
Qualité de l'eau — Évaluation, en milieu aqueux, de la biodégradabilité aérobie ultime des composés organiques — Essai statique (méthode Zahn-Wellens)

Water quality — Evaluation of ultimate aerobic biodegradability of organic compounds in aqueous medium — Static test (Zahn-Wellens method)

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 9888:1999](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e18bf663-e3a8-4953-aa7d-3bca2eac95ad/iso-9888-1999)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e18bf663-e3a8-4953-aa7d-3bca2eac95ad/iso-9888-1999>



Sommaire

1	Domaine d'application	1
2	Références normatives	2
3	Termes et définitions.....	2
4	Principe.....	3
5	Environnement d'essai.....	4
6	Réactifs	4
7	Appareillage	5
8	Mode opératoire.....	5
9	Calcul et expression des résultats.....	8
10	Validité des résultats.....	9
11	Rapport d'essai	9
	Annexe A (informative) Exemple de courbe de biodégradation	11
	Bibliographie.....	12

iteh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 9888:1999](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e18b1e63-e5a6-4953-aa7d-3bca2eac95ad/iso-9888-1999)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e18b1e63-e5a6-4953-aa7d-3bca2eac95ad/iso-9888-1999>

© 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

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 9888 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 9888:1991), dont elle constitue une révision technique.

L'annexe A de la présente Norme internationale est donnée uniquement à titre d'information.

ITeH STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 9888:1999](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e18bfe63-e3a8-4953-aa7d-3bca2eac95ad/iso-9888-1999)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e18bfe63-e3a8-4953-aa7d-3bca2eac95ad/iso-9888-1999>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 9888:1999

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e18bf63-e3a8-4953-aa7d-3bca2eac95ad/iso-9888-1999>

Qualité de l'eau — Évaluation, en milieu aqueux, de la biodégradabilité aérobie ultime des composés organiques — Essai statique (méthode Zahn-Wellens)

AVERTISSEMENT — Les boues activées et les eaux usées peuvent contenir des organismes potentiellement pathogènes. Prendre les précautions appropriées en les manipulant. Manipuler avec précaution les composés d'essai toxiques et ceux dont on ne connaît pas les propriétés.

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode d'évaluation, en milieu aqueux, de la biodégradabilité ultime et, pour complément d'information, de la biodégradabilité primaire et de l'élimination complète de l'eau des composés organiques à une concentration donnée, sous l'action de micro-organismes aérobies.

Les conditions décrites dans la présente Norme internationale correspondent normalement aux conditions optimales d'obtention de la valeur maximale de biodégradation obtenue avec l'inoculum choisi et pendant la durée d'essai. Ces conditions d'essai peuvent s'avérer plus favorables qu'en situation réelle dans les stations de traitement des eaux résiduaires, en particulier si leur temps de séjour hydraulique, l'âge des boues ou l'adaptation des boues activées ne sont pas optimales.

La méthode est applicable aux composés organiques

- a) solubles dans l'eau, à la concentration utilisée dans les conditions de l'essai et qui ne sont pas susceptibles de se transformer en métabolites insolubles si la biodégradation, et pas seulement l'élimination, doit être déterminée;
- b) non volatils ou ayant une pression de vapeur négligeable dans les conditions d'essai;
- c) ne risquant pas d'être perdus par formation de mousse à partir de la solution d'essai;
- d) n'ayant pas d'effet inhibiteur sur les micro-organismes d'essai aux concentrations choisies pour l'essai. Les effets inhibiteurs peuvent être déterminés par une méthode appropriée (voir, par exemple, l'ISO 8192). Si le composé d'essai est toxique, il faut l'utiliser à une concentration plus faible ou employer un inoculum préexposé.

La présente Norme internationale est également applicable au mesurage de la biodégradation et de l'élimination des composants organiques dissous présents dans des eaux résiduaires (également appelés «composés d'essai» dans le cadre de la présente méthode).

NOTE Si la prévision du comportement des composés d'essai ou des eaux résiduaires d'une station de traitement requiert de plus amples informations, il convient de procéder à un essai de simulation (par exemple l'essai de simulation sur boues activées de l'ISO 11733). Pour une utilisation appropriée de cette méthode et pour les méthodes alternatives de biodégradation, voir l'ISO/TR 15462.

2 Références normatives

Les documents normatifs suivants contiennent des dispositions qui, par suite de la référence qui y est faite, constituent des dispositions valables pour la présente Norme internationale. Pour les références datées, les amendements ultérieurs ou les révisions de ces publications ne s'appliquent pas. Toutefois, les parties prenantes aux accords fondés sur la présente Norme internationale sont invitées à rechercher la possibilité d'appliquer les éditions les plus récentes des documents normatifs indiqués ci-après. Pour les références non datées, la dernière édition du document normatif en référence s'applique. Les membres de l'ISO et de la CEI possèdent le registre des Normes internationales en vigueur.

ISO 6060:1989, *Qualité de l'eau — Détermination de la demande chimique en oxygène*.

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

3 Termes et définitions

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

3.1

biodégradation aérobie ultime

en présence d'oxygène, décomposition par des micro-organismes d'un composé chimique ou d'une matière organique en dioxyde de carbone, eau et sels minéraux issus de tout autre élément présent (minéralisation) et production de nouvelle biomasse

3.2

biodégradation primaire

modification structurelle (transformation) d'un composé chimique sous l'action de micro-organismes, résultant en la perte d'une propriété spécifique

3.3

boue activée

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

3.4

concentration de matières en suspension dans une boue activée

quantité de matière solide obtenue par filtration ou centrifugation d'un volume connu de boues activées et séchage à 105 °C environ jusqu'à masse constante

3.5

carbone organique total

COT

quantité totale de carbone dissous et en suspension dans l'eau, présent dans la substance organique

3.6

carbone organique dissous

COD

partie du carbone organique présent dans l'eau qui ne peut être éliminé par la méthode de séparation de phases spécifiée

NOTE Une séparation de phases peut être spécifiée, par exemple, par centrifugation à 40 000 m·s⁻² pendant 15 min ou par filtration sur membrane de diamètre de pores de 0,2 µm à 0,45 µm.

3.7**demande chimique en oxygène****DCO**

concentration en masse d'oxygène équivalente à la quantité d'oxydant spécifié consommée par un composé chimique ou une matière organique lorsqu'un échantillon d'eau est traité avec cet oxydant dans des conditions définies

NOTE La DCO s'exprime ici en milligrammes d'oxygène consommé par milligramme ou par gramme de composé d'essai.

3.8**phase de latence**

durée entre le début d'un essai et le moment où l'adaptation et/ou la sélection des micro-organismes de dégradation sont achevées et où le taux de biodégradation d'un composé chimique ou d'une matière organique a atteint environ 10 % du niveau maximal de biodégradation

NOTE La phase de latence est exprimée en jours.

3.9**niveau maximal de biodégradation**

dans un essai, taux maximal de biodégradation d'un composé chimique ou d'une matière organique au-delà duquel aucune biodégradation ne survient plus pendant l'essai

NOTE Le niveau maximal de biodégradation est exprimé en pourcentage.

3.10**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 est atteint

NOTE La phase de biodégradation est exprimée en jours.

3.11**phase de plateau**

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

NOTE La phase de plateau est exprimée en jours.

3.12**préexposition**

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

3.13**préconditionnement**

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

4 Principe

Détermination de la biodégradation ou de l'élimination des composés organiques solubles dans l'eau ou des éléments contenus dans les eaux résiduaires sous l'action de micro-organismes aérobies en utilisant un essai aqueux statique. Le mélange à soumettre à l'essai est constitué d'un milieu inorganique, avec comme inoculum mixte des boues activées et comme unique source de carbone et d'énergie, hormis les boues, un composé d'essai organique. La concentration en composé d'essai utilisé produit normalement une concentration initiale en carbone organique dissous (COD) comprise entre 50 mg/l et 400 mg/l, ou une demande chimique en oxygène (DCO) comprise entre 100 mg/l et 1000 mg/l, selon sa solubilité dans l'eau et son action toxique sur les bactéries de l'inoculum.

Le mesurage de la concentration en COD (ou DCO) est effectué en début et en fin d'essai (en général 28 jours) et à plusieurs reprises dans l'intervalle, selon ce qui est requis. Afin de permettre une adsorption significative du composé d'essai par les boues, des échantillons sont également prélevés 3 h après le début de l'essai. Les valeurs obtenues lors de ce prélèvement sont utilisées comme base pour le calcul du pourcentage de la biodégradabilité ultime, calcul effectué lors de chaque échantillonnage. À titre d'indication, l'élimination totale du COD ou de la DCO de la phase aqueuse peut être obtenue en calculant leur disparition à partir d'une valeur mesurée avant l'ajout des sels présents dans le milieu d'essai et de l'inoculum. D'autres processus de disparition abiotique susceptibles de se produire, tels que l'entraînement par l'air, peuvent être identifiés par un témoin de l'élimination abiotique sans inoculum.

La réalisation d'analyses spécifiques peut fournir des informations supplémentaires sur la biodégradabilité primaire des composés d'essai.

5 Environnement d'essai

L'incubation doit avoir lieu dans l'obscurité ou sous lumière diffuse, dans une enceinte maintenue à une température comprise entre 20 °C et 25 °C et qui ne doit pas varier de ± 2 °C durant l'essai, et ne contenant ni gaz ni vapeurs toxiques pour les micro-organismes.

6 Réactifs

Utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue.

6.1 Eau, distillée ou dé-ionisée, dont la teneur en COD est inférieure à 1 mg/l.

6.2 Milieu d'essai

6.2.1 Composition

6.2.1.1 Solution a)

Dihydrogénophosphate de potassium anhydre (KH_2PO_4) 8,5 g

Monohydrogénophosphate de dipotassium anhydre (K_2HPO_4) 21,75 g

Monohydrogénophosphate de disodium 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

Dissoudre dans une quantité suffisante d'eau (6.1) pour compléter à 1 000 ml

NOTE Afin de vérifier cette solution tampon, il est recommandé d'effectuer un mesurage du pH. Si celui-ci n'est pas d'environ 7,4, il convient de préparer une nouvelle solution.

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 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 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 l'eau (6.1) et compléter à 1 000 ml. Pour éviter les précipités, préparer cette solution juste avant emploi ou ajouter une goutte d'acide chlorhydrique concentré (HCl).

6.2.2 Préparation du milieu d'essai

1000 ml de milieu d'essai doivent contenir 10 ml de solution a) et 1 ml de chacune des solutions b) à d). Ajouter les quantités appropriées de solutions mères comme décrit en 8.3. Préparer le milieu d'essai juste avant emploi. Les solutions a) à c) peuvent être conservées pendant 6 mois dans l'obscurité, à température ambiante.

NOTE Si le composé d'essai influence la valeur du pH du mélange à la concentration d'essai choisie, une augmentation du pouvoir tampon du milieu d'essai peut être requise. Pour des concentrations élevées, une pénurie d'azote peut également se produire. Dans de tels cas, il est recommandé d'enrichir la composition du milieu d'essai en nutriments en ajoutant, par exemple, 100 ml de solution a) au lieu de 10 ml ou juste la quantité de phosphate de la solution a). Le rapport C:N:P d'une concentration d'essai de 400 mg/l de COD passe alors de 100:0,3:30 à 100:3:300. Une nitrification pouvant se produire lors de fortes concentrations en azote, de plus fortes concentrations tampon en phosphate sont requises pour que le pH reste stable.

6.3 Solution d'hydroxyde de sodium

Dissoudre l'hydroxyde de sodium (NaOH) dans l'eau (6.1) pour obtenir une solution ayant une concentration de 0,1 mol/l à 0,5 mol/l.

6.4 Solution d'acide chlorhydrique

Dissoudre l'acide chlorhydrique (HCl) dans l'eau (6.1) pour obtenir une solution ayant une concentration de 0,1 mol/l à 0,5 mol/l.

6.5 Solution de chlorure de mercure

Dissoudre 1 g de chlorure de mercure(II) (HgCl_2) dans 100 ml d'eau (6.1).

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

7 Appareillage

Matériel courant de laboratoire et, en particulier, ce qui suit.

7.1 Récipients en verre, de volume compris entre 1 litre et 5 litres et équipés d'un système d'agitation avec agitateurs en verre ou en métal; mettre en rotation pour assurer une homogénéisation satisfaisante.

Chaque récipient doit être équipé de tubes en verre de diamètre intérieur compris entre 2 mm et 4 mm ou d'une plaque en verre, destinés à introduire de l'air. L'air ne doit contenir ni carbone organique ni vapeurs toxiques et doit avoir été présaturé en vapeur d'eau afin de limiter les pertes par évaporation.

La verrerie doit être soigneusement nettoyée et doit notamment ne contenir aucune trace de substances organiques ou toxiques.

7.2 Appareil de mesure, d'une sensibilité suffisante pour le dosage du carbone organique dissous (voir l'ISO 8245) ou pour le mesurage de la demande chimique en oxygène (voir l'ISO 6060) et, le cas échéant, pour l'analyse spécifique de substances.

7.3 Centrifugeuse ou dispositif de filtration, munis de filtres en papier ou de membranes filtrantes de porosité appropriée (diamètre des pores compris entre 0,2 μm et 0,45 μm) qui permettent à l'adsorption ou au relargage du carbone organique d'être réduit(e) au minimum.

7.4 pH-mètre (équipement habituel de laboratoire).

8 Mode opératoire

8.1 Préparation des solutions d'essai

8.1.1 Solution du composé d'essai, dans de l'eau (6.1) ou dans le milieu d'essai (6.2.2), à une concentration appropriée (par exemple 3 000 mg/l).