

NORME
INTERNATIONALE

ISO
11734

Première édition
1995-12-15

**Qualité de l'eau — Évaluation de la
biodégradabilité anaérobie «ultime» des
composés organiques dans les boues de
digesteurs — Méthode par mesurage de la
production de biogaz**

*Water quality — Evaluation of the "ultimate" anaerobic biodegradability
of organic compounds in digested sludge — Method by measurement of
the biogas production*



Numéro de référence
ISO 11734:1995(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 11734 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 147, *Qualité de l'eau*, sous-comité SC 5, *Méthodes biologiques*.

[ISO 11734:1995](#)

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

© ISO 1995

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, 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 de la biodégradabilité anaérobie «ultime» des composés organiques dans les boues de digesteurs — Méthode par mesurage de la production de biogaz

AVERTISSEMENT — Les boues provenant d'eaux usées peuvent contenir des organismes potentiellement pathogènes. Il convient donc de manipuler de telles boues avec les précautions appropriées. La digestion de ces boues d'eaux usées produit des gaz inflammables présentant des risques d'explosion et d'incendie. Il convient donc de prendre des précautions lors du transport et du stockage de ces boues. Les substances chimiques d'essai toxiques ou celles dont les propriétés ne sont pas connues doivent être manipulées avec soin. Le manomètre et les microseringues doivent être manipulés avec précaution afin d'éviter les blessures pouvant être causées par les aiguilles. Les aiguilles contaminées doivent être éliminées en prenant toutes les précautions nécessaires.

ISO 11734:1995

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale prescrit une méthode de tri pour l'évaluation de la biodégradabilité des composés organiques à des concentrations données sous l'effet de micro-organismes anaérobies. Les conditions décrites dans le présent essai ne correspondent par nécessairement aux conditions optimales permettant d'obtenir une biodégradation maximale, dans la mesure où une boue diluée est utilisée avec une substance chimique d'essai à une concentration relativement élevée. L'essai permet une exposition de la boue à la substance chimique pendant une période pouvant aller jusqu'à 60 jours, durée supérieure au temps de rétention normal des boues (25 jours à 30 jours) dans les digesteurs anaérobies, bien que des digesteurs sur les sites industriels puissent avoir des temps de rétention supérieurs.

La méthode est applicable à des composés organiques de teneur en carbone connue et qui

- sont solubles dans l'eau;
- sont peu solubles dans l'eau, à condition qu'une méthode de dosage exact soit applicable;

— n'ont pas d'effet inhibiteur sur les micro-organismes d'essai aux concentrations choisies pour l'essai; les effets inhibiteurs peuvent être déterminés par des essais séparés ou par un témoin supplémentaire de l'inhibition.

Pour les substances volatiles, une décision au cas par cas est nécessaire. Certaines peuvent être soumises à l'essai si elles sont manipulées avec précaution, comme d'éviter par exemple tout dégagement de gaz.

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 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.*

ISO 11923:—¹⁾, *Qualité de l'eau — Dosage des matières en suspension par filtration sur filtre en fibres de verre.*

3 Définitions

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

3.1 biodégradation anaérobie ultime: Niveau de dégradation atteint lorsque le composé à expérimenter a été totalement transformé par les micro-organismes anaérobies en dioxyde de carbone, méthane, sels minéraux et nouveaux constituants cellulaires microbiens (biomasse).

3.2 biodégradation anaérobie primaire: Niveau de dégradation atteint lorsque le composé à expérimenter a subi sous l'action de micro-organismes anaérobies, une transformation structurelle quelconque autre que la minéralisation complète.

3.3 boue de digesteurs: Mélange des phases décantées d'eaux usées et de boues activées, qui a été incubé dans un digesteur anaérobie à environ 35 °C afin de réduire la biomasse et les problèmes d'odeur et d'améliorer la déshydratation de la boue. La boue de digesteurs contient un ensemble de bactéries anaérobies de fermentation et méthanogènes produisant du dioxyde de carbone et du méthane.

3.4 concentration en matières solides totales: Quantité de matières solides obtenues par séchage d'un volume connu de boue, dans des conditions définies, à environ 105 °C jusqu'à masse constante.

4 Principe

Dilution à partir de boue de digesteurs lavée contenant du carbone inorganique (CI) en quantité très faible, à une concentration en matières solides totales de 1 g/l à 3 g/l et incubation à 35 °C ± 2 °C dans des récipients hermétiquement clos en présence d'une substance chimique d'essai à une concentration en carbone organique (CO) de 20 mg/l à 100 mg/l pendant une période pouvant aller jusqu'à 60 jours.

Mesurage, dans l'espace de tête des récipients d'essai, de l'augmentation de la pression due à la production de dioxyde de carbone (CO₂) et de méthane

(CH₄). Une quantité importante de dioxyde de carbone est dissoute dans l'eau et transformée en hydrogénocarbonate ou en carbonate dans les conditions de l'essai. Ce carbone inorganique (CI) est mesuré à la fin de l'essai.

Calcul de la quantité de carbone produite par action microbiologique à partir de la production nette de gaz et de la formation nette de CI en excès par rapport aux valeurs à blanc. Calcul du taux de biodégradation à partir de la formation de CI total et de la quantité mesurée ou calculée de carbone ajouté comme composé à expérimenter.

Le processus de biodégradation peut être suivi en effectuant des mesurages intermédiaires de la production de gaz uniquement. En outre, la biodégradation primaire peut être déterminée par analyse spécifique au début et à la fin de l'essai.

5 Environnement d'essai

L'incubation doit être menée dans des récipients hermétiquement clos, à une température constante de 35 °C ± 2 °C, température normale de digesteur anaérobie, en l'absence d'oxygène et, au départ, en atmosphère azotée pure.

6 Réactifs

6.1 Eau distillée ou **déionisée**, contenant moins de 2 mg/l de COD.

6.2 Milieu d'essai.

6.2.1 Milieu

Utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue. Préparer un milieu dilué contenant les constituants suivants aux quantités indiquées.

Dihydrogénophosphate de potassium anhydre (KH ₂ PO ₄)	0,27 g
Monohydrogénophosphate de sodium dodécahydraté (Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O)	1,12 g
Chlorure d'ammonium (NH ₄ Cl)	0,53 g
Chlorure de calcium dihydraté (CaCl ₂ ·2H ₂ O)	0,075 g
Chlorure de magnésium hexahydraté (MgCl ₂ ·6H ₂ O)	0,10 g
Chlorure de fer(II) tétrahydraté (FeCl ₂ ·4H ₂ O)	0,02 g

1) À publier.

Résazurine (indicateur d'oxygène)	0,001 g
Sulfure de sodium nonahydraté (Na ₂ S,9H ₂ O) (voir note 1)	0,1 g
Solution mère d'éléments traces (facultative)	10 ml
Eau désoxygénée (6.1), q.s.p.	1 litre

Afin d'atteindre des conditions anaérobies, faire passer un courant d'azote dans le milieu pendant 20 min immédiatement avant l'utilisation afin d'éliminer l'oxygène.

Si nécessaire, ajuster le pH à $7 \pm 0,2$, à l'aide d'une solution d'acide minéral ou de base.

NOTE 1 Utiliser du sulfure de sodium préparé extemporanément ou le laver et le sécher avant utilisation, afin d'assurer une capacité de réduction suffisante.

6.2.2 Solution mère d'éléments traces (facultative)

Il est recommandé d'ajouter au milieu d'essai les éléments traces suivants afin d'améliorer les processus de dégradation anaérobie, notamment lorsque des concentrations faibles en inoculum sont utilisées.

Chlorure de manganèse tétrahydraté (MnCl ₂ ,4H ₂ O)	0,05 g
Acide orthoborique (H ₃ BO ₃)	0,005 g
Chlorure de zinc (ZnCl ₂)	0,005 g
Chlorure de cuivre(II) (CuCl ₂)	0,003 g
Molybdate disodique dihydraté (Na ₂ MoO ₄ ,2H ₂ O)	0,001 g
Chlorure de cobalt hexahydraté (CoCl ₂ ,6H ₂ O)	0,1 g
Chlorure de nickel hexahydraté (NiCl ₂ ,6H ₂ O)	0,01 g
Sélénite disodique (Na ₂ SeO ₃)	0,005 g
Eau (6.1), q.s.p.	1 litre

6.3 Composé à expérimenter

Ajouter le composé à expérimenter sous forme de solution mère, suspension ou émulsion, ou directement sous forme solide ou liquide afin d'obtenir une concentration d'essai en carbone organique de 100 mg/l. Si les solutions mères sont utilisées, préparer avec de l'eau (6.1) une solution appropriée suffisamment concentrée pour que le volume ajouté soit inférieur à 5 % du volume total du mélange réactionnel. Pour les composés à expérimenter qui ne sont pas suffisamment solubles dans l'eau, se référer à l'ISO 10634, mais ne pas utiliser un solvant organique

inhibiteur vis-à-vis de la production de méthane, tel que le chloroforme ou le tétrachlorure de carbone.

NOTE 2 Si des solvants sont utilisés, un témoin contenant le solvant seul est recommandé.

6.4 Substances de référence

Des substances de référence telles que le benzoate de sodium, le phénol ou le polyéthylène glycol 400 sont permises. Ces substances sont censées présenter un taux de biodégradation supérieur à 60 %. Préparer une solution mère suivant la même méthode que pour le composé à expérimenter.

6.5 Témoin de l'inhibition (facultatif)

Ajouter, dans un récipient contenant le milieu d'essai (6.2), le composé à expérimenter et la substance de référence en concentrations identiques à celles ajoutées en (6.3) et, respectivement, (6.4).

6.6 Boue de digesteurs

Recueillir la boue de digesteurs dans le digesteur d'une usine de traitement des eaux usées spécialisée dans le traitement des eaux usées domestiques. Utiliser des flacons à col large en polyéthylène haute densité ou tout matériau similaire pouvant se dilater.

AVERTISSEMENT — Pour des raisons de sécurité, l'usage du verre doit être exclu.

Remplir les flacons jusqu'à 1 cm du bord supérieur et les fermer hermétiquement. Après leur transport au laboratoire, les utiliser directement ou les placer dans un digesteur de laboratoire. Libérer l'excès de biogaz.

Une boue anaérobie préparée en laboratoire peut également être utilisée comme inoculum.

Envisager de prédigérer la boue afin de réduire toute production de gaz non spécifique et diminuer l'influence des blancs. Laisser la boue digérer sans ajouter de nutriments ou de substrats, à $35 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$ pendant 7 jours maximum.

NOTE 3 Il a été démontré qu'une prédigestion d'environ 5 jours donne une diminution optimale de la production de gaz du blanc sans donner lieu à un allongement inacceptable des temps de latence ou d'incubation durant l'essai.

Pour les composés à expérimenter dont on sait qu'ils sont faiblement biodégradables, envisager une préexposition de la boue à la substance à expérimenter afin d'obtenir un inoculum mieux adapté. Dans ce cas, ajouter la substance d'essai à une concentration en carbone organique comprise entre 5 mg/l et 20 mg/l

à la boue de digesteurs. Laver soigneusement la boue prédigérée avant l'utilisation. Indiquer la préexposition dans le rapport d'essai.

6.7 Inoculum

Laver la boue (6.6) juste avant l'utilisation afin de réduire la concentration en Cl à moins de 10 mg/l dans la solution d'essai finale, en centrifugeant d'abord les tubes hermétiquement clos à une vitesse relativement faible (par exemple 3 000 g) jusqu'à 5 min. Mettre en suspension les matières solides dans un milieu d'essai sans oxygène (6.2), centrifuger et rejeter les lavages. Si la concentration en Cl n'a pas suffisamment diminué, laver la boue jusqu'à deux fois. Finalement, mettre en suspension les matières solides dans le volume requis de milieu d'essai et déterminer la concentration en matières solides totales (3.4). La concentration finale en matières solides dans les récipients d'essai doit être de 1 g/l à 3 g/l. Mener ces opérations de sorte que la boue soit le moins possible en contact avec l'oxygène (en utilisant, par exemple, une atmosphère sous azote).

7 Appareillage

Matériel courant de laboratoire et, en particulier, ce qui suit.

7.1 Incubateur ou bain d'eau ou de sable, contrôlé thermostatiquement à $35 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$.

7.2 Récipients d'essai, en verre résistant à la pression, de 0,1 litre à 1 litre de capacités nominales, munis des septums étanches aux gaz, capables de résister à une pression d'environ 2 bar (voir l'exemple de l'annexe A). Le volume de l'espace de tête doit représenter environ 10 % à 30 % du volume total. Si le biogaz est évacué régulièrement, un espace de tête d'environ 10 % du volume suffit, mais si l'évacuation du gaz ne se fait qu'à la fin de l'essai, 30 % conviennent.

NOTE 4 D'un point de vue pratique, l'utilisation de flacons à sérum hermétiquement bouchés par des bouchons à sérum en caoutchouc butyl serti et des bagues en aluminium est recommandée.

7.3 Dispositif de mesurage de la pression, par exemple un manomètre relié à une aiguille de seringue appropriée, une vanne papillon à trois voies étanche au gaz facilitant l'évacuation de l'excès de pression. Ce dispositif doit être utilisé et étalonné selon les instructions du fabricant.

Il est nécessaire que le volume intérieur de la vanne et du tuyau du transducteur de pression soit maintenu

aussi faible que possible, de sorte que les erreurs introduites en négligeant le volume de l'appareillage soient non significatives.

7.4 Analyseur de carbone, approprié pour le dosage direct du carbone inorganique dans une gamme de concentrations allant de 1 mg/l à 200 mg/l.

8 Mode opératoire

Effectuer les étapes préliminaires suivantes tout en veillant à ce que le contact entre la boue digérée et l'oxygène soit aussi faible que possible, par exemple en travaillant avec une boîte à gants dans une atmosphère azotée, ou en purgeant les flacons avec de l'azote.

8.1 Préparation des échantillons pour essai et des échantillons témoins

Préparer les récipients d'essai (7.2) au moins en triple exemplaire pour le composé à expérimenter (6.3) et le blanc et au moins un récipient pour chaque substance de référence (6.4) et pour le témoin de l'inhibition (6.5) (facultatif). Les essais à blanc peuvent être utilisés pour plusieurs composés à expérimenter au cours du même essai. Préparer l'inoculum dilué (6.7) avant de l'ajouter aux récipients. Ajouter des parties aliquotees de l'inoculum de façon à ce que la concentration finale en matières solides totales soit comprise entre 1 g/l et 3 g/l et soit la même dans tous les récipients. Ajouter les solutions mères du composé à expérimenter et de la substance de référence. La concentration d'essai en carbone doit normalement être de 100 mg/l. Si les substances à expérimenter sont toxiques, elle peut être ramenée à 20 mg/l de carbone organique ou moins s'il s'agit de n'expérimenter que la biodégradation primaire à l'aide d'analyses spécifiques.

NOTE 5 Plus la concentration d'essai est faible, plus l'écart entre les résultats d'essai risque d'être important.

Ajouter dans les récipients à blanc des volumes équivalents d'eau désoxygénée (6.1). Préparer un répliquat supplémentaire avec le composé à expérimenter et mesurer la valeur du pH. Si nécessaire, ajuster le pH à $7 \pm 0,2$ à l'aide de faibles quantités d'acide minéral ou de base diluée. Ajouter à tous les récipients la même quantité d'agents neutralisants. Si la dégradation primaire doit être mesurée, prélever un échantillon approprié dans le récipient de contrôle du pH ou à partir d'un mélange à expérimenter supplémentaire et mesurer la concentration du composé à expérimenter à l'aide d'analyses spécifiques. Si les mélanges réactifs doivent être agités (facultatif), ajouter des barreaux aimantés dans les récipients. Vérifier que le

volume total de liquide V_l et le volume de l'espace de tête V_h sont les mêmes dans tous les récipients. Noter V_l et V_h (voir l'article 9). Si nécessaire, ajouter du milieu d'essai anaérobie (6.2). Fermer hermétiquement chaque récipient à l'aide d'un septum, puis les placer dans l'incubateur (7.1).

Ajouter les substances qui sont peu solubles dans l'eau directement dans les récipients préparés après pesée, ou les ajouter dans les récipients vides à l'aide d'un solvant. Évaporer le solvant en faisant passer de l'azote gazeux dans les récipients, puis ajouter les autres ingrédients. Les substances à expérimenter sous forme liquide peuvent être ajoutées dans les récipients complètement préparés et hermétiquement clos avec une seringue si le pH est censé ne pas dépasser 7 ± 1 . Si ce n'est pas le cas, ajouter la substance à expérimenter comme décrit ci-dessus.

8.2 Incubation et mesurages des gaz

Incuber les récipients préparés à $35 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$ pendant environ 1 h afin de permettre l'équilibre, puis libérer l'excès de gaz dans l'atmosphère, par exemple en secouant chaque récipient d'essai les uns à la suite des autres, ou en introduisant l'aiguille du manomètre (7.3) à travers le couvercle hermétique et en ouvrant la vanne jusqu'à ce qu'il indique une pression égale à zéro. Si à ce stade ou pendant les mesurages intermédiaires, la pression dans l'espace de tête est inférieure à la pression atmosphérique, introduire de l'azote à l'état gazeux pour rétablir à l'intérieur du flacon une pression équivalente à la pression atmosphérique. Fermer la vanne (voir 7.3) et poursuivre l'incubation à l'obscurité, en veillant à ce que toutes les parties des récipients soient à la température de digestion.

Examiner les récipients après une période d'incubation de 24 h à 48 h. Rejeter les récipients présentant, dans le surnageant, une nette coloration rose c'est-à-dire si la résazurine (voir 6.2.1) a modifié la couleur indiquant ainsi la présence d'oxygène. Si de faibles quantités d'oxygène peuvent être tolérées par le système, des concentrations plus élevées peuvent sérieusement inhiber le processus de biodégradation anaérobie.

Mélanger soigneusement le contenu de chaque récipient en remuant ou en agitant pendant quelques minutes au moins deux à trois fois par semaine et avant chaque mesurage de la pression. Mesurer la pression du gaz en introduisant, par exemple, à travers le septum, une aiguille de seringue (voir 7.3) reliée au manomètre. Noter la pression en millibars (voir 9.1).

Agiter le flacon remet l'inoculum en suspension et assure l'équilibre gazeux. En mesurant la pression,

maintenir le gaz présent dans l'espace de tête à la température de digestion. Veiller à ce qu'il n'y ait pas d'eau qui s'introduise par l'aiguille de la seringue. Si cela devait se produire, sécher les parties humides et utiliser une nouvelle aiguille.

Pour les relevés de pression, soit mesurer la pression à l'intérieur des récipients une fois par semaine et libérer l'excès gazeux dans l'atmosphère, soit mesurer la pression seulement à la fin de l'essai pour déterminer la quantité de biogaz produite.

NOTE 6 Il est fortement conseillé d'effectuer des relevés intermédiaires de la pression, l'augmentation de la pression donnant des indications sur la fin de l'essai et permettant de suivre la cinétique.

Terminer l'essai après une période d'incubation de 60 jours à moins que la courbe de biodégradation, obtenue à partir des mesurages de pression, ait atteint un plateau, c'est-à-dire que le maximum de dégradation a été obtenu et indique un taux suffisant de biodégradation ($> 50 \%$) auquel cas l'essai peut être terminé plus tôt. Si à la fin de la période normale d'incubation, un plateau n'a de toute évidence par été atteint, il convient de poursuivre l'essai jusqu'à son obtention.

8.3 Dosage du carbone inorganique

À la fin de l'essai, après le dernier mesurage de la pression gazeuse, laisser décanter la boue (6.6), ouvrir chaque récipient (7.2) et procéder immédiatement à la détermination de la concentration, en milligrammes par litre, du carbone inorganique dans le surnageant clair. Le surnageant ne doit être ni centrifugé ni filtré (voir ISO 11923) à ce stade (voir la note 7). Après mesurage du CI, noter le pH. Effectuer des relevés similaires dans les récipients correspondants contenant les blancs, la substance de référence (6.4) et le témoin de l'inhibition (6.5).

NOTE 7 La centrifugation et la filtration résulteraient en une perte inacceptable de dioxyde de carbone dissous. Si l'échantillon de surnageant ne peut être analysé dès son prélèvement, il peut être conservé dans un flacon soigneusement fermé, sans espace de tête, et refroidi à environ 4 °C pendant une période pouvant aller jusqu'à deux jours.

Dans certains cas, notamment si les mêmes récipients témoins sont utilisés pour plusieurs composés à expérimenter, considérer les dosages intermédiaires en CI dans les récipients d'essai et les récipients témoins. Dans ce cas, procéder comme suit.

Après avoir mesuré la pression gazeuse sans avoir libéré au préalable l'excès de gaz, prélever, sans ouvrir les récipients, à l'aide d'une seringue (voir 7.3), une

partie aliquote connue du surnageant, aussi faible que possible, et doser le CI dans l'échantillon. Après avoir prélevé l'échantillon, l'excès de gaz peut être libéré ou non des flacons d'incubation (voir 8.2).

Considérer que toute diminution, même faible, du volume du surnageant (par exemple environ 1 %) peut entraîner une augmentation significative du volume de l'espace de tête. Le cas échéant, corriger les équations (voir 9.1) en augmentant V_h dans l'équation (3).

8.4 Analyses spécifiques

Si la dégradation anaérobie primaire (3.2) doit être déterminée, prélever des échantillons pour analyses spécifiques dans les récipients contenant le composé à expérimenter, au début (voir 8.1) et à la fin de l'essai. Dans ce cas, noter que les volumes de l'espace de tête (V_h) et de liquide (V_l) seront modifiés et en tenir compte pour le calcul des résultats.

9 Calcul et expression des résultats

Pour des raisons pratiques, la pression du gaz est mesurée en millibars (1 mbar = 1 hPa = 10^2 Pa, 1 Pa = 1 N/m²), le volume en litres et la température en degrés Celsius.

9.1 Carbone dans l'espace de tête

1 mole de méthane et 1 mole de dioxyde de carbone contiennent chacune 12 g de carbone. Calculer la masse de carbone dans un volume donné de gaz dégagé, à l'aide de l'équation (1):

$$m = 12 \times 10^3 \times n \quad \dots (1)$$

où

m est la masse de carbone, en milligrammes, dans un volume donné de gaz dégagé;

12 est la masse atomique du carbone;

n est le nombre de moles de gaz.

Calculer n à partir de la loi des gaz parfaits, à l'aide de l'équation (2):

$$n = \frac{pV}{RT} \quad \dots (2)$$

où

n est le nombre de moles de gaz;

p est la pression du gaz, en pascals;

V est le volume du gaz, en mètres cubes;

R est la constante molaire des gaz [8,314 J/(mol·K)];

T est la température, en kelvins.

Calculer la masse nette de carbone (soustraction des valeurs de blanc correspondantes) produit à l'état gazeux dans l'espace de tête par le composé à expérimenter, à l'aide de l'équation (3):

$$m_h = \frac{12\,000 \times 0,1 (\Delta p \cdot V_h)}{RT} \quad \dots (3)$$

où

m_h est la masse nette de carbone produit à l'état gazeux dans l'espace de tête, en milligrammes;

Δp est la moyenne, en millibars, des différences entre les pressions finales ou les pressions initiales dans les récipients d'essai et celles des récipients à blanc;

V_h est le volume, en litres, de l'espace de tête dans le récipient;

0,1 est le facteur de conversion de newtons par mètre carré en millibars et de mètres cubes en litres.

Pour une température d'incubation normale de 35 °C (308 K), utiliser l'équation (4):

$$m_h = 0,468 (\Delta p \cdot V_h) \quad \dots (4)$$

Le processus de biodégradation peut être suivi en établissant, si nécessaire, la courbe des augmentations cumulées de la pression Δp , en millibars, par rapport au temps. À partir de cette courbe, identifier et noter, en jours, la phase de latence. La phase de latence correspond au laps de temps écoulé entre le début de l'essai et le début de la dégradation (voir l'exemple de l'annexe B).

9.2 Carbone à l'état liquide

Calculer la masse de carbone dans le liquide des récipients d'essai, à l'aide de l'équation (5):

$$m_l = \rho_{Cl,net} \times V_l \quad \dots (5)$$

où

m_l est la masse de carbone, en milligrammes, dans le liquide;

$\rho_{Cl,net}$ est la concentration moyenne en carbone inorganique, en milligrammes par litre,

dans les récipients d'essai moins celle des récipients témoins à la fin de l'essai;

V_1 est le volume, en litres, de liquide dans le récipient.

D_t est le taux de biodégradation totale, exprimé en pourcentage;

m_h , m_v et m_t sont tels que définis en 9.1, 9.4 et 9.3 respectivement.

9.3 Masse totale de carbone gazeux

Calculer la masse totale de carbone gazeux dans le récipient, à l'aide de l'équation (6):

$$m_t = m_h + m_i \quad \dots (6)$$

où

m_t est la masse totale de carbone gazeux, en milligrammes;

m_h et m_i sont tels que définis en 9.1 et 9.2 respectivement.

9.4 Carbone de la substance à expérimenter

Calculer la masse de carbone dans les récipients d'essai, à partir de la concentration d'essai du carbone ajouté, à l'aide de l'équation (7):

$$m_v = \rho_{C,v} \times V_1 \quad \dots (7)$$

où

m_v est la masse de carbone, en milligrammes, du composé à expérimenter;

$\rho_{C,v}$ est la concentration en carbone, en milligrammes par litre, du composé à expérimenter;

V_1 est le volume, en litres, de liquide dans le récipient.

9.5 Taux de biodégradation

Calculer le taux de biodégradation à partir du gaz de l'espace de tête à l'aide de l'équation (8) et le taux de biodégradation totale à l'aide de l'équation (9):

$$D_h = \frac{m_h \times 100}{m_v} \quad \dots (8)$$

$$D_t = \frac{m_t \times 100}{m_v} \quad \dots (9)$$

où

D_h est le taux de biodégradation à partir du gaz de l'espace de tête, exprimé en pourcentage;

10 Validité des résultats

10.1 Maintien des conditions anaérobies

Utiliser uniquement les relevés de pression se rapportant aux récipients ne contenant pas d'oxygène, c'est-à-dire qui ne présentent aucune coloration rose. Les risques de contamination par l'oxygène sont minimisés si l'on utilise les techniques de manipulation anaérobie appropriées.

10.2 Inhibition de la dégradation

La production de gaz dans les récipients contenant la substance chimique à expérimenter et la substance de référence doit au moins être égale à celle du récipient contenant uniquement la substance de référence; si tel n'était pas le cas, indiquer l'inhibition de la production de gaz. Dans ce dernier cas, il convient de répéter l'essai en utilisant une concentration en substance chimique à expérimenter plus faible mais non inférieure à 20 mg/l (voir 8.1).

10.3 Validité de l'essai

Considérer l'essai comme valide si la courbe représentative de la substance de référence présente un plateau correspondant à une biodégradation supérieure à 60 %. Si à la fin de l'essai, le pH n'est plus compris dans la gamme de 7 ± 1 et que la biodégradation est insuffisante, il y a lieu de répéter l'essai en utilisant un milieu d'essai (6.2) de pouvoir tampon plus élevé.

11 Rapport d'essai

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

- référence à la présente Norme internationale;
- identification du composé à expérimenter et de la substance de référence;
- concentration du composé à expérimenter et méthode d'ajout;
- caractéristiques principales du mesurage du biogaz (par exemple type de manomètre) et de l'analyseur de carbone inorganique;

- e) toutes les données mesurées dans les récipients d'essai, témoins, et blancs et les résultats d'inhibition, le cas échéant (par exemple pression en millibars, concentration en carbone inorganique en milligrammes par litre sous forme de tableau; un exemple de formulaire de données est représenté en annexe C), traitement statistique des résultats et durée de l'essai;
- f) origine, concentration de l'inoculum et information concernant son prétraitement éventuel (prédigestion, préexposition);
- g) température d'incubation;
- h) volume de surnageant (V_s) et volume de l'espace de tête (V_h) des récipients;
- i) valeurs du pH et du CI à la fin de l'essai;
- j) concentration du composé à expérimenter au début et à la fin de l'essai en cas de mesurage spécifique;
- k) courbe de biodégradation établie à partir de la production nette de gaz dans l'espace de tête comme représenté à l'annexe B;
- l) pourcentage de biodégradation du composé à expérimenter et de la substance de référence, sachant qu'il convient de noter le résultat final en gammes de 10 % en 10 % (par exemple 20 % à 30 %).

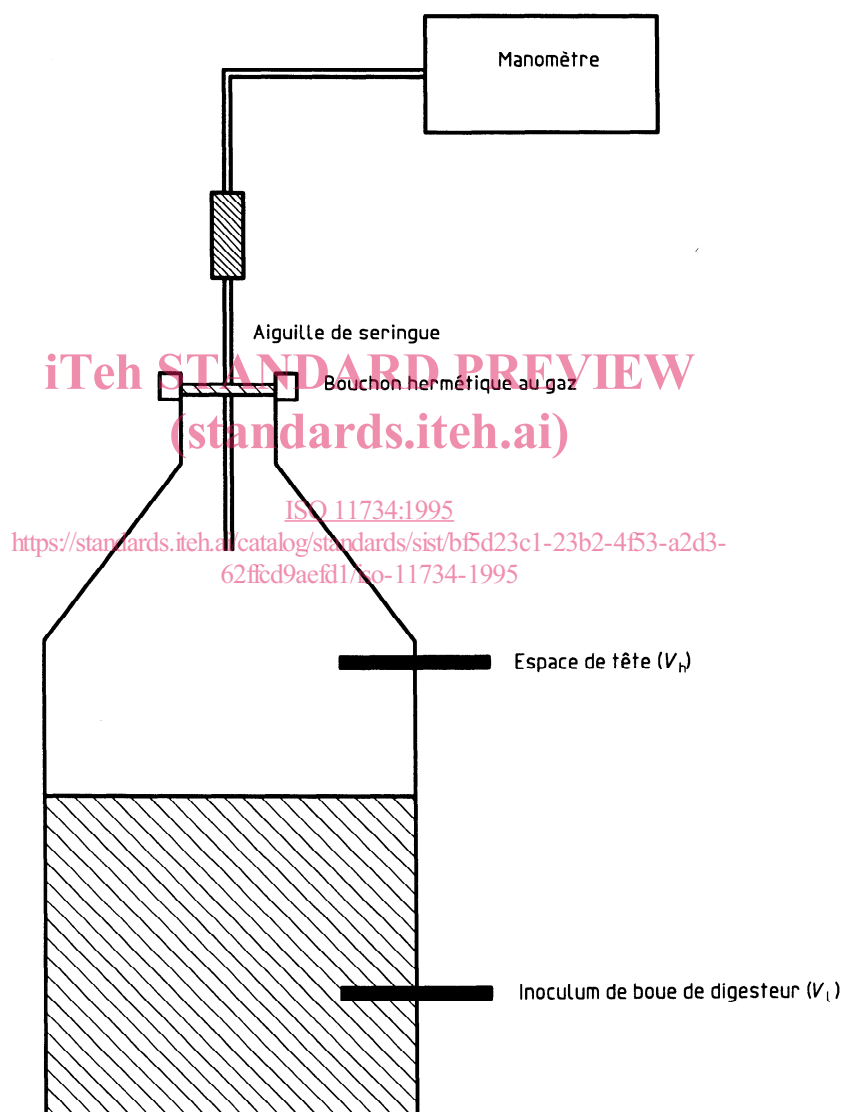
iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 11734:1995](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bf5d23c1-23b2-4f53-a2d3-62ffc9aefd1/iso-11734-1995)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bf5d23c1-23b2-4f53-a2d3-62ffc9aefd1/iso-11734-1995>

Annexe A (informative)

Exemple d'appareil de mesurage de la production de biogaz par pression gazeuse



Réceptif d'essai dans un environnement de $35 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$