
Norme internationale



8192

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION • МЕЖДУНАРОДНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ • ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION

Qualité de l'eau — Essai d'inhibition de la consommation d'oxygène par des boues activées

Water quality — Test for inhibition of oxygen consumption by activated sludge

Première édition — 1986-07-15

ITeH STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 8192:1986](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8bff24c2-558f-4081-9155-3d0d33d4b88d/iso-8192-1986)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8bff24c2-558f-4081-9155-3d0d33d4b88d/iso-8192-1986>

Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux.

Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour approbation, avant leur acceptation comme Normes internationales par le Conseil de l'ISO. Les Normes internationales sont approuvées conformément aux procédures de l'ISO qui requièrent l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

La Norme internationale ISO 8192 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 147, *Qualité de l'eau*.

[ISO 8192:1986](#)

L'attention des utilisateurs est attirée sur le fait que toutes les Normes internationales sont de temps en temps soumises à révision et que toute référence faite à une autre Norme internationale dans le présent document implique qu'il s'agit, sauf indication contraire, de la dernière édition.

Qualité de l'eau — Essai d'inhibition de la consommation d'oxygène par des boues activées

AVERTISSEMENT ET PRÉCAUTIONS DE SÉCURITÉ — Les boues activées et les eaux d'égouts peuvent contenir des organismes potentiellement pathogènes. Par conséquent des précautions appropriées doivent être prises pour les manipuler.

Les produits pour essais toxiques et ceux dont les propriétés sont inconnues doivent être manipulés avec soin.

0 Introduction

La présente Norme internationale spécifie une méthode pour évaluer la toxicité potentielle de substances, de mélanges ou d'eaux résiduaires vis-à-vis des boues activées. L'information obtenue par cette méthode peut être utile pour estimer l'effet d'un produit à expérimenter sur les populations bactériennes mixtes dans l'environnement aquatique dans les systèmes de traitement biologique aérobie.

L'annexe fait partie intégrante de la norme.

1 Objet et domaine d'application

1.1 La présente Norme internationale spécifie une méthode pour l'évaluation de l'effet inhibiteur du produit à expérimenter sur la consommation d'oxygène des micro-organismes de boues activées. Cet effet inhibiteur peut inclure les effets sur la respiration et la nitrification.

1.2 La méthode fournit une indication sur les effets inhibiteurs ou stimulateurs après un temps d'exposition court (jusqu'à 180 min) du produit à expérimenter sur les micro-organismes des boues activées.

1.3 La méthode est applicable aux substances chimiques solubles dans les conditions de l'essai. Un soin particulier doit être pris avec les produits de faible solubilité aqueuse et avec les produits qui consomment ou produisent l'oxygène physico-chimiquement.

Deux exemples de l'application de la méthode sont donnés dans l'annexe. La méthode A a pour but de reproduire les conditions des eaux de surface, tandis que la méthode B a pour but de reproduire les conditions des installations de traitement biologique d'eaux résiduaires. Les résultats obtenus par ces deux approches peuvent être différents. Il est essentiel que le procès-verbal d'essai indique quelle méthode a été choisie.

Pour les produits volatils, seul le premier exemple est applicable.

Cette méthode peut être aussi utilisée pour tester les eaux résiduaires.

NOTES

1 Les résultats avec les produits volatils doivent être interprétés avec précaution et sont susceptibles de sous-estimer certains effets inhibiteurs, du fait de la difficulté à maintenir la concentration initiale.

2 Les résultats avec les produits insolubles doivent être de même interprétés avec précaution et ne peuvent être aisément quantifiés, les effets inhibiteurs pouvant être sous-estimés si la solubilité du composé dans le milieu d'essai est diminuée.

1.4 Les résultats de l'essai ne doivent être considérés que comme indicatifs de la toxicité probable du produit à expérimenter, les boues d'origines diverses pouvant différer dans leur composition et leur concentration. De plus, les essais de laboratoire ne peuvent réellement simuler les conditions de l'environnement. Par exemple, il n'y a pas de prise en compte d'une adaptation à la longue des micro-organismes des boues activées au produit à expérimenter, ou d'une adsorption possible du produit sur les boues ne conduisant à une toxicité qu'après une durée plus longue que celle de l'essai.

2 Définitions

Dans le cadre de la présente Norme internationale, les définitions suivantes sont applicables.

2.1 boue activée: Amas biologique (floc) formé, au cours du traitement d'une eau résiduaire, par la croissance de bactéries et d'autres micro-organismes en présence d'oxygène dissous. (Définition de l'ISO 6107/1.)

2.2 matières en suspension: Matières éliminées des boues activées par filtration ou centrifugation et séchées à environ 100 °C à masse constante.

Déterminée en tant que masse à sec par unité de volume, cette quantité est exprimée en grammes par litre ou en milligrammes par litre.

2.3 taux de consommation d'oxygène: Consommation d'oxygène par les micro-organismes de boues activées pour un volume unitaire de boue, par unité de temps.

Cette quantité est exprimée en milligrammes par litre par heure.

2.4 taux spécifique de consommation d'oxygène: Consommation d'oxygène par les micro-organismes de boues activées par unité de temps et par unité de masse de micro-organismes (matières en suspension).

Cette quantité est exprimée en milligrammes par gramme par heure.

2.5 inhibition de la consommation en oxygène: Diminution du taux de consommation d'oxygène d'une boue activée en présence du produit à expérimenter, par rapport à un même mélange sans produit à expérimenter.

Cette quantité est exprimée en pourcentage.

2.6 niveau toxique: Niveau de concentration d'un produit à expérimenter au-dessus duquel se produit l'inhibition de 0 à 100 %.

2.7 CE 50: Concentration efficace d'un produit à expérimenter produisant une inhibition d'oxygène de 50 %, par rapport à l'essai à blanc, déduite par calcul ou interpolation.

3 Principe

La boue activée en présence d'un substrat adéquat facilement biodégradable, consommera rapidement de l'oxygène à un taux dépendant, entre autres, de la concentration en micro-organismes. L'ajout d'un produit à expérimenter à une concentration toxique peut provoquer une diminution du taux de consommation d'oxygène. Ces taux sont mesurés à l'aide d'une électrode à oxygène. Le pourcentage d'inhibition de la consommation d'oxygène est estimé par comparaison à un mélange témoin ne contenant pas de produit à expérimenter.

La sensibilité de la boue activée peut être vérifiée à l'aide d'une substance de référence. Toute consommation abiotique d'oxygène due aux processus physico-chimiques peut également être détectée.

4 Milieux et réactifs

4.1 Généralités

Les produits chimiques utilisés pour la préparation des milieux de culture et des réactifs doivent être de qualité analytique reconnue.

L'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou déminéralisée, exempte de substances susceptibles d'inhiber la croissance des micro-organismes dans les conditions de l'essai.

Les mesures du pH doivent être effectuées au pH-mètre, et rapportées à la température de l'essai.

4.2 Milieu synthétique, solution mère (voir tableau 1).

Tableau 1 — Milieu synthétique (eau d'égout synthétique OCDE diluée au 1/100)

Constituant	Quantité
Peptone	16 g
Extrait de viande	11 g
Urée	3 g
Chlorure de sodium (NaCl)	0,7 g
Chlorure de calcium dihydraté (CaCl ₂ · 2H ₂ O)	0,4 g
Sulfate de magnésium heptahydraté (MgSO ₄ · 7H ₂ O)	0,2 g
Hydrogénophosphate de potassium (K ₂ HPO ₄)	2,8 g
Eau	1 000 ml

Le pH de la solution doit être de 7,5 ± 0,5.

Si les milieux de culture préparés ne sont pas utilisés extemporanément, les conserver, sauf spécification contraire, à l'obscurité à 0 à 4 °C pendant 1 semaine au maximum, dans des conditions évitant toute modification de leur composition.

NOTE — En variante, stériliser le milieu préalablement au stockage, ou ajouter la peptone ou l'extrait de viande peu de temps avant d'effectuer l'essai. Avant utilisation, s'assurer que le milieu est mélangé minutieusement et ajuster le pH tel qu'il sera nécessaire.

4.3 Produit à expérimenter, solution mère.

Les produits à expérimenter peuvent être des substances chimiques pures, des mélanges de substances, des produits chimiques ou des eaux résiduaires.

Préparer une solution mère du produit à expérimenter par dissolution dans de l'eau à une concentration satisfaisante, par exemple 1 g/l ou 10 g/l. Les eaux résiduaires peuvent être utilisées sans dilution.

Pour les produits insolubles, une suspension ou une dispersion peut être préparée, ou le produit à expérimenter peut être ajouté directement dans le récipient d'essai. Veiller à obtenir la meilleure homogénéité possible.

4.4 Substance de référence, solution mère.

Dissoudre dans de l'eau une quantité adéquate de la substance de référence choisie. Le 3,5-dichlorophénol à 1 g/l est recommandé.

4.5 Solution isotonique (voir tableau 2).

Tableau 2 — Solution isotonique

Constituant	Quantité
Chlorure de sodium (NaCl)	5 g
Sulfate de magnésium heptahydraté	0,12 g
Eau	1 000 ml

5 Inoculum

Pour l'usage général, les boues activées doivent être prélevées dans les bassins d'aération d'une station d'eau résiduaires traitant de façon prédominante des eaux d'égouts d'origine domestique et fonctionnant normalement. Tout type de boue

activée de concentration satisfaisante, par exemple 2 à 4 g/l, peut être utilisée selon l'objectif de l'essai. Cependant, des boues activées provenant de différentes installations de traitement peuvent avoir des caractéristiques et des sensibilités différentes.

Dans la mesure du possible, aérer la boue activée et l'utiliser dans les 24 h suivant le prélèvement. Si cela n'est pas possible, l'alimenter quotidiennement avec un substrat approprié, par exemple un milieu synthétique (voir 4.2).

Si nécessaire, éliminer les particules grossières par sédimentation pendant un temps court, par exemple 15 min, et par décantation de la couche supérieure des particules les plus fines pour emploi. En alternative, la boue peut être homogénéisée à l'aide d'un agitateur pendant quelques secondes.

Si un produit inhibiteur est supposé présent, la boue peut être lavée comme suit: tout d'abord, centrifuger la boue environ 10 min à approximativement 10 000 m/s² et éliminer le surnageant. Remettre la boue en suspension dans de l'eau du robinet exempte de chlore ou dans une solution isotonique (4.5) éliminée après une nouvelle centrifugation. Répéter si nécessaire les opérations de lavage et de centrifugation. Déterminer la masse à sec d'un échantillon de boue. Remettre enfin en suspension la boue dans de l'eau du robinet exempte de chlore ou dans la solution isotonique afin d'obtenir une concentration convenable de boue activée, par exemple, 3 g/l de matières en suspension.

Dans tous les cas, l'origine, la concentration et tout prétraitement de la boue activée doivent être indiqués dans le procès-verbal d'essai.

6 Appareillage

Matériel courant de laboratoire et,

6.1 Récipients pour essai, tels que bouteilles à DBO de 300 ml ou fioles d'Erlenmeyer équipées de bouchons (voir chapitre A.1) ou béchers de 1 000 ml (voir chapitre A.2)

Pour mesurer la concentration en oxygène dans une bouteille à DBO, un bouchon approprié préalablement percé permettant l'adaptation d'une électrode à oxygène est nécessaire. Afin d'éviter des pertes de liquide, introduire tout d'abord à travers le bouchon un entonnoir ou un large tube de verre.

6.2 Dispositif de mesure de l'oxygène: électrode polarographique à oxygène et enregistreur (voir ISO 5814, *Qualité de l'eau — Dosage de l'oxygène dissous — Méthode électrochimique à la sonde*).

6.3 Agitateurs magnétiques.

6.4 Dispositif d'aération.

Si nécessaire, faire passer l'air à travers un filtre approprié pour éliminer la poussière et l'huile et à travers des flacons laveurs remplis d'eau pour humidifier l'air. Aérer les récipients d'essai avec des pipettes Pasteur ou d'autres systèmes d'aération qui n'absorbent pas les substances chimiques.

7 Mode opératoire

7.1 Généralités

Dans la mesure du possible, effectuer l'essai à une température constante de 20 ± 2 °C, dans une atmosphère exempte de poussières et de vapeurs toxiques.

7.2 Mélanges d'essai

Préparer dans les récipients d'essais (6.1) des mélanges, F_T , contenant de l'eau de dilution, un milieu synthétique et le produit à expérimenter afin d'obtenir différentes concentrations connues telles que requises. Ajuster le pH à $7,5 \pm 0,5$, ajouter l'inoculum et compléter avec de l'eau pour obtenir des volumes finals égaux. Si l'effet d'inhibition du pH doit être testé, ne pas ajuster le pH.

7.3 Mélanges de référence

Préparer si nécessaire de la même façon (voir 7.7) des mélanges, F_R , avec le composé de référence adéquat.

7.4 Essai à blanc

Au moins un essai à blanc, F_B , doit être préparé contenant les mêmes volumes de boue activée et de milieu synthétique, mais pas le produit à expérimenter. Compléter avec de l'eau au même volume que pour les mélanges d'essai.

7.5 Essai physico-chimique

Si nécessaire, préparer des mélanges, F_{PC} , pour la détermination de la consommation physico-chimique d'oxygène. Ils contiennent le produit à expérimenter, le milieu synthétique et de l'eau comme les mélanges d'essai, mais pas de boue activée. Si nécessaire, ajouter un inhibiteur tel que le chlorure mercurique afin de prévenir une consommation biologique de l'oxygène.

7.6 Essai préliminaire

Afin d'estimer la gamme de concentrations nécessaires à la réalisation d'un essai définitif pour la détermination de l'inhibition de la consommation d'oxygène, un essai préliminaire est utile.

Effectuer l'essai avec au moins trois concentrations du produit à expérimenter, par exemple 1; 10 et 100 mg/l, un essai à blanc et, si nécessaire, un témoin physico-chimique avec la plus forte concentration en produit à expérimenter. Si possible, la plus faible concentration en produit à expérimenter utilisée doit n'avoir aucun effet sur la consommation d'oxygène.

7.7 Essai définitif

Effectuer l'essai sur une gamme de concentrations déduite de l'essai préliminaire. Il est nécessaire d'utiliser au moins cinq concentrations en série logarithmique. Un essai à blanc doit être inclus. L'essai témoin physico-chimique n'est pas à répéter si aucune consommation d'oxygène n'a été mise en évidence dans l'essai préliminaire. Néanmoins, si une consommation significative a été détectée, des essais témoins doivent être prévus pour chaque concentration en produit à expérimenter.

La sensibilité de la boue peut être vérifiée à l'aide d'une substance de référence (par exemple, le 3,5-dichlorophénol). Dans la mesure du possible, contrôler la sensibilité pour chaque série d'essais ou à intervalles réguliers, si la même origine d'inoculum est utilisée.

7.8 Détermination

Aérer tous les mélanges (7.2, 7.3, 7.4 et 7.5) aussi près que possible de la saturation en oxygène.

L'agitation est nécessaire pour obtenir un bon mélange et pour permettre un mesurage régulier et reproductible de l'oxygène dans les récipients d'incubation et de mesure de l'oxygène.

S'assurer que tous les mélanges sont à la même température (normalement 20 ± 2 °C) et que cette température ne change pas de façon significative pendant l'essai.

Pour la méthode A (chapitre A.1), mesurer la concentration en oxygène dans chaque mélange avec une électrode à oxygène à intervalles satisfaisants (par exemple cinq fois au cours d'une période d'essai normalement de 3 h).

Pour la méthode B (chapitre A.2), mesurer le taux de diminution de la concentration de l'oxygène dissous dans des échantillons de chaque mélange avec une électrode à oxygène, après des périodes d'aération de 30 min et, si nécessaire, de 3 h.

Prendre soin à ce qu'il n'y ait pas sursaturation en oxygène dans les mélanges.

NOTE — Normalement, 3 h correspondent à un choix arbitraire. Une boue activée doit encore avoir une respiration active dans le milieu synthétique au-delà de cette limite.

8 Expression des résultats

Calculer les taux de consommation d'oxygène des mélanges d'essai à partir de la partie linéaire des courbes de consommation d'oxygène en fonction du temps. Exprimer les taux de consommation en oxygène en milligrammes par litre par heure ou en milligrammes par gramme par heure (pour plus de détails, voir en annexe).

Le pourcentage d'inhibition de la consommation d'oxygène, I , pour chaque concentration, est donné par l'équation

$$I = \frac{R_B - (R_T - R_{PC})}{R_B} \times 100$$

où

R_T est le taux de consommation d'oxygène du mélange d'essai, F_T ;

R_B est le taux de consommation d'oxygène de l'essai à blanc, F_B ;

R_{PC} est le taux de consommation d'oxygène physico-chimique de l'essai témoin, F_{PC} .

Tracer la courbe du pourcentage d'inhibition de la consommation d'oxygène en fonction du logarithme de la concentration du produit à expérimenter (courbe d'inhibition).

Pour la méthode B (chapitre A.2), les courbes d'inhibition sont tracées pour toutes les périodes d'aération, par exemple, après 30 et 180 min. Calculer ou déduire par interpolation sur le graphe la concentration qui inhibe à 50 % la consommation en oxygène (CE 50).

Si les données sont disponibles en nombre suffisant, la limite de confiance à 95 %, la pente de la courbe, les valeurs indiquant le début de l'inhibition (par exemple, CE 10 ou CE 20) et la fin de l'inhibition (par exemple, CE 80 ou CE 90) peuvent être calculées ou déduites par interpolation.

En raison de la variabilité souvent observée pour les résultats, il est recommandé de les exprimer en ordre de grandeur, par exemple :

CE 50	< 1 mg/l
CE 50	1 – 10 mg/l
CE 50	10 – 100 mg/l
CE 50	> 100 mg/l

9 Validité des résultats

Dans la mesure du possible, contrôler la sensibilité de la boue activée au moyen d'une substance de référence.

Dans un essai interlaboratoire réalisé avec une boue activée provenant d'une eau usée domestique et du 3,5-dichlorophénol, la CE 50 trouvée s'est située entre 5 et 30 mg/l.

Si la CE 50 de la substance de référence ne se situe pas dans la gamme espérée, répéter l'essai avec des boues activées d'une origine différente.

10 Procès-verbal d'essai

Le procès-verbal d'essai doit contenir les informations suivantes :

- référence à la présente Norme internationale;
- référence à la méthode utilisée (méthode A ou méthode B);
- nom, caractéristiques et propriétés du produit à expérimenter;
- origine, concentration de la boue activée et toute indication de prétraitement;
- température d'essai;
- nom de la substance de référence et résultat des mesures d'inhibition par cette substance (CE 50);
- consommation abiotique d'oxygène dans le témoin physico-chimique;
- résultats de l'essai, en particulier la CE 50 et, si possible, d'autres données statistiques (voir chapitre 8);
- toutes les données issues des mesures et la courbe d'inhibition (voir chapitre 8);
- toutes observations et modifications au présent mode opératoire susceptibles d'avoir agi sur les résultats.

Annexe

Modes opératoires des essais

(Cette annexe fait partie intégrante de la norme.)

A.1 Méthode A — Faible concentration en boue activée

La concentration en boue activée du mélange d'essai est faible (environ 100 à 200 mg/l de matières en suspension). Les mélanges d'essai ne sont aérés qu'au début de l'essai.

Préparer les mélanges pour l'essai préliminaire comme indiqué au tableau 3.

Un exemple de dispositif de mesure est donné à la figure 1 pour la méthode A.

Dans la mesure du possible, conserver toutes les solutions à une température constante de 20 ± 2 °C, et effectuer l'essai à cette température. Les solutions doivent être saturées le plus possible en air avant que les mélanges ne soient préparés.

Préparer les mélanges en ajoutant environ deux tiers d'eau, le produit à expérimenter (sauf pour F_B) et le milieu synthétique dans les récipients d'essai.

Ajouter la boue activée, aérée et soigneusement mélangée, dans chaque récipient d'essai (sauf pour F_{PC}) en respectant un intervalle de 5 min entre chaque mélange. Remplir les récipients d'essai complètement avec de l'eau, fermer avec un bouchon et mettre en marche l'agitateur magnétique.

Au bout de 30 min, stopper l'agitateur dans le premier récipient d'essai et déboucher. Insérer l'adaptateur muni de l'électrode à oxygène et remettre immédiatement en marche l'agitateur. Attendre l'équilibre et mesurer la concentration en oxygène dissous. Stopper à nouveau l'agitateur, retirer l'électrode à oxygène, replacer le bouchon sans introduire de bulle d'air et remettre en marche l'agitateur.

Répéter cette opération pour chaque récipient d'essai, 30 min après l'ajout de la boue activée.

Poursuivre l'opération toutes les 30 min pendant 3 h ou jusqu'à ce que la concentration en oxygène dissous ait atteint 1 mg/l.

NOTE — La quantité de boue à utiliser doit être celle pour laquelle il résulte une diminution de l'oxygène dissous à partir de la valeur de saturation d'environ 9 mg/l à 1 mg/l en 3 h environ. Cela peut être vérifié au préalable et la concentration finale de boue peut être ajustée pour fournir l'activité nécessaire.

Tracer pour chaque récipient d'essai une courbe de la concentration en oxygène dissous en fonction du temps. Le taux de consommation d'oxygène, R , exprimé en milligrammes par litre par heure, sur la partie linéaire de la courbe est donné par l'équation

$$R = \frac{Q_1 - Q_2}{\Delta t} \times 60$$

où

Q_1 est la première mesure sur la partie linéaire de la courbe, de la concentration en oxygène dissous, en milligrammes par litre;

Q_2 est la dernière mesure sur la partie linéaire de la courbe, de la concentration en oxygène dissous, en milligrammes par litre;

Δt est l'intervalle de temps, en minutes, qui sépare ces deux mesures.

L'essai définitif est effectué de la même manière que l'essai préliminaire. Il est nécessaire d'utiliser au moins cinq concentrations en série logarithmique. Par exemple, pour une substance qui, lors de l'essai préliminaire, provoque une inhibition complète à 100 mg/l et aucune inhibition à 1 mg/l, une série appropriée peut être 3,2; 5,6; 18; 32 et 56 mg/l.

Il peut être également possible d'utiliser les données de l'essai préliminaire avec celles de l'essai définitif pour calculer ou interpoler les résultats d'essai.

La série disponible pour le calcul est alors 1; 3,2; 5,6; 10; 18; 32; 56 et 100 mg/l.

Si nécessaire, la même procédure est appliquée pour vérifier la sensibilité de la boue activée à l'aide de la substance de référence.

Calculer et exprimer les résultats d'essai comme indiqué au chapitre 8.

Tableau 3 – Méthode A – Mélanges pour l'essai préliminaire

Concentrations initiales des réactifs						
Solution mère du produit à expérimenter		1 g/l				
Solution mère du milieu synthétique		Voir 4.2				
Boue activée		3 g/l de matières en suspension				
Composants des mélanges	Récipient d'essai ¹⁾					
	F _{T1}	F _{T2}	F _{T3}	F _B	F _{PC}	
Solution mère du produit à expérimenter (ml)	0,3	3	30	0	30	
Solution mère du milieu synthétique (ml)	10	10	10	10	10	
Boue activée (ml)	10	10	10	10	0	
Eau (ml)	279,7	277	250	280	260	
Volume total des mélanges (ml)	300	300	300	300	300	
Concentrations dans les mélanges d'essai						
Produit à expérimenter (mg/l)	1	10	100	0	100	
Boue activée (mg/l de matières en suspension)	100	100	100	100	0	

1) La même procédure doit être suivie pour les substances de référence, F_{R1}, F_{R2}



Figure 1 – Exemple de dispositif de mesure pour la méthode A

A.2 Méthode B — Forte concentration en boue activée

La concentration en boue activée dans le mélange d'essai doit être environ de 1 500 mg/l de matières en suspension. Les mélanges pour essai sont aérés pendant toute la durée de l'essai. Les mesures de consommation d'oxygène sont effectuées après 30 min d'incubation. S'il s'avère nécessaire d'avoir plus d'informations après un temps de contact prolongé, les mesures sont effectuées également après 3 h d'incubation.

Préparer les mélanges pour l'essai préliminaire dans des récipients de mélange d'environ 1 000 ml comme indiqué au tableau 4.

Toutes les solutions et le local où est effectué l'essai doivent être à une température constante, par exemple, de 20 ± 2 °C.

Préparer les mélanges en ajoutant environ deux tiers d'eau, le produit à expérimenter (sauf en F_B) et le milieu synthétique dans les récipients de mélange équipés d'agitateurs magnétiques.

Ajouter la boue activée dans chaque récipient de mélange (sauf en F_C) en respectant un intervalle de 10 min entre chaque mélange. Compléter immédiatement à 500 ml avec de l'eau.

Aérer les récipients de mélange et mettre en route les agitateurs magnétiques.

30 min après avoir préparé le premier mélange, commencer à mesurer la concentration en oxygène dissous. Prélever un échantillon du premier récipient de mélange et mesurer le taux.

Par exemple, utiliser l'échantillon pour remplir une bouteille à DBO équipée d'un agitateur magnétique. Insérer un adaptateur muni d'une électrode à oxygène dans le col de la bouteille et mettre en marche l'agitateur magnétique. Mesurer et noter la concentration en oxygène dissous toutes les 5 à 10 min, ou jusqu'à ce que la concentration en oxygène soit inférieure à

1 mg/l. Retirer alors l'électrode, remettre le mélange dans le récipient d'essai et poursuivre l'aération et l'agitation. Répéter cette opération avec des échantillons provenant de chaque récipient d'essai pour obtenir une série de lectures à 30 min d'intervalle pour tous les mélanges d'essai. Si l'on désire avoir plus d'informations après un temps de contact prolongé, répéter l'opération après 180 min à partir du début de l'incubation.

En variante, au lieu de transvaser l'échantillon dans une bouteille à DBO, le placer dans une cuve de mesure cylindrique d'environ 20 ml de volume, munie d'une électrode à oxygène et d'un agitateur magnétique. Dans ce cas, réduire le volume des mélanges à 200 ml environ. Les échantillons analysés sont éliminés. Avant une nouvelle mesure, la cuve doit être lavée à l'eau du robinet. Un exemple d'un tel type de dispositif de mesure est donné à la figure 2.

Le taux de consommation d'oxygène, R , en milligrammes par litre/heure, peut être calculé ou interpolé à partir de la partie linéaire des courbes de diminution des concentrations en oxygène, suivant l'équation

$$R = \frac{e_1 - e_2}{\Delta t} \times 60$$

où

e_1 est la concentration, en milligrammes par litre, en oxygène, au début de la phase linéaire;

e_2 est la concentration, en milligrammes par litre, en oxygène, à la fin de la phase linéaire;

Δt est l'intervalle de temps, en minutes, entre ces deux mesures.

Effectuer l'essai définitif de la même façon que l'essai préliminaire. Pour plus d'indications sur les concentrations recommandées, voir le chapitre A.1.