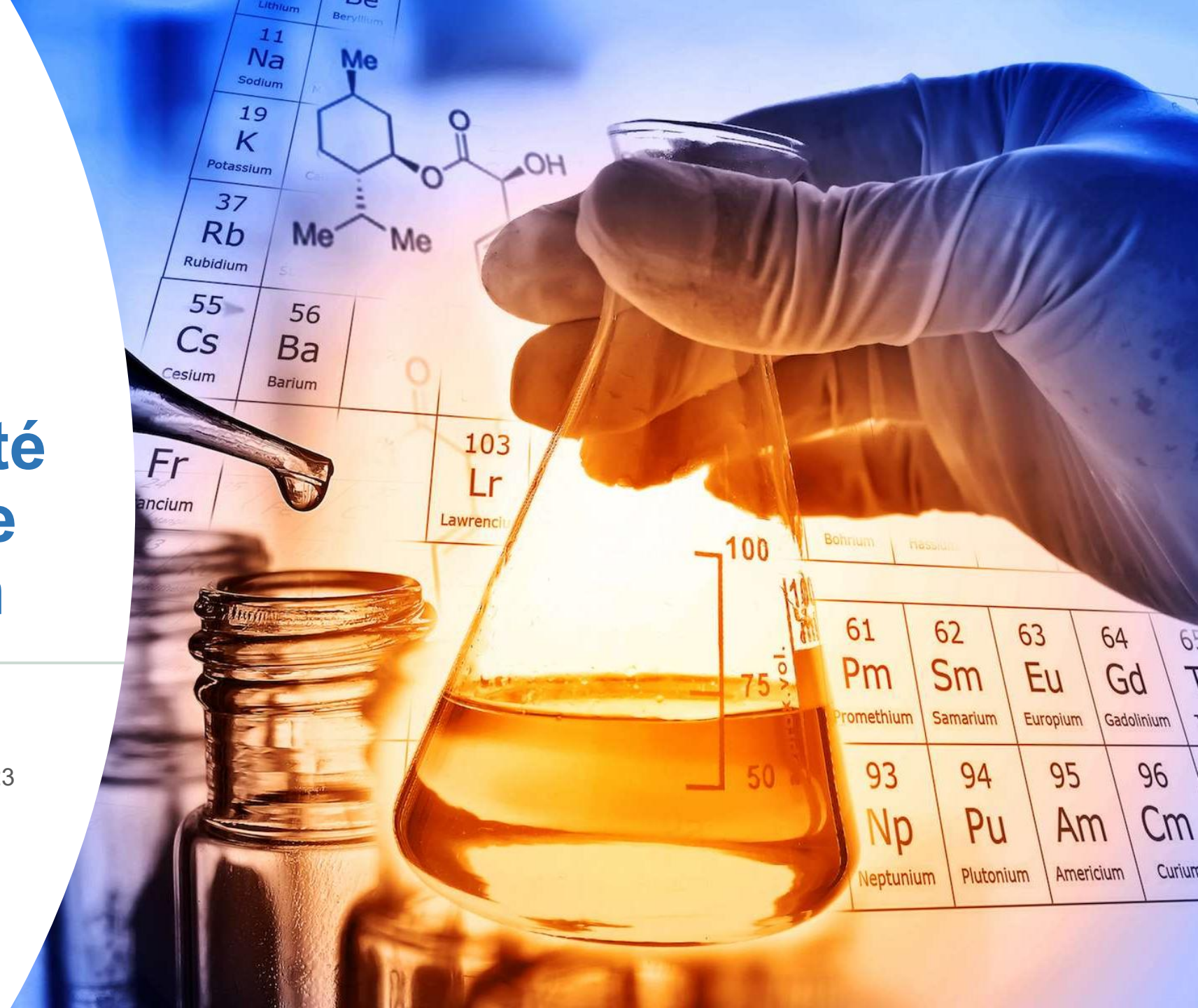


# Etudes de fidélité dans le cadre de la normalisation

Anne TIRARD

Journée technique BIPEA, Paris le 17/11/2023



# Rappel et définitions : fidélité

# Rappel - Définitions

- Fidélité : Étroitesse de l'accord entre des résultats d'essai indépendants obtenus sous des conditions stipulées
  - La fidélité dépend uniquement de la distribution des erreurs aléatoires et n'a aucune relation avec la valeur vraie.
  - Le terme résultats d'essai indépendants signifie des résultats obtenus d'une façon non influencée par un résultat précédent sur le même matériau d'essai ou similaire. Les mesures quantitatives de la fidélité dépendent de façon critique des conditions stipulées.
  - Les conditions de répétabilité et de reproductibilité sont des ensembles particuliers de conditions extrêmes.

# Rappel - Définitions

- **Répétabilité** : Fidélité sous des conditions de répétabilité résultats obtenus par la même méthode, dans le même laboratoire, par le même opérateur utilisant le même équipement
- **Reproductibilité** : Fidélité sous des conditions de reproductibilité résultats obtenus par la même méthode, dans différents laboratoires, par différents opérateurs utilisant des équipements différents

# Etudes réalisées dans le cadre de la normalisation

- Etude de fidélité selon la norme ISO 5725 pour la mise en place d'une norme pesticides par la commission AFNOR T91M
- Etude de fidélité selon la norme ISO 5725 des méthodes d'analyse pour l'étiquetage nutritionnel – Commission AFNOR V03B
- Essai interlaboratoires d'aptitude pour l'analyse du 2-chloroethanol et de l'oxyde d'éthylène - Commission AFNOR V03B
- Etude de fidélité pour le mise en place d'une norme pour les essais de panification (Pain Tradition Française) - Commission AFNOR V30A
- Etude de fidélité pour la détermination du taux de mitadinage dans le blé dur par la méthode XP V03-778 – Commission AFNOR V30A
- Etude de fidélité de la méthode MIXOLAB pour les farines – Commission AFNOR V30A
- Etude de fidélité pour la détermination de la teneur en eau du maïs la méthode Norme ISO 6540 – Commission AFNOR V30A

**Etude de fidélité selon la norme ISO 5725 des méthodes d'analyse pour l'étiquetage nutritionnel – Commission AFNOR V03B**

# Contexte et objectif du groupe étiquetage nutritionnel AFNOR/GTN

- Mise en œuvre du **RÈGLEMENT (UE) No 1169/2011 DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL du 25 octobre 2011** concernant l'information des consommateurs sur les denrées alimentaires
- Le règlement exige, entre autres, une déclaration nutritionnelle sur toutes les denrées alimentaires préemballées.
- La déclaration nutritionnelle doit être vérifiée sur une gamme beaucoup plus large de produits et également sur les produits fabriqués par des chaînes à petite échelle.
- **MAIS il n'existait pas de méthodes de référence horizontales pour le contrôle de la déclaration nutritionnelle.**
- Le groupe de travail a rédigé 7 méthodes.

# Méthodes d'analyse concernées

- NF V03-031 Produits agricoles et alimentaires- Détermination de la teneur en matières grasses (publication prévue en janvier 2024)
- NF V03-032 Produits agricoles et alimentaires - Détermination de la teneur en azote total et en protéines (publication prévue en janvier 2024)
- NF V03-802 Produits agricoles et alimentaires - Détermination des cendres dans les produits alimentaires (publication prévue en janvier 2024)
- NF V03-801 - Produits agricoles et alimentaires - Détermination de la perte de masse à la dessiccation (publication prévue en juin 2024)
- NF V03-033 – Partie 1 - Produits agricoles et alimentaires - Détermination de la teneur en sucres par HPLC (publication prévue en juin 2024)
- NF V03-033 – Partie 2 - Produits agricoles et alimentaires - Détermination de la teneur en sucres par HPAE-PAD (publication prévue en juin 2024)
- NF V03-034 - Produits agricoles et alimentaires – **Extraction qualitative de la matière grasse en vue de sa caractérisation** (projet au programme de travail de la commission AFNOR/V03B)

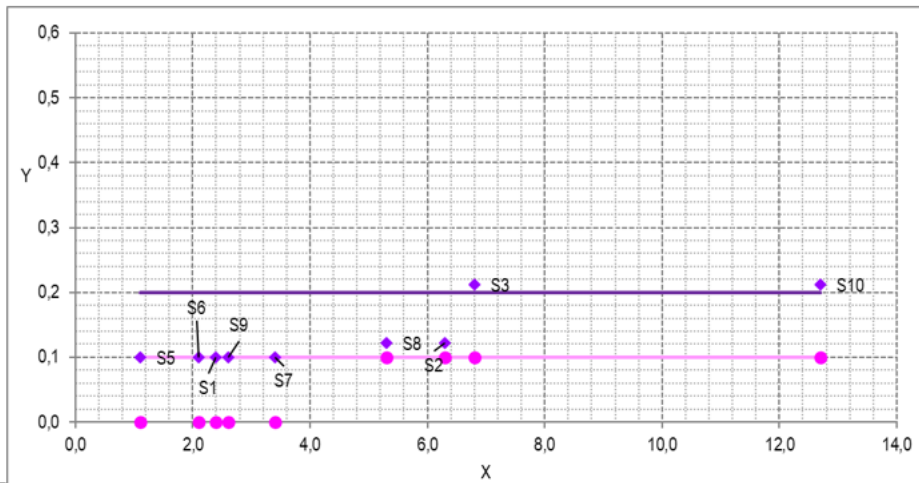
# Plan d'expériences de l'étude interlaboratoires

- 10 échantillons correspondant à 2 doubles déterminations ont été envoyés à 30 laboratoires (de différents pays).
- Matrices:
  - ✓ Mélange liquide nutritionnel
  - ✓ Biscuits au beurre
  - ✓ Plat préparé à base de viande
  - ✓ Poisson
  - ✓ Mayonnaise
  - ✓ Raisins secs
  - ✓ Pâte à tartiner
  - ✓ Pâtisserie industrielle
  - ✓ Dessert lacté
  - ✓ Œuf

# Plan d'expériences de l'étude interlaboratoires

Produit	Humidité (à 70°C sous vide te à 103°C P <sub>atm</sub> )	Protéines	Lipides	Cendres	Sucres HPLC / Refractometrie	Sucres HPAEC/PAD
Mélange liquide nutritionnel	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Biscuits au beurre	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Plat cuisiné à base de viande	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Poisson	Non	Non	Oui	Non	Non	Non
Mayonnaise	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Raisins	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Pâte à tartiner	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Pâtisserie industrielle	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Œuf	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui
Dessert lacté	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui

# Exemple de résultats pour le critère analytique : protéines



Graph 3: Standard deviations of precision according to the mean  
PROTEIN CONTENT - KJELDAHL

X = Mean (g/100g)  
Y = Precision standard deviations

**Legend:**

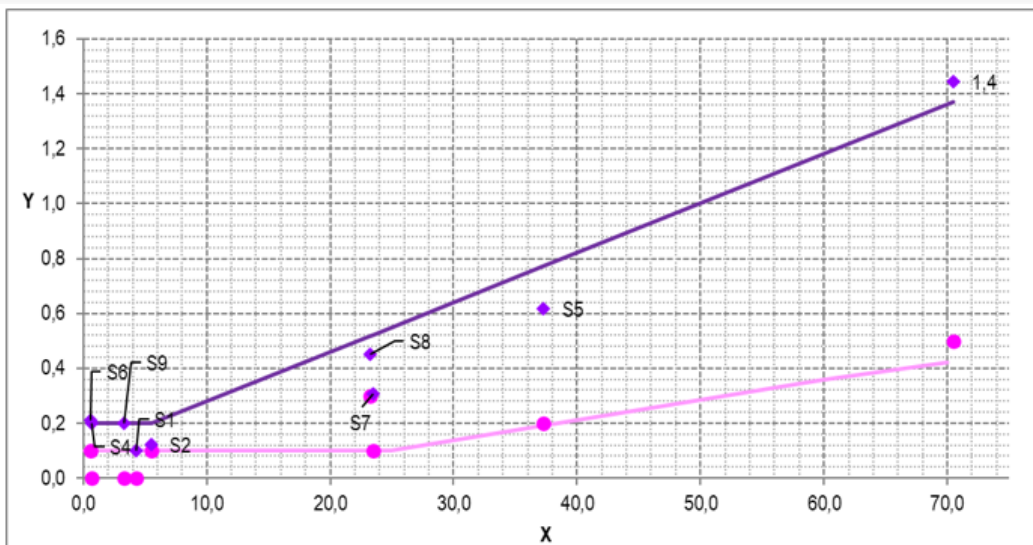
- Repeatability standard deviation  $s_r$
- Reproducibility standard deviation  $s_R$
- Function (Repeatability standard deviation  $s_r$ )  
Y = 0,1
- Function (Reproducibility standard deviation  $s_R$ )  
Y = 0,2

- S1 : Nutritional liquid mix
- S2 : Biscuits
- S3 : Ready-to-eat dish with meat
- S4 : Fish
- S5 : Mayonnaise
- S6 : Dried fruits, raisins
- S7 : Sweet spread
- S8 : Industrial pasta
- S9 : Dessert
- S10 : Egg

Le groupe de travail a sélectionné la relation la plus appropriée comme :

- Dans des conditions de répétabilité, l'écart type de répétabilité est de 0,1 g/100g en valeur absolue.
- Dans des conditions de reproductibilité, l'écart type de reproductibilité est de 0,2 g/100 g en valeur absolue.

# Exemple de résultats pour le critère analytique : lipides



Le groupe de travail a sélectionné la relation la plus appropriée comme :

- Dans des conditions de répétabilité, l'écart type de répétabilité est de 0,6 % de la moyenne, avec une valeur minimale de 0,1 g/100g.
- Dans des conditions de reproductibilité, l'écart type de reproductibilité est de 1,8 % de la moyenne + 0,2, avec une valeur minimale de 0,2 g/100g.

Graph 4: Standard deviations of precision according to the mean LIPIDS - FAT CONTENT

X = Mean (g/100g)

Y = Precision standard deviations

**Legend:**

- Repeatability standard deviation  $s_r$
- Reproducibility standard deviation  $s_R$
- Function (Repeatability standard deviation  $s_r$ )  
 $Y = 0,6 \% X - \text{Mini} = 0,1$
- Function (Reproducibility standard deviation  $s_R$ )  
 $Y = 1,8 \% X + 0,2 - \text{Mini} = 0,2$

- S1: Nutritional liquid mix
- S2: Biscuits
- S3: Ready-to-eat dish with meat
- S4: Fish
- S5: Mayonnaise
- S6: Dried fruits, raisins
- S7: Sweet spread
- S8: Industrial pastry
- S9: Dessert
- S10: Egg

## Résultats : extraction qualitative de la matière grasse en vue de sa caractérisation

Pour valider la méthode de la norme NF V03-034, une composition en acides gras a été réalisée. Il a été demandé aux laboratoires de réaliser l'extraction à la fois avec de l'hexane / isopropanol 3:2 (v/v) et du chloroforme / méthanol 2:1 (v/v) ou du dichlorométhane / éthanol 1:1 (v/v) pour certaines matrices.

En accord avec le groupe de travail de l'AFNOR V03B / GT Méthodes d'analyse et étiquetage nutritionnel, le traitement statistique a été réalisé uniquement sur les acides gras spécifiques pour chaque matrice.

Produit	Solvant - Paragraphe 8.8 hexane / isopropanol 3:2 (v/v)	Solvant - Paragraphe 8.8 chloroforme / methanol 2:1 (v/v)	Solvant - Paragraphe 8.8 dichloromethane/ethanol 1:1 (v/v)
Mélange liquide nutritionnel	Oui	Non	Non
Biscuits au beurre	Oui	Non	Non
Plat cuisiné à base de viande	Oui	Oui	Non
Poisson	Oui	Oui	Non
Mayonnaise	Oui	Non	Non
Pâte à tartiner	Oui	Non	Non
Pâtisserie industrielle	Oui	Non	Non
Œuf	Oui	Non	Oui
Dessert lacté	Oui	Non	Non

# Résultats : extraction qualitative de la matière grasse en vue de sa caractérisation

Une limite maximale de consensus de 25 % a été définie par le groupe de travail : si le  $CV_R$  est supérieur à 25 %, le résultat est considéré comme non satisfaisant.

Sur la base des résultats du  $CV_R$  des acides gras, nous pouvons conclure que :

- Les résultats avec l'hexane / isopropanol 3:2 (v/v) sont satisfaisants : Mélange liquide nutritionnel, Biscuits, Mayonnaise, Pâtes à tartiner sucrées, Pâtisserie industrielle et Dessert
- Les résultats obtenus avec l'hexane/isopropanol 3:2 (v/v) ou le dichlorométhane/éthanol 1:1 (v/v) sont similaires et satisfaisants pour l'œuf entier
- Les résultats obtenus avec l'hexane/isopropanol 3:2 (v/v) ou le chloroforme/méthanol 2:1 (v/v) sont similaires et satisfaisants pour le plat prêt à consommer avec viande
- Les résultats avec l'hexane / isopropanol 3:2 (v/v) ou le chloroforme / méthanol 2:1 (v/v) ne sont pas similaires et ne sont pas satisfaisants pour le poisson.

**En conclusion, seul le système de solvant hexane / isopropanol 3:2 (v/v) sera retenu dans la norme NF V03-034.**

**La matrice de poisson sera exclue du champ d'application de la méthode en raison de la médiocrité des résultats obtenus.**

**Etude de fidélité selon la norme ISO 5725 pour  
la mise en place d'une norme pesticides par la  
commission AFNOR T91M**

# Objectifs de l'étude

La commission AFNOR T91M « Eaux micropolluants organiques» a chargé le BIPEA de mettre en place un plan d'expériences pour :

- Définir des données de fidélité caractérisant les performances des méthodes pour différentes molécules en vue de valider une norme,
- Évaluer la performances des participants sur les molécules et les méthodes classiquement utilisées dans l'analyse de l'eau par les professionnels, en particulier ceux concernés par la Directive Cadre sur l'Eau.

# Participations et planning

34 laboratoires ont participé à cette étude dont :

- 25 participants français
- 9 participants européens

L'essai s'est déroulé du 19/10/2022 au 06/12/2022 :

- Date d'expédition : 19/10/2022
- Date limite de rendu des résultats : 06/12/2022
  - Entre 28 et 31 laboratoires selon les fabrications ont fournis au moins un résultat soit entre **82%** et **91%** des inscrits.

# Méthodologie (1)

- **Matrices** : trois séries correspondant à 3 matrices différentes
  - eau d'alimentation,
  - eau souterraine,
  - eau superficielle.
- **Molécules** : 247 molécules à analyser en double
- **Concentration** : la gamme cible varie de 0,020 à 2,000 µg/l.
- **Nombre d'échantillons** : chaque participant a reçu 6 échantillons pour chaque série à analyser en double

## Méthodologie (2)

Modalités de la norme traitées lors de l'essai :

- Liquide/Liquide GC-MS/MS
- SPE Off line GC-MS/MS
- Injection directe LC-MS/MS et HR-MS
- SPE On Line LC-MS/MS et HR-MS
- Liquide/liquide LC-MS/MS et HR-MS
- SPE Off Line LC-MS/MS et HR-MS

## Méthodologie (3)

- **Caractérisation** : chacune des matrices a été caractérisée sur le maximum de molécules possibles parmi les 247. Lorsque la quantité d'un élément n'était pas négligeable, la valeur corrigée a été indiquée dans la partie dédiée à l'étude de fidélité du rapport final.
- **Fabrication** : chaque lot est homogénéisé et divisé en séries d'échantillons. Cette opération a été réalisée au moyen d'une cuve d'homogénéisation. Le principe de la fabrication successive rapide, qui entraîne un remplissage quasi simultané, assure l'homogénéité du produit entre chacun des échantillons.
- **Conditionnement** : les échantillons sont conditionnés dans des bouteilles plastiques de 1 litre.
- **Transport** : le transport s'est fait en condition réfrigérée

## Méthodologie (4)

- **Contrôle d'homogénéité** : un contrôle d'homogénéité a été réalisé par des laboratoires partenaires sur chacune des fabrications pour s'assurer de sa conformité. Des échantillons de chacune des fabrications ont été envoyés à 4 laboratoires pour analyse. Ces derniers ont analysé entre 5 et 20 molécules selon leurs possibilités.
- **Contrôle de stabilité** : non applicable

# Méthodologie (5)

- **Traitement statistiques** : le traitement a été réalisé selon les exigences des normes ISO 13528 et 5725-5
  - ISO 13528 : Méthodes statistiques utilisées dans les essais d'aptitude par comparaison interlaboratoires
  - ISO 5725-5 : Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure  
Partie 5: Méthodes alternatives pour la détermination de la fidélité d'une méthode de mesure normalisée

# Résultats préliminaires (1)

- Des résultats permettant une évaluation de la fidélité des méthodes employées :
  - Eau d'alimentation : 154 combinaisons molécule/méthode évaluées
  - Eau souterraine : 165 combinaisons molécule/méthode évaluées
  - Eau de surface : 170 combinaisons molécule/méthode évaluées... et de la justesse des laboratoires :
  - Eau d'alimentation : 150 molécules avec une valeur assignée
  - Eau souterraine : 152 molécules avec une valeur assignée
  - Eau de surface : 169 molécules avec une valeur assignée

En moyenne, nous obtenons 13 résultats exploitables par critère.

Le nombre de résultats pour les autres couples étaient malheureusement insuffisant pour pouvoir tirer des conclusions d'un point de vue statistique.

## Résultats préliminaires (2)

Quelles couples avaient suffisamment de données pour être étudiées ?

- Injection directe suivie de la méthode LC-MS/MS
- Extraction liquide-liquide suivie de la méthode GC-MS/MS

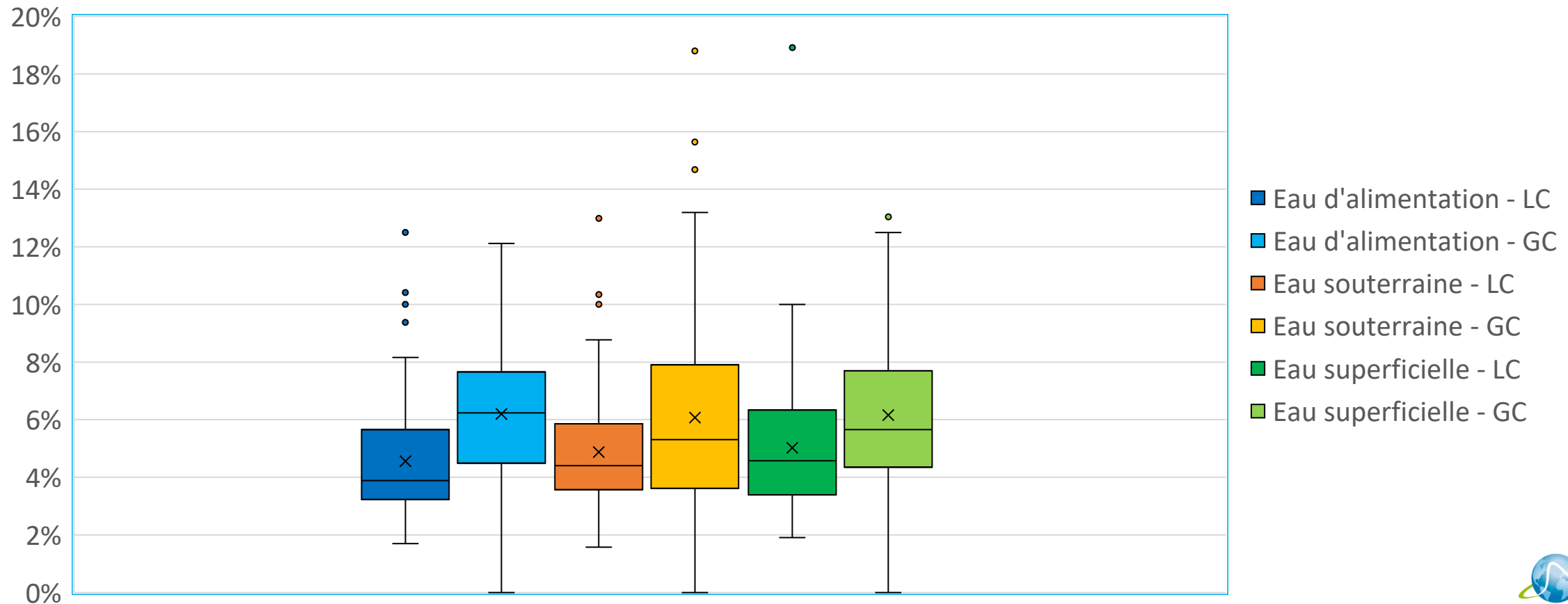
Les résultats exploitables ont été obtenus à 70 % de la méthode LC-MS/MS et 30% de La méthode GC-MS/MS

Des graphiques des répétabilités et reproductibilités suivis des performances des laboratoires sous forme de CV puis du pourcentage de résultats soulignés par méthode et par matrice ont été élaborés.

# Résultats préliminaires – Etude fidélité (3)

Attention : les molécules et les laboratoires sont différents selon les méthodes !

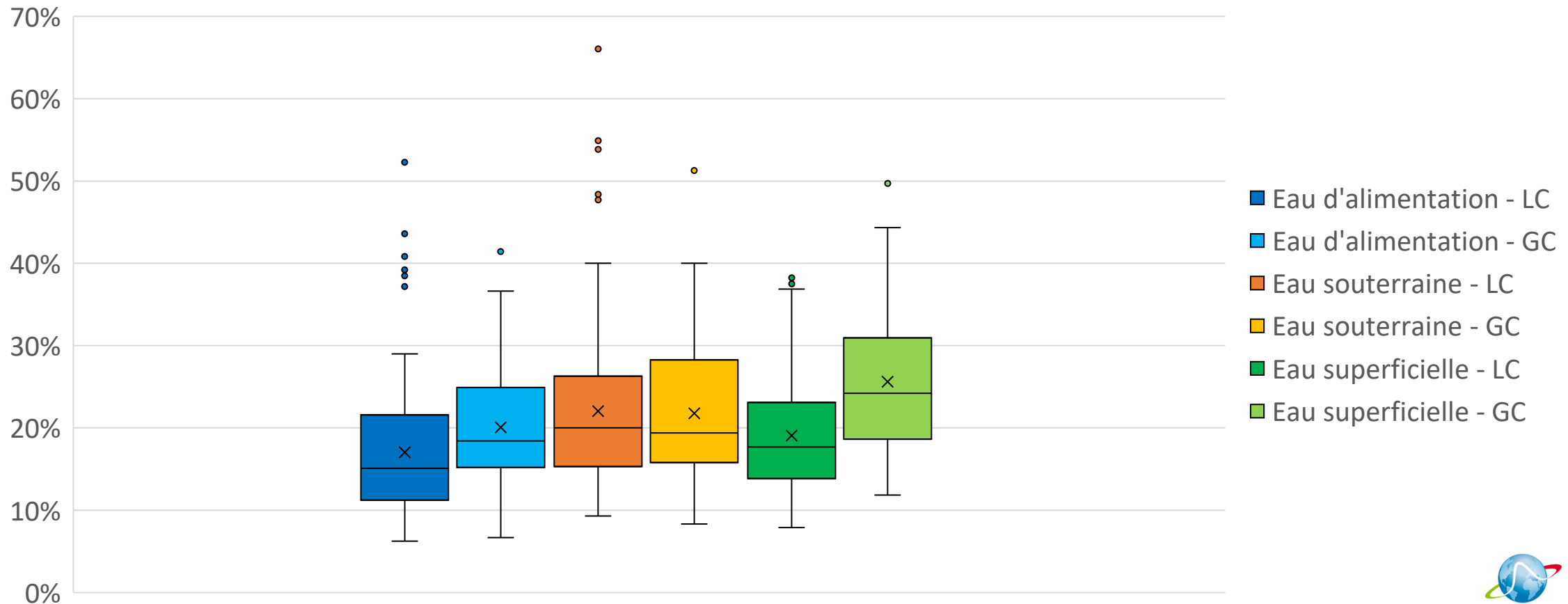
CV (%) de répétabilité de l'ensemble des molécules



# Résultats préliminaires – Etude de fidélité (4)

Attention : les molécules et les laboratoires sont différents selon les méthodes !

CV (%) de reproductibilité de l'ensemble des molécules



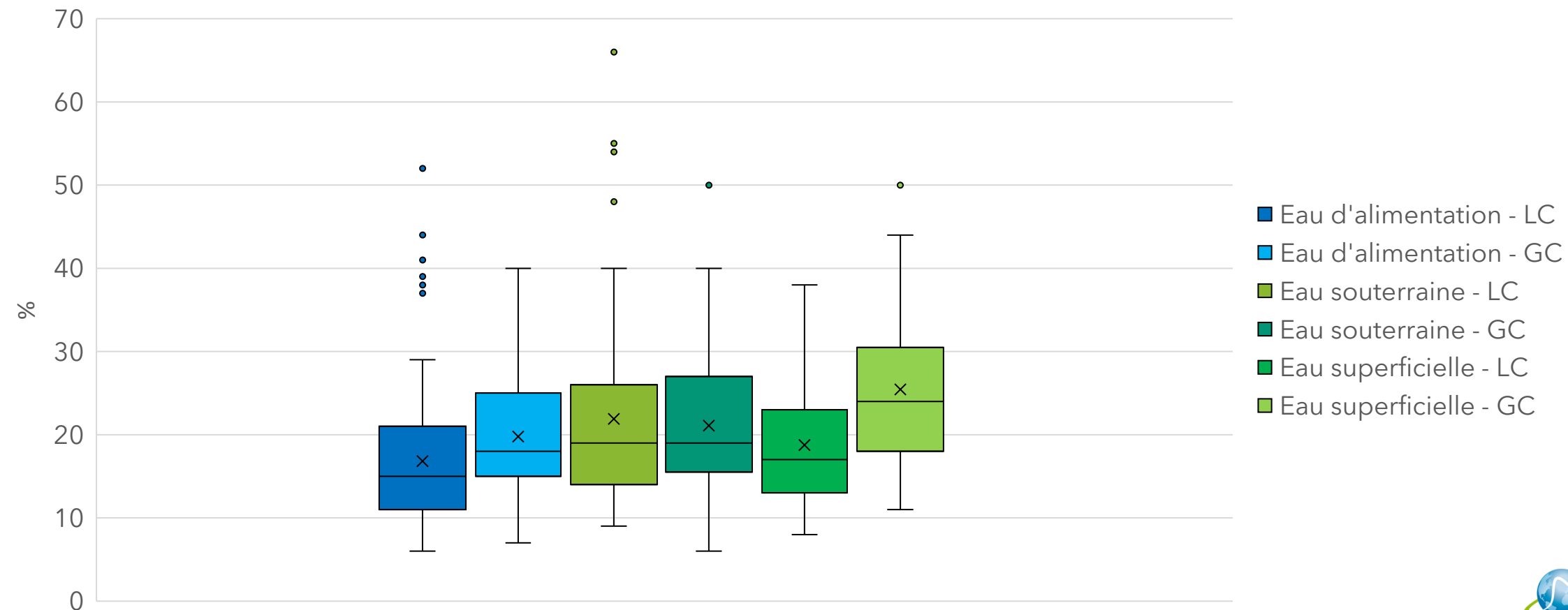
## Résultats préliminaires – Etude de fidélité (5)

Nous observons que la répétabilité est meilleure en **LC** qu'en **GC** dans le cadre de cette étude sans pouvoir déterminer l'origine de cette différence :  
équipements, opérateurs, molécules, ...

# Résultats préliminaires – Performance des laboratoires (6)

Attention : les molécules et les laboratoires sont différents selon les méthodes !

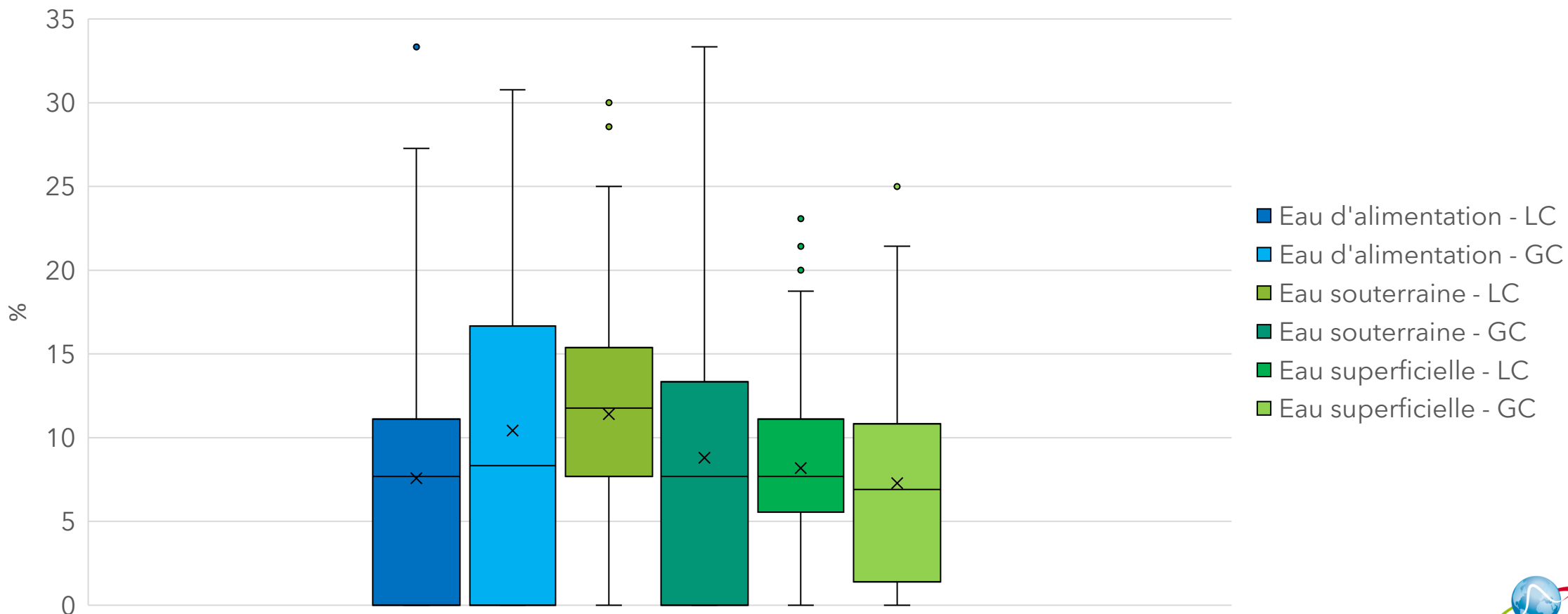
CV(xpt) de l'ensemble des molécules avec une valeur assignée



# Résultats préliminaires – Performance des laboratoires (7)

Attention : les molécules et les laboratoires sont différents selon les méthodes !

Pourcentage de soulignés de l'ensemble des molécules avec une valeur assignée



# Problèmes rencontrés et conclusion

- Aucune tendance n'a été détectée selon le niveau de concentration lors de l'observation de l'ensemble des données par méthode.
- Nous notons un manque de résultats sur certaines méthodes ne permettant pas l'exploitation des données. Le choix a donc été fait de fusionner certains jeux de données pour pallier en partie le problème et pouvoir exploiter plus de résultats pour l'étude de fidélité.
- De nombreuses données sont à présent à disposition des experts de la commission AFNOR qui pourront les étudier en détails lors de la prochaine réunion du groupe de travail.

**Merci de votre attention – Questions?**