NORME INTERNATIONALE

ISO 5667-16

Première édition
1998-10-01

Qualité de l'eau — Échantillonnage —

Partie 16:
Lignes directrices pour les essais biologiques des échantillons

Water quality — Sampling —
Part 16: Guidance on biotesting of samples

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 5667-16:1998
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b692b8ce-7481-47b3-a651-d35962be66dd/iso-5667-16-1998

(F)

Sommaire

1 Domaine d'application 1

2 Références normatives 1

3 Échantillonnage 2

4 Transport 3

5 Conservation et stockage 3

6 Matériels et équipements 4

7 Prétraitement et préparation des échantillons 4

8 Traitement des échantillons lors de l'essai 12

9 Ligne directrice relative à la conception de l'essai 13

10 Ligne directrice spécifique relative à la réalisation des essais 15

11 Essais biologiques spécifiques 18

12 Évaluation 22

13 Présentation des résultats 26

14 Rapport d'essai 27

15 Principes de base de l'assurance qualité relative aux essais biologiques 28

Annexe A (informative) **Plus faible dilution sans effet (LID)** 31

Annexe B (informative) **Bibliographie** 32

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 5667-16:1998
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b69208ce-7481-4703-a031-d35962be66dd/iso-5667-16-1998

© ISO 1998

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
Internet iso@iso.ch

Imprimé en Suisse

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 adoptées 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 5667-16 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 147, *Qualité de l'eau*, sous-comité SC 6, *Échantillonnage (méthodes générales)*.

L'ISO 5667 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Qualité de l'eau — Échantillonnage*:

— *Partie 1: Guide général pour l'établissement des programmes d'échantillonnage*

— *Partie 2: Guide général sur les techniques d'échantillonnage*

— *Partie 3: Guide général pour la conservation et la manipulation des échantillons*

— *Partie 4: Guide pour l'échantillonnage des eaux des lacs naturels et des lacs artificiels*

— *Partie 5: Guide pour l'échantillonnage de l'eau potable et de l'eau utilisée dans l'industrie alimentaire et des boissons*

— *Partie 6: Guide pour l'échantillonnage des rivières et des cours d'eau*

— *Partie 7: Guide général pour l'échantillonnage des eaux et des vapeurs dans les chaudières*

— *Partie 8: Guide général pour l'échantillonnage des dépôts humides*

— *Partie 9: Guide général pour l'échantillonnage des eaux marines*

— *Partie 10: Guide pour l'échantillonnage des eaux résiduaires*

— *Partie 11: Guide général pour l'échantillonnage des eaux souterraines*

— *Partie 12: Guide général pour l'échantillonnage des sédiments*

— *Partie 13: Guide pour l'échantillonnage de boues provenant d'installations de traitement de l'eau et des eaux usées*

— *Partie 14: Lignes directrices pour le contrôle de la qualité dans l'échantillonnage et la manutention des eaux environnementales*

— *Partie 15: Lignes directrices pour la préservation et le traitement des échantillons de boue et de sédiments*

— *Partie 16: Lignes directrices pour les essais biologiques des échantillons*

Les annexes A et B de la présente partie de l'ISO 5667 sont données uniquement à titre d'information.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 5667-16:1998
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7d4b6d63-6a2b-4b2a-b751-d35962be66dd/iso-5667-16-1998

Introduction

Les essais biologiques sont effectués pour déterminer l'effet des paramètres chimiques et physiques sur les organismes d'essai dans des conditions expérimentales spécifiées. En principe, les méthodes d'analyse chimique ne conviennent pas pour la détermination des effets biologiques. Ces effets peuvent être la stimulation ou l'inhibition et peuvent être déterminés par la réaction des organismes, par exemple mort, croissance, prolifération, modifications morphologiques, physiologiques et histologiques. Les effets d'inhibition sont déclenchés par des constituants toxiques de l'eau ou par d'autres influences nocives.

Les effets peuvent se rapporter à différents niveaux (par exemple découlant de structures (sub-)cellulaires ou de systèmes d'enzymes, concernant l'ensemble de l'organisme) et, le cas échéant, au niveau supra-organismique ou communautaire.

Dans le cadre de la présente partie de l'ISO 5667, la toxicité est la capacité d'une substance à induire un effet nocif sur les organismes ou biocénoses en raison de ses propriétés chimiques et de sa concentration.

Le potentiel nocif d'une substance toxique peut être contrecarré par le potentiel de protection du système biologique, par exemple par détoxication métabolique et excrétion. La toxicité apparente mesurable par l'essai biologique est le résultat de l'interaction entre la substance et le système biologique.

Mis à part les effets toxiques directs d'un ou de plusieurs constituants de l'eau, des effets biologiques préjudiciables peuvent se développer par l'action combinée de toutes les substances nocives, par exemple par des substances non toxiques en elles-mêmes mais qui affectent les propriétés chimiques ou physiques du milieu et, par conséquent, les conditions de vie des organismes. Ceci s'applique par exemple aux substances consommant de l'oxygène, aux substances colorées ou aux matières turbides qui réduisent l'exposition à la lumière. Ceci comprend également les effets non liés aux substances tels que les influences défavorables ou les endommagements dus à des températures extrêmes.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 5667-16:1998
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b692b8ce-7481-4763-a651-d35962be66dd/iso-5667-16-1998

Les essais biologiques comprennent également les essais qui examinent l'effet des organismes sur les substances, par exemple les études de dégradation microbienne.

Les résultats des essais biologiques font principalement référence aux organismes utilisés pour les essais et aux conditions stipulées dans le mode opératoire d'essai. Un effet nocif établi au moyen d'essais normalisés peut renseigner sur un danger potentiel pour les organismes et les biocénoses aquatiques. Cependant, les résultats ne permettent pas de tirer des conclusions directes ou d'extrapolation en ce qui concerne la présence d'effets similaires dans l'environnement aquatique. Ceci s'applique en particulier au niveau du sub-organisme, dans la mesure où des propriétés et des fonctions physiologiques importantes des organismes entiers (par exemple téguments protecteurs, mécanismes de réparation) sont supprimées ou désactivées.

En principe, aucun organisme et aucune biocénose ne peut être utilisé pour examiner tous les effets possibles sur l'écosystème compte tenu du grand nombre de conditions abiotiques et biotiques possibles. Seules quelques espèces («modèles») représentant les fonctions écologiques majeures peuvent en pratique être soumises à l'essai.

Outre ces limitations fondamentales et pratiques dans la sélection des organismes d'essai, l'échantillon devant être soumis à l'essai peut poser des problèmes d'expérimentation en matière d'essai biologique. Les eaux, en particulier les eaux résiduaires, sont des mélanges complexes et contiennent souvent des substances difficilement solubles, volatiles, instables, colorées et/ou des particules en suspension, parfois colloïdales. La complexité et l'hétérogénéité des matériaux entraînent toute une variété de problèmes expérimentaux lors de la réalisation des essais biologiques.

Des problèmes spéciaux sont liés à l'instabilité du matériau d'essai en raison des réactions et des procédés, tels que:

— ceux de nature physique (par exemple séparation de phases, sédimentation, volatilisation);

— ceux de nature chimique (par exemple hydrolyse, photodégradation, précipitation); et/ou

— ceux de nature biologique (par exemple, biodégradation, biotransformation, capacité d'absorption biologique au sein des organismes).

D'autres problèmes, particulièrement en cas d'application de mesures spectrométriques, sont liés à la turbidité et à la couleur.

La présente partie de l'ISO 5667 fait partie d'un groupe de Normes internationales relatives à l'échantillonnage des eaux. Il convient de la lire conjointement avec les autres parties et, en particulier, avec l'ISO 5667-1, l'ISO 5667-2 et l'ISO 5667-3.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 5667-16:1998
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b692b8ce-7481-47b3-a651-d35962be66dd/iso-5667-16-1998

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 5667-16:1998
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b692b8ce-7481-47b3-a651-d35962be66dd/iso-5667-16-1998

Qualité de l'eau — Échantillonnage —

Partie 16:
Lignes directrices pour les essais biologiques des échantillons

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 5667 fournit des lignes directrices sur l'échantillonnage, le prétraitement, la mise en œuvre et l'évaluation des eaux dans le cadre des essais biologiques. Des informations sont données sur la manière de traiter les problèmes résultant de la nature de l'échantillon d'eau et sur l'adaptation du protocole expérimental.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

Elle est destinée à diffuser une expérience pratique concernant les précautions à prendre en décrivant des méthodes qui se sont révélées satisfaisantes dans la résolution ou l'élimination de certains problèmes expérimentaux au cours des essais biologiques.

ISO 5667-16:1998
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b692b8ce-7481-47b3-a651-
c1a6e5e0ad/iso-5667-16-1998

Il a été fait référence aux Normes internationales et aux directives existantes dans toute la mesure du possible. Les informations provenant de publications ou de communications orales sont également utilisées.

La présente partie de l'ISO 5667 traite en premier lieu des problèmes liés aux substances en ce qui concerne l'échantillonnage, le prétraitement et la préparation d'échantillons d'eau pour les essais biologiques et le traitement des échantillons au cours de l'essai — particulièrement lors de la réalisation d'essais avec des eaux et des eaux résiduaires contenant des composés instables ou susceptibles d'être éliminés. Les principes fondamentaux d'assurance qualité, d'évaluation des données et de présentation des résultats y sont soulignés.

L'accent est mis sur les essais écotoxicologiques réalisés avec des organismes («essais biologiques monospécifiques»). Certaines caractéristiques traitées dans ces lignes directrices s'appliquent également à l'échantillonnage et la préparation d'échantillons pour les études de biodégradation et/ou de bioaccumulation. La préparation de substances faiblement solubles et les essais réalisés au-delà des limites de solubilité de l'eau y sont également traités.

La présente partie de l'ISO 5667 n'est pas applicable à l'examen bactériologique des eaux. Des méthodes appropriées sont décrites dans d'autres Normes internationales.

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 partie de l'ISO 5667. 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 partie de l'ISO 5667 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 5667-3:1994, *Qualité de l'eau — Échantillonnage — Partie 3: Guide général pour la conservation et la manipulation des échantillons.*

ISO 5667-10:1992, *Qualité de l'eau — Échantillonnage — Partie 10: Guide pour l'échantillonnage des eaux résiduaires.*

3 Échantillonnage

3.1 Généralités

Le choix de points d'échantillonnage représentatifs, de la fréquence d'échantillonnage, du type d'échantillons prélevés, etc., dépend de l'objectif de l'étude. En général, l'approche d'échantillonnage de l'analyse chimique est compatible avec l'objectif de l'essai biologique.

Certains essais nécessitent cependant de manipuler et de conserver l'eau et les eaux résiduaires d'une manière particulière.

En fonction du type d'analyses (par exemple essais de toxicité ou de biodégradation) et de la manière dont les échantillons doivent être traités, il est nécessaire de diviser un échantillon en différentes parties qui sont conservées et/ou stockées dans différentes conditions et traitées de différentes manières.

Lorsque plusieurs échantillons ont été prélevés (par exemple à partir d'emplacements différents ou à des moments différents), ils peuvent être combinés pour obtenir une meilleure représentativité. Il convient que ces échantillons soient bien mélangés et, si nécessaire, divisés en sous-échantillons. Pour obtenir des sous-échantillons de qualité égale, il convient de s'assurer que l'échantillon composite conserve son homogénéité lors du procédé de sous-échantillonnage, par exemple en l'agitant ou en le secouant de manière continue. Ceci vaut particulièrement dans le cas de mélanges en deux phases (par exemple eaux contenant des particules en suspension, suspensions d'algues). Il est recommandé d'utiliser un dispositif d'échantillonnage réfrigéré lorsque plusieurs échantillons, prélevés à des temps différents, sont combinés.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 5667-16:1998
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b692b8ce-7481-47b3-a651-d35962be66dd/iso-5667-16-1998

3.2 Échantillonneurs/récipients/conteneurs

Le volume, la forme et le matériau des récipients dépendent de la nature de l'échantillon (par exemple dégradabilité/stabilité), du nombre de réplicats, du volume requis pour ces essais et de la nécessité de conserver et de stocker les échantillons avant tout autre traitement.

Il convient de raccourcir le temps de congélation-décongélation en réduisant le volume de l'échantillon, c'est-à-dire la dimension du récipient. En général, il est approprié d'utiliser des récipients de 1 litre pour la congélation. Pour des essais nécessitant des volumes plus importants, il convient de répartir l'échantillon dans des récipients ne contenant pas plus de 10 litres.

Il convient que le volume d'échantillon total soit suffisant pour réaliser tout essai supplémentaire ou tout réplicat. Il convient que les sous-échantillons restants stockés réfrigérés séparément soient conservés jusqu'à ce que l'évaluation finale ait été effectuée.

Il convient que le matériau des récipients soit chimiquement inerte, facilement nettoyable et résistant à la chaleur et au froid. Des récipients en verre, en polyéthylène ou en polytétrafluoroéthylène (PTFE) sont recommandés.

3.3 Condition de remplissage des récipients

Il convient de décider si les récipients doivent être remplis jusqu'à ras bord ou uniquement partiellement, en laissant de l'air, en tenant compte du type d'échantillon, du mode de conservation et de l'essai biologique envisagé.

Les problèmes liés à un remplissage partiel peuvent conduire à:

— une agitation accrue lors du transport, entraînant la désagrégation des agrégats de particules;

— une interaction avec la phase gazeuse, entraînant une perte par volatilisation;

— une oxydation de substances, entraînant par exemple la précipitation de composés de métaux lourds.

Les problèmes liés au remplissage complet peuvent conduire à:

— un appauvrissement en oxygène, avec une décomposition possible, entraînant la formation de métabolites toxiques (par exemple nitrite, sulfure);

— une altération de l'homogénéisation par agitation du volume total.

Lorsque la congélation est envisagée comme moyen de conservation, les récipients d'échantillons ne doivent pas être remplis complètement pour permettre l'expansion du volume.

4 Transport

Il convient de protéger les échantillons prélevés contre le risque de casse, d'augmentation de température et de contamination extérieure. Il convient d'éviter toute mauvaise identification des échantillons transportés dans de la glace fondante en utilisant des marqueurs et/ou des étiquettes indélébiles à l'eau.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

5 Conservation et stockage

Comme spécifié dans l'ISO 5667-3, il est impossible de donner des règles de conservation absolues, par exemple la durée du stockage possible et l'efficacité des différents modes, dans la mesure où cela dépend principalement de la nature de l'échantillon, particulièrement de son activité biologique.

ISO 5667-16:1998
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b69268ee-7481-4763-a651-d55962be66dd/iso-5667-16-1998

Les eaux potables et les eaux souterraines sont généralement moins sujettes aux réactions biologiques et chimiques que les eaux de surface et les eaux résiduaires traitées ou brutes. Lorsque la composition chimique peut être évaluée de manière approximative, il convient de faire référence à l'ISO 5667-3 pour les besoins de l'essai biologique. Il convient cependant de prendre certaines précautions supplémentaires de la manière suivante.

Il convient de traiter les échantillons pour essai biologique de préférence sans le moindre retard après leur prélèvement, pour éviter toutes modifications dans la composition initiale suite aux réactions physiques et chimiques et/ou aux processus biologiques. Il convient que la durée maximale de stockage ne dépasse pas 12 h à température ambiante (25 °C au maximum). Il est recommandé de conserver les échantillons à l'obscurité afin d'éviter une croissance algale.

Lorsqu'il n'est pas possible de procéder à un essai presque immédiatement après l'échantillonnage (ou la préparation des échantillons), par exemple lors de la préparation d'échantillons composites, la réfrigération ou la congélation sont recommandées.

Le moyen de conservation des échantillons d'eaux résiduaires recommandé et le plus courant est de les réfrigérer à une température comprise entre 0 °C et 5 °C. La durée de stabilité d'échantillons stockés à cette température et à l'obscurité est normalement de 24 h (voir l'ISO 5667-10). Il convient que la réfrigération commence dès que possible après l'échantillonnage, soit sur le site, par exemple dans des boîtes froides avec de la glace fondante, ou dans un réfrigérateur dans le véhicule de transport.

Une congélation au-dessous de –18 °C conformément à l'ISO 5667-10 permet généralement une conservation prolongée. Les périodes maximales de stockage vont généralement de quelques semaines à 2 mois, en fonction de la stabilité des échantillons.

L'expérience a montré que la qualité des eaux résiduaires peut être affectée lors de la congélation et de la décongélation.

Il convient de ne pas utiliser d'agents de préservation biocides pour les besoins de l'essai biologique. Il n'est pas non plus recommandé d'ajouter des acides ou des bases de forte concentration pour stabiliser les échantillons, par exemple HCl ou NaOH.

Il convient de souligner que, si un doute persiste, le chimiste analyste et le biologiste doivent se consulter avant de décider de la méthode de manipulation et de conservation des échantillons. Lorsque les techniques de conservation pour l'analyse chimique et l'essai biologique ne sont pas compatibles, il convient de fournir des sous-échantillons séparés pour les différents besoins.

6 Matériels et équipements

Le type, la forme et le matériau de l'équipement technique dépendent de l'essai et de la nature de l'échantillon. Il convient que les matériaux qui entrent en contact avec l'échantillon pour essai soient tels que les interférences dues à la sorption ou à la diffusion du matériau d'essai, ou à l'élution de matières étrangères (par exemple plastifiants) et/ou à la croissance des organismes, soient réduites au minimum. Les matériaux inertes conviennent, par exemple le verre ou le polytétrafluoroéthylène. Il convient que les tuyauteries utilisées soient aussi courtes que possible et remplacées de temps à autre. Il convient d'éviter toute contamination du matériau d'essai, par exemple par les graisses des dispositifs de fermeture ou des accessoires. Les tubes en cuivre, alliage cuivre ou en matières plastiques non inertes ne sont pas appropriés.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

6.2 Silanisation

ISO 5667-16:1998
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b692b8ce-7481-47b3-a651-d35962be66dd/iso-5667-16-1998

Afin de réduire l'adsorption du matériau d'essai sur les récipients, les conduits ou les tubes, les verres ou les plastiques peuvent être silanisés (siliconés) en les immergeant ou en les rinçant dans une solution à 5 % en masse de dichlorodiméthylsilane dans du chloroforme ou de l'heptane. Au moment où le solvant organique s'évapore, le silane est déposé à la surface, qu'il convient de rincer de nombreuses fois avec de l'eau ou de chauffer à 180 °C pendant 2 h avant utilisation. Il convient de n'utiliser la silanisation que lorsque des substances ou des constituants de l'eau à fort potentiel d'adsorption doivent être soumis à l'essai, et lorsque un matériau inerte approprié (par exemple le polytétrafluoroéthylène) n'est pas disponible.

6.3 Nettoyage du matériel et des équipements

Avant utilisation, il convient de nettoyer le matériel et les équipements avec des produits nettoyants appropriés, par exemple acide chlorhydrique, hydroxyde de sodium, détergents, éthanol, acide sulfurique/peroxyde d'hydrogène et, le cas échéant, stérilisés, thermiquement ou chimiquement (par exemple avec une solution d'hypochlorite). Il est recommandé de ne pas utiliser d'acide sulfochromique.

Un rinçage répété du matériel avec de l'eau distillée (ou de l'eau ayant le même degré de pureté) garantit qu'il ne reste aucune trace de produit de nettoyage ou de désinfection.

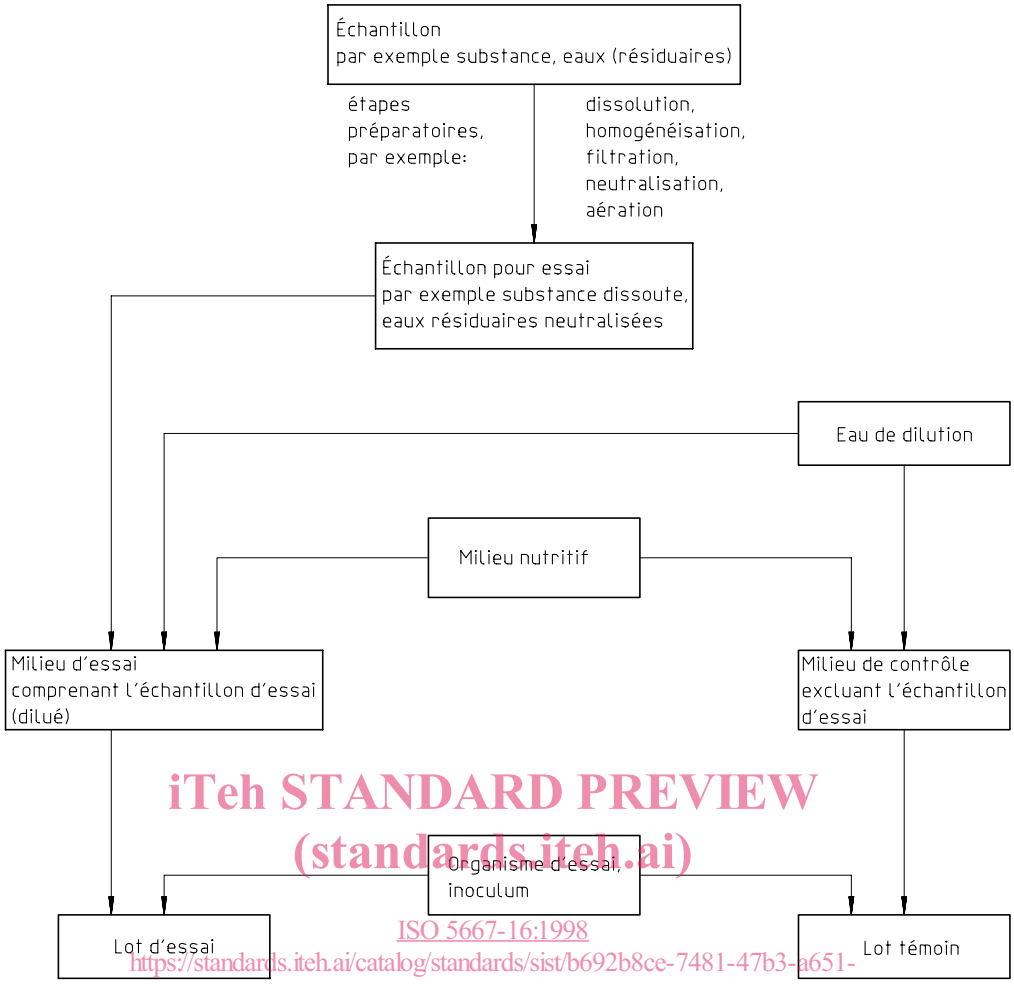
Pour enlever de manière efficace les traces d'une utilisation précédente, un lavage à l'acide est recommandé avant le lavage final avec de l'eau distillée.

7 Prétraitement et préparation des échantillons

7.1 Généralités

Le diagramme des opérations successives (figure 1) contient des informations sur les termes couramment utilisés (mais parfois différemment) dans les normes et lignes directrices relatives aux essais biologiques.

6.1 Choix du matériel



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 5667-16:1998
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b692b8ce-7481-47b3-a651-d35962be66dd/iso-5667-16-1998

Figure 1 — Préparation des échantillons pour les essais biologiques

L'échantillon, c'est-à-dire une substance chimique, est une préparation, solide ou en solution, ou un mélange de diverses substances ou une eau ou une eau résiduaire. L'échantillon d'essai est réalisé à partir de l'échantillon au moyen d'étapes de préparation diverses spécifiques de l'échantillon et de l'essai, par exemple par dissolution, homogénéisation, sédimentation, filtration, neutralisation ou aération. L'eau de dilution est ajoutée pour préparer une série de dilutions définies. Le milieu d'essai (incluant l'échantillon d'essai) est obtenu après ajout du milieu nutritif spécifique de l'essai.

Le lot d'essai final est obtenu par ajout des organismes d'essai — appelé inoculum dans le cas de micro-organismes. Le lot témoin ou les lots témoins menés en parallèle sont préparés à partir d'un mélange d'eau de dilution et de solution nutritive avec les organismes d'essai et sans l'échantillon d'essai.

Lorsque l'effet ou le comportement d'une substance est connu suite à des essais antérieurs («substance de référence») et lorsque cette substance est soumise à l'essai comme échantillon d'essai dans le cadre d'une série d'essais, cela est désigné comme lot de référence.

7.2 Décongélation

Il convient de décongeler les échantillons stockés réfrigérés, immédiatement avant utilisation. Une eau courante ou un bain-marie d'une température ne dépassant pas 25 °C associé à une légère agitation sont recommandés pour éviter une surchauffe locale.

La décongélation complète des échantillons avant utilisation est essentielle dans la mesure où le procédé de congélation peut avoir un effet de concentration de certains composants dans la partie centrale de l'échantillon qui se congèle en dernier. Un traitement par micro-ondes entraîne un risque de surchauffe.

7.3 Homogénéisation

Il convient d'assurer une répartition uniforme de tous les composants solubles et particulaires. En fonction de la nature des échantillons, il est admis d'appliquer une légère agitation, une agitation vigoureuse, un traitement aux ultrasons ou une dispersion mécanique à grande vitesse. Durant cette étape de traitement, il convient d'accorder une attention particulière à la perte potentielle de composés volatils.

En règle générale, il convient de veiller à ce que l'état initial de l'échantillon soit restauré ou au moins modifié le moins possible.

7.4 Séparation des matières solubles et particulaires

En général, les essais biologiques sont effectués avec l'échantillon brut. Dans certains cas, cependant, d'importantes quantités de matières particulaires, de boues ou de sédiments peuvent interférer sur le comportement des organismes d'essai (obturation des branchies des poissons, altération de la capacité de nourriture par filtrage des daphnies, limitation de l'éclairement des algues).

Lorsque les résultats d'essai ne sont pas destinés à traduire ces effets nocifs, ces interférences peuvent être évitées ou maîtrisées par différents moyens.

Les eaux riches en particules peuvent entraîner des interférences, par exemple lors du dénombrement à l'aide d'un compteur de particules. Le dénombrement microscopique est également fortement entravé. L'apport continu d'échantillon dans les essais dynamiques peut être perturbé par colmatage ou obstruction des tubes.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 5667-16:1998
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b692b8ce-7481-47b3-a651-d35962be66dd/iso-5667-16-1998

La filtration, la centrifugation et d'autres méthodes de séparation impliquent cependant le risque que les composants actifs, liés aux particules, soient éliminés avant l'essai. En outre, les problèmes liés à la filtration, par exemple l'adsorption et le lessivage des matériaux filtrants, doivent être pris en compte. La sédimentation et la centrifugation évitent ces problèmes. Lorsque l'on réalise des essais en présence de particules pouvant poser problèmes, il est recommandé de laisser reposer l'échantillon pendant une période comprise entre 30 min et 2 h ou d'effectuer une filtration grossière (> 50 µm), ne supprimant ainsi que les grosses particules. La masse des particules séparées peut être examinée séparément.

Certaines méthodes d'essai offrent la possibilité de déterminer un facteur de correction pour les paramètres tels que la turbidité.

Les eaux riches en bactéries interfèrent sur les essais relatifs à l'activité bactérienne, par exemple inhibition de la respiration. L'interférence due à l'activité des bactéries dans l'échantillon peut être prise en compte, au moins partiellement, en procédant à des contrôles appropriés. Lors de l'essai avec certaines algues, certains œufs et certains alevins ou des cultures cellulaires, une interférence peut être causée par des infections bactériennes. Toutes les méthodes de stérilisation disponibles, telles que traitement thermique, par ultraviolets, ou filtration sur membrane (0,2 µm) impliquent un risque élevé d'effets secondaires. Il est préférable d'utiliser un filtre en fibre de verre lorsque la filtration est nécessaire. La centrifugation, par exemple 10 min à (4 500 ± 1 500) *g*, est généralement préférable à la filtration.

7.5 Préconcentration

La préconcentration des échantillons accroît la concentration non seulement des substances polluantes mais également des autres constituants de l'eau, qui risquent d'être nocifs à des concentrations plus élevées.

En outre, il est essentiel de tenir compte que la préconcentration est sélective dans tous les cas, en fonction de la méthode appliquée, ce qui modifie la composition initiale des éléments constitutifs de l'eau, par exemple:

— l'extraction liquide/liquide avec des solvants organiques et l'extraction solide/liquide par adsorption sur des solides (par exemple résines XAD) sont particulièrement efficaces pour les constituants de l'eau hydrophobes. La force ionique et la pression osmotique peuvent être réduites. Les ions toxiques, les composés chimiques polaires et des composés de l'eau (par exemple masking), tels que les acides humiques, peuvent être exclus;

— la volatilisation et la lyophilisation peuvent entraîner une perte de substances volatiles et modifier la force ionique et la pression osmotique;

— l'ultrafiltration peut entraîner une perte, plus particulièrement de petites molécules pénétrant dans la membrane.

L'augmentation de la concentration au-delà du seuil de solubilité peut entraîner la précipitation ou la floculation des substances précédemment dissoutes.

La bioaccumulation ne peut être simulée par une préconcentration des échantillons dans la mesure où les facteurs de bioconcentration (BCF) ne peuvent être associés ou extrapolés.

Certains éléments constitutifs de l'échantillon d'eau concentrés peuvent subir des réactions chimiques à un taux plus élevé que dans l'échantillon initial.

Des valeurs témoin appropriées ne peuvent être obtenues que lorsque des échantillons de référence non pollués, par exemple en amont de la source de contamination, sont disponibles. L'augmentation de la salinité peut être autorisée en préparant des solutions témoin d'osmolarité égale et de composition ionique similaire (par exemple rapport Na:K).

Il n'est pas possible d'extrapoler les effets chroniques de l'échantillon initial à partir d'essais aigus réalisés sur des échantillons préconcentrés.

Par conséquent, il est préférable de choisir un système d'essai plus sensible ou de prolonger le temps d'exposition plutôt que de préconcentrer un échantillon. Lorsque l'on ne dispose pas de méthode sensible pour soumettre à l'essai l'échantillon initial et qu'une méthode de préconcentration est appliquée, le résultat est d'autant plus contestable que le facteur de concentration est élevé.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

Pour les motifs évoqués ci-dessus, les essais, effectués pour déterminer la toxicité aiguë et chronique avec des échantillons préconcentrés, sont généralement non significatifs et ne sont pas recommandés. Dans tous les cas, il convient d'interpréter les résultats obtenus avec des échantillons d'eau préconcentrés avec la plus grande prudence. Les analyses préliminaires de ce type ne peuvent être normalisées et il convient de les valider par d'autres analyses plus approfondies.

ISO 5667-16:1998
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b692b8ce-7481-47b3-a651-d35962be66dd/iso-5667-16-1998

7.6 Ajustement du pH

Le choix de la valeur de pH auquel l'échantillon est ajusté est régi par l'objectif de l'essai:

— l'ajustement au pH du milieu récepteur produit des résultats plus représentatifs de l'effet des produits toxiques dans l'environnement;

— l'ajustement à un pH défini entre 6 et 9 (qui est habituellement acceptable pour la vie aquatique) permet d'exprimer la toxicité de produits ionisables qui serait autrement masquée pour des valeurs de pH en dehors de cette plage.

Généralement les échantillons avec des valeurs extrêmes de pH dépassant les limites de tolérance des organismes d'essai sont neutralisés. Il convient d'omettre la neutralisation lorsque l'effet du pH doit être reporté dans le résultat d'essai ou lorsqu'une modification physique ou des réactions chimiques (par exemple précipitation) sont observées en raison de l'ajustement du pH. Il convient que la concentration de l'acide ou de la base nécessaire à la neutralisation soit telle que le changement de volume soit le plus faible possible. Il convient d'éviter de dépasser le point de neutralisation.

Il convient que l'agent neutralisant ne subisse pas une réaction due aux constituants de l'échantillon, susceptible, par exemple, d'entraîner une précipitation ou une complexation. Il convient également qu'il n'influence pas l'organisme d'essai par stimulation ou inhibition. En général, des solutions d'acide chlorhydrique ou d'hydroxyde de sodium sont recommandées.