

# NORME INTERNATIONALE

**ISO  
9408**

Première édition  
1991-02-15

---

---

**Qualité de l'eau — Évaluation, en milieu aqueux,  
de la biodégradabilité aérobie «ultime» des  
composés organiques — Méthode par  
détermination de la demande en oxygène dans  
un respiromètre fermé  
(standards.iteh.ai)**

*Water quality — Evaluation in an aqueous medium of the «ultimate»  
aerobic biodegradability of organic compounds — Method by  
determining the oxygen demand in a closed respirometer*



Numéro de référence  
ISO 9408:1991(F)

## 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 en général 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. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

La Norme internationale ISO 9408 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 147, *Qualité de l'eau*.

Les annexes A, B, C et D de la présente Norme internationale sont données uniquement à titre d'information.

© ISO 1991

Droits de reproduction réservés. Aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie et les microfilms, sans l'accord écrit de l'éditeur.

Organisation internationale de normalisation  
Case Postale 56 • CH-1211 Genève 20 • Suisse

Imprimé en Suisse

# Qualité de l'eau — Évaluation, en milieu aqueux, de la biodégradabilité aérobie «ultime» des composés organiques — Méthode par détermination de la demande en oxygène dans un respiromètre fermé

## 1 Domaine d'application

La présente Norme internationale prescrit une méthode pour l'évaluation en milieu aqueux de la biodégradabilité «ultime» de composés organiques présents à une concentration donnée sous l'action de micro-organismes aérobies, par détermination de la demande en oxygène dans un respiromètre fermé.

Les conditions décrites dans la présente Norme internationale ne correspondent pas toujours aux conditions optimales d'obtention de la biodégradation maximum.

La méthode peut s'appliquer à des composés organiques

- a) solubles dans les conditions de l'essai;
- b) insolubles dans les conditions de l'essai, auquel cas il peut être nécessaire de prendre des mesures particulières assurant une bonne dispersion du composé;
- c) n'atteignant pas l'absorbant de CO<sub>2</sub> et ne réagissant pas avec lui;
- d) volatils, à condition d'utiliser un respiromètre adapté;
- e) n'ayant pas d'action inhibitrice, à la concentration choisie, sur les micro-organismes utilisés pour l'essai. L'existence d'une action inhibitrice peut être mise en évidence suivant la méthode prescrite en 8.3, ou par toute autre méthode de détermination de l'action inhibitrice d'une substance sur les bactéries (voir par exemple ISO 8192).

## 2 Références normatives

Les normes suivantes contiennent des dispositions qui, par suite de la référence qui en est faite, constituent des dispositions valables pour la présente Norme internationale. Au moment de la publication, les éditions indiquées étaient en vigueur. Toute norme est sujette à révision et les parties prenantes des accords fondés sur la présente Norme internationale sont invitées à rechercher la possibilité d'appliquer les éditions les plus récentes des normes indiquées ci-après. Les membres de la CEE et de l'ISO possèdent le registre des Normes internationales en vigueur à un moment donné.

ISO 6060:1989, *Qualité de l'eau — Détermination de la demande chimique en oxygène.*

ISO 6107-2:1989, *Qualité de l'eau — Vocabulaire — Partie 2.*

ISO 7827:1984, *Qualité de l'eau — Évaluation en milieu aqueux de la biodégradabilité aérobie «ultime» des composés organiques — Méthode par analyse du carbone organique dissous (COD).*

ISO 8192:1986, *Qualité de l'eau — Essai d'inhibition de la consommation d'oxygène par des boues actives.*

## 3 Définitions

Pour les besoins de la présente Norme internationale, les définitions suivantes s'appliquent.

**3.1 dégradation ultime:** Niveau de dégradation atteint lorsque le composé soumis à l'essai a été totalement transformé par les micro-organismes en dioxyde de carbone, eau, sels minéraux et nouveaux constituants cellulaires microbiens (biomasse).

**3.2 demande biochimique en oxygène (DBO):**

Concentration en masse de l'oxygène dissous consommé, dans des conditions définies, lors de l'oxydation biologique de matières organiques et/ou inorganiques contenues dans l'eau (voir ISO 6107-2).

**3.3 matières en suspension (dans une boue activée):**

Matières éliminées par filtration ou centrifugation d'un volume connu de boue dans des conditions définies et, dans le cadre de la présente Norme internationale, dessiccation à environ 100 °C.

**3.4 préexposition (ou préadaptation):**

Préincubation d'un inoculum en présence du composé à expérimenter, destinée à accroître l'aptitude de l'inoculum à dégrader le composé.

**3.5 préconditionnement:**

Préincubation d'un inoculum dans les conditions d'essai, mais en l'absence du composé à expérimenter, destinée à améliorer l'efficacité de l'essai.

**4 Principe**

Évaluation de la biodégradation de composés organiques par des micro-organismes aérobies, dans un milieu d'essai.

Le composé organique à expérimenter constitue la seule source de carbone et d'énergie dans le milieu. Sa concentration est normalement de 100 mg/l, mais sa demande théorique en oxygène (DThO) doit être au moins égale à 100 mg/l.

Le milieuensemencé est agité dans une fiole fermée et la consommation d'oxygène déterminée par mesurage de la quantité d'oxygène nécessaire au maintien d'un volume de gaz constant dans le respiromètre, ou des variations de volume et/ou de pression dans l'appareil.

Le dioxyde de carbone dégagé est absorbé par une substance appropriée, à l'intérieur de la fiole d'essai.

On suit la dégradation sur une période de 28 jours, ou davantage si nécessaire, en déterminant la consommation d'oxygène de façon automatique ou manuelle. La quantité d'oxygène consommé par le composé organique (après correction par comparaison avec l'essai à blanc) est exprimée en pourcentage de la demande théorique en oxygène (DThO) calculée à partir de la formule chimique du composé ou de la demande chimique en oxygène (DCO). Par ailleurs, le taux de biodégradation peut également être calculé à partir de résultats d'analyses complémentaires, par exemple le dosage du carbone organique dissous (COD), ou d'analyses spécifiques (concernant seulement la biodégradation primaire), réalisées en début ou fin d'incubation. L'évaluation de la biodégradabilité du

composé organique s'effectue à partir de ces données.

**5 Environnement d'essai**

L'incubation doit être menée à l'obscurité ou sous lumière diffuse dans une enceinte maintenue à température constante (à  $\pm 1$  °C près) comprise entre 20 °C et 25 °C, et ne contenant pas de vapeurs toxiques.

**6 Réactifs**

Utiliser exclusivement des réactifs de qualité analytique reconnue.

**6.1 Eau distillée ou déminéralisée.**

Elle doit contenir moins de 10 % de la concentration initiale du COD apporté par le composé organique.

**6.2 Milieu d'essai****6.2.1 Composition****6.2.1.1 Solution (a).**

Dihydrogénophosphate de potassium anhydre ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	8,5 g
Monohydrogénophosphate de potassium anhydre ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )	21,75 g
Monohydrogénophosphate de sodium dihydraté ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	33,4 g
Chlorure d'ammonium ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ )	0,5 g
Eau (6.1): compléter à	1 000 ml

Le pH de la solution doit normalement être d'environ 7,4.

**6.2.1.2 Solution (b).**

Dissoudre dans 1 000 ml d'eau (6.1), 22,5 g de sulfate de magnésium heptahydraté ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ).

**6.2.1.3 Solution (c).**

Dissoudre dans 1 000 ml d'eau (6.1), 27,5 g de chlorure de calcium anhydre ( $\text{CaCl}_2$ ) ou 36,4 g de chlorure de calcium dihydraté ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ).

**6.2.1.4 Solution (d).**

Dissoudre dans 1 000 ml d'eau (6.1), 0,25 g de chlorure de fer (III) hexahydraté ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ). Préparer la solution juste avant emploi.

NOTE 1 Cette précaution n'est pas nécessaire si l'on ajoute à la solution une goutte d'acide chlorhydrique concentré (HCl) ou 0,4 g/l d'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA).

### 6.2.2 Préparation du milieu d'essai.

Pour 1 l de milieu d'essai, ajouter juste avant emploi, à 800 ml d'eau (6.1)

- 10 ml de solution (a);
- puis (pour éviter l'apparition de turbidité dans le milieu final) 1 ml de chacune des solutions (b), (c) et (d).

Compléter à 1 000 ml avec de l'eau (6.1).

**6.3 Absorbant du dioxyde de carbone**, solution d'hydroxyde de potassium (à environ 10 mol/l), pastilles de carbonate de sodium ou tout autre absorbant approprié.

## 7 Appareillage

S'assurer que la verrerie de laboratoire a été soigneusement nettoyée et, notamment, qu'elle est exempte de toute trace de substances organiques ou toxiques.

Matériel courant de laboratoire, et

### 7.1 Respiromètre fermé.

Le principe de fonctionnement d'un respiromètre fermé est décrit dans l'annexe D. Pour les essais portant sur des composés volatils, il faut utiliser un appareil spécifique ou adapté à cet usage particulier. Aucune perte de composant ne doit se produire du fait de l'appareil.

**7.2 Bain-marie ou enceinte isotherme**, (voir prescriptions de l'article 5).

**7.3 Matériel de mesurage du carbone organique dissous**, instrument de mesure du carbone organique dissous (COD) de sensibilité suffisante.

**7.4 Dispositif de détermination de la demande chimique en oxygène (DCO).**

**7.5 Dispositif de filtration**, comportant des membranes de porosité adéquate (diamètre nominal des pores de 0,2 µm à 0,45 µm), dans lequel l'adsorption des composés organiques ou le relargage du carbone organique sont réduits au minimum (voir note 3 en 8.3).

**7.6 Centrifugeuse.**

**7.7 pH-mètre.**

## 8 Mode opératoire

### 8.1 Préparation des solutions d'essai

Préparer les solutions suivantes:

- a) solution à 100 mg/l, mais de DThO au moins égale à 100 mg/l, du composé organique à expérimenter dans le milieu d'essai (6.2);
- b) solution à 100 mg/l d'un composé organique connu (dit composé de référence) dans le milieu d'essai (6.2). Le composé de référence peut être, par exemple, de l'acétate de sodium, du benzoate de sodium ou de l'aniline;
- c) solution contenant, dans le milieu d'essai (6.2), le composé à expérimenter et le composé de référence aux mêmes concentrations que dans les solutions a) et b).

NOTE 2 Les composés faiblement solubles dans l'eau peuvent être ajoutés directement au milieu, sous forme liquide ou solide, dans la fiole appropriée. Une Norme internationale sera ultérieurement élaborée comme directive à ce sujet.

### 8.2 Préparation de l'inoculum

Prélever un échantillon de boue activée dans le bassin d'aération d'une usine de traitement biologique des eaux résiduaires, ou d'un laboratoire, traitant essentiellement des déchets domestiques. Si la boue respire activement sur substrat externe, la faire passer en phase «endogène» (c'est-à-dire supprimer tout substrat externe) suivant l'une des deux méthodes suivantes:

- aérer pendant quelques heures avant l'emploi, ou
- centrifuger, laver avec le milieu (6.2), recentrifuger et remettre en suspension dans le milieu (ce traitement est recommandé lorsqu'on soupçonne la présence dans la boue de substances inhibitrices).

Lorsqu'on estime qu'elle est en phase «endogène», ou exempte de substances inhibitrices, bien mélanger la boue, la maintenir en conditions aérobies en l'agitant ou en l'aérant à la température requise, et l'utiliser le jour du prélèvement ou au plus tard le lendemain. Déterminer, juste avant l'emploi, la concentration des matières en suspension. Si nécessaire, concentrer la boue par décantation, afin que le volume de boue à utiliser pour obtenir 30 mg/l de matière sèche dans le mélange réactionnel soit inférieur ou égal à 1 % du mélange, c'est-à-dire que la boue doit normalement contenir au moins 3 g/l de matière sèche.



## NOTES

3 On a pu constater qu'une concentration de matières en suspension de 30 mg/l convient pour des concentrations du composé à expérimenter comprises entre 50 mg/l et 150 mg/l. La consommation d'oxygène dans la solution à blanc ne doit pas dépasser 60 mg/l en 28 jours et doit normalement être comprise entre 20 mg/l et 30 mg/l. Pour réduire l'influence du blanc, on peut préconditionner la boue (voir 3.5), par aération pendant au plus une semaine avant utilisation.

4 L'utilisation d'inocula provenant d'effluents secondaires ou d'eau de surface est également admise, mais il peut être nécessaire de concentrer ces inocula, par filtration ou centrifugation, pour obtenir une biomasse plus importante.

5 Dans certaines circonstances, il est admis d'utiliser des inocula préexposés, à condition que cela soit clairement mentionné dans les résultats d'essai (par exemple: pourcentage de biodégradation =  $x$  %, avec inocula préexposés) et que la méthode de préexposition soit détaillée dans le rapport d'essai.

Des inocula préexposés peuvent être obtenus à partir d'essais de biodégradation en laboratoire effectués dans différentes conditions (par exemple, essais SCAS ou de Zahn-Wellens) ou à partir d'échantillons prélevés à des emplacements où sont réunies les conditions d'environnement appropriées (par exemple, usines assurant le traitement de composés identiques, zones contaminées, etc.).

### 8.3 Essai

Monter le respiromètre (voir 7.1 et exemple décrit dans l'annexe D). Prévoir un nombre de fioles suffisant pour que l'expérience comprenne au moins

- a) deux fioles destinées à l'essai proprement dit (symbole  $F_T$ ), contenant le volume convenable de solution d'essai [8.1, solution a)];
- b) deux fioles destinées à l'essai à blanc (symbole  $F_B$ ), contenant le volume convenable de milieu d'essai (6.2);
- c) si nécessaire, une fiole destinée au contrôle de l'activité de l'inoculum (symbole  $F_C$ ), contenant le volume convenable de la solution du composé de référence [8.1, solution b)];
- d) et, si nécessaire, une fiole destinée à la mise en évidence d'une éventuelle dégradation abiotique ou de tout autre processus d'élimination non biologique du composant (symbole  $F_S$ ), contenant un volume convenable de solution d'essai [8.1, solution a)] stérilisé par addition, par exemple, de 1 ml/l d'une solution contenant 10 g/l de chlorure de mercure(II) ( $HgCl_2$ ) ou un autre composé toxique inhibant l'activité microbienne (voir note 6);

- e) pour la mise en évidence d'une éventuelle action inhibitrice du composé à expérimenter sur l'activité microbienne, une fiole (symbole  $F_I$ ) (voir note 7).

Mesurer le pH et l'ajuster à 7,4 si nécessaire.

Introduire l'absorbant (6.3) dans les compartiments d'absorption de  $CO_2$  du respiromètre.

Placer les fioles du respiromètre dans le bain-marie ou l'enceinte isotherme (7.2) et attendre qu'elles aient toutes atteint la température désirée (article 5). Introduire dans les fioles  $F_T$ ,  $F_B$ ,  $F_C$  et éventuellement  $F_I$ , le volume d'inoculum nécessaire pour obtenir, dans chacune, une concentration de matières en suspension de 30 mg/l. Fermer hermétiquement les fioles, effectuer les branchements nécessaires pour les respiromètres automatiques, et mettre l'agitateur en marche.

Effectuer les lectures nécessaires sur les manomètres (essai manuel) ou vérifier que l'enregistreur de consommation d'oxygène fonctionne correctement (respiromètre automatique).

Arrêter l'essai au bout de 28 jours, ou plus tôt si le plateau de la courbe de consommation d'oxygène est atteint. Prolonger l'essai de 1 semaine à 2 semaines si, au 28<sup>ème</sup> jour, la dégradation a visiblement commencé, mais que le palier n'a pas été atteint.

Vérifier le pH des mélanges réactionnels finaux à la fin de l'essai.

Lorsque l'on surveille la concentration de COD ou d'un composé spécifique, prélever des échantillons de taille appropriée dans les fioles respirométriques en début et en fin d'essai (il est également admis de déterminer la valeur initiale par le calcul). Filtrer ces échantillons sur membrane (voir 7.5) ou les centrifuger à 4000 g pendant 15 min (voir 7.6). Si les dosages du carbone organique ne sont pas effectués le jour même, conserver les échantillons dans des flacons en verre hermétiquement fermés, à 4 °C et à l'obscurité. Il est à noter que la durée du stockage ne doit pas dépasser 48h.

Si le composé à expérimenter contient de l'azote, déterminer la concentration finale en nitrate et en nitrite dès la fin de l'essai, ou dans des échantillons conservés dans des conditions convenables, afin de pouvoir corriger le taux de biodégradation calculé pour tenir compte de la nitrification (voir annexe B). Une autre méthode possible consiste à réaliser un test de mise en évidence qualitative du nitrate et du nitrite sur un faible volume de mélange réactionnel prélevé dans chacune des fioles et à n'effectuer de mesures quantitatives que si l'on obtient un résultat positif.

## NOTES

6 Il est possible de déceler l'existence éventuelle d'un processus de dégradation physico-chimique du composé à expérimenter en comparant les pourcentages de disparition dans les fioles  $F_T$  et  $F_S$ . Le résultat doit figurer dans le rapport d'essai.

7 Pour vérifier si le composé à expérimenter exerce ou non une action inhibitrice sur l'inoculum, une fiole  $F_I$  contenant le volume adéquat de la solution c) définie en 8.1 peut être incluse dans l'essai.

8 Il convient de prendre pour concentration initiale du COD la concentration en COD de la solution d'essai, déterminée par le calcul ou la mesure en début d'essai (jour 0). Cette valeur doit ensuite être comparée à la concentration finale afin de calculer le taux de disparition. Il ne faut pas oublier que, dans le cas des mélanges, il peut se produire une adsorption sélective des différents constituants.

## 9 Calcul et expression des résultats

### 9.1 Calcul

Calculer la consommation d'oxygène dans chacune des fioles, à partir des résultats lus, suivant la méthode indiquée par le fabricant pour le type de respiromètre considéré. Calculer la demande biochimique en oxygène (en milligrammes par litre) du composé organique à expérimenter comme la différence entre la consommation d'oxygène dans les fioles  $F_T$  et dans la fiole d'essai à blanc  $F_B$ . Diviser la valeur obtenue par la concentration du composé à expérimenter pour obtenir la consommation nette d'oxygène exprimée par la DBO spécifique (en milligrammes de  $O_2$  par milligramme de composé)

$$\text{DBO spécifique} = \frac{\text{DBO}_t - \text{DBO}_{\text{Bl},t}}{\rho(\text{CE})}$$

où

$\text{DBO}_t$  est la demande biochimique en oxygène de la solution d'essai à l'instant  $t$ ;

$\text{DBO}_{\text{Bl},t}$  est la demande biochimique en oxygène du blanc à l'instant  $t$ ;

$\rho(\text{CE})$  est la concentration du composé à expérimenter.

La dégradation est définie comme le rapport de la demande biochimique en oxygène spécifique à la demande théorique en oxygène (DThO) ou à la demande chimique en oxygène (DCO). Déterminer, pour chacune des fioles d'essai, le pourcentage de dégradation ( $D_t$ ) d'après l'une des équations suivantes:

$$D(\text{DThO})_t = \frac{\text{DO}}{\text{DThO}} \times 100$$

$$D(\text{DCO})_t = \frac{\text{DO}}{\text{DCO}} \times 100$$

où

$D(\text{DThO})_t$  est le pourcentage de biodégradation de la DThO à l'instant  $t$ ;

$D(\text{DCO})_t$  est le pourcentage de biodégradation de la DCO à l'instant  $t$ ;

DThO est la demande théorique en oxygène, exprimée en milligrammes par milligramme du composé à expérimenter; (voir annexe A et annexe B pour le calcul de sa valeur);

DCO est la demande chimique en oxygène déterminée expérimentalement et exprimée en milligrammes par milligramme du composé à expérimenter;

DO est la demande en oxygène, exprimée en milligrammes par milligramme du composé à expérimenter.

NOTE 9 La DCO d'une substance étant très souvent inférieure à sa DthO, le pourcentage de dégradation par rapport à la DCO est généralement supérieur au pourcentage de dégradation par rapport à la DThO. Cette dernière valeur est plus précise.

Lorsque l'on procède à des dosages du carbone organique dissous COD (facultatifs et effectués en début et en fin d'essai), calculer le taux de biodégradation du composé à expérimenter comme le pourcentage de disparition du COD, d'après la formule

$$D_t = \left[ 1 - \frac{\rho(\text{COD})_t - \rho(\text{COD})_{\text{Bl},t}}{\rho(\text{COD})_o - \rho(\text{COD})_{\text{Bl},o}} \right] \times 100$$

où

$D_t$  est le taux de dégradation exprimé par le pourcentage de disparition du COD (en fin d'essai);

$\rho(\text{COD})_o$  est la concentration initiale de COD dans le milieu de culture, mesurée ou calculée, en milligrammes de COD par litre;

$\rho(\text{COD})_t$  est la concentration de COD dans le milieu de culture à la fin de l'expérience, en milligrammes de COD par litre;

$\rho(\text{COD})_{\text{Bl},t}$  est la concentration de COD dans la solution d'essai à blanc à la fin de l'expérience, en milligrammes de COD par litre;

$\rho(\text{COD})_{\text{BI},0}$  est la concentration initiale de COD dans la solution d'essai à blanc, en milligrammes de COD par litre.

Si le  $\rho(\text{COD})_0$  est calculé à partir de la solution mère,  $\rho(\text{COD})_{\text{BI},0}$  est négligé.

Lorsque des analyses spécifiques sont réalisées sur le composé à expérimenter, calculer le pourcentage de dégradation primaire du composé d'après la formule

$$D_t = \frac{\rho(\text{CE})_b - \rho(\text{CE})_a}{\rho(\text{CE})_b} \times 100$$

où, en fin d'expérience,

$\rho(\text{CE})_a$  est la concentration du composé organique dans la fiole d'essai  $F_T$  (résultat expérimental, en milligrammes par litre);

$\rho(\text{CE})_b$  est la concentration du composé organique dans la fiole d'essai à blanc  $F_B$  (résultat expérimental, en milligrammes par litre).

## 9.2 Expression des résultats

Tracer la courbe de dégradation obtenue pour chacune des fioles en portant en abscisse le temps, et en ordonnée, le pourcentage de dégradation  $D_t$  (voir exemple de l'annexe C). Si les résultats obtenus pour les deux fioles d'essai sont comparables, tracer la courbe moyenne.

Si les données disponibles le permettent, faire clairement apparaître sur la courbe le temps de latence, le taux de dégradation maximal et le temps de dégradation.

## 10 Validité des résultats

### 10.1 Biodégradation du composé de référence

S'il apparaît, lors de l'essai mené sur l'un des composés de référence proposés, que le pourcentage de dégradation est inférieur à 50 % au bout de 5 jours, les résultats de l'essai ne sont pas valides et il faut répéter une série de mesures.

### 10.2 Inhibition

Si l'essai comprend une fiole  $F_I$  (témoin d'inhibition), on considère que le composé organique à expérimenter a une action inhibitrice si le pourcentage de dégradation du composé de référence de la fiole  $F_I$  est inférieur à 40 %. Dans ce cas, il est conseillé de répéter l'essai avec des concentrations plus faibles du composé à expérimenter.

### 10.3 Valeur du pH

Si, en fin d'essai, le pH prend une valeur inférieure à 6 ou supérieure à 8 et si le pourcentage de dégradation est inférieur à 50 %, il est conseillé de répéter l'essai avec une concentration plus faible de composé et/ou une concentration plus forte de solution tampon.

## 11 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit contenir au moins les informations suivantes:

- référence à la présente Norme internationale;
- toutes informations nécessaires à l'identification du composé étudié et du composé de référence;
- caractéristiques principales du respiromètre et de l'analyseur de COD;
- ensemble des résultats obtenus (présentés par exemple sous forme de tableau) et courbe de dégradation (voir 9.1 et 9.2);
- concentration du composé étudié et du composé de référence utilisé;
- origine, caractéristiques et volume de l'inoculum utilisé, et éventuellement, description détaillée du traitement de préexposition;
- température d'incubation de l'essai;
- demande théorique en oxygène (ou DCO) et COD théorique ou mesuré du composé étudié et du composé de référence;
- DBO du composé étudié et pourcentage par rapport à la demande théorique en oxygène;
- DBO du composé de référence et pourcentage par rapport à la demande théorique en oxygène;
- pourcentage de dégradation obtenu par suivi du COD ou par analyse chimique du composé étudié et du composé de référence (le cas échéant);
- résultats des tests de dégradation physico-chimique et de toxicité, obtenus par suivi de la consommation d'oxygène et/ou du COD (le cas échéant);
- motifs d'un éventuel rejet de l'essai (article 10);
- toute autre indication importante concernant le mode opératoire suivi.



## Annexe A (informative)

### Exemple de calcul de la demande théorique en oxygène

La DThO de la substance  $C_c H_h Cl_{cl} N_n Na_{na} O_o P_p S_s$ , de masse moléculaire relative  $M_r$ , peut être calculée d'après la formule

$$DThO_{NH_3} = \frac{16 \left[ 2c + \frac{1}{2} (h - cl - 3n) + 3s + \frac{5}{2} p + \frac{1}{2} na - o \right]}{M_r}$$

Ce calcul implique que C est minéralisé en  $CO_2$ , H en  $H_2O$ , P en  $P_2O_5$  et Na en  $Na_2O$ . L'halogène est éliminé sous forme d'halogénure et l'azote sous forme d'ammoniac.

#### A.1 Exemple: glucose ( $C_6H_{12}O_6$ ), $M_r = 180$ g

$$DThO = \frac{16 \left( 2 \cdot 6 + \frac{1}{2} \cdot 12 - 6 \right)}{180} = 1,07 \text{ mg } O_2/\text{mg de glucose}$$

Le calcul de la masse moléculaire relative des sels autres que ceux des métaux alcalins est fondé sur l'hypothèse que ces sels sont hydrolysés.

Le soufre est supposé être oxydé à l'état + VI.

#### A.2 Exemple: dodécylbenzènesulfonate de sodium ( $C_{18}H_{29}SO_3Na$ ) $M_r = 348$ g

$$DThO = \frac{16 \left( 36 + \frac{29}{2} + 3 + \frac{1}{2} - 3 \right)}{348} = 2,34 \text{ mg } O_2/\text{mg de composé}$$

Dans le cas de composés contenant de l'azote, celui-ci peut être éliminé sous forme d'ammoniac, de nitrite ou de nitrate, avec des demandes théoriques en oxygène respectivement égales à

$$DThO_{NO_2} = \frac{16 \left[ 2c + \frac{1}{2} (h - cl) + 3s + \frac{3}{2} n + \frac{5}{2} p + \frac{1}{2} na - o \right]}{M_r}$$

$$DThO_{NO_3} = \frac{16 \left[ 2c + \frac{1}{2} (h - cl) + 3s + \frac{5}{2} n + \frac{5}{2} p + \frac{1}{2} na - o \right]}{M_r}$$

Dans le cas, par exemple, de la décomposition totale en nitrate (observée par analyse) d'une amine secondaire:

$(C_{12}H_{25})_2 NH$ ,  $M_r = 353$  g

$$DThO_{NO_3} = \frac{16 \left( 48 + \frac{50}{2} + \frac{5}{2} \right)}{353} = 3,42 \text{ mg } O_2/\text{mg de composé}$$