

NORME
INTERNATIONALE

ISO
7827

Deuxième édition
1994-09-15

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

*Water quality — Evaluation in an aqueous medium of the "ultimate"
aerobic biodegradability of organic compounds — Method by analysis of
dissolved organic carbon (DOC)*

INCUBIMIF

ISO



Numéro de référence
ISO 7827:1994(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 7827 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 147, *Qualité de l'eau*, sous-comité SC 5, *Méthodes biologiques*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 7827:1984), dont elle constitue une révision technique.

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

© ISO 1994

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 en milieu aqueux de la biodégradabilité aérobie «ultime» des composés organiques — Méthode par analyse du carbone organique dissous (COD)

AVERTISSEMENT — Sécurité — Les boues activées et les eaux usées peuvent contenir des organismes potentiellement pathogènes. Il convient donc de les manipuler avec les précautions appropriées, de même que les composés à expérimenter toxiques ou dont les propriétés ne sont pas connues.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

1 Domaine d'application

de l'effet inhibiteur d'une substance vis-à-vis des bactéries (voir l'ISO 8192).

La présente Norme internationale prescrit une méthode d'évaluation de la biodégradabilité «ultime» des composés organiques à une concentration donnée sous l'action de micro-organismes aérobies.

Les conditions conventionnelles décrites dans la présente Norme internationale ne correspondent pas nécessairement dans tous les cas aux conditions optimales permettant d'atteindre le maximum de la biodégradation.

La méthode s'applique à des composés organiques qui sont

- solubles à la concentration utilisée dans les conditions de l'essai (10 mg/l à 40 mg/l COD);
- non volatils, ou ayant une tension de vapeur négligeable dans les conditions de l'essai (voir note 5 en 8.3);
- non adsorbables significativement sur le verre et les boues activées (voir note 6 en 8.3);
- non inhibiteurs, à la concentration prévue pour l'essai, vis-à-vis des bactéries responsables de la biodégradation. Leur action inhibitrice éventuelle peut être mise en évidence comme indiqué en 8.3, ou par toute autre méthode de détermination

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

ISO 8245:1987, *Qualité de l'eau — Guide pour le dosage du carbone organique total (COT).*

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.*

ISO 9887:1992, *Qualité de l'eau — Évaluation, en milieu aqueux, de la biodégradabilité aérobie des composés organiques — Méthode semi-continue par boues activées (Méthode SCAS).*

ISO 9888:1991, *Qualité de l'eau — Évaluation, en milieu aqueux, de la biodégradabilité aérobie des composés organiques — Essai statique (Méthode Zahn-Wellens).*

3 Définitions

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

3.1 biodégradation «ultime»: Niveau de dégradation atteint lorsque le composé soumis à l'essai est totalement éliminé par les micro-organismes en produisant du dioxyde de carbone, de l'eau, des sels minéraux et de nouveaux constituants cellulaires microbiens (biomasse).

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

3.3 matières en suspension (d'une boue activée): Quantité de matières obtenues par filtration ou centrifugation d'un volume connu de boue dans des conditions définies et dessiccation à 105 °C jusqu'à masse constante.

4 Principe

Détermination de la biodégradation des composés organiques par des micro-organismes aérobies en utilisant un milieu d'essai. Les composés organiques sont la seule source de carbone et d'énergie dans le milieu. La concentration des composés utilisés est telle que la concentration initiale en carbone organique dans le milieu est comprise entre 10 mg/l et 40 mg/l.

Si nécessaire, des concentrations de plus de 40 mg/l peuvent être utilisées.

Mesurage du carbone organique dissous (COD) au début de l'essai (jour 0) et à la fin de l'essai (jour 28, ou plus longtemps si nécessaire) et au moins à trois intervalles de temps intermédiaires réguliers.

Détermination du pourcentage de COD éliminé pour chacun de ces intervalles. Évaluation de la biodégradabilité des composés utilisés sur la base de ces données.

Des analyses spécifiques peuvent donner des informations supplémentaires sur la biodégradation primaire.

5 Environnement de l'essai

L'incubation doit être réalisée à l'obscurité ou sous lumière diffuse dans une enceinte maintenue entre 20 °C et 25 °C et ne contenant pas de vapeurs toxiques pour les micro-organismes.

6 Réactifs

Au cours de l'analyse, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue.

6.1 Eau distillée ou déionisée, contenant moins de 10 % de la concentration initiale de COD introduite par le composé à expérimenter.

6.2 Milieu d'essai

6.2.1 Composition

6.2.1.1 Solution a)

| | |
|--|----------|
| Dihydrogénophosphate de potassium anhydre (KH ₂ PO ₄) | 8,5 g |
| Monohydrogénophosphate de potassium anhydre (K ₂ HPO ₄) | 21,75 g |
| Monohydrogénophosphate de sodium dihydraté (Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O) | 33,4 g |
| Chlorure d'ammonium (NH ₄ Cl) | 0,5 g |
| Eau (6.1), quantité suffisante pour | 1 000 ml |

NOTE 1 La composition correcte du milieu est vérifiée par le mesurage du pH qui devrait être de 7,4.

6.2.1.2 Solution b)

Dissoudre 22,5 g de sulfate de magnésium heptahydraté (MgSO₄·7H₂O) dans 1 000 ml d'eau (6.1).

6.2.1.3 Solution c)

Dissoudre 27,5 g de chlorure de calcium anhydre (CaCl₂) dans 1 000 ml d'eau (6.1).

6.2.1.4 Solution d)

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

NOTE 2 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 éthylènediamine tétraacétique (EDTA).

6.2.2 Préparation

Pour 1 l de milieu, ajouter à environ 500 ml d'eau (6.1):

- 10 ml de solution a);
- 1 ml de chacune des solutions b) à d).

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

7 Appareillage

S'assurer que la verrerie est soigneusement nettoyée et, notamment, qu'elle est exempte de toute trace de matière organique ou toxique.

Matériel courant de laboratoire, et

7.1 Appareil, d'une sensibilité suffisante pour la mesure du carbone organique dissous (voir l'ISO 8245).

7.2 Centrifugeuse.

7.3 Dispositif d'agitation, permettant aération et agitation.

7.4 pH-mètre.

7.5 Fioles coniques, de capacité appropriée (par exemple 2 000 ml).

7.6 Dispositif de filtration, avec membranes de porosité convenable (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 maximum.

8 Mode opératoire

8.1 Préparation des solutions d'essai

8.1.1 Solution du composé à expérimenter

Préparer une solution mère du composé à expérimenter dans l'eau (6.1) ou dans le milieu d'essai (6.2). Diluer une quantité adéquate de cette solution dans le milieu d'essai de façon à obtenir une concentration en carbone organique comprise entre 10 mg/l et 40 mg/l.

8.1.2 Solution du composé de référence

Préparer une solution mère du composé de référence (composé organique de biodégradabilité connue, tel que l'acétate de sodium, le benzoate de sodium ou l'aniline) en procédant comme en 8.1.1 de façon à obtenir une concentration en carbone organique comprise entre 10 mg/l et 40 mg/l.

8.1.3 Solution de contrôle de l'inhibition

Si nécessaire, préparer une solution contenant, dans le milieu d'essai (6.2), le composé à expérimenter et le composé de référence aux concentrations respectivement utilisées pour la préparation des solutions 8.1.1 et 8.1.2.

8.2 Préparation de l'inoculum

Préparer l'inoculum à partir des sources suivantes, ou à partir d'un mélange de ces sources, de façon à obtenir une population microbienne offrant une activité de biodégradation suffisante.

NOTE 3 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, essai de Zahn-Wellens ISO 9888 ou essai SCAS ISO 9887) 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).

Utiliser un volume convenable qui servira d'inoculum (voir note 4).

NOTE 4 Un volume est dit «convenable»

- s'il permet d'obtenir une population suffisamment active;
- s'il assure la dégradation du (des) composé(s) de référence au taux spécifié;
- s'il fournit de 10^3 à 10^6 cellules actives par millilitre;
- si la concentration des matières en suspension dans le mélange final est au plus équivalente à 30 mg de boue activée par litre.

La quantité de carbone organique dissous apportée par l'inoculum doit être inférieure à 10 % de la concentration de COD introduite par le composé à expérimenter (par exemple < 4 mg/l à la concentration d'essai de 40 mg/l). Si nécessaire et si possible, laver l'inoculum.

8.2.1 Inoculum provenant d'un effluent secondaire

Prélever un échantillon d'effluent secondaire provenant d'une usine ou d'un laboratoire de traitement d'eaux résiduaires d'origine principalement domestique. Si nécessaire, concentrer l'échantillon par filtration ou centrifugation. Bien mélanger, conserver l'échantillon en conditions aérobies et utiliser le jour du prélèvement.

À partir de cet échantillon, préparer un inoculum de la façon suivante:

- laisser décanter l'échantillon d'effluent pendant 1 h;
- prélever dans le surnageant un volume convenable qui servira d'inoculum.

8.2.2 Inoculum provenant d'une usine de traitement des boues activées

Prélever un échantillon de boue activée provenant du bassin d'aération d'une usine ou d'un laboratoire de traitement d'eaux résiduaires d'origine principalement domestique. Bien mélanger, conserver l'échantillon en conditions aérobies et utiliser le jour du prélèvement.

Déterminer, juste avant emploi, la concentration en matières en suspension. Si nécessaire, concentrer la boue par centrifugation, de façon que le volume de boue ajouté soit minimal. Ajouter un volume convenable de façon à obtenir 30 mg/l de matières en suspension dans le mélange final.

8.2.3 Inoculum provenant d'une eau de surface

Prélever un échantillon d'une eau de surface appropriée. Si nécessaire, concentrer l'échantillon par filtration ou centrifugation. Conserver l'échantillon en conditions aérobies et l'utiliser le jour du prélèvement.

Prélever pour l'inoculum un volume convenable.

8.3 Essai

Disposer d'un nombre suffisant de fioles coniques (7.5) de volume convenable (par exemple, 2 000 ml, mais il est également possible d'utiliser d'autres volumes et fioles d'essai) pour que l'essai comporte

- deux fioles d'essais au moins (symbole F_T) contenant 1 000 ml de la solution d'essai (8.1.1);
- deux fioles d'essai à blanc au moins (symbole F_B) contenant 1 000 ml du milieu d'essai (6.2);
- une fiole, au moins, pour le contrôle du mode opératoire (symbole F_C) contenant 1 000 ml de la solution du composé de référence (8.1.2);
- si besoin est, une fiole pour le contrôle d'un éventuel effet inhibiteur du composé expérimenté (symbole F_I) contenant 1 000 ml de la solution (8.1.3);
- si besoin est, une fiole pour le contrôle d'une éventuelle élimination abiotique (symbole F_S) contenant 1 000 ml de solution (8.1.1) mais sans inoculum, stérilisée par addition, par exemple de 1 ml/l d'une solution de mercure(II) ($HgCl_2$) à 10 g/l ou de tout autre composé toxique inorganique inhibant l'activité microbienne. Lorsque des substances très faiblement dégradables sont analysées, il est recommandé d'ajouter, après deux semaines d'essai, la même quantité de composé toxique (voir notes 5 et 6).

NOTES

5 La comparaison des pourcentages d'élimination dans les fioles F_T et F_S permet de vérifier si le composé soumis à l'essai ne fait pas l'objet d'une élimination due aux mécanismes physicochimiques abiotiques, tels que l'adsorption ou l'entraînement gazeux. Il convient de reporter les résultats au rapport d'essai.

6 Si la boue activée est utilisée comme inoculum, le composé soumis à l'essai peut être adsorbé de façon significative sur la boue. Ceci peut être vérifié en utilisant l'essai tel que décrit pour la fiole F_S , mais en ajoutant un inoculum (8.2). Normalement, seulement les composés purs ou pratiquement purs devraient être analysés, mais lorsque des mélanges sont expérimentés, une adsorption sélective des divers constituants peut se produire.

Ensemencer les fioles F_T , F_B , F_C , et si elle a été prévue, la fiole F_I , avec un volume d'inoculum approprié (8.2) et mélanger le contenu des fioles (voir note 4). En général, 0,1 à 1 ml d'inoculum suffisent pour 1 000 ml de solution d'essai.

Pendant toute la durée de l'essai, maintenir les fioles sur le dispositif d'agitation (7.3) et à une température de 20 °C à 25 °C.

Pour compenser les pertes d'eau dues à l'évaporation, vérifier, avant chaque prélèvement, le volume du milieu dans les fioles et si nécessaire, compléter avec de l'eau (6.1) au volume ou au poids mesuré après le prélèvement précédent.

Au début de l'essai (temps zéro), à la fin de l'essai (normalement après 28 jours) et au moins à trois intervalles de temps réguliers situés entre le début et la fin de l'essai (par exemple 7, 14 et 21 jours), prélever dans les fioles F_T , F_B , F_C et, si prévu également, dans F_I , un volume minimal. Si nécessaire, effectuer des mesures à des intervalles plus courts et/ou sur une période supérieure à 28 jours. Au début et à la fin de l'essai, prélever un échantillon de la fiole F_S . Si la fiole F_S estensemencée (voir notes 6 et 7), prélever un échantillon après 0 et 1 jour. Filtrer ces prélèvements sur membrane filtrante (7.6), ou en particulier si le produit est susceptible de s'adsorber sur la membrane, centrifuger à 40 000 m/s² pendant 15 min.

Déterminer au moins en double les concentrations en COD pour chaque période d'observation et chaque fiole. Pour des informations supplémentaires sur la biodégradation primaire, des analyses spécifiques de la substance peuvent être réalisées. La concentration déterminée dans la solution d'essai au début de l'essai (jour 0) est utilisée comme concentration initiale dans les calculs finals.

Si avant la fin de la période d'essai de 28 jours, un degré suffisant (> 80 %) et un niveau constant de dégradation est atteint, considérer l'essai comme terminé. Poursuivre l'essai durant 1 à 2 semaines si la dégradation a effectivement commencé mais n'a pas atteint un plateau.

Si des mesures de la teneur en carbone organique doivent être différées de 48 h maximum, conserver les échantillons à 4 °C à l'obscurité dans des fioles hermétiquement fermées. Si les mesures doivent être différées de plus de 48 h, conserver les échantillons à -18 °C ou bien ajouter une substance toxique inorganique appropriée, par exemple 20 ml/l d'une solution de chlorure de mercure(II) ($HgCl_2$) à 10 g/l inhibitant l'activité bactérienne et conserver à 4 °C.

9 Calcul et expression des résultats

9.1 Calcul

Déterminer, pour chaque fiole d'essai, le pourcentage d'élimination du carbone organique dissous D_t en utilisant l'équation

$$D_t = \left(1 - \frac{\rho_t - \rho_{Bt}}{\rho_0 - \rho_{B0}} \right) \times 100$$

où

ρ_0 est la concentration moyenne, en milligrammes par litre, en carbone organique dissous au temps 0, dans chaque fiole d'essai F_T ;

ρ_{B0} est la concentration moyenne, en milligrammes par litre, en carbone organique dissous au temps 0, dans la fiole d'essai à blanc F_B ;

ρ_t est la concentration moyenne, en milligrammes par litre, en carbone organique dissous au temps t , dans chaque fiole d'essai F_T ;

ρ_{Bt} est la concentration, en milligrammes par litre, en carbone organique dissous au temps t , dans la fiole d'essai à blanc F_B .

Arrondir les résultats au nombre entier le plus proche.

NOTES

7 L'élimination abiotique (fiole F_S) peut être calculée selon la même équation, mais sans considérer les valeurs du blanc (si F_S est inoculée pour vérifier le degré d'adsorption, considérer les blancs). Si une perte significative de carbone organique est observée, aucune différenciation entre élimination biotique et abiotique n'est possible. Dans ce cas, il est recommandé d'effectuer d'autres essais basés sur des paramètres indiquant clairement les processus biologiques, tel que l'essai respirométrique (ISO 9408) ou l'essai de production de dioxyde de carbone (ISO 9439).

8 Le degré d'élimination du mélange du composé à expérimenter et de la substance de référence, dans le contrôle de l'inhibition (fiole F_I) peut être calculé selon la même équation. Si le pourcentage d'élimination du mélange est inférieur à 35 % au bout de 14 jours, le composé soumis à l'essai a inhibé la biodégradation de la substance de référence et par conséquent est considéré comme toxique. Dans ce cas, il convient de recommencer l'essai avec une concentration plus faible du composé d'essai ou en utilisant un inoculum préexposé.

9.2 Expression des résultats

Établir un tableau des pourcentages d'élimination du carbone organique dissous pour chaque intervalle de concentration et chaque récipient d'essai. Si des résultats comparables sont obtenus pour les récipients d'essai en double (voir 10.1), tracer une courbe d'élimination en fonction du temps (voir exemple en annexe A).

À partir de ces courbes, certains paramètres de dégradation peuvent être déduits, en particulier, si suffisamment de données sont disponibles, le temps de latence, le temps de biodégradation et le niveau maximal de dégradation tels que définis en 9.2.1 à 9.2.3.

Si la substance d'essai n'est pas significativement éliminée abiotiquement (par exemple, par adsorption), et si la courbe d'élimination présente une forme typique avec une phase de latence et de dégradation, attribuer l'élimination du COD mesuré à la biodégradation.

9.2.1 Temps de latence t_1

Un temps de latence peut être observé pour la plupart des courbes de dégradation. Il est normalement défini comme le temps qui sépare le moment de l'inoculation du moment où le pourcentage de dégradation atteint 10 % de la teneur initiale en COD. Ce temps de latence est souvent très variable et peu reproductible. Exprimer le temps de latence en jours.

9.2.2 Niveau maximal de dégradation

Le niveau maximal de dégradation est défini comme le niveau approximatif au-dessus duquel il n'y a plus de dégradation, pendant la durée de l'essai.

9.2.3 Temps de dégradation t_2

Le temps de dégradation t_2 est défini comme le temps qui sépare la fin du temps de latence t_1 du moment où 90 % du niveau maximal de dégradation est atteint. Exprimer le temps de dégradation en jours.

10 Validité de l'essai

10.1 L'essai est valide si, dans les fioles d'essai à même concentration et à même inoculum, la différence observée entre les valeurs extrêmes de dégra-

dation est inférieure à 20 % de COD éliminé à la fin de l'essai. Si ce n'est pas le cas, recommencer l'essai.

10.2 L'essai est valide si, dans l'essai avec l'un des composés de référence proposés, le pourcentage de dégradation après 14 jours est supérieure à 70 %. Si ce n'est pas le cas, recommencer l'essai.

11 Rapport d'essai

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

- a) la référence à la présente Norme internationale;
- b) toute information nécessaire à l'identification du composé expérimenté;
- c) tous les résultats obtenus (par exemple, présentés sous forme de tableau) et la courbe de dégradation;
- d) la concentration du composé soumis à l'essai utilisé et la teneur en COD correspondante;
- e) le nom du composé de référence utilisé et le pourcentage de dégradation obtenu avec ce composé;
- f) l'origine, les caractéristiques, la concentration ou le volume de l'inoculum utilisé ainsi que les informations sur tout prétraitement;
- g) les principales caractéristiques de l'analyseur de carbone organique dissous utilisé;
- h) la température d'incubation de l'essai;
- i) le pourcentage de dégradation obtenu dans la fiole F_5 (contrôle de l'élimination abiotique) si une telle fiole a été incluse;
- j) le pourcentage de dégradation dans la fiole F_1 (essai de toxicité) si une telle fiole a été incluse ainsi que l'indication de la toxicité du composé soumis à l'essai;
- k) les raisons d'un éventuel rejet de l'essai (voir article 10);
- l) toute modification du mode opératoire décrit, ou tout autre incident susceptible d'avoir agi sur les résultats.

Annexe A (informative)

Courbe de dégradation typique

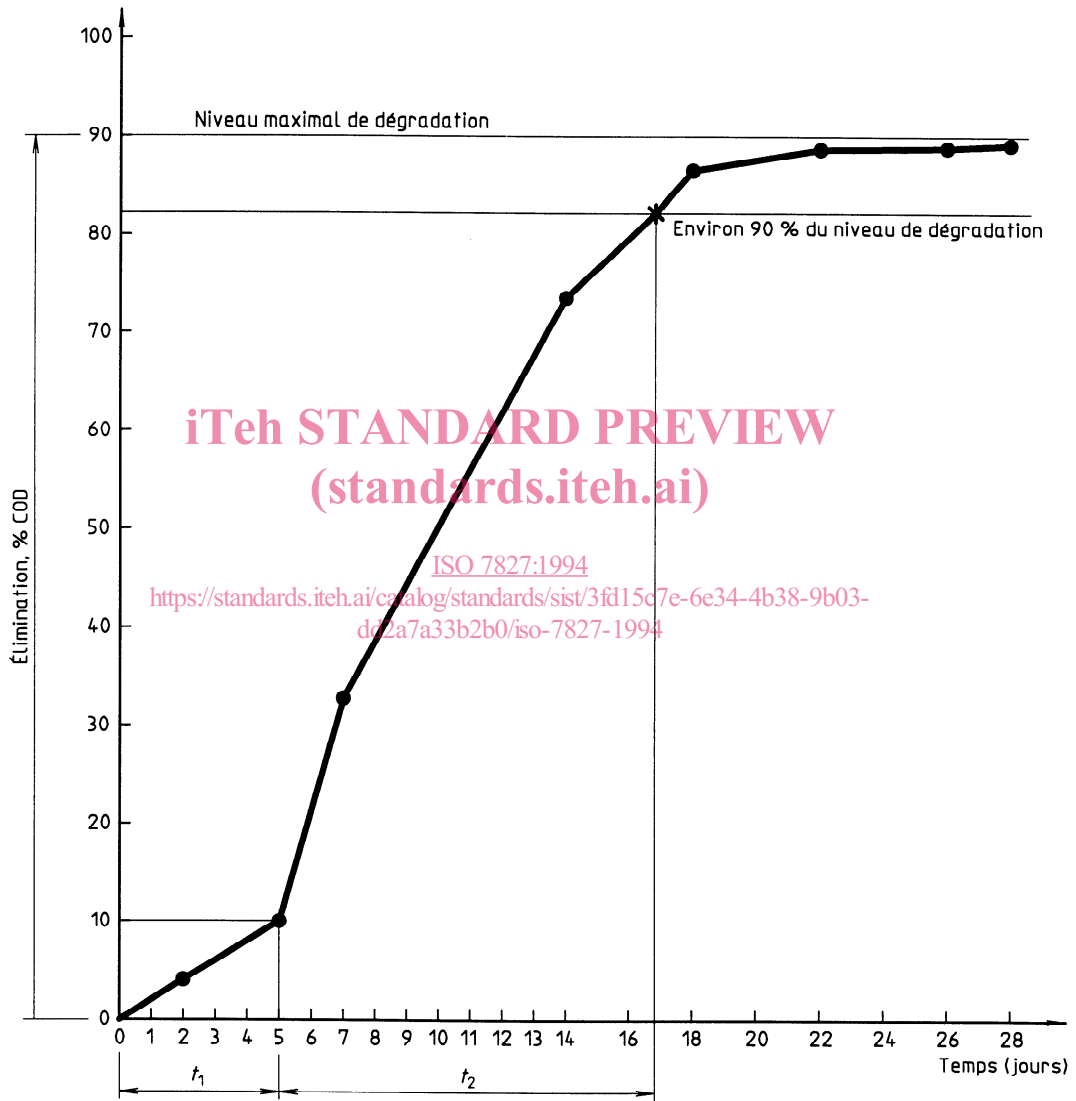


Figure A.1