

NORME
INTERNATIONALE

ISO
10634

Première édition
1995-08-15

**Qualité de l'eau — Lignes directrices pour
la préparation et le traitement des
composés organiques peu solubles dans
l'eau en vue de l'évaluation de leur
biodégradabilité en milieu aqueux**

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2005-10-01/iso-10634>
*Water quality — Guidance for the preparation and treatment of poorly
water-soluble organic compounds for the subsequent evaluation of their
biodegradability in an aqueous medium*



Numéro de référence
ISO 10634:1995(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 10634 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 147, *Qualité de l'eau*, sous-comité SC 5, *Méthodes biologiques*.

L'annexe A de la présente Norme internationale est donnée uniquement à titre d'information.

ITih STANDARD PREVIEW

(standards.iteh.ai)

ISO 10634:1995

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2b6341bb-7ae7-4fb5-a09e-feabc1a11b15/iso-10634-1995>

Introduction

Les travaux de normalisation menés au sein de l'ISO/TC 147/SC 5 ont montré qu'il n'était pas envisageable de normaliser dans l'immédiat une méthode unique pour l'évaluation de la biodégradabilité des composés organiques peu solubles dans l'eau. En effet, le choix du mode opératoire le plus approprié pour obtenir une émulsion ou une dispersion satisfaisante de ces substances dans les milieux d'essai dépend, en particulier, de leurs propriétés physico-chimiques. Il est donc nécessaire de laisser à l'appréciation du laboratoire chargé des essais la sélection de la méthode la plus adaptée en fonction de son expérience propre et des informations sur les produits fournis par le demandeur. C'est pourquoi la présente Norme internationale décrit plusieurs techniques pour le traitement des composés organiques peu solubles avant de réaliser des essais de biodégradabilité en ayant pour objectif de faire en sorte que, pour une technique donnée, le même mode opératoire soit mis en œuvre par tous les laboratoires, rendant ainsi plus aisée la comparaison des résultats.

Les techniques décrites dans la présente Norme internationale ne donnent pas nécessairement les mêmes résultats lorsqu'elles sont menées en parallèle. L'emploi de solvants et de techniques de dispersion ou d'émulsion peuvent être des sources supplémentaires d'erreurs et peuvent conduire à des résultats d'essai différents de ceux obtenus sans utiliser ces techniques. De plus, des dispersions ou émulsions n'existant pas comme telles à l'état naturel peuvent être produites pour lesquelles le taux et le degré de biodégradabilité sont augmentés en raison de la présence de fines particules. Ces faits doivent être considérés pour l'évaluation et l'interprétation des résultats d'essai de biodégradabilité. Il est recommandé de réaliser, en premier lieu, les essais de biodégradabilité par addition directe du composé à expérimenter et de réaliser cet essai en parallèle aux essais faisant appel aux techniques de dispersion.

Normalement, il est recommandé de soumettre à l'essai des composés purs ou pratiquement purs. Si des mélanges ou des substances multicomposés sont examinés, l'utilisation de solvants et de techniques de dispersion peuvent conduire à des distributions hétérogènes non représentatives et à des résultats d'essai de biodégradabilité erronés.

Page blanche

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 10634:1995

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2b634ebb-7ae7-4fb5-a09e-feabc1a11b15/iso-10634-1995>

Qualité de l'eau — Lignes directrices pour la préparation et le traitement des composés organiques peu solubles dans l'eau en vue de l'évaluation de leur biodégradabilité en milieu aqueux

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale décrit quatre techniques pour la préparation des composés organiques peu solubles dans l'eau et leur introduction dans des récipients d'essai en vue d'essais de biodégradabilité en milieu aqueux selon des méthodes normalisées. Les composés à expérimenter en question ne sont pas suffisamment solubles dans l'eau pour être soumis aux essais de biodégradabilité classiques, comme décrit dans les méthodes d'essai respectives citées dans l'article 2.

Les techniques de préparation sont les suivantes:

- addition directe (article 3): cette technique est réservée aux composés d'essai non volatils, si des solvants ou des supports inertes sont utilisés;
- dispersion aux ultrasons (article 4): cette technique peut être appliquée aux composés liquides non volatils et aux composés solides;
- adsorption sur un support inerte (article 5);
- dispersion ou émulsion par un émulsifiant (article 6).

Les essais ultérieurs de biodégradabilité sont principalement effectués par analyse du dioxyde de carbone dégagé (voir ISO 9439) et par détermination de la consommation d'oxygène (voir ISO 9408). La présente Norme internationale ne reprend pas la description de ces méthodes; elle se limite à la description des techniques d'introduction des sub-

stances expérimentées dans le milieu d'essai et au maintien de ces substances à l'état dispersé. La mise en œuvre de ces techniques doit être réalisée en respectant par ailleurs les conditions expérimentales décrites dans les méthodes normalisées pour l'évaluation de la biodégradabilité. Il convient de noter que les produits chimiques volatils ne peuvent être expérimentés suivant la méthode du dioxyde de carbone prescrite dans l'ISO 9439.

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 CEI et de l'ISO possèdent le registre des Normes internationales en vigueur à un moment donné.

ISO 9408:1991, *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.*

ISO 9439:1990, *Qualité de l'eau — Évaluation, en milieu aqueux, de la biodégradabilité aérobie «ultime» des composés organiques — Méthode par dosage du dioxyde de carbone dégagé.*

3 Addition directe

L'une des techniques suivantes peut être utilisée.

- Le composé expérimenté est pesé et introduit directement dans les récipients d'essai maintenus sous agitation.

NOTE 1 Certains composés organiques difficiles à dissoudre dans l'eau se dissolvent plus facilement en présence de base ou d'acide. Ils peuvent être introduits sous forme de solution mère acide ou basique, sous réserve qu'aucune réaction importante du composé expérimenté n'ait lieu. Le milieu d'essai est ajusté à la neutralité avant ajout de l'inoculum.

- Le composé expérimenté est pesé sur un support inerte approprié et introduit dans les récipients d'essai maintenus sous agitation.
- Une solution du composé expérimenté est préparée dans un solvant organique volatil et introduit dans les récipients d'essai maintenus sous agitation.

Le solvant, qui doit être utilisé en quantités minimales, est ensuite éliminé, si possible complètement, par agitation, avant l'addition du milieu d'essai.

3.1 Réactifs

Un solvant organique volatil est choisi en fonction de son pouvoir solubilisant vis-à-vis du composé expérimenté.

Le solvant choisi ne doit réagir ni avec le composé expérimenté, ni avec aucun des composants du milieu.

Le solvant ne doit être ni biodégradable, ni toxique vis-à-vis des bactéries dans les conditions des essais ultérieurs de biodégradabilité, notamment s'il ne peut être suffisamment éliminé.

Des solvants appropriés sont l'acétone et le dichlorométhane.

3.2 Appareillage

3.2.1 Supports inertes, pouvant être introduits dans les récipients d'essai, par exemple lamelles de microscope.

3.2.2 Agitateurs, en nombre suffisant pour assurer une agitation de l'ensemble des récipients d'essai utilisés dans les essais de biodégradabilité respectifs.

Les barreaux d'agitation doivent être d'un matériau tel qu'aucun ingrédient du revêtement en matière plastique ne contamine le milieu d'essai et qu'aucune adsorption des composés expérimentés ne se produise. Le réchauffement des récipients d'essai par agitation et l'augmentation de la température d'essai doivent être évités.

3.3 Mode opératoire

3.3.1 Addition directe

Les composés expérimentés de structure cristalline peuvent être pesés et introduits directement dans les récipients d'essai.

Les composés liquides non visqueux peuvent être ajoutés à l'aide d'une seringue volumétrique de haute précision.

Les composés expérimentés suffisamment solubles dans l'eau dans des conditions acides ou basiques peuvent être introduits sous forme de solution mère. Préparer une solution mère d'un tel composé dans l'eau déionisée, ajustée à un pH suffisamment faible ou élevé à l'aide d'acide ou de base inorganique. Ajouter une quantité appropriée de solution mère au milieu d'essai afin d'obtenir la concentration du composé expérimenté voulue dans les récipients d'essai. Mesurer le pH du milieu et l'ajuster si nécessaire avant ajout de l'inoculum.

3.3.2 Utilisation d'un support

Broyer le plus finement possible les composés solides expérimentés avant la pesée. Peser les substances liquides ou visqueuses sans traitement ou si possible solidifier dans l'azote liquide et broyer finement avant la pesée.

Effectuer la pesée, sur un support (3.2.1), d'une quantité de composé correspondant à la concentration initiale de carbone organique requise par la méthode d'essai utilisée.

Introduire un support dans chaque récipient d'essai, le support sans composé expérimenté étant introduit dans chacun des récipients témoins.

Maintenir sous agitation à l'aide des agitateurs (3.2.2) pendant la durée de l'essai de biodégradabilité.

3.3.3 Utilisation d'un solvant

Préparer une solution de composé expérimenté dans un minimum du solvant organique retenu (3.1).

Introduire, dans les récipients d'essai, la quantité de solution nécessaire pour obtenir la concentration initiale de carbone organique requise par la méthode d'essai utilisée.

Introduire la même quantité de solvant seul dans chacun des récipients témoins.

Évaporer le solvant si possible complètement par des méthodes appropriées.

NOTE 2 La solution d'essai peut être répartie sur le fond des récipients d'essai et le système est ensuite purgé à l'aide de gaz et/ou est agité. Les dernières traces de solvant sont difficiles à éliminer. Si le solvant est biodégradable ou inhibiteur vis-à-vis des bactéries, des interférences peuvent se produire.

Procéder ensuite à l'essai de biodégradabilité.

4 Dispersion aux ultrasons

Une émulsion ou une dispersion du composé expérimenté et préparée au moyen d'une sonde à ultrasons et est introduite dans les récipients d'essai maintenus sous agitation (voir 3.2.2).

4.1 Appareillage

4.1.1 Transducteur d'ultrasons, permettant de produire une fréquence d'environ 20 kHz.

4.1.2 Agitateurs, en nombre suffisant pour assurer une agitation de l'ensemble des récipients d'essai (voir 3.2.2).

4.2 Mode opératoire

Dans un bécher de 500 ml contenant environ 400 ml d'eau déionisée, ajouter par exemple 10 g ou 10 ml du composé expérimenté.

Le composé expérimenté doit être en excès de façon à obtenir une solution saturée.

Installer le transducteur d'ultrasons (4.1.1) de façon que son extrémité se situe le plus près possible de l'interface entre l'eau et le composé expérimenté.

Agiter à l'aide d'un agitateur (4.1.2) de façon que le composé soit entraîné au fond du bécher.

Régler la fréquence des ultrasons à environ 20 kHz pendant environ 30 min.

Après l'arrêt de l'appareil à ultrasons, laisser décanter 15 min à 30 min, puis transvaser l'émulsion ou la dispersion du composé expérimenté en excès dans un autre récipient.

NOTES

3 Les proportions et les chiffres sont donnés à titre indicatif. Ils dépendent des caractéristiques du composé expérimenté.

4 Certaines substances sont sujettes à décomposition thermique lorsqu'une production de chaleur a lieu à l'extrémité de l'électrode. Cela peut également conduire à une élévation de la température de la solution. Ce problème peut être évité par mesurage et contrôle de la température, réduction de la puissance de l'appareil à ultrasons ou sonication intermittente. Dans certains cas, on peut rencontrer des problèmes dus à la destruction de la substance. Dans ce cas, il est recommandé d'utiliser une autre méthode.

Analyser, par une méthode d'analyse appropriée [analyse spécifique ou analyse du carbone organique total (COT)], une partie aliquote de l'émulsion ou de la dispersion obtenue pour déterminer la concentration du composé expérimenté.

Introduire un volume approprié de l'émulsion ou de la dispersion dans chacun des récipients d'essai afin d'obtenir la concentration initiale de carbone organique requise par la méthode d'essai utilisée.

Maintenir sous agitation pendant la durée de l'essai de biodégradabilité.

NOTE 5 Il peut être difficile d'obtenir une émulsion ou une dispersion stable. Un soin particulier est donc requis lorsque les parties aliquotes sont réparties dans les récipients d'essai. S'il s'avère impossible d'obtenir une émulsion suffisamment stable ou une concentration suffisamment élevée pour effectuer l'essai, le composé expérimenté peut être directement introduit dans le milieu d'essai et dispersé au moyen d'ultrasons dans les récipients d'essai avant l'introduction de l'inoculum.

5 Adsorption sur un support inerte

Le composé expérimenté est adsorbé sur un support inerte est introduit dans les récipients d'essai. Il est maintenu dispersé par agitation continue.

5.1 Réactifs

5.1.1 Support inerte

On peut utiliser du gel de silice, des filtres en fibres de verre ou tout autre support inerte non biodégradable ne relarguant pas de carbone organique ou inorganique dans le milieu aqueux.

Il est recommandé de valider ce dernier par des études préliminaires afin d'établir son inertie et l'absence de carbone; pour éviter ou minimiser les effets de surface, la quantité de support doit être minimale. Le

composé expérimenté devrait être adsorbé sur la surface mais ne devrait ni être adsorbé, ni être fixé trop intensément sur le support.

NOTE 6 Par exemple, si le gel de silice est utilisé, les supports suivants conviennent:

- gel de silice pour chromatographie en couche mince (granulométrie 15 µm);
- silice pour chromatographie sur colonne (granulométrie 200 µm à 500 µm).

5.1.2 Solvant

Un solvant volatil est choisi en fonction de son pouvoir solubilisant vis-à-vis du composé expérimenté.

Il doit être non toxique vis-à-vis des bactéries et si possible non biodégradable dans les conditions des essais de biodégradabilité. Cela doit être examiné préalablement ou lors de l'essai de biodégradabilité.

Selon le composé expérimenté, l'acétone ou le dichlorométhane peuvent être appropriés.

5.2 Appareillage

5.2.1 Agitateurs, en nombre suffisant pour assurer une agitation de l'ensemble des récipients d'essai (voir 3.2.2).

5.3 Mode opératoire

Préparer la quantité de composé expérimenté à imprégner sur le support nécessaire à l'essai de biodégradabilité utilisé.

À titre d'exemple, mettre en contact sous agitation, dans un ballon de 250 ml, pendant 2 h, 30 g de support (5.1.1) et 150 ml d'une solution du composé expérimenté à 1 g/l dans le solvant choisi (5.1.2). En parallèle, effectuer la même manipulation en utilisant seulement le support et le solvant comme témoin.

Dans les deux cas, récupérer le support et sécher par évaporation totale le solvant. Cela peut être réalisé en utilisant, successivement, un évaporateur rotatif, une étuve ventilée et une étuve à vide à environ 45 °C.

NOTE 7 Les dernières traces de solvants peuvent être difficiles à éliminer. Des interférences peuvent se produire si le solvant est biodégradable ou inhibiteur vis-à-vis des bactéries.

Déterminer la quantité de substance imprégnée sur le support pour trois échantillons de 1,5 g ou plus par l'un des moyens suivants:

- dosage élémentaire de la quantité de carbone provenant du composé, à l'aide d'un analyseur de carbone total à haute température et en déduisant ensuite les valeurs obtenues sur le support traité par le solvant seul;
- détermination de la demande chimique en oxygène de la substance imprégnée sur le support inerte et en déduisant ensuite les valeurs obtenues sur le support traité par le solvant seul;
- extraction du composé par un solvant organique et dosage par une méthode d'analyse spécifique.

À partir de la quantité de composé expérimenté fixé sur le support, déterminer la quantité de support à introduire dans les récipients d'essai pour obtenir la concentration initiale de carbone organique requise par la méthode d'essai utilisée.

Introduire la même quantité de support traité par le solvant seul dans chacun des récipients témoins.

Une biodégradabilité possible du solvant doit être prise en compte pour le calcul des résultats d'essai.

Maintenir sous agitation pendant la durée de l'essai de biodégradabilité.

6 Dispersion par un émulsifiant

Une émulsion ou une dispersion du composé expérimenté est préparée au moyen d'un émulsifiant et est introduite dans les récipients d'essai maintenus sous agitation.

6.1 Réactifs

6.1.1 Solvant pour la mise en émulsion

Un solvant, volatil si nécessaire et suffisamment miscible à l'eau, est choisi en fonction de son pouvoir solubilisant vis-à-vis du composé expérimenté. Il peut être difficile d'éliminer les solvants très miscibles à l'eau. Dans ce cas, il convient de ne pas les utiliser.

Le solvant doit être non toxique vis-à-vis des bactéries et non biodégradable dans les conditions des essais de biodégradabilité (par exemple le pentane, l'hexane ou le 1,1-dichloro-1-fluoroéthane).

6.1.2 Émulsifiant

L'émulsifiant ne doit être ni biodégradable ni toxique, dans les conditions des essais de biodégradabilité.

NOTE 8 Si la biodégradabilité et l'inhibition vis-à-vis des bactéries de l'émulsifiant ne sont pas connues, il est recommandé de les examiner préalablement ou lors d'essais

supplémentaires aux essais de biodégradabilité, par exemple en utilisant un récipient contenant l'émulsifiant seul pour déterminer la biodégradabilité et un récipient contenant l'émulsifiant et une substance de référence telle que le benzoate de sodium afin de déterminer l'inhibition.

À titre d'exemple, les substances suivantes¹⁾ peuvent être utilisées:

- bloc d'un copolymère d'oxyde d'éthylène et d'oxyde de propylène, dont la valeur d'équilibre entre ses pouvoirs hydrophile et lipophile est d'environ 9;
- bloc d'un copolymère d'oxyde d'éthylène et d'oxyde de propylène, dont la valeur d'équilibre entre ses pouvoirs hydrophile et lipophile est d'environ 13,5;
- sorbitan tri-oléate de polyéthylène.

6.2 Appareillage

6.2.1 Agitateurs, en nombre suffisant pour assurer une agitation de l'ensemble des récipients d'essai (voir 3.2.2).

6.3 Essais préliminaires pour le choix de l'émulsifiant

Par exemple, préparer trois solutions du composé expérimenté (x mg) dans y ml de solvant (6.1.1) (environ 10 ml dans le cas du 1,1-dichloro-1-fluoroéthane) en présence de chacun des émulsifiants suivants:

- substance [6.1.2 a)] seule à $\frac{x}{2}$ mg;
- substance [6.1.2 b)] seule à $\frac{x}{2}$ mg;
- mélange de substance [6.1.2 a)] à $\frac{x}{4}$ mg plus substance [6.1.2 b)] à $\frac{x}{4}$ mg.

La quantité de composé dissous dans le solvant (x mg) est calculée de manière à obtenir la concentration de carbone organique dans le composé expérimenté dans le milieu d'essai requise par la méthode d'essai utilisée.

Homogénéiser par agitation modérée pendant 10 min, puis ajouter goutte à goutte la solution obtenue dans le volume de milieu d'essai requis dans chaque récipient d'essai prescrit pour l'essai de biodégradabilité.

Éliminer le solvant en poursuivant l'agitation (dans le cas du 1,1-dichloro-1-fluoroéthane, par exemple 1 h à 30 °C) ou par tout autre moyen approprié.

Choisir par évaluation visuelle la préparation a), b) ou c) permettant d'obtenir l'émulsion la plus homogène.

6.4 Mode opératoire

Préparer le nombre d'émulsions ou de dispersions nécessaires à la mise en œuvre de l'essai de biodégradabilité utilisé selon le mode opératoire retenu suite aux essais préliminaires.

Préparer une émulsion ou une dispersion contenant le milieu d'essai et l'émulsifiant seul afin de disposer d'un récipient témoin permettant de vérifier que l'émulsifiant n'a pas une dégradation supérieure à environ 10 % par comparaison avec le composé expérimenté.

Prendre en compte les résultats obtenus pour ce récipient dans le calcul des résultats d'essai.

Maintenir sous agitation pendant la durée de l'essai de biodégradabilité.

7 Rapport d'essai

Le rapport d'essai relatif à la biodégradabilité des composés peu solubles doit contenir, en premier lieu, les données requises par la méthode normalisée de biodégradabilité. De plus, il doit contenir la référence à la présente Norme internationale en précisant la méthode utilisée, éventuellement toute modification du mode opératoire, et il doit comporter les informations suivantes:

- prétraitement éventuel du composé avant l'essai;
- méthode d'introduction du composé expérimenté;
- durée et intensité du traitement;
- nature et quantité de support, de solvant ou d'émulsifiant;
- concentration du composé dans l'émulsion ou la dispersion;
- rendement d'adsorption du composé expérimenté;

1) Synperonic PE/P94, Synperonic PE/P103 et Tween 85 sont des exemples de produits appropriés disponibles sur le marché pour les substances a), b) et c) respectivement. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif des produits ainsi désignés.