
**Évaluation de la biodégradabilité aérobie
ultime des matériaux plastiques en milieu
aqueux — Méthode par analyse du dioxyde
de carbone libéré**

*Determination of the ultimate aerobic biodegradability of plastic materials in
an aqueous medium — Method by analysis of evolved carbon dioxide*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 14852:1999

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fadd2f1-389d-4703-b6dd-3514d685cbeb/iso-14852-1999>



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 14852 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 61, *Plastiques*, sous-comité SC 5, *Propriété physicochimiques*.

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

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

ISO 14852:1999

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fadd2f1-389d-4703-b6dd-3514d685cbeb/iso-14852-1999>

© 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'éditeur.

Organisation internationale de normalisation
Case postale 56 • CH-1211 Genève 20 • Suisse
Internet iso@iso.ch

Imprimé en Suisse

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 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 14852:1999

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fadd2f1-389d-4703-b6dd-3514d685cbeb/iso-14852-1999>

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

ISO 14852:1999

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fadd2f1-389d-4703-b6dd-3514d685cbeb/iso-14852-1999>

Évaluation de la biodégradabilité aérobie ultime des matériaux plastiques en milieu aqueux — Méthode par analyse du dioxyde de carbone libéré

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 biodégradabilité aérobie des matériaux plastiques contenant des additifs, par la détermination du dioxyde de carbone libéré. Le matériau d'essai en milieu synthétique 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 aqueux naturel en cas d'utilisation de 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 C).

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;
- mélanges de différents matériaux qui contiennent principalement du carbone organique;
- 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^[2]). 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 carbone organique dissous (COD)*.

ISO 9439:—¹⁾, *Qualité de l'eau — Évaluation en milieu aqueux de la biodégradabilité aérobie ultime des composés organiques — Essai de dégagement de dioxyde de carbone*.

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 105 °C jusqu'à l'obtention d'une masse constante

3.4

carbone inorganique dissous

CID

proportion du carbone inorganique contenu dans l'eau qui ne peut pas être éliminée par une séparation de phase spécifique, telle qu'une centrifugation à 40 000 m.s⁻² pendant 15 min, ou par une filtration sur membrane au moyen de membranes ayant des pores de 0,2 µm à 0,45 µm de diamètre

3.5

teneur théorique en dioxyde de carbone libéré

ThCO₂

teneur théorique maximale en dioxyde de carbone libéré après oxydation complète d'un composé chimique, calculée d'après la formule moléculaire, exprimée en milligrammes de dioxyde de carbone libéré 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

¹⁾ À publier. (Révision de l'ISO 9439:1990)

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 $0,2\text{ }\mu\text{m}$ à $0,45\text{ }\mu\text{m}$ 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, mesuré 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/fadd2f1-389d-4703-b6dd-3514d685cbeb/iso-14852-1999>

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 des fioles d'essai et aéré avec de l'air exempt de dioxyde de carbone pendant une durée qui est fonction de la cinétique de la biodégradation, mais qui ne dépasse pas 6 mois. Le dioxyde de carbone libéré au cours de la dégradation microbienne est déterminé par une méthode d'analyse appropriée dont un exemple est donné dans les annexes A et B.

Le niveau de biodégradation est déterminé en comparant le dioxyde de carbone libéré avec la quantité théorique (ThCO_2) et en l'exprimant en pourcentage. 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 C).

En comparaison avec l'ISO 9439 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 concernent le choix de l'inoculum et du milieu d'essai, et il est possible d'affiner l'évaluation de la biodégradabilité par le calcul d'un 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 ± 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

6.2.1.1 Solution A

Dissoudre

dihydrogénophosphate de potassium anhydre (KH_2PO_4)	8,5 g
hydrogénophosphate dipotassique anhydre (K_2HPO_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 (NH_4Cl)	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 une solution fraîche 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 d'essai 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 il 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 ou moins élevées, augmenter ou diminuer, selon le cas, 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 (KH_2PO_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 (NH_4Cl) 2,0 g

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

6.2.2.2 Solution B

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fadd2f1-389d-4703-b6dd-](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fadd2f1-389d-4703-b6dd-3514d685scheb/iso-14852-1999)

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 ZnCl_2 ; 100 mg de $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 6 mg de H_3BO_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 $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 33 mg de $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 26 mg de $\text{NaSeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$,

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 thiocétique 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 7.6).

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 ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$) dans de l'eau (6.1), et compléter à 1 000 ml.

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 Récipients d'essai: fioles en verre (par exemple, flacons ou fioles Erlenmeyer) pouvant être purgées par un gaz et secouées ou agitées, et comprenant une tubulure étanche au CO_2 . Elles doivent être placées dans une salle à température constante ou dans un appareil thermostaté (par exemple bain-marie).

7.2 Système de production d'air exempt de CO_2 : pouvant fournir un débit compris entre 50 ml/min et 100 ml/min, en direction de chacune des fioles d'essai, maintenu constant à $\pm 10 \%$ près (voir l'exemple de montage avec les récipients d'essai dans l'annexe A).

7.3 Appareillage analytique pour la détermination du dioxyde de carbone: tout appareillage approprié ayant une précision suffisante, tel qu'un analyseur de CO_2 ou de CID ou dispositif de dosage titrimétrique après absorption complète dans une solution basique (voir les exemples donnés dans l'annexe B), peut être utilisé. À noter que, si un analyseur équipé d'un détecteur IR (par exemple) est utilisé, l'air exempt de CO_2 n'est pas indispensable.

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

7.5 Balance analytique (matériel courant de laboratoire).

7.6 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.

7.7 pH-mètre (matériel courant de laboratoire).

7.8 Agitateur magnétique, ou dispositif d'agitation par va-et-vient (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 produire du CO_2 en quantité susceptible d'être adéquatement mesurée par le système d'analyse utilisé. Calculer d'après la formule

chimique ou déterminer le COT par une technique d'analyse appropriée (telle que des analyses élémentaires ou un mesurage du COT conformément à l'ISO 8245) et calculer la ThCO_2 . Utiliser une concentration de COT dans le matériau d'essai d'au moins 100 mg/l. La quantité maximale de matériau d'essai est limitée par l'apport en oxygène du système d'essai 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 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^[1] 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 libération de dioxyde de carbone 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).

NOTE Il peut être utile de déterminer les unités formant colonie (cfu) de l'inoculum utilisé. Il convient, de préférence, que le mélange d'essai contienne au moins 10^{-6} cfu/ml.

8.3.1 Inoculum provenant d'une installation de traitement des eaux résiduaires

Prélever un échantillon de boue activée dans une installation de traitement des eaux usées convenablement exploitée ou dans une installation expérimentale traitant principalement des eaux usées domestiques. Bien mélanger, conserver l'échantillon dans des conditions aérobies et l'utiliser, de préférence, le jour du prélèvement (en l'espace de 72 h).

Avant utilisation, déterminer la concentration en matières solides en suspension (utiliser, par exemple, l'ISO 11923^[3]). Si nécessaire, concentrer la boue par sédimentation de façon que le volume de boue ajouté à