

---

---

**Qualité de l'eau — Évaluation de la  
biodégradabilité aérobie des composés  
organiques présents en faibles  
concentrations —**

Partie 1:

**Essai en lots de flacons agités avec des  
eaux de surface ou des suspensions  
eaux de surface/sédiments**

ISO 14592-1:2002

<https://standards.iteh.org/standards/Evaluation-of-the-aerobic-biodegradability-of-organic-compounds-at-low-concentrations-2002-11-15>

*Part 1: Shake-flask batch test with surface water or surface water  
sediment suspensions*



**PDF – Exonération de responsabilité**

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO décline toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

[ISO 14592-1:2002](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/67d9fa9d-0482-453a-86f3-2ab7d167e5a2/iso-14592-1-2002)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/67d9fa9d-0482-453a-86f3-2ab7d167e5a2/iso-14592-1-2002>

© ISO 2002

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'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office  
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20  
Tel. + 41 22 749 01 11  
Fax. + 41 22 749 09 47  
E-mail [copyright@iso.org](mailto:copyright@iso.org)  
Web [www.iso.org](http://www.iso.org)

Version française parue en 2003

Publié en Suisse

## Sommaire

Page

Avant-propos .....	iv
Introduction .....	v
1 <b>Domaine d'application</b> .....	1
2 <b>Référence normative</b> .....	1
3 <b>Termes, définitions et symboles</b> .....	2
4 <b>Principe</b> .....	5
5 <b>Réactifs et milieux</b> .....	5
6 <b>Appareillage</b> .....	7
7 <b>Environnement et conditions d'essai</b> .....	8
8 <b>Mode opératoire</b> .....	9
9 <b>Calculs</b> .....	12
10 <b>Validité de l'essai</b> .....	14
11 <b>Rapport d'essai</b> .....	14
<b>Annexe A</b> (informative) <b>Guide sur l'utilisation de composés marqués au <sup>14</sup>C</b> .....	16
<b>Bibliographie</b> .....	24

[ISO 14592-1:2002](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/67d9fa9d-0482-453a-86f3-2ab7d167e5a2/iso-14592-1-2002)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/67d9fa9d-0482-453a-86f3-2ab7d167e5a2/iso-14592-1-2002>

## 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 Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 3.

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.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments de la présente partie de l'ISO 14592 peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

La Norme internationale ISO 14592-1 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 147, *Qualité de l'eau*, sous-comité SC 5, *Méthodes biologiques*.

L'ISO 14592 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Qualité de l'eau — Évaluation de la biodégradabilité aérobie des composés organiques présents en faibles concentrations*:

- *Partie 1: Essai en lots de flacons agités avec des eaux de surface ou des suspensions eaux de surface/sédiments*
- *Partie 2: Modèle de cours d'eau à courant continu avec biomasse associée*

L'annexe A est donnée uniquement à titre d'information.

## Introduction

La présente Norme internationale comprend deux parties. La Partie 1 décrit un essai de disparition par lots avec des eaux de surface avec ou sans suspension de sédiments ajoutés, simulant soit un environnement aquatique pélagique, soit une interface eau/sédiment. La Partie 2 décrit un système à courant continu simulant un cours d'eau avec une biomasse associée à des surfaces stationnaires.

L'essai a été spécifiquement mis au point pour fournir des informations sur le comportement de biodégradation et les cinétiques de dégradation de composés d'essai présents en faibles concentrations, c'est-à-dire suffisamment basses pour assurer qu'elles simulent des cinétiques de biodégradation que l'on rencontrerait dans des systèmes environnementaux naturels.

Avant de procéder à cet essai, il est nécessaire de disposer d'informations sur le comportement de biodégradabilité du composé d'essai à des concentrations plus élevées (par exemple dans le cadre d'essais normalisés de biodégradation) ainsi que, si possible, d'informations sur sa dégradabilité abiotique ou sur son élimination dans l'eau, et des données physico-chimiques correspondantes. Ces informations sont nécessaires afin de planifier l'expérience et d'interpréter les résultats convenablement.

Lorsque cette méthode d'essai est utilisée avec un échantillon unique d'eau de surface (avec ou sans sédiment ajouté), elle peut fournir une estimation de laboratoire d'une vitesse de dégradation de premier ordre pour un point spatio-temporel unique. Le système d'essai peut être plus cohérent et fournir des résultats de biodégradation plus fiables s'il est adapté au composé d'essai maintenu à une concentration spécifique. Ceci peut être obtenu en utilisant une variante facultative en semi-continu du mode opératoire de la présente méthode.

[ISO 14592-1:2002](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/67d9fa9d-0482-453a-86f3-2ab7d167e5a2/iso-14592-1-2002)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/67d9fa9d-0482-453a-86f3-2ab7d167e5a2/iso-14592-1-2002>

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 14592-1:2002

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/67d9fa9d-0482-453a-86f3-2ab7d167e5a2/iso-14592-1-2002>

# Qualité de l'eau — Évaluation de la biodégradabilité aérobie des composés organiques présents en faibles concentrations —

## Partie 1:

### Essai en lots de flacons agités avec des eaux de surface ou des suspensions eaux de surface/sédiments

**AVERTISSEMENT ET PRÉCAUTIONS DE SÉCURITÉ** — Les boues activées, les eaux usées et les effluents contiennent des organismes potentiellement pathogènes. C'est pourquoi il convient de prendre les mesures de précaution appropriées lors de leur manipulation. Il est recommandé de faire preuve de prudence lors de la manipulation de composés d'essai toxiques et dangereux et de ceux dont les propriétés sont inconnues. Il convient de respecter les règles et réglementations en vigueur en cas de manipulation de composés radio-marqués.

## 1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 14592 spécifie une méthode d'essai pour l'évaluation de la biodégradabilité de composés d'essai organiques par des micro-organismes aérobie au moyen d'un essai en lots de flacons agités. Elle s'applique à des eaux de surface naturelles exemptes de particules grossières pour simuler un environnement pélagique («essai pélagique»), ou à des eaux de surface avec des sédiments en suspension ajoutés pour obtenir des concentrations de 0,1 g/l à 1 g/l en masse sèche pour simuler une pièce d'eau avec sédiments en suspension («essai avec suspension de sédiments»).

La présente partie de l'ISO 14592 s'applique aux composés d'essai organiques présents en concentrations plus faibles (normalement inférieures à 100 µg/l) que celles des substrats carbonés naturels également présents dans le système. Dans ces conditions, les composés d'essai ont la fonction de substrat secondaire, et il est attendu que la cinétique de biodégradation soit du premier ordre (cinétique «sans croissance»).

L'utilisation de cette méthode d'essai n'est pas recommandée comme preuve de la biodégradation ultime, qui peut s'évaluer de manière plus fiable en utilisant d'autres essais normalisés (voir l'ISO/TR 15462). Elle n'est pas recommandée non plus pour étudier la formation et l'accumulation de métabolites, ce qui requiert des concentrations d'essai plus élevées.

## 2 Référence normative

Le document normatif suivant contient des dispositions qui, par suite de la référence qui y est faite, constituent des dispositions valables pour la présente partie de l'ISO 14592. Pour les références datées, les amendements ultérieurs ou les révisions de ces publications ne s'appliquent pas. Toutefois, les parties prenantes aux accords fondés sur la présente partie de l'ISO 14592 sont invitées à rechercher la possibilité d'appliquer l'édition la plus récente du document normatif indiqué ci-après. Pour les références non datées, la dernière édition du document normatif en référence s'applique. Les membres de l'ISO et de la CEI possèdent le registre des Normes internationales en vigueur.

ISO/TR 15462, *Qualité de l'eau — Sélection d'essais de biodégradabilité*

### 3 Termes, définitions et symboles

#### 3.1 Termes et définitions

Pour les besoins de la présente partie de l'ISO 14592, les termes et définitions suivants s'appliquent.

##### 3.1.1

##### **biodégradation aérobie ultime**

décomposition d'un composé chimique ou d'une matière organique par des micro-organismes, en présence d'oxygène, en dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>), eau et sels minéraux des autres éléments éventuellement présents (minéralisation), et production d'une nouvelle biomasse

NOTE La minéralisation totale peut être différente de la biodégradation aérobie ultime car la minéralisation totale inclut la minéralisation secondaire des produits de biosynthèse. En conséquence, la cinétique peut dévier de la cinétique du premier ordre, en particulier vers la fin de l'essai. Dans la présente partie de l'ISO 14592, la biodégradation aérobie primaire est déterminée lorsqu'une analyse spécifique de la substance est utilisée, et la minéralisation totale est déterminée lorsque des composés radio-marqués sont utilisés.

##### 3.1.2

##### **biodégradation primaire**

modification structurelle (transformation) d'un composé chimique par des micro-organismes résultant en la perte d'une propriété spécifique de ce composé

##### 3.1.3

##### **carbone organique dissous**

##### **COD**

partie du carbone organique présent dans un échantillon d'eau qui ne peut être éliminée par une séparation spécifiée des phases

NOTE La séparation des phases peut être obtenue, par exemple, par centrifugation de l'échantillon d'eau à 40 000 m/s<sup>2</sup> pendant 15 min ou par filtration sur membrane dont le diamètre des pores est de 0,45 µm.

##### 3.1.4

##### **phase de latence**

$t_{latence}$

période entre le début d'un essai et le moment où une dégradation significative (environ 10 % du niveau maximum de dégradation) peut être mesurée

NOTE La phase de latence est exprimée en jours (j).

##### 3.1.5

##### **niveau maximal de biodégradation**

taux maximal de biodégradation d'un composé chimique ou d'une matière organique au cours d'un essai au-delà duquel aucune biodégradation ne survient plus pendant l'essai

NOTE Le niveau maximal de biodégradation est exprimé en pourcentage.

##### 3.1.6

##### **substrat primaire**

source majeure de carbone et d'énergie essentielle à la croissance ou au maintien des micro-organismes

##### 3.1.7

##### **substrat secondaire**

élément de substrat présent à des concentrations si faibles que, par sa dégradation, seules des quantités insignifiantes de carbone et d'énergie sont fournies aux micro-organismes, par comparaison avec le carbone et l'énergie fournis par la dégradation des substrats primaires

### 3.1.8 constante de vitesse de dégradation

$k$

constante de vitesse pour cinétique de premier ordre ou de pseudo-premier ordre, qui indique la vitesse à laquelle se produisent les processus de dégradation

NOTE 1 La constante de vitesse de dégradation est exprimée en inverse de jours ( $j^{-1}$ ).

NOTE 2 Dans le cadre d'une expérience par lots,  $k$  est estimée à partir de la partie initiale de la courbe de dégradation obtenue après la fin de la phase de latence. Dans le cadre de systèmes d'essai fonctionnant en continu,  $k$  peut être estimée à partir d'un bilan massique sur le réacteur en utilisant les données recueillies en conditions d'état permanent.

### 3.1.9 demi-vie de dégradation

$T_{1/2}$

caractéristique de la vitesse d'une réaction du premier ordre: intervalle de temps nécessaire à une réduction de la concentration par un facteur de deux

NOTE 1 La demi-vie de dégradation est exprimée en jours ( $j$ ).

NOTE 2 La demi-vie de dégradation et la constante de vitesse de dégradation sont liées par l'équation suivante:

$$T_{1/2} = \ln 2/k$$

NOTE 3 Il convient de ne pas confondre la demi-vie de dégradation  $T_{1/2}$  pour les réactions du premier ordre avec la durée de demi-vie,  $T_{50}$ , qui est souvent utilisée pour décrire le comportement environnemental des pesticides, et qui correspond simplement au temps nécessaire pour atteindre 50 % de la biodégradation totale. La durée de demi-vie  $T_{50}$  peut être dérivée de courbes de dégradation sans faire d'hypothèses sur les cinétiques.

## 3.2 Symboles

Symbole	Description	Unité
$A^{1)}$	activité du composé d'essai radio-marqué au $^{14}\text{C}$	becquerels (Bq)
$A_I$	activité du $^{14}\text{C}$ inorganique ( $^{14}\text{CO}_2$ dégagé suite à la biodégradation)	becquerels (Bq)
$A_{TO}$	activité du $^{14}\text{C}$ organique total du composé d'essai résiduel, des métabolites, de la biomasse microbienne particulaire et des constituants cellulaires dissous, mesurée dans la phase liquide après élimination du $^{14}\text{CO}_2$ par entraînement	becquerels (Bq)
$A_{DO}$	activité du $^{14}\text{C}$ organique dissous du composé d'essai résiduel, des métabolites et des constituants cellulaires dissous, mesurée dans la phase liquide après élimination du $^{14}\text{CO}_2$ par entraînement et séparation des particules par filtration sur membrane ou centrifugation	becquerels (Bq)
$A_{PO}$	activité du $^{14}\text{C}$ organique particulaire du $^{14}\text{C}$ sorbé du composé d'essai et de la biomasse du $^{14}\text{C}$ particulaire, mesurée dans le résidu particulaire après filtration ou centrifugation	becquerels (Bq)

1)  $A$  est le symbole pour l'activité, exprimée en becquerels, comme spécifié dans l'ISO 31-9-33:1992.

$a^{2)}$	activité spécifique du composé d'essai ou d'un mélange de composé d'essai radio-marqué et de composé d'essai «froid»	becquerels par microgramme (Bq/ $\mu$ g)
$c^{3)}$	concentration molaire résiduelle du composé d'essai	micromoles par litre ( $\mu$ mol/l)
$c_0$	concentration molaire initiale du composé d'essai	micromoles par litre ( $\mu$ mol/l)
$c_A^{4)}$	concentration d'activité résiduelle	becquerels par millilitre (Bq/ml)
$c_{A0}$	concentration d'activité ajoutée initialement	becquerels par millilitre (Bq/ml)
$c_{A\text{plateau}}$	concentration d'activité au plateau de la transition entre la courbe de dégradation et la «queue résiduelle» qui la suit	becquerels par millilitre (Bq/ml)
$F_T$	flacons contenant le composé d'essai analysé	
$F_B$	flacons contenant l'échantillon à blanc	
$F_C$	flacons pour contrôler la performance de l'essai avec une substance de référence	
$F_S$	flacon stérile pour contrôler une éventuelle dégradation abiotique ou toute autre forme d'élimination non biologique	
$k$	constante de vitesse de biodégradation	inverse de jours ( $j^{-1}$ )
$k^*$	constante de vitesse de pseudo-premier ordre pour la disparition de l'activité	inverse de jours ( $j^{-1}$ )
$k_{\text{non adapté}}$	constantes de vitesse du premier ordre et demi-vies associées, dérivées de parties de la courbe sans croissance significative	inverse de jours ( $j^{-1}$ )
$k_{\text{adapté}}$	constantes de vitesse de pseudo-premier ordre représentant des environnements adaptés	inverse de jours ( $j^{-1}$ )
$t$	temps	jours (j)
$t_{\text{latence}}$	phase de latence	jours (j)
$T_{1/2}$	demi-vie de dégradation	jours (j)

2) Conformément à l'ISO 31-9-34:1992,  $a$  est défini comme le symbole pour l'activité spécifique, exprimée en becquerels par kilogramme. Il peut parfois être d'usage courant d'utiliser le symbole  $\sigma$  pour l'activité spécifique, mais cela n'est pas conforme à l'ISO 31-10-3:1992 où « $\sigma$ » est défini comme la coupe transversale pour une entité cible spécifiée et pour une réaction ou un processus spécifié produit par des particules incidentes chargées ou non chargées d'un type et d'une énergie spécifiés.

3) Dans l'ISO 31-8-13:1992,  $c$  est défini comme le symbole pour la «concentration molaire» exprimée en moles par litre, et dans l'ISO 31-8-11.2:1992,  $\rho$  est défini comme le symbole pour la «concentration massique» exprimée en kilogrammes par litre. On remarque que dans l'ISO 31, la «concentration» du composé d'essai dans la solution est exprimée de deux manières:

- « $\rho$ » est la masse du composé d'essai par unité de volume;
- « $c$ » est utilisé spécifiquement pour le nombre de moles du composé d'essai par unité de volume.

4)  $c_A$  est le symbole pour l'activité volumétrique, exprimée en becquerels par mètre cube, comme spécifié dans l'ISO 31-9-35.  $a$  est parfois utilisé pour l'activité volumétrique, mais n'est pas conforme à l'ISO 31.

$V$	volume réactionnel dans le réacteur	litres (l)
$\alpha$	fraction de $^{14}\text{C}$ convertie en $^{14}\text{CO}_2$	
$\rho^3$	concentration massique résiduelle du composé d'essai	microgrammes par litre ( $\mu\text{g/l}$ )
$\rho_0$	concentration massique initiale du composé d'essai	microgrammes par litre ( $\mu\text{g/l}$ )

## 4 Principe

L'essai est conduit en procédant par incubation de lots du composé d'essai avec un échantillon d'eau de surface avec ou sans sédiments. Lorsque de l'eau de surface seule est utilisée, l'essai est dit «essai pélagique»; lorsque des sédiments sont ajoutés pour obtenir une suspension, l'essai est dit «essai avec suspension de sédiments». L'incubation a lieu sous agitation à température ambiante, en utilisant en pratique un système de flacons placés sur un agitateur.

Les composés d'essai, présents en concentrations plus faibles que celles des substrats carbonés naturels également présents dans le système, ont la fonction de substrats secondaires. Les micro-organismes de dégradation reçoivent la majeure partie de leur énergie et du carbone des substrats primaires et non des substrats secondaires. Dans ces conditions, il est attendu que la cinétique de biodégradation soit du premier ordre (cinétique «sans croissance»). Une cinétique du premier ordre implique que la vitesse spécifique de dégradation est constante et indépendante de la concentration du composé d'essai.

Le composé d'essai est ajouté à deux concentrations différentes. Les concentrations sont choisies de l'ordre du  $\mu\text{g/l}$  (de préférence  $< 100 \mu\text{g/l}$ ) afin d'obtenir une cinétique de dégradation du premier ordre et une demi-vie estimée indépendante de la concentration d'essai. Normalement, il convient de choisir les concentrations les plus faibles possible en tenant compte de la sensibilité des techniques de mesurage disponibles. Il n'est pas nécessaire que ces concentrations soient aussi faibles que celles escomptées dans l'environnement pour assurer le même type de cinétique de dégradation.

Le mélange d'essai est transféré dans des flacons fermés avec un espace de tête constitué d'air. Les flacons sont incubés à l'abri de la lumière ou sous éclairage diffus à la température environnementale ambiante ou à une température comprise entre  $20^\circ\text{C}$  et  $25^\circ\text{C}$ , comme couramment utilisée pour les essais de biodégradation. Une agitation est assurée en secouant ou en remuant en continu les flacons afin de maintenir les particules, y compris les micro-organismes, à l'état de suspension libre.

La dégradation est suivie au cours du temps par la détermination de la concentration résiduelle du composé d'essai à une fréquence appropriée. Il convient que la durée d'incubation soit suffisamment longue pour pouvoir évaluer le comportement de dégradation. Si la dégradation est considérée comme significative, le niveau devrait être suffisant (normalement supérieur à environ 15 % à 20 % de dégradation) pour permettre l'estimation de la constante de vitesse du premier ordre.

Le mesurage de la dégradation du composé d'essai s'effectue soit par la technique du traceur radioactif, en utilisant normalement le  $^{14}\text{C}$  marqué et le comptage de scintillations en phase liquide, soit par analyse chimique spécifique si une méthode suffisamment sensible est disponible. En utilisant la technique au  $^{14}\text{C}$  et le marquage au  $^{14}\text{C}$  de la partie la plus persistante de la molécule, la minéralisation totale ou la biodégradation ultime peut être évaluée, tandis qu'une analyse spécifique permet uniquement de mesurer la biodégradation primaire.

## 5 Réactifs et milieux

### 5.1 Réactifs

Utiliser exclusivement des réactifs de qualité analytique reconnue et des composés radio-marqués de grande pureté radiochimique.

**5.1.1 Eau déionisée**, pour préparer les solutions mères du composé d'essai et de la substance de référence.

Cette eau doit avoir une teneur en COD d'au plus 1 mg/l (utiliser par exemple l'ISO 8245 pour sa détermination), et être exempte de concentrations inhibitrices de substances toxiques.

**5.1.2 Solvant organique volatil** (facultatif), pour dissoudre les composés d'essai peu solubles.

**5.1.3 Chlorure mercurique** ( $\text{HgCl}_2$ ) (facultatif), ajouté à une concentration massique de 100 mg/l à l'échantillon d'eau d'essai contenant le composé d'essai ou la substance de référence afin de stopper toute activité biologique.

**5.1.4 Azoture de sodium** ( $\text{NaN}_3$ ) (facultatif), ajouté à une concentration massique de 10 g/l à l'échantillon d'eau d'essai contenant le composé d'essai ou la substance de référence afin de stopper toute activité biologique.

## 5.2 Milieux

**5.2.1 Eau de surface** pour l'«essai pélagique».

Prélever un échantillon d'eau de surface appropriée et le transférer dans un récipient parfaitement propre. Éliminer les particules grossières, par exemple en procédant par filtration sur un filtre nylon d'environ 100  $\mu\text{m}$  d'ouverture de maille, un filtre papier à gros grain, ou encore par sédimentation. Conserver l'échantillon d'eau de surface dans des conditions aérobies (par exemple en laissant un espace de tête suffisant dans le flacon) durant le transport et jusqu'au démarrage de l'essai en laboratoire. Commencer l'essai de préférence dans les 24 h qui suivent le prélèvement. Pendant le transport et le stockage, il convient que la température de l'échantillon d'eau de surface ne dépasse pas de manière significative la température à utiliser pour l'essai. Refroidir à 4 °C si le temps de transport dépasse quelques heures. S'assurer que l'eau ne gèle pas.

Identifier précisément le lieu d'échantillonnage et le décrire en termes de pollution et d'état nutritif. Fournir au minimum les informations suivantes pour l'eau de surface prélevée pour l'essai:

- a) la date et l'heure du prélèvement et le délai entre le prélèvement et l'utilisation dans le cadre de l'essai en laboratoire;
- b) la profondeur du prélèvement;
- c) l'aspect de l'échantillon (turbidité, par exemple);
- d) la température et le pH sur le lieu et à l'heure de prélèvement;
- e) en cas de prélèvement d'eau de mer ou d'eau saumâtre, la salinité ou la conductivité;
- f) en cas de prélèvement d'échantillon turbide, la quantité de matières solides en suspension;
- g) le nombre de micro-organismes formant colonies déterminé sur un milieu de croissance approprié selon des méthodes normalisées;

et, facultativement:

- h) les concentrations en COD et en carbone organique total (COT);
- i) les nutriments inorganiques, comme le phosphore total, les orthophosphates dissous, l'azote total, le nitrate, le nitrite ou l'azote ammoniacal;
- j) la concentration de chlorophylle-a;
- k) le nombre microbien total, déterminé par coloration (avec de l'acridine orange, par exemple) et par microscopie à épifluorescence après traitement par ultrasons ou dispersion par d'autres moyens;
- l) les autres caractéristiques se rapportant à la biomasse et à l'activité microbiennes, comme l'ATP (adénosine triphosphate), les protéines, l'activité d'assimilation du carbone hétérotrophe, et la détermination du nombre d'organismes capables de dégrader le composé d'essai (en utilisant la méthode du nombre le plus probable, par exemple).