
**Qualité de l'eau — Sélection d'essais
de biodégradabilité**

Water quality — Selection of tests for biodegradability

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO/TR 15462:1997](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1556e8ed-3f7c-4072-b777-6b8d358b7aa5/iso-tr-15462-1997)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1556e8ed-3f7c-4072-b777-6b8d358b7aa5/iso-tr-15462-1997>



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.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. Exceptionnellement, un comité technique peut proposer la publication d'un rapport technique de l'un des types suivants:

- type 1, lorsque, en dépit de maints efforts, l'accord requis ne peut être réalisé en faveur de la publication d'une Norme internationale;
- type 2, lorsque le sujet en question est encore en cours de développement technique ou lorsque, pour toute autre raison, la possibilité d'un accord pour la publication d'une Norme internationale peut être envisagée pour l'avenir mais pas dans l'immédiat;
- type 3, lorsqu'un comité technique a réuni des données de nature différente de celles qui sont normalement publiées comme Normes internationales (ceci pouvant comprendre des informations sur l'état de la technique, par exemple).

[ISO/TR 15462:1997](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1556e8ed-3f7c-4072-b777-66d15807aa5/iso-tr-15462-1997)

Les rapports techniques des types 1 et 2 font l'objet d'un nouvel examen trois ans au plus tard après leur publication afin de décider éventuellement de leur transformation en Normes internationales. Les rapports techniques de type 3 ne doivent pas nécessairement être révisés avant que les données fournies ne soient plus jugées valables ou utiles.

L'ISO/TR 15462, rapport technique du type 3, a été élaboré par le comité technique ISO/TC 147, *Qualité de l'eau*, sous-comité SC 5, *Méthodes biologiques*.

© ISO 1997

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 central@iso.ch
X.400 c=ch; a=400net; p=iso; o=isocs; s=central

Version française tirée en 1998

Imprimé en Suisse

Qualité de l'eau — Sélection d'essais de biodégradabilité

1 Domaine d'application

La biodégradabilité de substances et d'éléments présents dans les eaux usées ne dépend pas uniquement des structures moléculaires du matériau soumis à l'essai mais également de facteurs supplémentaires importants tels que

- le milieu d'essai, aquatique ou terrestre;
- les conditions d'essai, aérobies ou anaérobies;
- l'origine et la concentration des micro-organismes de l'inoculum;
- l'acclimatation et l'adaptation de l'inoculum;
- la concentration du matériau d'essai;
- la disponibilité de substances nutritives inorganiques et d'autres matières organiques dans des processus métaboliques associés;
- l'existence possible d'effets toxiques du matériau d'essai dans les conditions d'essai;
- les propriétés physiques et chimiques et la biodisponibilité du matériau d'essai (par exemple, volatilité, solubilité dans l'eau, adsorption);
- conditions et caractéristiques physiques et chimiques du système d'essai (volume des récipients d'essai, mode statique ou dynamique, fermeture des récipients, élimination du CO₂, température, mélange, agitation, alimentation en oxygène);
- durée de l'essai;
- paramètres d'analyse utilisés (paramètres globaux tels que COD, DBO, CO₂ ou analyse spécifique de la substance).

Étant donné le nombre de facteurs susceptibles d'affecter les résultats d'essai, il n'est pas possible de définir une méthode «vraie» ou «de référence». La reproductibilité des résultats d'essai, que les méthodes ou les conditions utilisées soient identiques ou non, peut être faible et les résultats obtenus peuvent être différents. En général, un matériau d'essai, qu'il soit facilement biodégradable ou peu biodégradable, donnera des résultats d'essai similaires. Les substances dites «grises», modérément biodégradables, et qui, de ce fait, nécessitent des bactéries particulières ou des périodes d'adaptation prolongées, vont souvent produire des résultats très variables.

Les essais de biodégradabilité sont utilisés pour établir la biodégradabilité de structures chimiques et pour prévoir le comportement de biodégradation d'un matériau d'essai dans des environnements naturels ou industriels. En principe, chaque méthode d'essai vise à simuler, de façon plus ou moins poussée, ces environnements. Aussi, étant donné le nombre des facteurs qui peuvent entrer en compte pour choisir, ou exclure, certaines méthodes, est-il nécessaire de disposer d'un nombre suffisant de méthodes d'essai normalisées pour pouvoir choisir la mieux adaptée, en fonction de l'objectif visé. Il faut également souligner que l'ISO avait envisagé de normaliser les essais de biodégradation des Lignes directrices de l'OCDE pour les Essais des produits chimiques (voir annexe B).

2 Références

ISO 7827:1994, *Qualité de l'eau — Évaluation en milieu aqueux de la biodégradabilité aérobie «ultime» des composés organiques — Méthode par analyse du carbone organique dissous (COD)*.

ISO 8192:1986, *Qualité de l'eau — Essai d'inhibition de la consommation d'oxygène par des boues activées*.

ISO 9408:1991, *Qualité de l'eau — Évaluation, en milieu aqueux, de la biodégradabilité aérobie «ultime» des composés organiques — Méthode par détermination de la demande en oxygène dans un respiromètre fermé*.

ISO 9439:1990, *Qualité de l'eau — Évaluation, en milieu aqueux, de la biodégradabilité aérobie «ultime» des composés organiques — Méthode par analyse du dioxyde de carbone dégagé*.

ISO 9887:1992, *Qualité de l'eau — Évaluation, en milieu aqueux, de la biodégradabilité aérobie des composés organiques — Méthode semi-continue par boues activées (Méthode SCAS)*.

ISO 9888:1991, *Qualité de l'eau — Évaluation, en milieu aqueux, de la biodégradabilité aérobie des composés organiques — Essai statique (Méthode Zahn-Wellens)*.

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 10707:1994, *Qualité de l'eau — Évaluation en milieu aqueux de la biodégradabilité aérobie «ultime» des composés organiques — Méthode par analyse de la demande biochimique en oxygène (essai en fiole fermée)*.

ISO 10708:1997, *Qualité de l'eau — Évaluation en milieu aqueux de la biodégradabilité aérobie «ultime» des composés organiques — Détermination de la demande biochimique en oxygène en fiole fermée à deux phases*.

ISO 10712:1995, *Qualité de l'eau — Essai d'inhibition de la croissance de Pseudomonas putida (Essai d'inhibition de la multiplication des cellules de Pseudomonas)*.

ISO 11733:1995, *Qualité de l'eau — Évaluation de l'élimination et de la biodégradabilité des composés organiques en milieu aqueux — Essai de simulation des boues activées*.

ISO 11734:1995, *Qualité de l'eau — Évaluation de la biodégradabilité anaérobie «ultime» des composés organiques dans les boues de digesteurs — Méthode par mesurage de la production de biogaz*.

ISO 14592-1:—¹⁾, *Qualité de l'eau — Évaluation de la biodégradabilité aérobie de composés organiques présents dans l'eau en faibles concentrations — Partie 1: Méthode par agitation de flacon*.

ISO 14592-2:—¹⁾, *Qualité de l'eau — Évaluation de la biodégradabilité aérobie des composés organiques présents dans l'eau en faibles concentrations — Partie 2: Essai de simulation en rivière*.

ISO 14593:—¹⁾, *Qualité de l'eau — Évaluation en milieu aqueux de la biodégradabilité aérobie ultime de composés organiques — Méthode par analyse du carbone inorganique produit dans des récipients hermétiquement clos*.

ISO 15522:—¹⁾, *Qualité de l'eau — Détermination de l'effet inhibiteur des constituants de l'eau sur la croissance des micro-organismes des boues activées*.

¹⁾ À publier.

3 Conclusions et recommandations

3.1 Différences entre les méthodes d'essai

Les méthodes d'essai de biodégradabilité aérobie n'ont pas toutes le même potentiel, et ce, principalement en raison des différences entre les densités microbiennes utilisées et la durée des essais. Les normes ISO 7827, ISO 9439, ISO 9408, ISO 10708 et ISO 14593 ont à peu près le même potentiel. L'ISO 10707 a un potentiel plus faible et s'applique principalement à des composés pour essai volatils et inhibiteurs. Dans leur principe, ces méthodes correspondent aux essais de l'OCDE portant sur la biodégradabilité facile (voir 3.4). L'ISO 9887 et l'ISO 9888 proposent des essais ayant un fort potentiel de dégradation et peuvent être utilisés pour déterminer la biodégradabilité intrinsèque d'une substance chimique. L'ISO 11733 propose un essai de simulation d'une usine de traitement des eaux usées, et l'ISO 14592 celui d'une eau de rivière. L'ISO 11734 est un essai de biodégradabilité anaérobie, une seule méthode d'évaluation de la biodégradabilité anaérobie ayant été agréée et étant appliquée indépendamment des essais d'évaluation de la biodégradabilité aérobie. Il convient que cet essai s'applique en priorité aux substances chimiques qui s'adsorbent sur des solides tels que les boues activées et qui ne sont pas dégradées suffisamment par des procédés aérobies.

En général, les substances facilement ou aisément dégradables en milieu aqueux présenteront également, pour tous les essais aérobies ISO, une bonne dégradabilité. Au contraire, les substances chimiques qui se dégradent moins facilement vont nécessiter, pour se dégrader, les essais ayant le potentiel le plus élevé, et ne se dégraderont pas dans ceux qui utilisent une densité cellulaire plus faible. De même, certaines substances chimiques qui se dégradent dans les essais les plus puissants (ISO 9887 et ISO 9888) ne se dégradent pas forcément dans l'essai de simulation en continu des boues activées, alors que d'autres substances le font. Il peut exister également des différences entre la biodégradabilité aérobie et anaérobie.

3.2 Paramètres analytiques

Normalement, les paramètres globaux tels que le carbone organique dissous, la demande biochimique en oxygène ou le dioxyde de carbone dégagé sont utilisés comme outils d'analyse pour obtenir des informations sur la biodégradabilité ultime (minéralisation). Cependant, les méthodes ISO permettent également l'utilisation de techniques d'analyse spécifiques de la substance, pour étudier sa transformation biologique, également appelée biodégradabilité primaire.

3.3 Toxicité bactérienne

Il a également été observé que les substances chimiques qui ont un effet inhibiteur sur les bactéries, et qui ne se dégradent pas à des concentrations d'essai normales, peuvent se dégrader dans des essais utilisant des concentrations plus faibles du composé à analyser. Pour mettre en évidence que la toxicité d'une substance chimique vis-à-vis des bactéries empêche sa dégradation, des récipients supplémentaires peuvent être préparés, dans le cadre de l'essai, pour évaluer le degré d'inhibition. Il est également possible d'avoir recours à d'autres essais, tels que l'essai d'inhibition de la consommation d'oxygène par des boues activées (ISO 8192), ou bien l'essai relatif à la croissance des micro-organismes des boues activées (ISO 15522) ou l'essai *Pseudomonas putida* (ISO 10712).

3.4 Stratégies d'essai

En raison des différences de complexité, de durée, de qualité des résultats et de coût des essais existants, il convient d'étudier ces paramètres déterminant le choix de l'essai ou la stratégie d'essai, avant de commencer une étude. En règle générale, le choix d'un essai est fonction de l'objectif à atteindre ou des prescriptions réglementaires à satisfaire. Une stratégie consiste à appliquer une méthode simple utilisant une densité cellulaire faible. Si la dégradation d'un composé chimique est correcte, il est en général inutile de procéder à des essais supplémentaires. Dans certains cas, une dégradation médiocre ou nulle peut suffire; dans d'autres, il convient de répéter l'essai en utilisant un inoculum préexposé au produit chimique ou de procéder à un essai utilisant une densité cellulaire plus élevée sur une durée prolongée. Une autre stratégie consiste à commencer par une méthode haute densité, pour déterminer l'existence même du potentiel de dégradation et de poursuivre avec une méthode utilisant une densité cellulaire faible, pour déterminer la capacité du composé pour essai à se dégrader facilement

dans les différents compartiments de l'environnement. En raison de sa complexité, l'essai de simulation des boues activées (ISO 11733) n'est utilisé qu'après avoir mis en œuvre d'autres méthodes. L'impossibilité d'obtenir une dégradation dans l'un des essais les plus puissants (ISO 9887 et ISO 9888) rend souvent inutile l'application d'un essai de simulation.

Le choix d'une méthode dépend également des propriétés physiques et chimiques du composé soumis à l'essai. Les composés volatils ne peuvent être soumis aux essais que dans des systèmes clos, comme ceux présentés dans les normes ISO 10707 ou ISO 10708. Toutes les méthodes ne permettent pas d'évaluer la biodégradabilité des substances chimiques insolubles ou peu solubles; des conseils pour leur préparation sont donnés dans l'ISO 10634. Dans certains cas, il peut s'avérer utile d'utiliser un inoculum adapté. Il est possible de procéder à une préadaptation comme indiqué dans l'ISO 9887 et l'ISO 9888, suivie d'une méthode d'essai permettant de mesurer la demande biochimique en oxygène (ISO 9408, ISO 10708) ou le dioxyde de carbone (ISO 9439 et ISO 14593).

Il convient également de noter qu'il existe des documents sur les principes et stratégies applicables aux essais des produits chimiques, comme par exemple les lignes directrices de l'UE pour la notification des nouveaux produits chimiques dans l'Union Européenne, ou le Programme d'essais des produits chimiques de l'OCDE de 1979, documents qui sont publiés par ces organisations. Les termes spécifiques à l'UE et à l'OCDE comprennent des expressions strictement définies telles que «biodégradabilité facile» ou «intrinsèque» ou la fenêtre dite de 10 jours, qui ne sont pas utilisées dans les normes ISO. Néanmoins, de nombreuses méthodes d'essai sont identiques ou au moins similaires. L'annexe B permet de comparer les normes ISO aux lignes directrices de l'OCDE.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO/TR 15462:1997](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1556e8ed-3f7c-4072-b777-6b8d358b7aa5/iso-tr-15462-1997)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1556e8ed-3f7c-4072-b777-6b8d358b7aa5/iso-tr-15462-1997>

Annexe A

Revue des méthodes ISO

N°	Titre	Principe	Domaine d'application	Recommandation
ISO 7827	<i>Évaluation en milieu aqueux de la biodégradabilité aérobie "ultime" des composés organiques — Méthode par analyse du carbone organique dissous (COD)</i>	<p>Système d'essai aquatique statique utilisant des composés organiques d'essai comme unique source de carbone et d'énergie pour un inoculum composé d'un mélange de micro-organismes aérobies. Mesurage de la disparition du carbone organique dissous (COD) pour déterminer la biodégradabilité ultime en 28 jours. Évaluation des résultats d'essai par comparaison des teneurs en COD au début et à la fin de l'essai.</p> <p>Il est également possible de procéder à une analyse spécifique pour déterminer la biodégradabilité primaire d'un composé d'essai.</p>	<p>La méthode s'applique à des composés organiques qui sont</p> <ul style="list-style-type: none"> - solubles dans l'eau à la concentration d'essai (10 mg/l COD à 40 mg/l COD); - non volatils, ou qui ont une pression de vapeur négligeable; - non adsorbables significativement sur le verre et les boues activées; - sans effet inhibiteur, à la concentration d'essai, vis-à-vis des bactéries. 	<p>Méthode d'essai pour les composés d'essai solubles dans l'eau.</p> <p>Correspond à la méthode OCDE 301 A.</p>
ISO 9439	<i>Évaluation, en milieu aqueux, de la biodégradabilité aérobie ultimes de composés organiques — Méthode par analyse du dioxyde de carbone dégagé</i>	<p>Système d'essai aquatique statique utilisant des composés organiques d'essai comme unique source de carbone et d'énergie pour un inoculum composé d'un mélange de micro-organismes aérobies. Mesurage du dioxyde de carbone (CO₂) produit biologiquement pour déterminer la biodégradabilité ultime en 28 jours. Évaluation des résultats d'essai par comparaison de la quantité de CO₂ avec la quantité théorique.</p> <p>Pour les composés solubles dans l'eau, il est possible d'obtenir des informations complémentaires sur l'élimination de la substance en déterminant le taux d'élimination du COD à la fin de l'essai.</p>	<p>La méthode s'applique à des composés organiques qui sont</p> <ul style="list-style-type: none"> - solubles dans l'eau à la concentration d'essai (10 mg/l COD à 40 mg/l COD); - insolubles dans l'eau dans les conditions de l'essai; - non volatils, ou qui ont une pression de vapeur négligeable; - sans effet inhibiteur, à la concentration d'essai, vis-à-vis des bactéries. 	<p>Méthode d'essai pour les composés d'essai solubles et peu solubles dans l'eau utilisant un paramètre d'analyse qui est normalement d'origine strictement biologique.</p> <p>Correspond à la méthode OCDE 301 B.</p>

N°	Titre	Principe	Domaine d'application	Recommandation
ISO 9408	<i>Évaluation, en milieu aqueux, de la biodégradabilité aérobie "ultime" des composés organiques — Méthode par détermination de la demande en oxygène dans un respiromètre fermé</i>	<p>Système d'essai aquatique statique utilisant des composés organiques d'essai comme unique source de carbone et d'énergie pour un inoculum composé d'un mélange de micro-organismes aérobies. Détermination de la biodégradabilité "ultime" en 28 jours par mesurage de la demande biochimique en oxygène (DBO) dans un respiromètre fermé. Évaluation des résultats d'essai par comparaison de la DBO avec la demande théorique en oxygène (DThO) ou la demande chimique en oxygène (DCO).</p> <p>Pour les composés solubles dans l'eau, il est possible d'obtenir des informations complémentaires sur l'élimination de la substance en déterminant le taux d'élimination du COD à la fin de l'essai ou d'avoir recours à une analyse spécifique pour déterminer la biodégradabilité primaire.</p>	<p>La méthode s'applique à des composés organiques qui sont</p> <ul style="list-style-type: none"> - solubles dans l'eau à la concentration d'essai (100 mg/l); - insolubles dans l'eau dans les conditions de l'essai; - qui ne réagissent pas avec le réactif absorbant le CO₂; - volatils, à condition d'utiliser un respiromètre approprié; - sans effet inhibiteur, à la concentration d'essai, vis-à-vis des micro-organismes. 	<p>Méthode d'essai pour les composés d'essai solubles et peu solubles dans l'eau nécessitant un respiromètre relativement coûteux, produisant des courbes de biodégradation détaillées, à l'aide d'un paramètre d'analyse normalement d'origine strictement biologique.</p> <p>Correspond à la méthode OCDE 301 F.</p>
ISO 9887	<i>Évaluation, en milieu aqueux, de la biodégradabilité aérobie des composés organiques — Méthode semi-continue par boues activées (Méthode SCAS)</i>	<p>Système d'essai aquatique semi-statique utilisant des composés organiques d'essai et un milieu organique facilement biodégradables (eaux usées) comme unique source de carbone et d'énergie pour un inoculum, haute-densité composé d'un mélange de micro-organismes aérobies (boues activées). Renouvellement quotidien des récipients d'essai en eaux usées et en composé d'essai et mesurage de l'élimination du carbone organique dissous (COD) dans les récipients d'essai et dans les récipients témoins afin de déterminer la biodégradabilité ultime obtenue à la fin de l'essai, dont la durée peut aller jusqu'à 26 semaines. Évaluation des résultats d'essai par comparaison de la teneur en COD avant et après renouvellement du milieu.</p> <p>Il est également possible de procéder à une analyse spécifique pour déterminer la biodégradabilité primaire d'un composé d'essai.</p>	<p>La méthode s'applique à des composés organiques qui sont</p> <ul style="list-style-type: none"> - solubles dans l'eau à la concentration d'essai (de 20 mg/l COD à environ 50 mg/l COD); - non volatils ou qui ont une pression de vapeur négligeable; - non susceptibles d'être perdus par formation de mousse à partir de la solution d'essai; - non adsorbables significativement sur le verre et les boues activées; - sans effet inhibiteur, à la concentration d'essai, vis-à-vis des micro-organismes. 	<p>Essai ayant un fort potentiel de biodégradation, destiné principalement aux composés difficilement dégradables et pour les eaux usées comportant une phase de dégradation cométabolique. Méthode pratique de préadaptation d'un inoculum pour des composés chimiques solubles et insolubles.</p> <p>Correspond à la méthode OCDE 302 A.</p>

N°	Titre	Principe	Domaine d'application	Recommandation
ISO 9888	<i>Évaluation, en milieux aqueux, de la biodégradabilité aérobie des composés organiques — Essai statique (Méthode Zahn-Wellens)</i>	<p>Système d'essai aquatique statique utilisant des composés organiques d'essai comme unique source de carbone et d'énergie pour un inoculum haute-densité composé d'un mélange de micro-organismes aérobies (boues activées). Détermination de la biodégradabilité ultime en 28 jours et de la disparition de la substance par mesurage de l'élimination du carbone organique dissous (COD) ou de la demande chimique en oxygène (DCO) dans les récipients d'essai et témoins. Évaluation des résultats d'essai par comparaison de la concentration en COD au début et à la fin de l'essai.</p> <p>Il est également possible de procéder à une analyse spécifique pour déterminer la biodégradabilité primaire d'un composé d'essai.</p>	<p>La méthode s'applique à des composés organiques qui sont</p> <ul style="list-style-type: none"> - solubles dans l'eau à la concentration d'essai (de 50 mg/l COD à 400 mg/l COD); - non volatils ou qui ont une pression de vapeur négligeable; - non susceptibles d'être perdus par formation de mousse à partir de la solution d'essai; - sans effet inhibiteur, à la concentration d'essai, vis-à-vis des micro-organismes. 	<p>Méthode statique permettant l'évaluation d'un degré d'élimination (biodégradation et élimination d'une substance abiotique) des composés d'essai et des eaux usées avec une valeur prédictive pour les usines de traitement des eaux usées.</p> <p>Correspond à la méthode OCDE 302 B.</p>
ISO 10634	<i>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</i>	<p>Lignes directrices décrivant plusieurs techniques pour la préparation des composés organiques peu solubles dans l'eau et leur introduction dans des récipients d'essai en vue de l'évaluation de leur biodégradabilité en milieu aqueux par des méthodes normalisées.</p> <p>https://standards.iso.org/standards/catalog/standards/sist/1556e8ed-317c-4072-b777-6b8d358b7aa5/iso-tr-15462-1997</p>	Lignes directrices pour des composés d'essai peu solubles dans l'eau.	Lignes directrices de préparation et de traitement des composés d'essai peu solubles dans l'eau. Il ne s'agit pas d'une méthode d'essai de biodégradation.