

Première édition  
1999-05-15

Version corrigée  
2003-07-15

---

---

**Évaluation de la biodégradabilité aérobie  
ultime des matériaux plastiques en milieu  
aqueux — Méthode par détermination de la  
demande en oxygène dans un respiromètre  
fermé**

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
*Determination of the ultimate aerobic biodegradability of plastic materials in  
an aqueous medium — Method by measuring the oxygen demand in a  
closed respirometer*  
(standards.iteh.ai)

[ISO 14851:1999](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c036cb94-e5c2-4550-b47f-ad0e0a9244f/iso-14851-1999)

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c036cb94-e5c2-4550-b47f-  
ad0e0a9244f/iso-14851-1999](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c036cb94-e5c2-4550-b47f-ad0e0a9244f/iso-14851-1999)



**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 14851:1999](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c036cb94-e5c2-4550-b47f-ad0e0a924f4f/iso-14851-1999)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c036cb94-e5c2-4550-b47f-ad0e0a924f4f/iso-14851-1999>

© ISO 1999

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)

Publié 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 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 14851 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 61, *Plastiques*, sous-comité SC 5, *Propriétés physicochimiques*.

Les annexes A à G de la présente Norme internationale sont données uniquement à titre d'information.

Cette version corrigée de l'ISO 14851:1999 incorpore les corrections suivantes:

- dans l'Article 2, l'année de publication de l'ISO 9408 a été insérée et la note de bas de page a été supprimée;
- les notes de bas de page restantes ont été renumérotées;
- dans l'Annexe C, des erreurs dans la légende de la Figure C.1 ont été corrigées et des améliorations mineures ont été faites dans la figure elle-même;
- dans la Bibliographie, les références [1] et [2] ont été mises à jour.

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

ISO 14851:1999

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c036ch94-e5c2-4550-b47f-ad0e0a9244f/iso-14851-1999>

## Introduction

Les plastiques étant de plus en plus utilisés, leur recyclage et leur mise au rebut sont devenus un problème majeur. Il convient de favoriser en priorité le recyclage. Cependant, le recyclage complet des plastiques est difficile. Par exemple, les déchets en matériau plastique rejetés principalement par les consommateurs, sont difficiles à recycler complètement. Autres exemples de produits difficiles à recycler: le matériel de pêche, les films pour paillis en agriculture et les polymères hydrosolubles. Ces matériaux plastiques tendent à migrer des infrastructures fermées de management des déchets vers le milieu naturel. Désormais, les plastiques biodégradables apparaissent comme l'une des possibilités qui permettent de résoudre ce genre de problème environnemental. Il convient que les matériaux plastiques sous forme de produits ou d'emballages, qui sont envoyés dans les installations de compostage, soient biodégradables. Il est donc très important de déterminer leur biodégradabilité potentielle et d'obtenir des indications sur la biodégradabilité de ce type de matériaux plastiques dans le milieu naturel.

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

[ISO 14851:1999](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c036cb94-e5c2-4550-b47f-ad0e0a924f4f/iso-14851-1999)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c036cb94-e5c2-4550-b47f-ad0e0a924f4f/iso-14851-1999>

# Évaluation de la biodégradabilité aérobie ultime des matériaux plastiques en milieu aqueux — Méthode par détermination de la demande en oxygène dans un respiromètre fermé

**AVERTISSEMENT** — Les eaux usées, les boues activées et les matières en suspension dans le sol et le compost peuvent contenir des organismes potentiellement pathogènes. Il convient donc de les manipuler avec les précautions appropriées, de même que les composés à analyser toxiques ou dont les propriétés ne sont pas connues.

## 1 Domaine d'application

La présente Norme internationale prescrit une méthode d'évaluation du taux de biodégradation aérobie des matériaux plastiques contenant des additifs, par la détermination de la demande d'oxygène dans un respiromètre fermé. Le matériau d'essai en milieu aqueux est exposé dans des conditions de laboratoire à un inoculum provenant de boues activées, d'échantillons de compost ou de sol.

La méthode simule les processus de biodégradation d'un environnement aquatique naturel si l'on utilise, par exemple, des boues activées non adaptées; si, par exemple, on utilise un inoculum mélangé ou pré-exposé, la méthode permet d'étudier la biodégradabilité potentielle du matériau d'essai.

Les conditions utilisées dans la présente Norme internationale ne correspondent pas nécessairement aux conditions optimales permettant d'obtenir le taux maximal de biodégradation; cependant, elle est conçue pour déterminer la biodégradabilité potentielle ou pour donner une indication de la biodégradabilité des matériaux plastiques dans le milieu naturel.

La méthode permet d'affiner l'évaluation de la biodégradabilité par le calcul d'un bilan de carbone (facultatif, voir l'annexe E).

La présente méthode s'applique aux matériaux suivants:

- polymères naturels et/ou synthétiques, copolymères ou mélanges de ceux-ci;
- matériaux plastiques contenant des additifs tels que plastifiants, colorants ou tout autre composé;
- polymères hydrosolubles;
- matériaux n'ayant pas d'effet inhibiteur dans les conditions d'essai sur les micro-organismes présents dans l'inoculum. Les effets inhibiteurs peuvent être déterminés en utilisant un dispositif de contrôle de l'inhibition ou par toute autre méthode appropriée (voir, par exemple, l'ISO 8192<sup>[3]</sup>). Si le matériau d'essai a un effet inhibiteur vis-à-vis de l'inoculum, il est possible d'utiliser une plus faible concentration, un autre inoculum ou un inoculum pré-exposé.

## 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 8245:1999, *Qualité de l'eau — Lignes directrices pour le dosage du carbone organique total (COT) et du carbone organique dissous (COD)*.

ISO 9408:1999, *Qualité de l'eau — Évaluation, en milieu aqueux, de la biodégradabilité aérobie ultime des composés organiques par détermination de la demande en oxygène dans un respiromètre fermé*.

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/TR 15462:1997, *Qualité de l'eau — Sélection d'essais de biodégradabilité*.

### 3 Définitions

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

#### 3.1

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

décomposition d'un composé chimique organique par des micro-organismes en présence d'oxygène, en dioxyde de carbone, eau et sels minéraux de tous les autres éléments présents (minéralisation) et en une nouvelle biomasse

#### 3.2

##### **boue activée**

biomasse formée lors du traitement aérobie de l'eau résiduaire par croissance de bactéries et d'autres micro-organismes en présence d'oxygène dissous

#### 3.3

##### **concentration de la boue activée en matières solides en suspension**

quantité de matières solides obtenue par filtration ou centrifugation d'un volume connu de boue activée et séchage à environ 105 °C jusqu'à l'obtention d'une masse constante

#### 3.4

##### **demande biochimique en oxygène**

##### **DBO**

concentration en masse de l'oxygène dissous consommé, dans des conditions définies, lors de l'oxydation biologique aérobie d'un composé chimique ou de matières organiques contenues dans l'eau, exprimée en l'occurrence en milligrammes d'oxygène absorbé par milligramme ou gramme de composé à analyser

#### 3.5

##### **demande théorique en oxygène**

##### **DThO**

quantité théorique maximale d'oxygène nécessaire pour oxyder complètement un composé chimique, calculée d'après la formule moléculaire, exprimée en l'occurrence en milligrammes d'oxygène nécessaire par milligramme ou gramme de composé à analyser

#### 3.6

##### **carbone organique total**

##### **COT**

tout le carbone présent dans la matière organique en solution ou suspension dans l'eau

### 3.7

#### **carbone organique dissous**

##### **COD**

proportion du carbone organique contenu dans l'eau qui ne peut pas être éliminée par une séparation de phase spécifique, telle qu'une centrifugation à  $40\,000\text{ m}\cdot\text{s}^{-2}$  pendant 15 min, ou par une filtration sur membrane au moyen de membranes ayant des pores de  $0,2\ \mu\text{m}$  à  $0,45\ \mu\text{m}$  de diamètre

### 3.8

#### **phase de latence**

durée, mesurée en jours, écoulée à partir du début de l'essai jusqu'à l'obtention de l'adaptation et/ou de la sélection des micro-organismes qui provoquent la dégradation, et jusqu'à ce que le taux de biodégradation du composé chimique ou de la matière organique ait atteint environ 10 % du niveau maximal de biodégradation

### 3.9

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

degré de biodégradation, mesurée en pourcentage, d'un composé chimique ou d'un matériau organique lors d'un essai, au-dessus duquel la biodégradation ne se poursuit pas

### 3.10

#### **phase de biodégradation**

durée, mesurée en jours, depuis la fin de la phase de latence de l'essai jusqu'à ce que l'on ait obtenu environ 90 % du niveau maximal de biodégradation

### 3.11

#### **phase stationnaire**

durée, mesurée en jours, écoulée entre la fin de la phase de biodégradation et la fin de l'essai

### 3.12

#### **pré-exposition**

pré-incubation d'un inoculum en présence de la matière organique ou du composé chimique à analyser, dans le but de renforcer la capacité de l'inoculum à biodégrader le matériau d'essai par adaptation et/ou sélection des micro-organismes

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c036cb94-e5c2-4550-b47f-ad0e0a9244f/iso-14851-1999>

### 3.13

#### **préconditionnement**

pré-incubation d'un inoculum dans les conditions de l'essai effectué ultérieurement, en l'absence de la matière organique ou du composé chimique à analyser, dans le but d'améliorer l'essai par acclimatation des micro-organismes aux conditions d'essai

## 4 Principe

La biodégradabilité d'un matériau plastique est déterminée en utilisant des micro-organismes aérobies en système aqueux. Le mélange d'essai contient un milieu inorganique, le matériau d'essai organique (comme seule source de carbone et d'énergie) à une concentration comprise entre 100 mg/l et 2 000 mg/l de carbone organique, et un inoculum, sous forme de boue activée ou de suspension de compost ou de sol actif. Ce mélange est agité dans les fioles fermées d'un respiromètre pendant une durée ne dépassant pas 6 mois. Le dioxyde de carbone dégagé est absorbé dans un absorbant approprié placé dans l'espace de tête des fioles d'essai. La consommation d'oxygène (DBO) est déterminée, par exemple, en mesurant la quantité d'oxygène nécessaire pour maintenir un volume de gaz constant dans les stocks du respiromètre, ou en mesurant la variation de volume ou pression (ou une combinaison des deux), automatiquement ou manuellement. Un exemple de respiromètre est donné dans l'annexe C. Une autre solution consiste à utiliser la version du flacon fermé à deux phases, conforme à l'ISO 10708<sup>[4]</sup> (voir l'annexe D).

Le niveau de biodégradation est déterminé en comparant la DBO avec la quantité théorique (DThO) et en l'exprimant en pourcentage. L'influence des processus de nitrification éventuelle sur la DBO doit être prise en compte. Le résultat d'essai est le niveau maximal de biodégradation déterminé à partir du plateau de la courbe de biodégradation. Il est également possible de calculer le bilan de carbone pour obtenir des informations supplémentaires sur la biodégradation (voir l'annexe E).

En comparaison avec l'ISO 9408 qui est utilisée pour un large éventail de composés organiques, la présente Norme internationale est spécifiquement consacrée à la détermination de la biodégradabilité des matériaux plastiques. Les exigences particulières concernant le choix de l'inoculum et du milieu d'essai, il est possible d'affiner l'évaluation de la biodégradabilité par le calcul du bilan de carbone.

## 5 Environnement d'essai

L'incubation doit avoir lieu dans l'obscurité ou sous une lumière diffuse dans une enceinte exempte de vapeurs inhibitives pour les micro-organismes, qui doit être maintenue à une température constante, de préférence entre 20 °C et 25 °C avec une précision de  $\pm 1$  °C, ou à toute autre température appropriée en fonction de l'inoculum utilisé et de l'environnement d'essai retenu.

NOTE Lorsque l'inoculum provient d'un compost, il peut s'avérer approprié d'utiliser des températures plus élevées.

## 6 Réactifs

Utiliser exclusivement des réactifs de qualité analytique reconnue.

**6.1 Eau distillée ou déminéralisée**, exempte de matières toxiques (en particulier, le cuivre) et contenant moins de 2 mg/l de COD.

### 6.2 Milieu d'essai.

Il est possible d'utiliser différents milieux d'essai selon le but de l'essai. Par exemple, si l'on simule un environnement naturel, utiliser le milieu d'essai normal (6.2.1). Si le matériau d'essai est utilisé à des concentrations plus élevées, utiliser le milieu d'essai optimisé (6.2.2) avec de plus fortes concentrations en nutriments et un pouvoir tampon plus élevé.

#### 6.2.1 Milieu d'essai normal

ISO 14851:1999  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c036cb94-e5c2-4550-b47f-ad0e0a9244f/iso-14851-1999>

##### 6.2.1.1 Solution A

Dissoudre

dihydrogénophosphate de potassium anhydre ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	8,5 g
hydrogénophosphate dipotassique anhydre ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )	21,75 g
hydrogénophosphate disodique dihydraté ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	33,4 g
chlorure d'ammonium ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ )	0,5 g
dans de l'eau (6.1), et compléter à	1 000 ml

NOTE La composition adéquate de la solution peut être vérifiée par un mesurage du pH qui devrait être de 7,4.

##### 6.2.1.2 Solution B

Dissoudre 22,5 g de sulfate de magnésium heptahydraté ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) dans de l'eau (6.1), et compléter à 1 000 ml.

##### 6.2.1.3 Solution C

Dissoudre 36,4 g de chlorure de calcium dihydraté ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) dans de l'eau (6.1), et compléter à 1 000 ml.

##### 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 de l'eau (6.1), et compléter à 1 000 ml.

Préparer cette solution juste avant utilisation pour éviter qu'il n'y ait précipitation, ou ajouter une goutte d'acide chlorhydrique concentré (HCl) ou d'une solution aqueuse d'acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA) à 0,4 g/l.

### 6.2.1.5 Préparation

Pour 1 litre de milieu d'essai, 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).

### 6.2.2 Milieu d'essai optimisé

Le présent milieu optimisé est fortement tamponné et contient davantage de nutriments inorganiques. Cela est nécessaire pour maintenir le pH constant dans le système pendant l'essai même lorsque le matériau d'essai est présent à des concentrations élevées. Ce milieu contient environ 2 400 mg/l de phosphore et 50 mg/l d'azote et convient pour des concentrations de matériaux d'essai allant jusqu'à 2 000 mg/l de carbone organique. Si l'on doit utiliser des concentrations de matériaux d'essai plus élevées, augmenter la teneur en azote pour maintenir un rapport C:N d'environ 40:1.

#### 6.2.2.1 Solution A

Dissoudre

dihydrogénophosphate de potassium anhydre ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	37,5 g
hydrogénophosphate disodique dihydraté ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	87,3 g
chlorure d'ammonium ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ )	2,0 g
dans de l'eau (6.1), et compléter à	1 000 ml

#### 6.2.2.2 Solution B

Dissoudre 22,5 g de sulfate de magnésium heptahydraté ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) dans de l'eau (6.1), et compléter à 1 000 ml.

#### 6.2.2.3 Solution C

Dissoudre 36,4 g de chlorure de calcium dihydraté ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) dans de l'eau (6.1), et compléter à 1 000 ml.

#### 6.2.2.4 Solution D

Dissoudre 0,25 g de chlorure de fer (III) hexahydraté ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) dans de l'eau (6.1), et compléter à 1 000 ml (voir 6.2.1.4, deuxième alinéa).

#### 6.2.2.5 Solution E (solution d'oligo-éléments, facultative)

Dissoudre dans 10 ml de solution aqueuse de HCl (25 %, 7,7 mol/l), dans l'ordre suivant:

70 mg de  $\text{ZnCl}_2$ ; 100 mg de  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ; 6 mg de  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ; 190 mg de  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ; 3 mg de  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 240 mg de  $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ; 36 mg de  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 33 mg de  $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 26 mg de  $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,

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

#### 6.2.2.6 Solution F (solution de vitamines, facultative)

Dissoudre dans 100 ml d'eau (6.1) 0,6 mg de biotine, 2,0 mg de niacinamide, 2,0 mg de *p*-aminobenzoate, 1,0 mg d'acide panthoténique, 10,0 mg de chlorhydrate de pyridoxal, 5,0 mg de cyanocobalamine, 2,0 mg d'acide folique, 5,0 mg de riboflavine, 5,0 mg de DL-acide thioctique et 1,0 mg de dichlorure de thiamine ou utiliser une solution de 15 mg d'extrait de levure dans 100 ml d'eau (6.1). Filtrer la solution en vue de la stérilisation en utilisant les filtres à membranes (voir 7.4).

NOTE Les solutions E et F sont facultatives et non requises si l'on utilise un inoculum en concentration suffisante, comme les boues activées et des échantillons de sol ou de compost. Il est recommandé de préparer et de réfrigérer des prises de 1 ml jusqu'à utilisation.

### 6.2.2.7 Préparation

Pour 1 litre de milieu d'essai, ajouter à environ 800 ml d'eau (6.1)

100 ml de solution A;

1 ml de chacune des solutions B à D et facultativement E et F.

Compléter à 1 000 ml avec de l'eau (6.1) et mesurer le pH.

NOTE La composition adéquate du milieu peut être vérifiée par un mesurage du pH qui devrait être de  $7,0 \pm 0,2$ .

### 6.3 Solution de pyrophosphate.

Dissoudre 2,66 g de pyrophosphate de sodium anhydre ( $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ) dans de l'eau (6.1), et compléter à 1 000 ml.

**6.4 Absorbant du dioxyde de carbone**, de préférence, des pastilles de chaux sodée ou tout autre absorbant approprié.

## 7 Appareillage

S'assurer que la verrerie de laboratoire a été soigneusement nettoyée et, en particulier, qu'elle est exempte de toute trace de substances organiques ou toxiques.

Matériel courant de laboratoire, et

**7.1 Respiromètre fermé**, comprenant tous les récipients d'essai ( fioles en verre) avec agitateurs incorporés et tout autre équipement nécessaire, placé dans une salle à température constante ou dans un appareil thermostaté (par exemple, bain-marie). Voir l'exemple donné dans l'annexe C.

NOTE Tout respiromètre permettant de déterminer avec une précision suffisante la demande biochimique en oxygène est approprié: utiliser, de préférence, un appareil qui mesure et remplace automatiquement et en continu l'oxygène consommé de telle sorte qu'il ne manque pas d'oxygène et qu'il ne se produise pas d'inhibition de l'activité microbienne pendant les processus de dégradation. Au lieu d'un respiromètre ordinaire, il est possible d'utiliser un flacon fermé à deux phases (voir l'annexe D).

**7.2 Appareillage analytique pour le mesurage du carbone organique total (COT) et du carbone organique dissous (COD)** (voir l'ISO 8245).

**7.3 Appareillage analytique pour le mesurage des concentrations en nitrate et nitrite.**

NOTE Il est tout d'abord recommandé d'effectuer un essai qualitatif pour décider s'il s'est produit une nitrification. Si l'on a la preuve qu'il existe du nitrate/nitrite dans le milieu, il est nécessaire de procéder à une détermination quantitative à l'aide d'une méthode d'essai appropriée (par exemple, par chromatographie par échange d'ions).

**7.4 Centrifugeuse**, ou **dispositif de filtration** équipé de filtres à membranes (grosseur de pore  $0,45 \mu\text{m}$ ) n'absorbant, ni ne relargant le carbone organique de manière significative.

**7.5 Balance analytique** (matériel courant de laboratoire).

**7.6 pH-mètre** (matériel courant de laboratoire).

## 8 Mode opératoire

### 8.1 Matériau d'essai

Le matériau d'essai doit avoir une masse connue et contenir suffisamment de carbone pour donner une DBO susceptible d'être adéquatement mesurée par le respiromètre utilisé. Calculer d'après la formule chimique ou déterminer par des analyses élémentaires la DThO (voir l'annexe A) et le COT (en utilisant, par exemple, l'ISO 8245). Utiliser une concentration de matériau d'essai d'au moins 100 mg/l correspondant à une DThO d'environ 170 mg/l ou à environ 60 mg/l de COT. Il n'est possible d'utiliser de plus faibles concentrations que si la sensibilité du respiromètre est appropriée. La quantité maximale de matériau d'essai est limitée par l'apport en oxygène du respiromètre et par le milieu d'essai utilisé. Dans le cas du milieu d'essai optimisé (6.2.2), la concentration du matériau d'essai ne doit pas dépasser environ 2 000 mg/l de COT de façon à avoir un rapport C:N d'environ 40:1. Si l'on doit soumettre à l'essai des concentrations plus élevées, augmenter la quantité d'azote dans le milieu d'essai.

NOTE 1 Si l'on doit simuler les processus de biodégradation dans le milieu naturel, il est recommandé d'utiliser le milieu normal et une concentration de matériau d'essai de 100 mg/l.

NOTE 2 Il convient d'utiliser, de préférence, un matériau d'essai sous forme de poudre; toutefois, ce dernier peut également être employé sous forme de films, de morceaux, de fragments ou d'articles façonnés. La forme du matériau d'essai peut influencer sur sa biodégradabilité. Il convient d'utiliser, de préférence, des formes semblables si l'on doit comparer différents types de matériaux plastiques. Si le matériau d'essai est sous forme de poudre, il est recommandé d'utiliser des particules étroites et définies ayant une répartition granulométrique connue (diamètre maximal recommandé 250 µm). D'autre part, la forme du matériau d'essai peut également avoir une influence sur la taille du dispositif d'essai utilisé. En outre, il convient de s'assurer qu'aucune aberration mécanique importante ne peut être causée par les conditions d'essai, par exemple, causée par le mécanisme d'agitation utilisé. Il convient que la mise en œuvre du matériau d'essai (par exemple, emploi de poudres pour les composites) n'influe pas de manière significative sur le comportement de dégradation du matériau. À titre facultatif, il est possible d'enregistrer par chromatographie liquide par exclusion (voir, par exemple, l'ASTM D 3536-91<sup>[1]</sup> ou toute autre méthode normalisée applicable) la teneur en hydrogène, oxygène, azote, phosphore et soufre ainsi que la masse moléculaire de tout matériau d'essai polymère. Il convient, de préférence, de soumettre à l'essai des matériaux plastiques exempts d'additifs comme les plastifiants. Lorsque le matériau contient de tels additifs, des informations relatives à leur biodégradabilité seront nécessaires pour évaluer la biodégradabilité du matériau polymère lui-même.

Pour obtenir de plus amples détails sur le mode de manipulation des composés faiblement hydrosolubles, voir l'ISO 10634.

### 8.2 Matériau de référence

Utiliser de l'aniline et/ou un polymère biodégradable bien défini (tel que de la poudre de cellulose microcristalline, des filtres de cellulose exempts de cendres ou du poly-β-hydroxybutyrate) comme matériau de référence. Il convient, si possible, que le COT, la forme et la taille du matériau de référence soient comparables à ceux du matériau d'essai soumis à l'évaluation.

Comme substance témoin négative, il est possible d'utiliser un polymère non biodégradable (par exemple du polyéthylène) sous la même forme que le matériau d'essai.

### 8.3 Préparation de l'inoculum

Les boues activées provenant d'une installation de traitement traitant des eaux usées principalement domestiques constituent une source appropriée d'inoculum. Ces boues proviennent d'un environnement aérobie actif et sont disponibles sur une zone géographique étendue dans laquelle on doit soumettre à l'essai un large éventail de matériaux plastiques. Une autre solution consiste à utiliser pour l'ensemencement des échantillons de sol et/ou de compost en suspension. Comme dans le cas de certains matériaux plastiques, l'activité des champignons est importante pour la biodégradation. Lorsqu'on doit déterminer la biodégradation dans un système de traitement des eaux usées spécifique, prélever l'inoculum dans l'environnement en question.

L'inoculum peut être préparé à partir des sources décrites en 8.3.1 et 8.3.2 ou d'un mélange de ces sources afin d'obtenir une flore microbienne variée et concentrée avec une activité de biodégradation suffisante. Si la respiration endogène de l'inoculum est trop élevée, stabiliser ce dernier par aération avant utilisation. Harmoniser la température d'essai par rapport à l'inoculum utilisé (voir la note dans l'article 5).