons tel que défini en 5.2.6. nécessaire à l'étude de stabilité J0.
- Réaliser une caractérisation physicochimique du matériau d'essai à chaque pas de temps intermédiaire, notamment pour les propriétés caractéristiques des échantillons vis-à-vis de la matrice testée.
- Prélever l'ensemble des flacons stockés dans les conditions spécifiées de l'étude de stabilité.
- Ramener l'ensemble des flacons dans les conditions du laboratoire.
- Procéder à l'analyse instrumentale de la totalité des flacons à l'aide de la méthode de mesure sélectionnée.

Tous les échantillons de l'étude sont analysés, de manière aléatoire, dans des conditions de répétabilité.

6.2.3 APPROCHE PSEUDO-ISOCHRONE TYPE 2

A J0,

- Préparer l'ensemble du lot de flacons nécessaire à toute l'étude de stabilité.
- Réaliser une caractérisation physicochimique du matériau d'essai, notamment pour les propriétés caractéristiques des échantillons vis-à-vis de la matrice testée.
- Prélever de manière aléatoire n flacons du lot tel que défini en 5.2.6.
- Procéder à l'analyse de ces n flacons à l'aide de la méthode de mesure sélectionnée. Arrêter le protocole avant l'étape instrumentale. Stocker les extraits analytiques, minéralisats ou échantillons dans des conditions spécifiées garantissant leur stabilité (par exemple congélation).
- Mettre l'ensemble des autres flacons du lot dans les conditions de stockage spécifiées de l'étude de stabilité.

A chaque pas de temps de l'étude:

- Prélever de manière aléatoire m flacons du lot tel que défini en 5.2.6.
- Procéder à l'analyse de ces m flacons à l'aide de la méthode de mesure sélectionnée. Arrêter le protocole avant l'étape d'analyse instrumentale. Stocker les extraits analytiques dans des conditions spécifiées garantissant la stabilité des échantillons. Avant cette étape, les n flacons doivent être ramenés dans les conditions du laboratoire.

A J final:

- Prélever de manière aléatoire m flacons du lot tel que défini en 5.2.6.
- Procéder à l'analyse de ces m flacons à l'aide de la méthode de mesure sélectionnée. Arrêter le protocole avant l'étape d'analyse instrumentale.
- Poursuivre l'analyse de ces m flacons en intégrant l'ensemble des échantillons J0 et J intermédiaires dans la séquence instrumentale (ordre aléatoire).

Tous les échantillons de l'étude sont analysés dans des conditions de répétabilité.

6.2.4 APPROCHE ISOCHRONE

A J0,

- Préparer l'ensemble des flacons du lot selon tel que défini en 5.2.6.
- Réaliser une caractérisation physicochimique du matériau d'essai à chaque pas de temps intermédiaire, notamment pour les propriétés caractéristiques des échantillons vis-à-vis de la matrice testée.
- Prélever aléatoirement les n flacons tel que défini en 5.2.6. nécessaires à l'étude de stabilité J0 et les stocker dans des conditions de référence, c'est-à-dire des conditions stables ou présentant une cinétique d'instabilité différentes de celles étudiées (généralement plus lente).

A chaque pas de temps,

- Prélever aléatoirement les m flacons tel que défini en 5.2.6. et les stocker dans des conditions de référence, c'est-à-dire des conditions stables ou présentant une cinétique d'instabilité différentes de celles étudiées (généralement plus lente).

A J final,

- Prélever aléatoirement les m flacons tel que défini en 5.2.6. nécessaires à J final.
- Ramener dans les conditions d'analyse (par exemple température ambiante), l'ensemble des flacons (n +m) stockés dans les conditions de référence.
- Procéder à la mesure sur l'ensemble des flacons à l'aide de la méthode de mesure sélectionnée (ordre aléatoire).

Tous les échantillons de l'étude sont analysés dans des conditions de répétabilité.

L'évaluation de la stabilité repose sur deux étapes successives : la première repose sur une interprétation des résultats mettant en œuvre des outils statistiques et la seconde est basée sur une interprétation en lien avec le besoin.

7. INTERPRETATION DES RESULTATS

Le logigramme ci-dessous présente l'ensemble des étapes successives à mettre en œuvre pour conduire l'analyse des résultats expérimentaux acquis dans l'objectif de définir la stabilité d'un paramètre en matrices. Ces différentes étapes seront décrites successivement au sein du présent document :

- Représentation graphique
- Validation des données à J0
- Vérification des hypothèses nécessaires à la sélection des tests statistiques
- Eude statistiques de la stabilité et des facteurs d'influence

Dans un premier temps, réaliser l'étude de stabilité sur l'ensemble du jeu de données, c'est à dire toutes conditions testées.

Si, à l'issue de ce processus, des facteurs d'influences significatifs sont mis en avant. Renouveler l'étude statistique des données par conditions (facteur d'influence : niveau de concentration, matrice, ...).

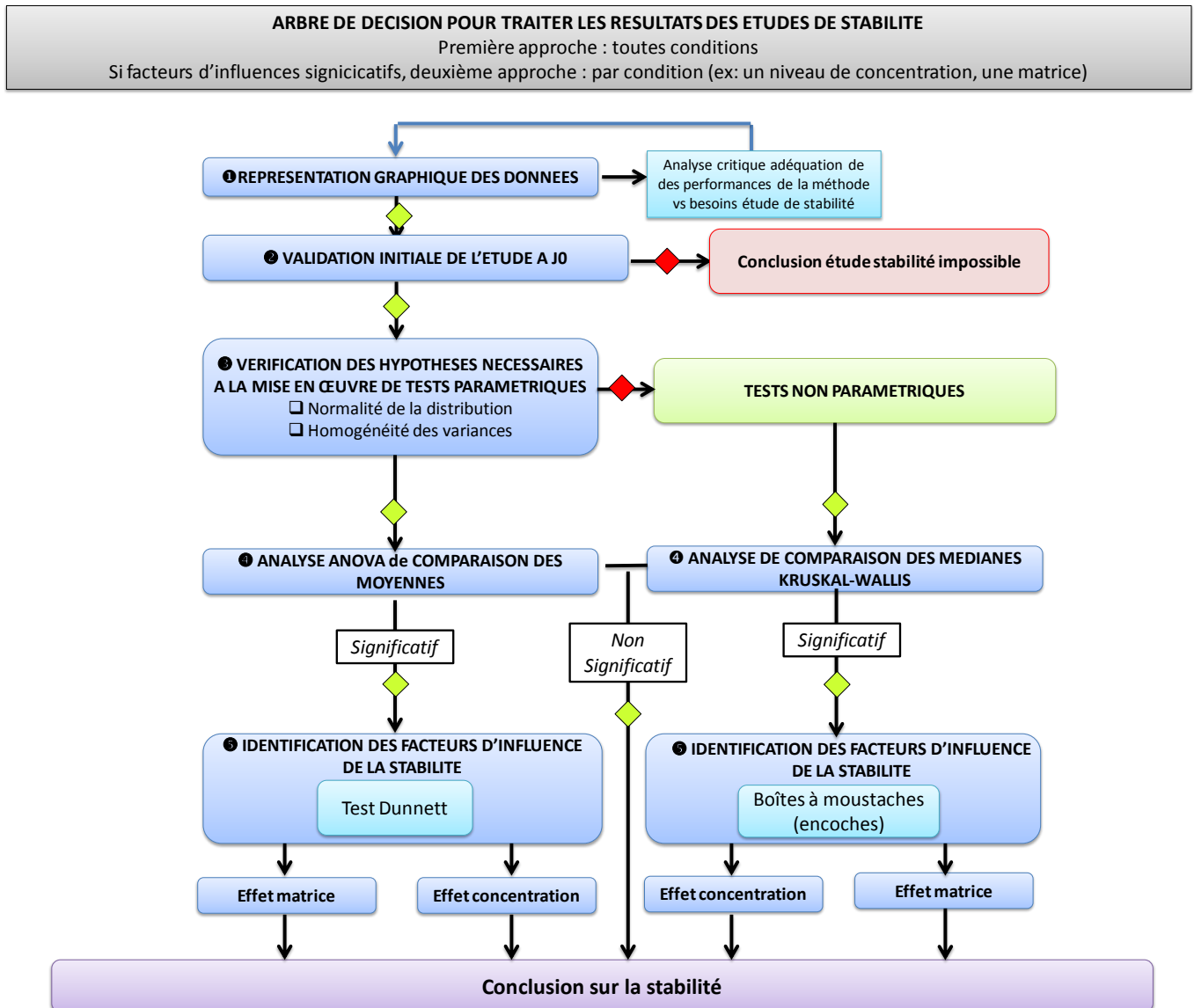


Figure 5 : Logigramme de l'interprétation statistique des résultats d'une étude de stabilité.

7.1 REPRESENTATION GRAPHIQUE DES RESULTATS

Avant d'entreprendre tous calculs statistiques, une représentation graphique du jeu de données doit être réalisée. Afin de faciliter la construction graphique, notamment lorsque plusieurs études sont réalisées en même temps, la normalisation des données par rapport à la valeur moyenne J0 de chaque condition peut-être mise en œuvre afin de faciliter la lecture graphique. Le graphique présente, pour chaque pas de temps, les mesures obtenues toutes conditions confondues. Sur la base des données du J0, l'Instabilité minimale Observable(ImO) (cf paragraphe 8.1)

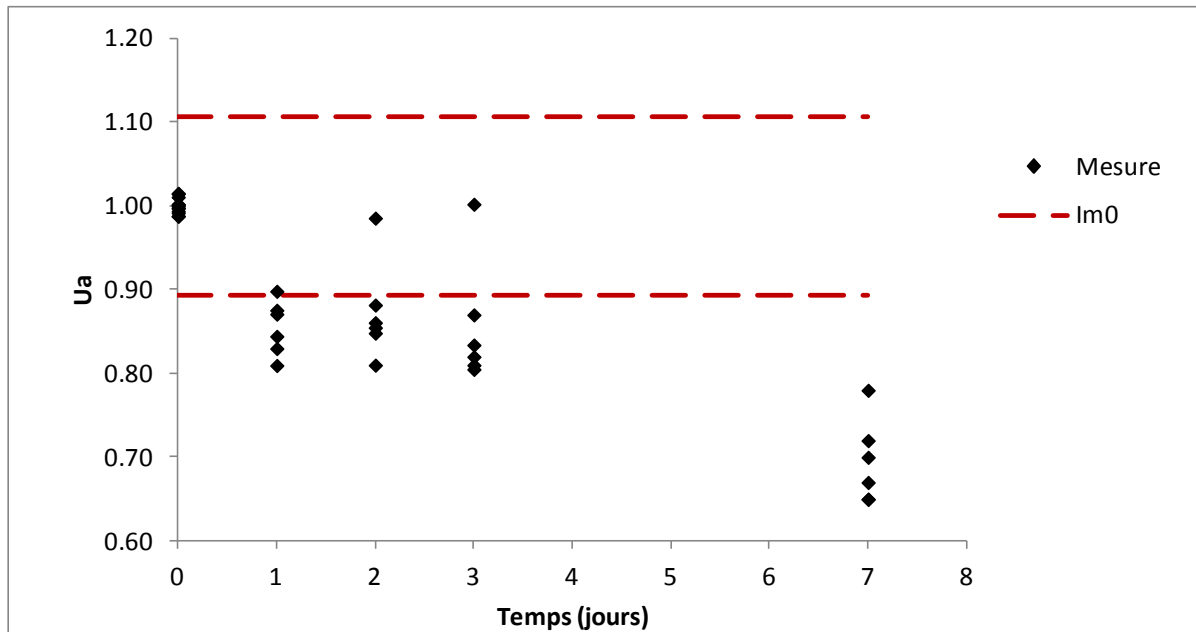


Figure 6 : Exemple d'illustration graphique des données d'une étude de stabilité.

Lorsque des tendances relatives à la stabilité sont observées de manière incontestable, il n'est pas nécessaire de poursuivre le traitement des données de l'étude. Par exemple, sur la Figure 7, une instabilité incontestable est visible dès 24h.

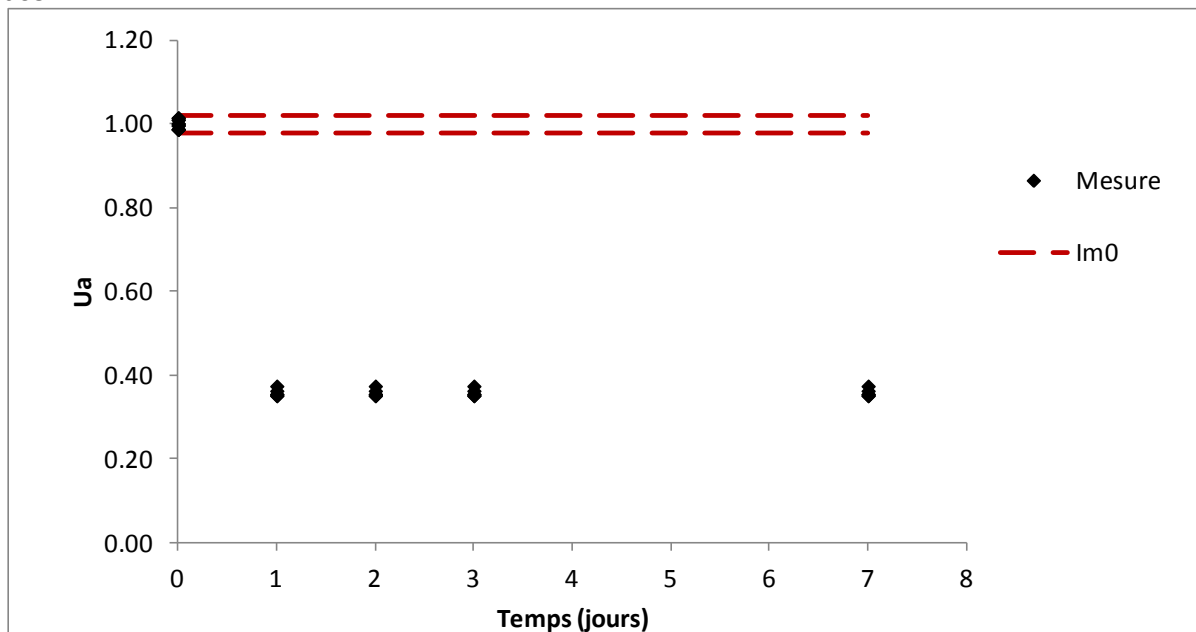


Figure 7 : Exemple d'illustration graphique des données d'une étude de stabilité : cas d'instabilité incontestable.

7.2 VALIDATION INITIALE DE L'ETUDE A J0

La validation des données de l'étude à J0 est une étape critique puisqu'elle conditionne l'ensemble de l'évaluation de la stabilité.

- Dans le cas d'un matériau naturellement contaminé, elle permet de vérifier l'homogénéité du lot d'essai.
- Dans le cas d'un matériau contaminé artificiellement à l'aide d'ajouts, elle permet de vérifier l'homogénéité du matériau et l'exactitude de la préparation.

Le logigramme ci-dessous présente les différentes étapes qui définissent le processus de validation du J0. Les termes utilisés sont définis dans les paragraphes 7.2.1 à 7.2.3.

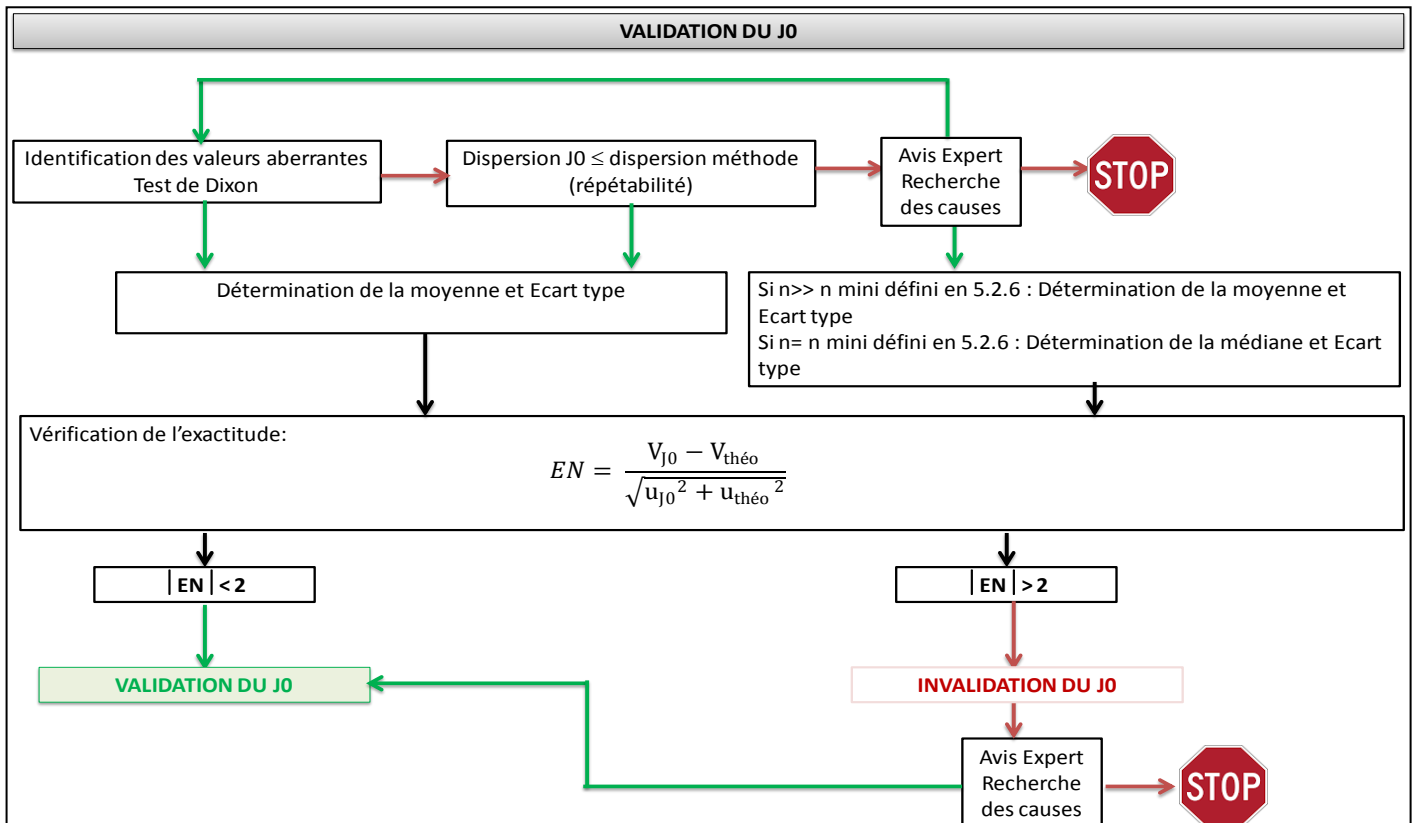


Figure 8 : Logigramme de la validation initiale du J0 d'une étude de stabilité.

Note : cf paragraphe 5.2.6

7.2.1 ESTIMATION DE LA VALEUR J0 ET DE SON INCERTITUDE

1) Calcul de la concentration J0 (V_{J0}) :

Il convient tout d'abord d'identifier la présence de valeurs aberrantes. Les jeux de données étant généralement faibles ($n \leq 10$), il convient de mettre en œuvre un test statistique approprié. Le test de Dixon répond à ces conditions de mise en œuvre.

Si le test des valeurs aberrantes est non significatif alors :

$$V_{J0} = \bar{X}_{J0}$$

Avec $\bar{X}_{J0}$ = moyenne des mesures à J0

Si le test des valeurs aberrantes est significatif mais que la dispersion des mesures à J0 est inférieure à la dispersion de la méthode (répétabilité) alors :

$$V_{J0} = \bar{X}_{J0}$$

Si le test des valeurs aberrantes est significatif mais que la dispersion des mesures à J0 est supérieure à la dispersion de la méthode de mesure (répétabilité), il convient d'en identifier les causes.

Si des causes sont identifiées et que le nombre de valeurs est supérieur à celui défini au paragraphe 5.2.6, les valeurs aberrantes peuvent être éliminées selon un mode itératif. Il convient alors de procéder à un nouveau test des valeurs aberrantes à chaque itération. Le nombre de valeurs restant après itération doit rester supérieur ou égal à celui défini au paragraphe 5.2.6

Si aucune cause permettant d'expliquer la dispersion anormale des données n'est identifiée, deux possibilités s'offrent au laboratoire :

- Soit n (nombre de répétitions) est suffisamment important, alors :

$$V_{J0} = \bar{X}_{J0}$$

- Soit n (nombre de répétitions) est faible, alors :

$$V_{J0} = Me_{J0}$$

Avec Me : médiane des mesures à $J0$

2) Estimation de l'incertitude sur la concentration $J0$ (U^2_{J0})

Dans le cadre de la mesure à $J0$, les composantes principales de l'incertitude sont la dispersion et la justesse des mesures. En conséquence, l'incertitude de mesure sur la concentration $J0$ est considérée prenant en compte écart-type des mesures+ composante justesse (estimée à minima à partir des rendements) à $J0$ tel que :

$$u^2_{J0} = u^2_{\text{répétabilité } J0} + u^2_{\text{justesse } J0}$$

Note1: selon que la concentration $J0$ est issue d'une moyenne ou d'une médiane, il convient de rappeler que le mode de détermination de l'écart-type diffère.

Note1 : Il n'est pas recommandé de prendre l'incertitude de mesure revendiquée par le laboratoire car selon le mode d'estimation cette dernière peut être très large et par conséquent non discriminante vis-à-vis de l'objectif de ce test.

7.2.2 ESTIMATION DE LA VALEUR THEORIQUE ET DE SON INCERTITUDE

- 1) Réaliser une mesure de la matrice non dopée (V matrice non dopée).
- 2) Déterminer la concentration de la solution de dopage (V ajout) et son incertitude (u^2_{ajout}).

Ces informations sont données par le certificat d'analyse associé au matériau. Dans le cas contraire, il convient que le laboratoire les détermine/estime.

3) Calcul de la concentration théorique :

- Si V matrice non dopée $\geq LQ$:

$$\text{Valeur théorique (V}_{\text{théo}}) = \text{V matrice non dopée} + \text{V ajout}$$

- Si V matrice non dopée $< LQ$:

$$\text{Valeur théorique (V}_{\text{théo}}) = LQ/2 + \text{V ajout}$$

4) Estimer l'incertitude sur la concentration théorique :

$$U_{V_{\text{théo}}} = \sqrt{u^2_{\text{matrice non dopée}} + u^2_{\text{ajout}}}$$

- Si V matrice non dopée $\geq LQ$ alors :

$$u^2_{\text{valeur matrice non dopée}} = u^2_{\text{mesure}}$$

- Si V matrice non dopée $< LQ$ alors :

$$u_{\text{valeur matrice non dopée}} = LQ / (2\sqrt{3})$$

7.2.3 VERIFICATION DE L'EXACTITUDE

La validation du $J0$ repose sur la vérification de l'exactitude du $J0$ expérimentale par rapport à la valeur théorique. Cette vérification peut s'effectuer au travers de l'écart-normalisé (E_N).

Le principe de ce calcul est détaillé ci-dessous :

$$E_N = \frac{V_{J0} - V_{\text{théo}}}{\sqrt{u_{J0}^2 + u_{\text{théo}}^2}}$$

- Si $|E_N| < 2$ alors la validité de l'exactitude du $J0$ est vérifiée et l'analyse des résultats de l'étude peut se poursuivre.

- Si $|E_N| > 2$ alors la validité de l'exactitude du J0 n'est pas vérifiée. Il convient alors d'en identifier les causes. Deux possibilités s'offrent au laboratoire :
 - Invalider l'étude et reconduire une nouvelle étude dans des conditions opératoires différentes,
 - Poursuivre l'exploitation des résultats en stipulant que pour le paramètre, les conclusions finales sont à prendre avec précaution.

En tout état de cause, il convient que le laboratoire justifie ses choix.

7.3 VERIFICATION DES HYPOTHESES NECESSAIRES A LA SELECTION DES TESTS STATISTIQUES APPROPRIES

7.3.1 VERIFICATION DE LA DISTRIBUTION DES DONNEES

Seuls des échantillons dont les résultats suivent une loi normale peuvent faire l'objet d'analyse paramétrique. Pour vérifier que la distribution d'un échantillon suit une loi normale, il existe plusieurs tests descriptifs ou statistiques. Il convient à chaque laboratoire du justifier du choix du test descriptif ou statistique mis en œuvre. Lorsque les données ne sont pas distribuées normalement et que la normalité est requise pour un test donné, deux options s'offrent :

- Utiliser des tests non-paramétriques (souvent moins puissants),
- Transformer les données pour que ces dernières suivent une distribution normale (normaliser). Il existe différents moyens de normaliser des données selon la nature des données : $\ln x$ (données strictement positives), $\ln(x + 1)$ (si la variable x prend des valeurs positives ou nulles), $\sqrt{x}$ (données positives ou nulles), $1/x$. Un nouveau test de normalité est ensuite refait afin de vérifier si la transformation est adéquate.

Il convient à chaque laboratoire du justifier du choix du test descriptif ou statistique mis en œuvre.

7.3.2 VERIFICATION DE L'HOMOGENEITE DES VARIANCES DES DONNEES

L'homogénéité (homoscédasticité) des variances permet de s'assurer que la dispersion observée à chaque pas de temps de l'étude de stabilité est constante. Il existe différents tests permettant de conduire cette étude. Il convient à chaque laboratoire du justifier du choix du test descriptif ou statistique mis en œuvre.

Pour les jeux de données répondant aux exigences de normalité et d'homoscédasticité des variances, il sera possible de mettre en œuvre des tests statistiques paramétriques pour évaluer la stabilité. Dans le cas contraire, il conviendra de poursuivre les études de stabilité à l'aide de tests non paramétriques.

7.4 ETUDE DE LA STABILITE ET DES FACTEURS D'INFLUENCES

7.4.1 TESTS PARAMETRIQUES : ANALYSE ANOVA ET TEST DUNNETT

1) Réaliser une analyse ANOVA.

La première étape, lorsque plusieurs échantillons sont comparés, est classiquement de faire une analyse de la variance à un facteur (ANOVA). L'ANOVA est utilisée pour tester l'hypothèse d'égalité des moyennes des populations en choisissant entre les deux hypothèses suivantes :

- Hypothèse nulle : $\mu_A = \mu_B = \mu_C = \mu_D$
- Hypothèse alternative : les moyennes ne sont pas toutes égales

Lorsque l'hypothèse d'égalité des moyennes est rejetée, alors les moyennes des échantillons doivent être examinées pour déterminer les moyennes qui sont significativement différentes les unes des autres.

Dans le cas d'une analyse ANOVA facteur temps, il est notamment intéressant de connaître quelles sont les moyennes qui diffèrent de J0.

2) Réaliser un test de Dunnett

Le test de Dunnett est un test spécialisé pour la comparaison multiple. Le test de Dunnett est employé quand les comparaisons ne sont faites qu'avec le groupe témoin, ici J0, contre tous les autres groupes.

7.4.2 TESTS NON PARAMETRIQUES : ANALYSE KRUSKAL-WALLIS ET BOITE A MOUSTACHES

1) Réaliser une analyse KRUSKAL-WALLIS.

Le test de Kruskal-Wallis est un test non paramétrique à utiliser en présence de k échantillons indépendants, afin de déterminer si les échantillons proviennent d'une même population ou si au moins un échantillon provient d'une population différente des autres. Le test de Kruskal-Wallis est souvent utilisé comme une alternative à l'ANOVA dans le cas où l'hypothèse de normalité n'est pas acceptable.

Si on désigne par M_i le paramètre de position l'échantillon i , les hypothèses nulle H_0 et alternative H_a du test de Kruskal-Wallis sont les suivantes :

- H_0 : toutes les médianes sont égales $Me_1 = Me_2 = \dots = Me_k$
- H_a : il existe au moins un couple (i, j) tel que $Me_i \neq Me_j$

Lorsque l'hypothèse d'égalité des médianes est rejetée, il est intéressant de connaître quelles médianes diffèrent les unes des autres.

Dans le cas d'une analyse Kruskal-Wallis facteur temps, il est notamment intéressant de connaître quelles sont les médianes qui diffèrent de J_0 .

2) Réaliser une analyse graphique par boîtes à moustache avec encoches sur les médianes.

Les paires de médianes peuvent être comparées à l'aide des boîtes avec encoches sur les médianes. La plage couverte par chaque encoche montre l'incertitude associée à l'estimation de la médiane du groupe. Les encoches sont élaborées de telle façon que si les encoches de deux échantillons ne se chevauchent pas, il est alors possible de déclarer que les médianes de ces deux échantillons sont significativement différentes au niveau de signification par défaut du logiciel (habituellement 5%).

Les conclusions de l'évaluation statistique sur la présence d'instabilité significative et des facteurs d'influence ne préjugent pas de la décision finale après évaluation opérationnelle, cette dernière étant en lien avec le besoin.

8. EVALUATION OPERATIONNELLE ET EXPRESSION DE LA STABILITE

8.1 EVALUATION DES RESULTATS

L'évaluation des résultats de l'étude de stabilité en vue de conclure quant à la stabilité d'une substance doit intégrer l'ensemble des observations qui ont été réalisées et être mise en perspective avec le besoin de cette étude.

Le logigramme ci-dessous présente une synthèse de ce processus, qui est détaillé dans les paragraphes suivants.

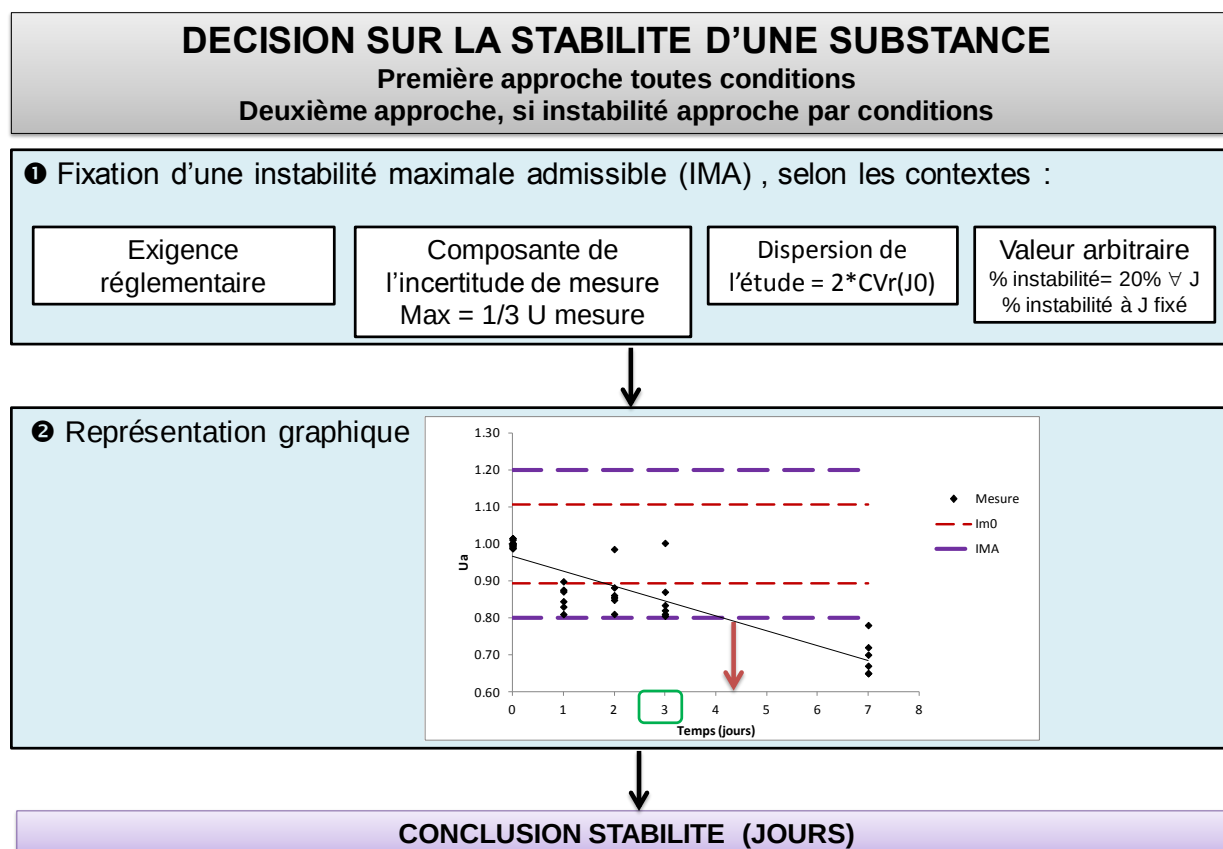


Figure 9 : Logigramme du processus de décision pour établir les conclusions opérationnelles d'une étude de stabilité.

Afin de conclure, il convient de fixer une instabilité maximale admissible. L'objectif de ce travail n'est pas de la fixer mais de proposer des outils pour le faire. Quatre moyens ont été identifiés pour fixer une IMA :

- Une exigence réglementaire si elle existe
- Une composante de l'incertitude de mesure. Une composante d'incertitude inférieure au 1/3 de l'incertitude de mesure est jugée comme négligeable (NF ISO 11352).
 - Exemple : si $U=50\%$ alors $IMA = 17\%$
- Les données de l'étude de stabilité : dispersion à J0 de l'étude de stabilité telle que $IMA = ImO = 2CVr J0$
- Valeur arbitraire qui par exemple prend en compte des contraintes de mise en œuvre opérationnelle (exemple DOM/COM), des contraintes liées aux performances de la méthode (meilleure technique disponible). *Exemple : IMA de 20%, IMA à 3 jours*

Il est utile de rappeler que cet IMA doit être défini bien en amont car il conditionne la recevabilité des données de l'étude notamment vis-à-vis de la méthode de mesure et les conditions de réalisation de l'étude.

Si $ImO > IMA$ alors les conditions d'homogénéité du matériau ne sont pas suffisantes pour garantir l'exploitabilité de l'étude. Il convient alors que le laboratoire identifie les causes (par exemple : performances de la méthode, mode préparation des matériaux d'essais,...) et renouvelle l'étude.

Si les conclusions de l'étude de stabilité ne sont pas compatibles avec les besoins, il conviendra alors de réfléchir à des moyens pour améliorer les conditions de conservation des échantillons (par exemple, ajout de réactifs, filtration, stérilisation,...)

8.2 EXPRESSION DE LA STABILITE

A l'issue de l'étude de stabilité, les éléments suivants doivent être connus, complétés à minima et résumés :

- Identification univoque du paramètre testé ;
- Matrice(s) testée(s) : type, fraction, nombre d'échantillons et description de leurs caractéristiques permettant de justifier de leur représentativité, incluant la caractérisation physicochimique de l'échantillon à J0 ;
- Méthodes de dosage : principes et performances de la méthode permettant de justifier de son adéquation ;
- Choix du type d'approche d'étude de la stabilité et justification ;
- Vérification initiale de la validité des résultats de l'étude de stabilité ;
- Analyse des résultats de l'étude de stabilité ;
- Conclusions sur la stabilité : critère IMA, respect/non-respect du critère, % d'instabilité, facteurs d'influence, conclusion opérationnelle.

Afin de faciliter la lecture des résultats d'études de stabilité, des modèles de fiche synthétique sont proposés en Annexe B.

Des exemples de mise en œuvre sont présentés en Annexe C.

9. BIBLIOGRAPHIE

Amalric L. (2011) – Cahier des charges pour la préparation en 2011 d'un essai d'inter-comparaison sur l'analyse des résidus de médicaments dans les eaux. Rapport BRGM/RP-59504-FR, 23 p., 13 ill.

Amalric L., avec la collaboration de Cabillic J., Lestremau F. et Margoum C. (2012) – Analyse de polluants organiques dans les sédiments : procédures de dopage pour la validation des méthodes. Rapport final. BRGM/RP-60988-FR. 39 pages.

FD T90-230 Qualité de l'eau - Caractérisation des méthodes d'analyses - Guide pour la sélection d'une matrice représentative d'un domaine d'application

KIWA. Validatie van (nieuwe) parameters en/of matrices [Validation of (new) parameters and matrices] Kiwa, KHRO-6.0.8, August 2003

Lepot B. (2013) Comparaisons interlaboratoires sur les substances prioritaires de la Directive Cadre Eau - Campagne 2013 :« Pesticides DCE Compatible ». DRC-14-136908-00423A.

NF ISO 11352 Qualité de l'eau - Estimation de l'incertitude de mesure basée sur des données de validation et de contrôle qualité

NF XP X31-131 Qualité des sols et des sédiments-Caractérisation des méthodes d'analyses- Guide pour la détermination de la limite de quantification.

Annexe A NOTIONS FONDAMENTALES

A.1 LA MESURE

A la base, une méthode d'analyse doit être caractérisée par ses performances. Ces dernières (limite de quantification, répétabilité, fidélité intermédiaire et reproductibilité, spécificité) doivent être bien déterminées, maîtrisées et présenter des caractéristiques suffisantes pour répondre aux besoins de l'étude de stabilité. La mise en œuvre de méthodes d'analyse doit répondre à des exigences en termes de répétabilité et de fidélité intermédiaire (effet temps). La Figure A1 rappelle les relations théoriques entre les estimations de la fidélité de mesure et les différentes conditions de mesures. Ainsi, plus l'analyse se rapproche des conditions de répétabilité, plus la fidélité de mesure est importante (valeur faible) et donc plus les observations et conclusions sont fiables et pertinentes.

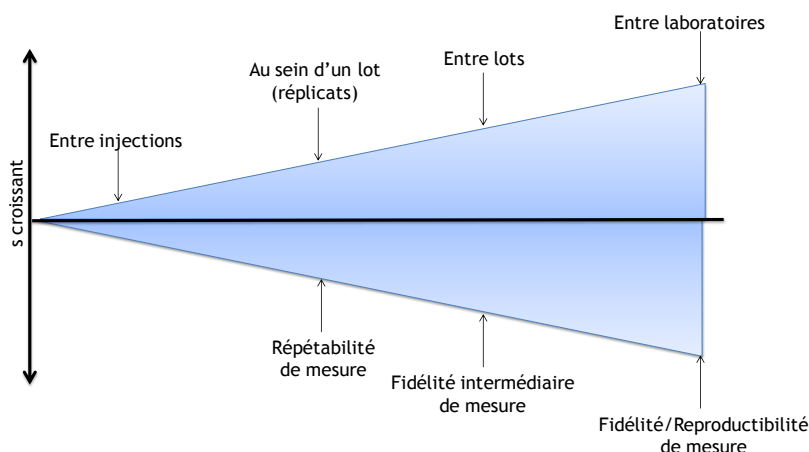


Figure A1 : Diagramme schématisant la relation théorique entre les estimations de la fidélité de mesure selon différentes conditions de mesures. L'illustration est ici présentée en terme d'ampleur de manque de précision (D'après (Terminology in Analytical Measurement: Introduction to VIM 3 (2011))

A.2 LES ETUDES DE STABILITE

A.2.1 Principes théoriques des études d'homogénéité

Dans une étude d'homogénéité, c'est la mise en évidence ou non d'inhomogénéité qui est discutée. Il existe une limite expérimentale pour la détection de la non-homogénéité. En effet, celle-ci est strictement liée à la répétabilité et/ou fidélité de la méthode. Ainsi il convient de garder un esprit critique vis-à-vis des performances de la méthode de dosage mise en œuvre et l'impact sur l'évaluation de l'homogénéité; en particulier, lorsque seules des méthodes avec une mauvaise répétabilité sont disponibles.

A.2.2 Principes théoriques des études de stabilité

L'objectif de base d'une étude de stabilité est d'étudier l'influence des conditions de l'environnement ou de la matrice sur la stabilité des analytes eux-mêmes, la matrice ou la combinaison des deux.

Toutes les études de stabilité ont en commun que leurs résultats dépendent fortement de la répétabilité et fidélité intermédiaire de la méthode analytique utilisée.

Dans le guide ISO Guide 35 sur les matériaux de référence, deux approches pour conduire les études de stabilité sont présentées. Il s'agit de l'approche dite chronologique et de l'approche dite isochrone.

□ L'approche chronologique

Les échantillons sont d'abord exposés à diverses conditions de stockage, les étapes de préparation et de mesures sont acquises au sein du laboratoire dans des conditions de fidélité intermédiaire (Figure A2).

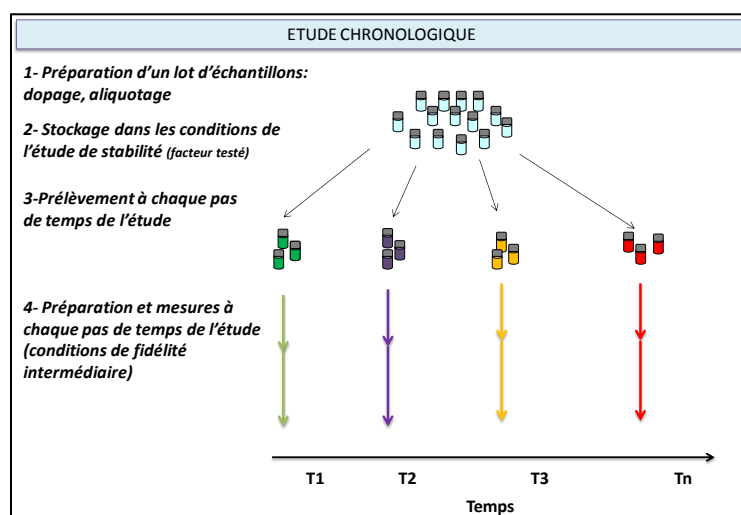


Figure A2 : Illustration schématique de l'approche chronologique

□ L'approche isochrone

Au début ($t = 0$), tous les échantillons réservés à l'étude de stabilité sont transférés dans les conditions de référence, ce qui garantit des conditions stables ou au moins la plus lente « dégradation ». Pour chacune des températures de stockage à l'étude, des échantillons sont déplacés à partir des conditions de référence à la température d'essai à des moments différents. Au temps défini, les échantillons sont immédiatement préparés jusqu'à l'étape d'analyse ou remis à la température de référence avant l'analyse. Les analyses sont ainsi effectuées dans des conditions de répétabilité (c'est à dire en une seule analyse). Ainsi, l'absence de composants de fidélité conduit à une plus petite incertitude dans l'évaluation de la stabilité de l'échantillon (Figure A3).

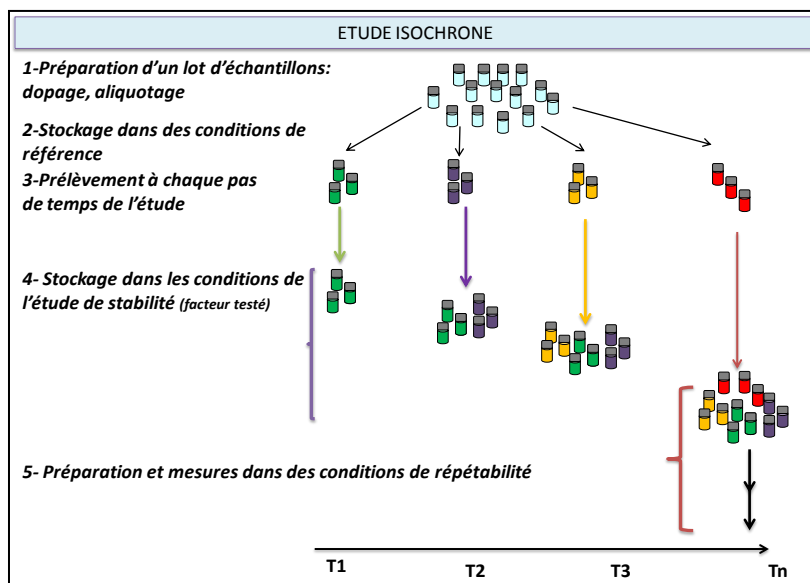


Figure A3 : Illustration schématique de l'approche isochrone.

□ L'approche pseudo-isochrone

Dans le domaine des analyses environnementales, notamment pour les matrices aqueuses, les approches isochrones ne sont généralement pas appliquées. En effet, les études de stabilité sont usuellement conduites à une température de 4°C qui correspond à la température de référence (le recours à la congélation étant à éviter). Des alternatives peuvent être envisagées et correspondent à un compromis entre l'approche isochrone et l'approche chronologique. Elles sont illustrées dans la figure A4.

La première alternative diffère de l'approche isochrone dans le sens où les matériaux de l'essai ne sont pas préparés en un lot unique à $J_{initial}$ de l'étude mais à chaque pas de temps de l'étude de stabilité. L'avantage de cette approche étant que les analyses (préparation de l'échantillon et analyse instrumentale) pourront être effectuées dans des conditions de répétabilité. La seconde alternative diffère de l'approche chronologique dans le sens où les échantillons subissent les étapes de préparation à chaque pas de temps défini dans l'étude de la stabilité. Les extraits analytiques sont stockés dans des conditions de référence jusqu'à la fin de l'étude avant d'être analysés sur l'instrument de mesure dans des conditions de répétabilité.

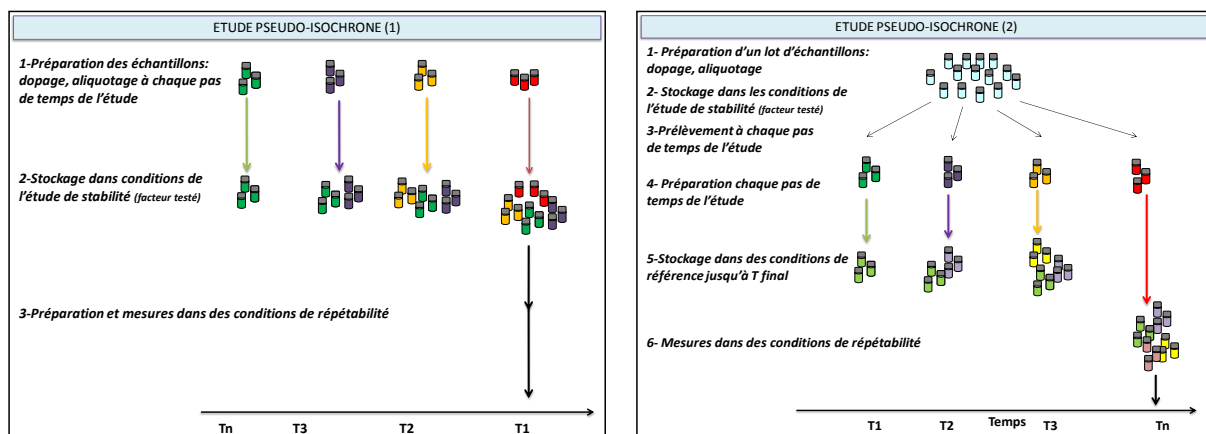


Figure A4 : Illustration schématique des approches pseudo-isochrone.

Annexe B FICHE SYNTHETIQUE DE L'ETUDE DE STABILITE

B.1 FICHE SYNTHETIQUE MATRICE « EAUX »



FICHE ETUDE STABILITE MODELE EAU

(1/2)

PARAMETRE

Nom du paramètre:
Code SANDRE:
Code CAS:
Commentaires :

MATRICE

Type de matrice : Code SANDRE:
Fraction de la matrice : Code SANDRE:
Nombre d'échantillons représentatifs de la matrice (si plus de 2 échantillons sont considérés dupliquer la fiche):

ECHANTILLON 1 :

Description de l'échantillon pour démontrer de sa représentativité

Type de matrice (cocher) : Matrice naturelle : ☐ Matrice synthétique : ☐

Caractérisation physicochimique de l'échantillon 1 à T0 :

compléter	valeur	unité		valeur	unité
pH:			Pour les eaux marines :		
Carbone organique dissous COD:		mg/L	Salinité:		psu
Conductivité:		µS/CM	Pour les eaux potabilisées :		
Taux de MES:		mg/L	Chlore:		mg/L
Température		°C			
Autres paramètres caractéristiques :					
Commentaires :					

ECHANTILLON 2 :

Description de l'échantillon pour démontrer de sa représentativité

Type de matrice (cocher) : Matrice naturelle : ☐ Matrice synthétique : ☐

Caractérisation physicochimique de l'échantillon 2 à T0 :

compléter	valeur	unité		valeur	unité
pH:			Pour les eaux marines :		
Carbone organique dissous COD:		mg/L	Salinité:		psu
Conductivité:		µS/CM	Pour les eaux potabilisées :		
Taux de MES:		mg/L	Chlore:		mg/L
Température		°C			
Autres paramètres caractéristiques :					
Commentaires :					

CONTENANT

(préciser la nature du contenant des échantillons)

FACTEUR(S) D'INFLUENCE(S) DE LA STABILITE TESTE(S)

(préciser le facteur d'influence testé, sa valeur)

Description	Niveau (indiquer la valeur)
Facteur :	Haut: Bas:
Facteur :	Haut: Bas:
Facteur :	Haut: Bas:
Commentaires :	

PAS DE TEMPS TESTES

jours (préciser si besoin) ☐ J0 ☐ J1 ☐ J2 ☐ J3 ☐ J4 ☐ J7 ☐ AUTRES J ☐
cocher la case

NIVEAUX DE CONCENTRATIONS TESTES

préciser le niveau de concentration

valeur	unité
Niveau haut:	
Niveau bas:	
Commentaires :	

TEMPERATURE DE L'ESSAI

préciser les conditions de température de l'essai

valeur	unité
Température de référence:	°C
Température de l'essai:	°C
Vérification de la température de l'échantillon au cours de l'étude : ☐	
(cocher la case)	
Commentaires :	



FICHE ETUDE STABILITE MODELE EAU

(2/3)

METHODE DE DOSAGE

La méthode mise en oeuvre est elle la même pour l'ensemble de l'étude de stabilité : (supprimer la mention inutile)

oui

non

Principe de la méthode : ((préparation échantillon, méthode d'analyse et type d'étalonnage))

Performances de la méthode

Préciser si les performances de la méthode sont différentes selon les conditions de l'étude de stabilité

Conditions :							
	valeurs	unité	valeurs	unité	valeurs	unité	
Limite de quantification :							
Répétabilité :		%		%		%	
Fidélité intermédiaire :		%		%		%	
Rendement		%		%		%	

PRINCIPES GENERAUX DE L'ETUDE DE STABILITE

Etude d'homogénéité (cocher la case)

☐

Etude de stabilité (cocher la case)

Type chronologique:

☐

Type pseudo isochrone 1:

☐

Type isochrone:

☐

Type pseudo isochrone 2:

☐

Commentaires : ⁴⁶

⁴⁶

REPRESENTATION GRAPHIQUE

Ajouter la (les) représentations graphiques des résultats de l'étude de stabilité

Commentaires : ⁴⁶

⁴⁶

VALIDATION JO

Vérification de l'exactitude du JO

EN:

Commentaires (notamment si poursuite de l'étude si les conditions à JO EN ne sont pas respectées): ⁴⁶

⁴⁶

Définition de l'ImO (2CVJO)

valeur unité
 %

Commentaires : ⁴⁶

⁴⁶



FICHE ETUDE STABILITE MODELE EAU

(3/3)

ANALYSE DES RESULTATS

ANALYSE INITIALE

cocher la case

Vérification de la normalité des échantillons: ☐

Respect des conditions de normalité: ☐

Vérification de l'homoscédaticité des variances: ☐

Respect des conditions d'homoscédaticité des variances: ☐

Commentaires : _____

ANALYSE ANOVA

cocher la case

Réalisation d'une étude ANOVA ☐

Résultats de l'étude:

(il est possible d'insérer les tableaux récapitulatifs des ANOVA)

Commentaires : _____

EVALUATION SUPPLEMENTAIRE

cocher la case

Test DUNNET: ☐

Commentaires : _____

ANALYSE KRUSKAL-WALLIS

cocher la case

Réalisation d'une étude KW ☐

Résultats de l'étude:

Commentaires : _____

EVALUATION SUPPLEMENTAIRE

cocher la case

Test des encoches (Boîtes à moustache) ☐

Commentaires : _____

EVALUATION DE LA STABILITE

DEFINITION DE L'IMA

cocher la case

Exigence réglementaire ☐

préciser :

Composante de l'incertitude ☐

préciser :

ImO ☐

préciser :

Valeur arbitraire ☐

préciser :

CONCLUSION SUR LA STABILITE

DMAA

b

Conclusion: _____

B.2 FICHE SYNTHETIQUE MATRICE « SEDIMENTS/BIOTE »



FICHE ETUDE STABILITE MODELE SEDIMENT/BIOTE

(1/3)

PARAMETRE

Nom du paramètre:
Code SANDRE:
Code CAS:

Commentaires: (1)

MATRICE

Type de matrice:

Fraction de la matrice:

Code SANDRE:

Code SANDRE:

Nombre d'échantillons représentatifs de la matrice (si plus de 2 échantillons sont considérés dupliquer la fiche):

ECHANTILLON 1:

Description de l'échantillon pour démontrer de sa représentativité

Type de matrice (cocher):

Matrice naturelle: ☐

Matrice synthétique: ☐

Si matrice synthétique, préciser le type d'usage:

Type de traitements (Dynamisation, lavage, tamisage, etc.):

Caractérisation / description de l'échantillon 1 à 10:

compléter

SEDIMENTS

Granulométrie Particules > 200µm:

Granulométrie Particules entre 150 et 200 µm:

Granulométrie Particules entre 63 et 150 µm:

Granulométrie Particules entre 20 et 63 µm:

Granulométrie Particules Particules < 20 µm:

% humidité:

% matière sèche:

TOC:

Autres paramètres caractéristiques:

:

:

:

Commentaires: (1)

BIOTE

Espèce:

Niveau trophique:

Organe:

% humidité:

Taux de matière grasse (%):

Autres paramètres caractéristiques:

:

:

:

ECHANTILLON 2:

Description de l'échantillon pour démontrer de sa représentativité

Type de matrice (cocher):

Matrice naturelle: ☐

Matrice synthétique: ☐

Si matrice synthétique, préciser le type d'usage:

Type de traitements (Dynamisation, lavage, tamisage, etc.):

Caractérisation / description de l'échantillon 2 à 10:

compléter

SEDIMENTS

Granulométrie Particules > 200µm:

Granulométrie Particules entre 150 et 200 µm:

Granulométrie Particules entre 63 et 150 µm:

Granulométrie Particules entre 20 et 63 µm:

Granulométrie Particules Particules < 20 µm:

% humidité:

% matière sèche:

TOC:

Autres paramètres caractéristiques:

:

:

:

Commentaires: (1)

BIOTE

Espèce:

Niveau trophique:

Organe:

% humidité:

Taux de matière grasse (%):

Autres paramètres caractéristiques:

:

:

:

CONTENANT

(préciser la nature du contenant des échantillons)

FACTEUR(S) D'INFLUENCE(S) DE LA STABILITE TESTES

(préciser le facteur d'influence testé, sa valeur)

Description

Niveau (indiquer la valeur)

Facteur: (1)

Haut:

Bas:

Facteur: (1)

Haut:

Bas:

Facteur: (1)

Haut:

Bas:

Commentaires: (1)

PAS DE TEMPS TESTES

Jours (préciser si besoin)

J0

J1

J2

J3

J5

J15

AUTRES J

Stabilité transport (cocher la case)

☐

☐

☐

☐

☐

☐

☐

Stabilité stockage (cocher la case)

☐

☐

☐

☐

☐

☐

☐

NIVEAU DE CONCENTRATIONS TESTES

préciser le niveau de concentration

Niveau haut:

Niveau bas:

Commentaires: (1)

TEMPERATURE DE L'ESSAI

préciser les conditions de température de l'essai

Température de référence:

Température de l'essai:

Vérification de la température de l'échantillon au cours de l'essai (cocher la case)

☐

Commentaires: (1)



FICHE ETUDE STABILITE MODELE SEDIMENT/BIOTE

(2/3)

METHODE DE DOSAGE

La méthode mise en oeuvre est elle la même pour l'ensemble de l'étude de stabilité : (supprimer la mention inutile) ☐ oui ☐ non

Principe de la méthode : ((préparation échantillon, méthode d'analyse et type d'étalonnage))

Performances de la méthode

Préciser si les performances de la méthode sont différentes selon les conditions de l'étude de stabilité

Conditions :						
	valeurs	unité	valeurs	unité	valeurs	unité
Limite de quantification :						
Répétabilité :		%		%		%
Fidélité intermédiaire :		%		%		%
Rendement		%		%		%

PRINCIPES GENERAUX DE L'ETUDE DE STABILITE

Etude d'homogénéité (cocher la case) ☐

Etude de stabilité (cocher la case)

Type chronologique: ☐

Type pseudo isochrone 1: ☐

Type isochrone: ☐

Type pseudo isochrone 2: ☐

Commentaires : ⁴⁵ _____ ₄₆

⁴⁵ _____ ₄₆

REPRESENTATION GRAPHIQUE

Ajouter la (les) représentations graphiques des résultats de l'étude de stabilité

Commentaires : ⁴⁵ _____ ₄₆

⁴⁵ _____ ₄₆

VALIDATION J0

Vérification de l'exactitude du J0

EN:

Commentaires (notamment si poursuite de l'étude si les conditions à J0 EN ne sont pas respectées): ⁴⁵ _____ ₄₆

⁴⁵ _____ ₄₆

Définition de l'ImO (2CVrJO)

valeur unité %

Commentaires : ⁴⁵ _____ ₄₆

⁴⁵ _____ ₄₆



FICHE ETUDE STABILITE MODELE SEDIMENT/BIOTE

(3/3)

ANALYSE DES RESULTATS

ANALYSE INITIALE

cocher la case

Vérification de la normalité des échantillons: ☐

Respect des conditions de normalité: ☐

Vérification de l'homoscédaticité des variances: ☐

Respect des conditions d'homoscédaticité des variances: ☐

Commentaires : _____

ANALYSE ANOVA

cocher la case

Réalisation d'une étude ANOVA: ☐

Résultats de l'étude:

(il est possible d'insérer les tableaux récapitulatifs des ANOVA)

Commentaires : _____

EVALUATION SUPPLEMENTAIRE

cocher la case

Test DUNNET: ☐

Commentaires : _____

ANALYSE KRUSKAL-WALLIS

cocher la case

Réalisation d'une étude KW: ☐

Résultats de l'étude:

Commentaires : _____

EVALUATION SUPPLEMENTAIRE

cocher la case

Test des encoches (Boîtes à moustache): ☐

Commentaires : _____

EVALUATION DE LA STABILITE

DEFINITION DE L'IMA

cocher la case

Exigence réglementaire: ☐

préciser :

Composante de l'incertitude: ☐

préciser :

ImO: ☐

préciser :

Valeur arbitraire: ☐

préciser :

CONCLUSION SUR LA STABILITE

DMAA

b

Conclusion: _____

Annexe C EXEMPLE DE MISE EN ŒUVRE

DEFINITION DU BESOIN

Dans le cadre de la surveillance des milieux aquatiques, de fortes contraintes concernant l'analyse d'échantillons d'eau existent pour les départements d'outre-mer (DOM). En effet, l'analyse de certains paramètres telles que les substances organiques n'est pas réalisée par les laboratoires locaux. Ainsi, de nombreux échantillons d'eau sont envoyés en métropole pour y être analysés ce qui induit un délai de mise en analyse (DMA) allant de 48h à 72h. Le problème de la conservation des échantillons et par extension de la stabilité des substances à surveiller se pose.

L'objectif de l'étude est de déterminer si le benzo-a-anthracène présent dans les échantillons aqueux est stable jusqu'à la prise en charge de l'échantillon par un laboratoire basé en métropole. Pour cela, nous recherchons à définir le Délai Maximal Admissible avant Analyse DMAA pour le benzo-a-anthracène dans les matrices aqueuses (eau naturelle).

PLAN D'EXPERIENCES

UREE DE L'ETUDE

La durée de l'étude est de 7 jours, l'objectif étant de vérifier si le benzo-a-anthracène est stable à J3. Les pas de temps de l'étude sont : J1, J2, J3 et J7.

CONTENANT

Flaconnage verre ambré de 1L, équipé de bouchon en téflon.

ETUDE DE L'INFLUENCE DE LA TEMPERATURE

Pas d'étude sur l'influence de la température. L'étude a été conduite à la température des conditions de transport des échantillons d'eau (soit à $5\pm 3^{\circ}\text{C}$, NF EN ISO 5667-3).

NIVEAUX DE CONCENTRATIONS DU PARAMETRE MESURE

2 niveaux de concentrations visés.

Le choix a été fait de travailler à des niveaux de concentrations fréquemment retrouvés en surveillance dans les eaux de surface. Ainsi les concentrations sélectionnées sont de 10ng/L et de 50ng/L en benzo-a-anthracène.

SELECTION DES MATRICES :

2 matrices eau naturelle douce ayant des caractéristiques physico-chimiques différentes.

	Eau naturelle 1	Eau naturelle 2
pH	7,97	7,85
Conductivité ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	1102	705
MES en mg/L	<0,5	8
COT en mg/L	1,52	3,98
Ca en mg/L	92,2	129
K en mg/L	2,1	5,06
Mg en mg/L	29,8	11,6
Na en mg/L	14,9	19,9

Cl ⁻ en mg/L	15,2	31,1
NO ₃ ⁻ en mg/L	<0,5	23,2
SO ₄ ²⁻ en mg/L	37	43,1
Benzo-a-anthracène en ng/L	< 1	< 1

NOMBRE D'ESSAIS

La répétabilité de la méthode analytique mise en œuvre pour le benzo a anthracène est inférieure à 5%. Conformément au guide stabilité, il est choisi d'effectuer un nombre d'essais n=6 pour le pas de temps J0. Pour les pas de temps suivants (J1, J2, J3 et J7), le nombre d'essais est n = 3.

MISE EN ŒUVRE DE L'ETUDE DE STABILITE

PREPARATION DES MATERIAUX D'ESSAI

2 matrices et 2 niveaux de dopage.

Pour chaque matrice, le volume d'eau est séparé dans 2 touries de 20L afin de procéder au dopage et d'obtenir les 2 niveaux de concentrations de 10ng/L et 50ng/L en HAP.

Le dopage s'est effectué directement dans ces touries, le premier jour de l'étude (J0) avec une solution certifiée contenant 10 mg/mL de HAP.

Après dopage, les échantillons sont répartis dans des flacons d'un litre, ambrés et calcinés. Le remplissage de ces flacons est effectué par pesée comme indiqué dans la norme NF EN ISO 17993.

Pour l'eau naturelle 1 et l'eau naturelle 2, les conditions de répétabilité et le nombre de pas de temps de cette étude de stabilité ont induit le remplissage de :

18 flacons pour les eaux dopées à 10ng/L (6 flacons pour J0 et 3 flacons pour J1 ainsi que J2, J3 et J7)

18 flacons pour les eaux dopées à 50ng/L (6 flacons pour J0 et 3 flacons pour J1 ainsi que J2, J3 et J7)

A l'exception des flacons du pas de temps J0 de l'étude, ces flacons sont par la suite stockés à 5±3°C en attendant leur extraction. Ce stockage permet de simuler les conditions de transport des échantillons entre le lieu de prélèvement et le laboratoire d'analyse.

CONDUITE DE L'ETUDE

C'est l'approche pseudo-isochrone qui a été retenue pour l'étude de stabilité du benzo-a-anthracène. Le détail de l'approche pseudo-isochrone est présenté ci-dessous :

Dopage le premier jour de l'essai

Stockage des flacons dans les conditions de l'essai (température de 5±3°C)

Extraction des flacons à chaque pas de temps

Stockage des extraits à 3±2°C jusqu'au dernier pas de temps

Analyse de tous les extraits le même jour dans un ordre aléatoire

L'extraction des flacons et l'analyse des extraits sont réalisées selon la norme NF EN ISO 17993 définissant la méthode pour le dosage des HAP dans l'eau.

INTERPRETATION DES RESULTATS

REPRESENTATION GRAPHIQUE DES RESULTATS

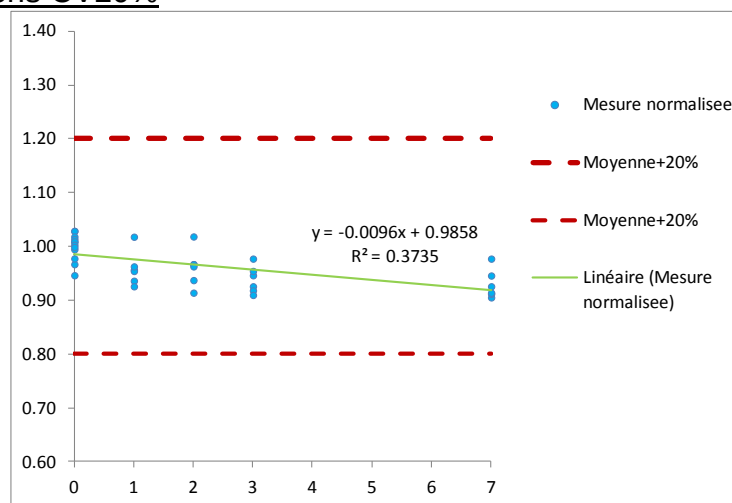
Avant d'entreprendre les calculs statistiques, une représentation graphique du jeu de données a été réalisée. Pour cela, la normalisation des données par rapport à la valeur moyenne J0 de chaque condition a été mise en œuvre afin de faciliter la lecture graphique.

Plusieurs types de représentations graphiques ont été réalisés pour chaque eau naturelle testée. En premier, toutes les données obtenues pour une matrice eau naturelle ont été normalisées et ont été représentées (toutes conditions) en prenant pour borne autour de J0 un coefficient de variation de 20% et une borne autour de J0 correspondant à 2 fois écart type de répétition observé à J0.

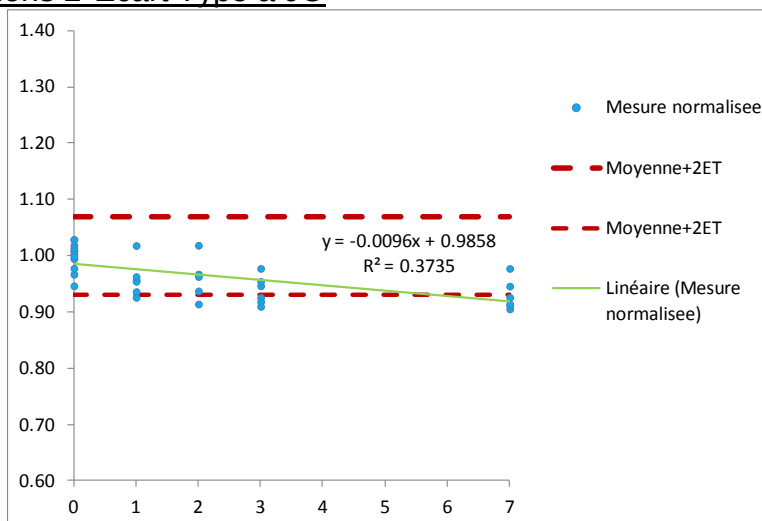
Ensuite, les données obtenues ont été représentées par niveau de concentration.

Eau naturelle 1

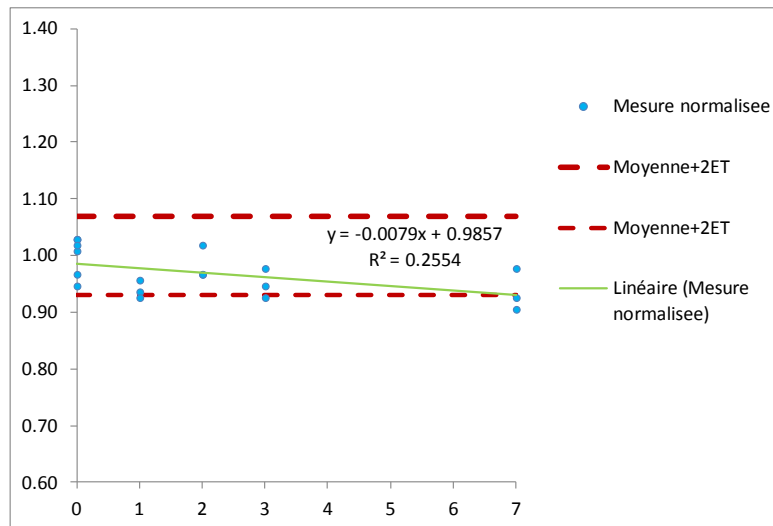
Toutes conditions CV20%



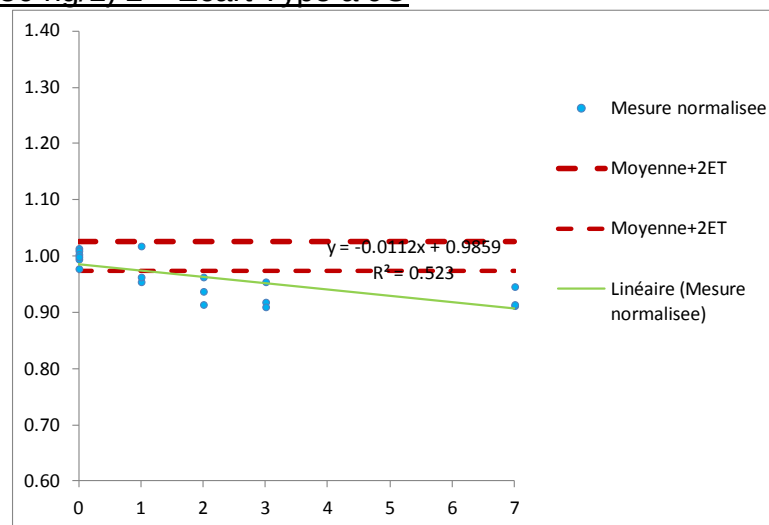
Toutes conditions 2*Ecart Type à J0



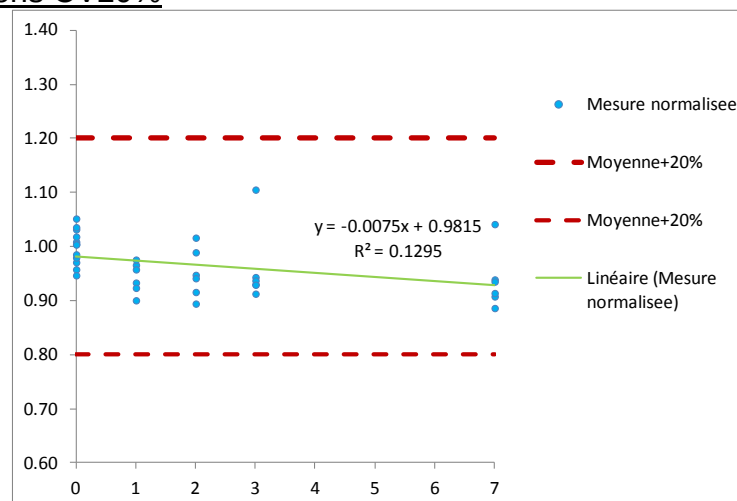
Niveau Bas (10 ng/L) 2* Ecart Type à J0



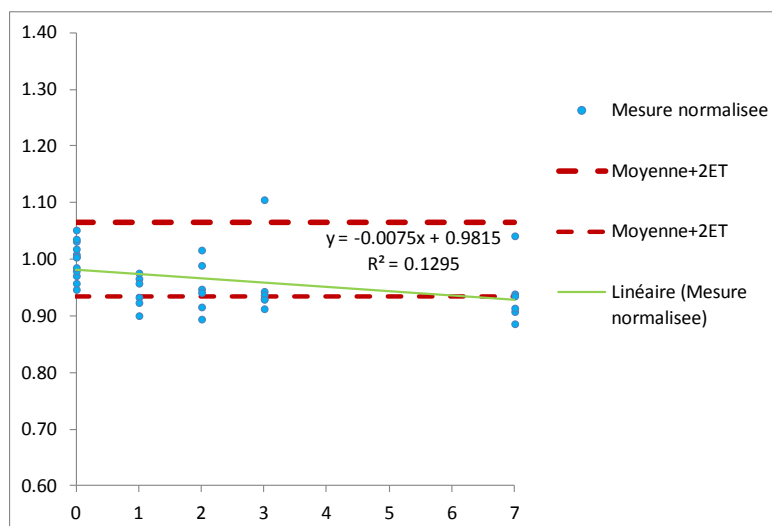
Niveau haut (50 ng/L) 2** Ecart Type à JO



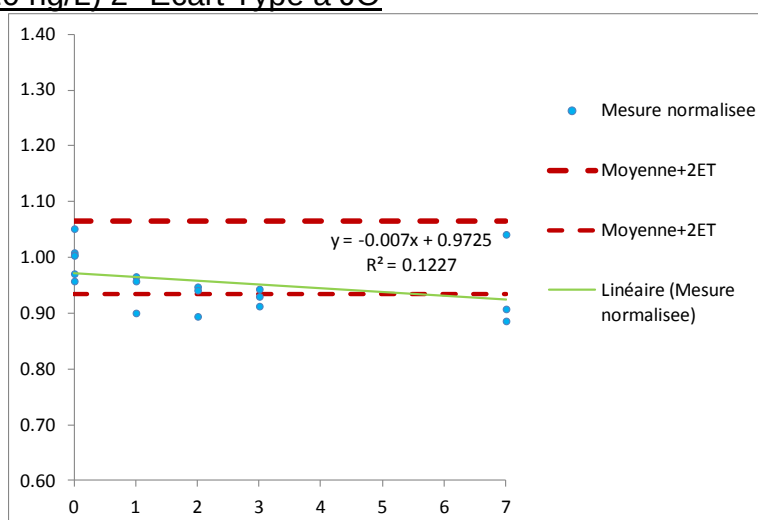
Eau naturelle 2
Toutes conditions CV20%



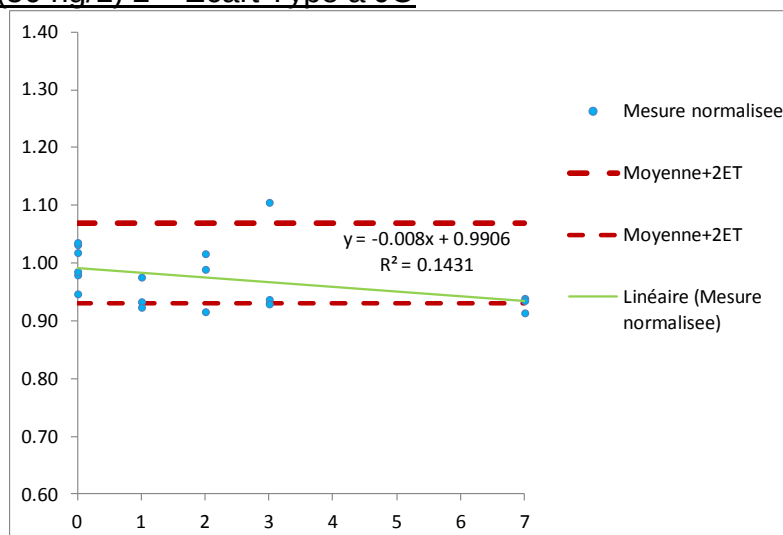
Toutes conditions 2*Ecart Type à JO



Niveau Bas (10 ng/L) 2* Ecart Type à JO



Niveau haut (50 ng/L) 2** Ecart Type à JO



VALIDATION INITIALE DE L'ETUDE A JO

La validation initiale de l'étude à JO a été réalisée en 2 étapes :

1ère étape : vérification de la dispersion des données à J0 au regard de la dispersion de la méthode analytique.

2ème étape : vérifier l'exactitude de ces données (calcul de l'écart normalisé EN).

L'ensemble des résultats est compilé dans le tableau ci-dessous.

Substances	Eau naturelle 1				Eau naturelle 2			
	Faible concentration 10ng/L		Haute concentration 50ng/L		Faible concentration 10ng/L		Haute concentration 50ng/L	
	Dispersion J0 (CvR %)	Ecart normalisé é EN < 2 ?	Dispersion J0 (CvR %)	Ecart normalisé EN < 2 ?	Dispersion J0 (CvR %)	Ecart normalisé é EN < 2 ?	Dispersion J0 (CvR %)	Ecart normalisé é EN < 2 ?
Benzo(a)anthracène	3,47	-0,54	1,28	-0,57	3,29	-0,48	3,49	0,20

VERIFICATION DES HYPOTHESES NECESSAIRES A LA SELECTION DES TESTS STATISTIQUES APPROPRIES

Plusieurs vérifications ont été mises en œuvre afin de sélectionner les tests statistiques appropriés. Tout d'abord il a été vérifié que les données suivent une distribution normale ainsi qu'une homoscedasticité des variances. Ce dernier test a été réalisé par le test de Levene.

Du fait que les jeux de données (eau naturelle 1 et eau naturelle 2) répondent aux exigences de normalité et d'homoscedasticité des variances, nous avons pu utiliser les tests statistiques paramétriques pour évaluer la stabilité ; à savoir le test ANOVA (toutes données par matrice ou toutes données par pas de temps, par niveau de concentration) et le test Dunnett qui compare les données du groupe témoin (J0) avec tous les autres groupes (J1, J2, J3 et J7).

Eau naturelle 1

Les résultats des vérifications et des tests statistiques pour l'eau naturelle 1 sont les suivants :

Normalité : oui

Test de Levene : oui

ANOVA : significatif effet temps

Test de Dunnett : T1, T2, T3, T7

ANOVA : non significatif niveau de concentration

Eau naturelle 2

Les résultats des vérifications et des tests statistiques pour l'eau naturelle 2 sont les suivants :

Normalité : oui

Test de Levene : oui

ANOVA significatif effet temps

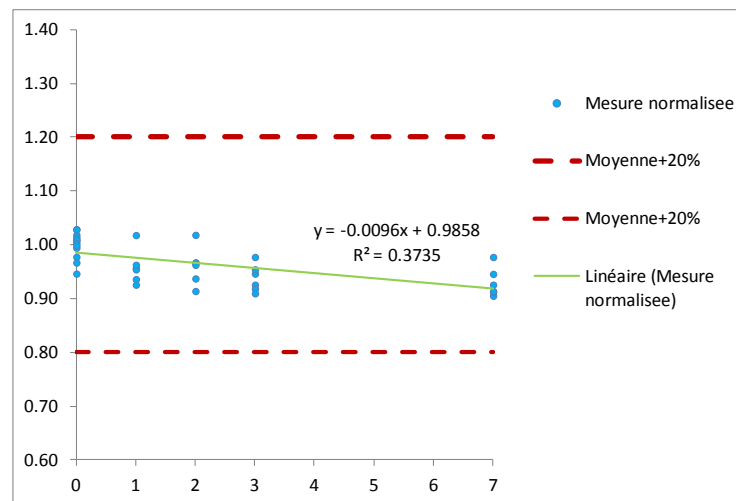
Test de Dunnett : T7

ANOVA : non significatif effet niveau de concentration

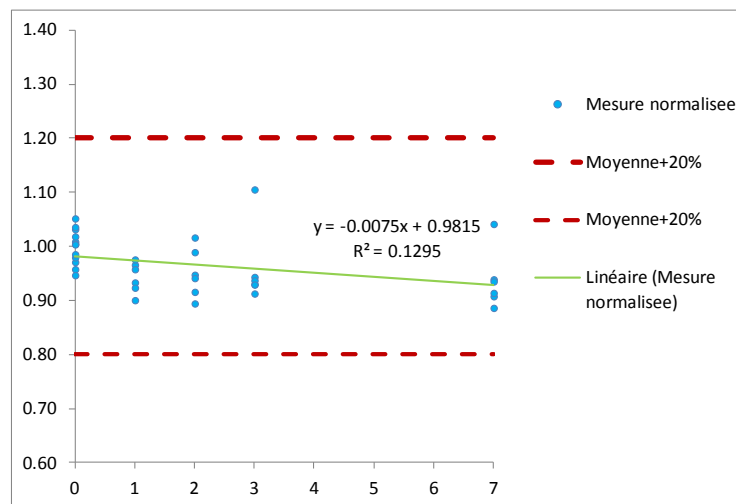
DECISION OPERATIONNELLE ET EXPRESSION DE LA STABILITE

Pour répondre à l'objectif de l'étude, la valeur de l'instabilité maximale admissible (ImA) a été fixée à 20% à 3 jours afin de prendre en compte les contraintes de mise en œuvre opérationnelle des DOM.

Le benzo a anthracène est stable jusqu'à 7 jours par rapport au critère ImA fixé à 20% pour tous les niveaux de concentration testés (10 ng/L et 50 ng/L) et pour les matrices eau naturelle 1 et eau naturelle 2 dans les conditions de l'étude (température de l'essai $5 \pm 3^\circ\text{C}$, méthode analytique NF EN ISO 17993, matrice eau naturelle) (voir figures ci-dessous).



Eau naturelle 1 : benzo a anthracène



Eau naturelle 2 : Benzo a anthracène