
**Qualité de l'eau — Évaluation de la
biodégradabilité aérobie ultime en milieu
aqueux des composés organiques — Essai
de dégagement de dioxyde de carbone**

*Water quality — Evaluation of ultimate aerobic biodegradability of organic
compounds in aqueous medium — Carbon dioxide evolution test*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 9439:1999

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bea25e50-4b91-4e23-8a19-8e7ef28f5f57/iso-9439-1999>



Sommaire

1	Domaine d'application.....	1
2	Termes et définitions.....	1
3	Principe.....	3
4	Environnement d'essai.....	3
5	Réactifs.....	3
6	Appareillage.....	4
7	Mode opératoire.....	5
8	Calculs.....	7
9	Validité des résultats.....	8
10	Rapport d'essai.....	9
Annexe A (informative)	Principe d'un système d'essai de mesurage du dioxyde de carbone (exemple)	10
Annexe B (informative)	Exemples de dosage du dioxyde de carbone libéré.....	11
Annexe C (informative)	Exemple de courbe de biodegradation.....	13
Annexe D (informative)	Dosage combiné du CO₂ et du COD.....	14
Bibliographie.....		17

© 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

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.

La Norme internationale ISO 9439 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 147, *Qualité de l'eau*, sous-comité SC 5, *Méthodes biologiques*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 9439:1990), dont elle constitue une révision technique.

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

ITEH STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 9439:1999
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bea25e50-4b91-4e23-8a19-8e7ef28f5f57/iso-9439-1999>

Introduction

Les conditions décrites dans la présente Norme internationale ne correspondent pas toujours aux conditions optimales permettant d'obtenir un degré maximal de biodégradation. Dans le cadre de ce système d'essai, le dioxyde de carbone (CO_2) émis par les micro-organismes est dosé à l'intérieur des pièges traversés par l'air provenant des récipients d'essai. Une partie du CO_2 reste dans le milieu des récipients sous forme de carbone inorganique dissous (CID), dont la concentration peut augmenter pendant le processus de biodégradation. Lorsque le carbone organique est pratiquement éliminé, la concentration en CID baisse graduellement et tend à se rapprocher de zéro vers la fin de l'incubation. Il est donc nécessaire de procéder à l'acidification du milieu en fin d'essai afin de mesurer la totalité du CO_2 biologiquement formé. Le mesurage du CO_2 dans les pièges extérieurs peut varier par rapport à la véritable production de CO_2 et le taux cinétique peut lui aussi être inférieur au taux calculé à partir du mesurage de l'élimination du carbone organique dissous. Il peut en résulter que les courbes de biodégradation, dont les valeurs reposent sur la quantité de CO_2 piégé, ne représentent pas complètement le véritable taux cinétique microbien. Pour des variantes de méthodes d'évaluation de la biodégradation, consulter l'ISO 15462 et plus particulièrement l'ISO 14593, qui repose également sur la production de CO_2 mais qui n'a cependant pas ce défaut.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

ISO 9439:1999

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bea25e50-4b91-4e23-8a19-8e7ef28f5f57/iso-9439-1999>

Qualité de l'eau — Évaluation de la biodégradabilité aérobie ultime en milieu aqueux des composés organiques — Essai de dégagement de dioxyde de carbone

AVERTISSEMENT — Les boues activées et eaux d'égouts peuvent contenir des organismes potentiellement pathogènes. Il convient donc de prendre des précautions appropriées lors de leur manipulation. Il convient de manipuler avec précaution les composés pour analyse toxiques, de même que ceux dont les propriétés sont inconnues.

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale prescrit une méthode pour l'évaluation, par dosage du dioxyde de carbone (CO₂) en milieu aqueux, de la biodégradabilité aérobie ultime des composés organiques présents à une concentration donnée sous l'action de micro-organismes aérobies.

La méthode de la présente Norme internationale s'applique à des composés organiques

- a) solubles dans l'eau dans les conditions de l'essai, auquel cas l'élimination du COD peut être déterminée à titre d'information complémentaire (voir l'annexe D),
- b) peu solubles dans l'eau dans les conditions de l'essai, auquel cas il peut être nécessaire de prendre des mesures particulières afin d'assurer une bonne dispersion du composé (voir par exemple l'ISO 10634);
- c) non volatils ou ayant une pression de vapeur négligeable dans les conditions de l'essai

NOTE En ce qui concerne les substances volatiles, utiliser par exemple l'ISO 9408 ou l'ISO 14593.

- d) n'ayant pas d'effet inhibiteur sur les micro-organismes soumis à l'essai, à la concentration choisie pour l'essai.

NOTE L'existence d'un effet inhibiteur peut être mis en évidence suivant la méthode prescrite en 8.3, ou par toute autre méthode de détermination de l'effet inhibiteur d'une substance sur des bactéries (voir par exemple l'ISO 8192).

2 Termes et définitions

Pour les besoins de la présente Norme internationale, les termes et définitions suivants s'appliquent.

2.1

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, eau et sels minéraux de tout autre élément présent (minéralisation) et production de nouvelle biomasse

2.2

biodégradation primaire

modification structurelle (transformation) d'un composé chimique par des micro-organismes, entraînant la perte d'une propriété spécifique

2.3

boue activée

biomasse produite par la croissance de bactéries ou d'autres micro-organismes en présence d'oxygène dissous, lors du traitement aérobie des eaux usées

2.4**concentration en matières en suspension**

<dans une boue activée> quantité de matière solide obtenue par filtration ou centrifugation d'un volume connu de boue activée et séchage à environ 105 °C jusqu'à masse constante

2.5**carbone organique dissous****COD**

fraction du carbone organique présent dans l'eau qui ne peut être éliminée par la méthode de séparation des phases spécifiée

NOTE Par exemple par centrifugation à 40 000 m.s⁻² pendant 15 min ou par filtration sur membrane dont le diamètre des pores est de 0,2 µm à 0,45 µm.

2.6**carbone inorganique total****CIT**

totalité du carbone inorganique présent dans l'eau provenant du dioxyde de carbone et des carbonates

2.7**carbone inorganique dissous****CID**

fraction du carbone inorganique présent dans l'eau qui ne peut être éliminée par la méthode de séparation des phases spécifiée

NOTE Par exemple par centrifugation à 40 000 m.s⁻² pendant 15 min ou par filtration sur membrane dont le diamètre des pores est de 0,2 µm à 0,45 µm.

2.8**quantité théorique de dioxyde de carbone formé****CO₂Th**

quantité théorique maximale de dioxyde de carbone formé après l'oxydation complète d'un composé chimique

NOTE Elle est calculée à partir de la formule moléculaire et est exprimée dans ce cas en milligrammes de dioxyde de carbone par milligramme (ou par gramme) du composé à analyser.

2.9**phase de latence**

délai s'écoulant entre le début d'un essai et le moment où l'adaptation et/ou la sélection des micro-organismes dégradants est achevée, et où le degré de biodégradation d'un composé chimique ou d'une matière organique représente environ 10 % du niveau maximal de biodégradation

NOTE Elle est généralement exprimée en jours.

2.10**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 Il est généralement exprimé en pourcentage.

2.11**phase de biodégradation**

durée entre la fin de la phase de latence d'un essai et le moment où environ 90 % du niveau maximal de biodégradation a été atteint

NOTE Elle est généralement exprimée en jours.

2.12**phase de plateau**

durée entre la fin de la phase de biodégradation et la fin de l'essai

NOTE Elle est généralement exprimée en jours.

2.13**préexposition**

pré-incubation d'un inoculum en présence du composé chimique ou de la matière organique à analyser, destinée à accroître l'aptitude de l'inoculum à dégrader le matériau d'essai par adaptation et/ou par sélection des micro-organismes

2.14**préconditionnement**

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

3 Principe

La biodégradabilité des composés organiques par des micro-organismes aérobies est déterminée à l'aide d'un système d'essai aqueux statique. Le mélange soumis à l'essai contient un milieu inorganique, le composé organique constituant la seule source nominale de carbone et d'énergie à une concentration de 10 mg/l à 40 mg/l en carbone organique, ainsi qu'un inoculum mixte provenant d'une usine de traitement des eaux résiduaires ou d'une autre source de l'environnement. Le mélange est agité dans des récipients d'essai puis exposé à un flux d'air exempt de CO₂ généralement jusqu'à 28 jours (voir un exemple en annexe A). Le CO₂ formé pendant la dégradation microbienne est piégé dans des récipients externes et déterminé par une méthode d'analyse appropriée (voir des exemples en annexe B), puis comparé à la quantité théorique (CO₂Th) et exprimé en pourcentage.

Dans le cas de composés suffisamment solubles dans l'eau, il est possible, de façon facultative, de mesurer l'élimination du COD afin d'obtenir des informations complémentaires sur la biodégradabilité ultime. Ceci peut être fait par la présente méthode, mais l'annexe D décrit un mode opératoire facile qui permet d'utiliser le composé à analyser et l'inoculum à des concentrations plus élevées, ce qui améliore le potentiel de biodégradation de l'essai. S'il existe une méthode d'analyse spécifique à la substance, il est également possible d'obtenir des informations concernant la dégradabilité primaire.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bea25e50-4b91-4e23-8a19-8e7ef28f5f57/iso-9439-1999>

4 Environnement d'essai

L'incubation doit avoir lieu à l'abri de la lumière ou sous lumière diffuse, à une température comprise entre 20 °C et 25 °C, maintenue constante à ± 2 °C près tout au long de l'essai.

5 Réactifs

Utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue.

5.1 Eau distillée ou déionisée, contenant moins de 1 mg/l de COD.**5.2 Milieu d'essai.****5.2.1 Composition****a) Solution a)**

Dissoudre:

Dihydrogénophosphate de potassium anhydre (KH ₂ PO ₄)	8,50 g
Monohydrogénophosphate de dipotassium anhydre (K ₂ HPO ₄)	21,75 g
Monohydrogénophosphate de disodium dihydraté (Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O)	33,40 g
Chlorure d'ammonium (NH ₄ Cl)	0,50 g
dans de l'eau (5.1), quantité suffisante pour	1 000 ml

Il est recommandé de mesurer le pH pour vérifier cette solution tampon. Il convient que le pH soit d'environ 7,4. Si ce n'est pas le cas, préparer une nouvelle solution.

b) Solution b)

Dissoudre 22,50 g de sulfate de magnésium heptahydraté ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) dans de l'eau (5.1), en quantité suffisante pour 1 000 ml.

c) Solution c)

Dissoudre 36,40 g de chlorure de calcium dihydraté ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) dans de l'eau (5.1), en quantité suffisante pour 1 000 ml.

d) Solution d)

Dissoudre 0,25 g de chlorure de fer(II) hexahydraté ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) dans de l'eau (5.1), en quantité suffisante pour 1 000 ml. Afin d'éviter toute précipitation, préparer cette solution extemporanément ou ajouter une goutte d'acide chlorhydrique concentré (HCl).

5.2.2 Préparation du milieu d'essai

Pour 1 000 ml de milieu d'essai, ajouter à environ 800 ml d'eau (5.1):

— 10 ml de solution a);

— 1 ml de chacune des solutions b) à d).

Compléter à 1 000 ml avec de l'eau (5.1).

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bea25e50-4b91-4e23-8a19-8e7ef28f5f57/iso-9439-1999>

6 Appareillage

S'assurer que la verrerie de laboratoire a été soigneusement nettoyée et, plus particulièrement, qu'elle est exempte de substances organiques et de substances toxiques.

6.1 Récipients d'essai, en verre (par exemple erlenmeyers ou flacons), permettant la purge des gaz et l'utilisation d'un agitateur, comprenant des tubes non perméables au CO_2 , entreposés dans une pièce à température constante ou dans un environnement contrôlé par thermostat (par exemple un bain-marie).

6.2 Système de production d'air exempt de CO_2 , pouvant alimenter chacun des récipients d'essai à un débit constant compris entre 50 ml/min et 100 ml/min pour 3 l de milieu (voir en annexe A un exemple de montage des récipients d'essai).

6.3 Dispositif d'analyse de la teneur en dioxyde de carbone: tout appareillage ou technique approprié(e) présentant une précision suffisante, comme par exemple un analyseur de CO_2 ou de CID, ou un dispositif de dosage titrimétrique après absorption totale dans une solution alcaline (voir des exemples en annexe B).

6.4 Appareil d'analyse de la concentration en carbone organique dissous (COD) (facultatif).

6.5 Centrifugeuse ou dispositif de filtration, muni de membranes filtrantes (diamètre nominal d'ouverture des pores compris entre 0,20 μm et 0,45 μm), dans lesquelles l'adsorption ou le relargage du carbone organique est réduit au minimum.

6.6 pH-mètre.

7 Mode opératoire

7.1 Préparation des solutions d'essai

7.1.1 Composé à analyser

Préparer une solution mère d'un composé à analyser dont la solubilité dans l'eau est suffisante, dans de l'eau (5.1) ou dans le milieu d'essai (5.2), et ajouter une quantité adéquate de cette solution afin d'obtenir une concentration en carbone organique dans le milieu d'essai final comprise entre 10 mg/l et 40 mg/l. Suivant les propriétés du composé à analyser (par exemple sa toxicité) et suivant les besoins de l'essai, il est possible d'utiliser d'autres concentrations. Ajouter directement dans les récipients d'essai les composés ayant une faible solubilité dans l'eau. Déterminer avec exactitude la quantité ajoutée.

NOTE Pour plus de détails concernant la manipulation des composés peu solubles dans l'eau, voir l'ISO 10634.

7.1.2 Composé de référence

Utiliser comme composé de référence un composé organique de biodégradabilité connue, tel que l'aniline ou le benzoate de sodium. Préparer une solution mère du composé de référence dans le milieu d'essai (5.2) en procédant comme pour le composé à analyser soluble dans l'eau (7.1.1), de façon à obtenir une concentration finale en carbone organique de 20 mg/l ou une concentration équivalente à celle du composé à analyser.

7.1.3 Solution témoin de l'inhibition

Si nécessaire (par exemple lorsqu'aucune information n'est disponible sur la toxicité du composé à analyser), préparer une solution contenant, dans le milieu d'essai (5.2), à la fois le composé à analyser (7.1.1) et le composé de référence (7.1.2), de préférence à des concentrations en carbone organique égales à 20 mg/l pour chaque composé.

7.2 Préparation de l'inoculum

7.2.1 Généralités

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bea25e50-4b91-4e23-8a19-8e7ef28f5f57/iso-9439-1999>

Préparer l'inoculum à partir de boues activées (voir 7.2.2) ou des sources décrites en 7.2.3 et 7.2.4, ou à partir d'un mélange de ces sources, afin d'obtenir une population microbienne offrant une activité de biodégradation suffisante. Vérifier cette activité au moyen du composé de référence (7.1.2 et voir l'article 9). Il convient que la production de CO₂ dans la solution à blanc satisfasse aux critères de validité (voir l'article 9). Il peut s'avérer utile, pour réduire l'influence du blanc, de préconditionner l'inoculum, par exemple en le lavant avec le milieu d'essai (5.2.2) et en l'aérant, pendant 1 jour à 7 jours, avant utilisation. Utiliser un volume convenable pour l'inoculation (voir la note 2 ci-après).

NOTE 1 Généralement, il convient de ne pas préexposer l'inoculum au composé à analyser dans le but de permettre une prévision générale du comportement de dégradation au sein de l'environnement. Dans certaines circonstances, selon l'objectif de l'essai, il est possible d'utiliser des inocula préexposés, à condition de clairement le mentionner dans le rapport d'essai (par exemple pourcentage de biodégradation = $x\%$, avec inocula préexposés) et à condition que la méthode de préexposition soit détaillée dans le rapport d'essai. Des inocula préexposés peuvent être obtenus à partir d'essais de biodégradation en laboratoire effectués dans diverses conditions (par exemple essai de Zahn-Wellens selon l'ISO 988 et essai SCAS selon l'ISO 9887) ou à partir d'échantillons prélevés en des lieux où sont réunies les conditions d'environnement appropriées (par exemple usines assurant le traitement de composés identiques ou zones contaminées).

NOTE 2 Sur la base de l'expérience, un volume convenable signifie:

- qu'il est suffisant pour permettre d'obtenir une population offrant une activité de biodégradation suffisante;
- qu'il assure la dégradation du composé de référence au pourcentage stipulé (voir l'article 9);
- qu'il fournit entre 10³ et 10⁶ unités formant colonies par millilitre dans le mélange final;
- que la concentration des matières en suspension est au plus équivalente à 30 mg/l de boue activée dans le mélange final;
- qu'il convient que la quantité de carbone organique dissous apportée par l'inoculum soit inférieure à 10 % de la concentration initiale en carbone organique introduite par le composé à analyser;
- qu'en général 1 ml à 10 ml d'inoculum suffisent pour une solution d'essai de 1 000 ml.

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

Prélever un échantillon de boue activée dans le bassin d'aération d'une station de traitement des eaux usées ou d'un laboratoire, traitant principalement des eaux usées domestiques. Bien mélanger et déterminer la concentration des particules solides en suspension dans la boue activée (utiliser par exemple l'ISO 11923). Éliminer si nécessaire les grosses particules par filtration sur un tamis et concentrer la boue par décantation, afin que le volume de boue ajouté à la quantité analysée soit minimal. Conserver l'échantillon dans des conditions aérobies et l'utiliser de préférence le jour du prélèvement. Utiliser un volume convenable pour obtenir 30 mg/l de matières solides en suspension dans le mélange final.

7.2.3 Inoculum provenant d'eaux usées

Prélever un échantillon dans l'affluent ou dans l'effluent d'une usine de traitement des eaux usées ou d'un laboratoire traitant principalement des eaux usées domestiques. Éliminer si nécessaire les grosses particules en procédant à une filtration grossière et concentrer l'échantillon, par exemple par centrifugation. Bien mélanger, conserver l'échantillon dans des conditions aérobies et l'utiliser de préférence le jour du prélèvement. Avant utilisation, laisser décanter l'échantillon pendant 1 h et prélever dans le surnageant un volume convenable pour l'inoculation.

7.2.4 Inoculum provenant d'une eau de surface

Prélever un échantillon dans une eau de surface appropriée. Si nécessaire, concentrer l'échantillon par filtration sur un papier filtre grossier ou par centrifugation. Conserver l'échantillon dans des conditions aérobies et l'utiliser de préférence le jour du prélèvement. Utiliser un volume convenable comme inoculum.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

7.3 Mode opératoire d'essai

Prévoir un nombre suffisant de récipients d'essai (6.1) pour avoir:

- au moins deux récipients d'essai (nommés F_1) destinés au composé à analyser (7.1.1);
- au moins deux récipients pour essai à blanc (nommés F_B) contenant le milieu d'essai et l'inoculum;
- au moins un récipient destiné à vérifier le mode opératoire (nommé F_C) contenant le composé de référence (7.1.2);
- le cas échéant, un récipient destiné à mettre en évidence un éventuel effet inhibiteur du composé à analyser (nommé F_I) contenant la solution 7.1.3;
- le cas échéant, un récipient destiné à mettre en évidence une éventuelle élimination abiotique (nommé F_S), contenant le composé à analyser (7.1.1) mais sans inoculum, stérilisé à l'autoclave ou par ajout d'un composé inorganique toxique approprié afin d'empêcher toute activité microbienne. Utiliser, par exemple, 1 ml/l d'une solution contenant 10 g/l de chlorure de mercure(II) ($HgCl_2$). Ajouter la même quantité de substance toxique deux semaines après le début de l'essai.

Ajouter dans chaque récipient les quantités appropriées de milieu d'essai (5.2) et d'inoculum (7.2), comme indiqué dans le tableau 1, de manière à obtenir un volume d'essai final par exemple égal à 3 l. Il est possible d'utiliser des volumes d'essai finaux différents: adapter dans ce cas tous les paramètres pertinents et le calcul des résultats d'essai. Relier les récipients au système de production d'air exempt de CO_2 (voir l'annexe A). Incuber à la température d'essai désirée (voir l'article 4) et aérer les récipients pendant 24 h afin de purger le système du CO_2 qu'il contient. Agiter, durant tout l'essai, à l'aide d'un agitateur magnétique. Si une émulsion excessive est observée, remplacer la projection d'air par une aération de l'espace de tête, tout en agitant. À la suite de la période d'aération préalable, relier la sortie d'air de chacun des récipients au système de piégeage ou de mesurage du CO_2 .

Ajouter le composé à analyser (7.1.1) et le composé de référence (7.1.2) dans les concentrations désirées, dans les récipients respectifs, conformément au tableau 1 et commencer l'essai en insufflant de l'air exempt de CO_2 dans les récipients avec 3 l de milieu, à un débit de 50 ml/min à 100 ml/min.

Tableau 1 — Répartition finale du composé à analyser et du composé de référence dans les récipients d'essai

Récipient	Milieu d'essai (5.2)	Composé à analyser (7.1.1)	Composé de référence (7.1.2)	Inoculum (7.2)
F _T Composé à analyser	+	+	-	+
F _T Composé à analyser	+	+	-	+
F _B Témoin à blanc	+ -	-	+	
F _B Témoin à blanc	+	-	-	+
F _C Témoin de l'inoculum	+	-	+	+
F _I Témoin d'inhibition (facultatif)	+	+	+	+
F _S Témoin de l'élimination abiotique (facultatif)	+	+	-	-

Mesurer la quantité de CO₂ libérée dans chacun des récipients, à intervalles réguliers selon la vitesse de dégagement du CO₂, en appliquant une méthode appropriée et suffisamment précise (voir l'annexe B). Si un niveau est atteint (phase de plateau de formation de CO₂), la biodégradation supplémentaire est considérée comme terminée. Il convient habituellement que la durée de l'essai n'excède pas l'essai d'une à deux semaines si la dégradation a de toute évidence commencé à atteindre un plateau.

er le pH, acidifier toutes les récipients avec 1 ml à 10 ml d'acide chlorhydrique pour les carbonates et les bicarbonates, et pour purger le dioxyde de carbone. Poursuivre la mesure de la quantité de dioxyde de carbone produite dans chacun des récipients.

NOTE 1 Lors de la manipulation des échantillons pour le mesurage normal du CO₂ dans les pièges, il est possible, en particulier en cas de détermination du CID, que de petites quantités de CO₂ présent de l'air soient incluses et ajoutées pendant l'essai. Ceci n'a normalement aucun effet sur les résultats de l'essai, étant donné que les quantités de CO₂ déjà présentes dans les récipients à blanc sont soustraites. Cependant, dans le cas du témoin d'élimination abiotique (récipient F_S), ceci peut conduire à une impression de dégradation apparente et injustifiée. Il est donc recommandé de déterminer le dégagement du CO₂ à partir du récipient F_S uniquement à la fin de l'essai.

NOTE 2 Si l'élimination du COD est mesurée afin de donner des informations complémentaires sur la biodégradabilité d'un composé à analyser soluble dans l'eau, ou si une méthode analytique spécifique à une substance est utilisée pour déterminer la biodégradabilité primaire, utiliser les informations données dans l'annexe D.

8 Calculs

8.1 Quantité théorique de dioxyde de carbone contenue dans le composé à analyser

La quantité théorique de dioxyde de carbone formée (CO₂Th) dans les récipients d'essai, en milligrammes, est calculée à l'aide de l'équation (1):

$$\text{CO}_2\text{Th} = \rho_C \times V_L \times \frac{44}{12} \quad (1)$$

où

ρ_C est la concentration en carbone organique du composé à analyser dans le récipient d'essai, en milligrammes par litre, mesurée ou calculée à partir de la solution mère du composé à analyser (7.1.1);

V_L est le volume de solution d'essai contenu dans le récipient d'essai, en litres;

44 et 12 sont respectivement la masse moléculaire relative et la masse atomique du CO₂ et du carbone, destinées à calculer la quantité de CO₂ à partir du carbone organique mesuré.

Calculer, de façon similaire, le CO₂Th du composé de référence et du témoin d'inhibition (7.1.3).