
**Qualité de l'eau — Lignes directrices pour
la détermination de la biodégradabilité en
milieu marin**

*Water quality — Guidance for determination of biodegradability in the
marine environment*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 16221:2001](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4937d0ed-ca4d-4ae6-92a5-1b2fed14e489/iso-16221-2001)

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4937d0ed-ca4d-4ae6-92a5-
1b2fed14e489/iso-16221-2001](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4937d0ed-ca4d-4ae6-92a5-1b2fed14e489/iso-16221-2001)



PDF – Exonération de responsabilité

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO décline toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 16221:2001](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4937d0ed-ca4d-4ae6-92a5-1b2fed14e489/iso-16221-2001)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4937d0ed-ca4d-4ae6-92a5-1b2fed14e489/iso-16221-2001>

© ISO 2001

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie et les microfilms, sans l'accord écrit de l'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax. + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.ch
Web www.iso.ch

Imprimé en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
Introduction.....	v
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	2
4 Principe	4
5 Environnement de l'essai	4
6 Réactifs	5
7 Appareillage	8
8 Mode opératoire pour l'essai	8
9 Calculs et expression des résultats	10
10 Validité des résultats	10
11 Résultats des essais interlaboratoires	10
12 Rapport d'essai	11
Bibliographie.....	13

ISO 16221:2001

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4937d0ed-ca4d-4ae6-92a5-1b2fed14e489/iso-16221-2001>

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.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments de la présente Norme internationale peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

La Norme internationale ISO 16221 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 147, *Qualité de l'eau*, sous-comité SC 5, *Méthodes biologiques*.

ITIH STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 16221:2001](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4937d0ed-ca4d-4ae6-92a5-1b2fed14e489/iso-16221-2001)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4937d0ed-ca4d-4ae6-92a5-1b2fed14e489/iso-16221-2001>

Introduction

L'ISO/TC 147 a élaboré des Normes internationales pour contrôler la biodégradabilité des substances et eaux usées en milieu aquatique. Toutes ces méthodes, récapitulées dans l'ISO 15462, ne peuvent être utilisées que pour la détermination et la prévision de la biodégradabilité en eau douce. Cependant, il existe de nombreux cas, par exemple pour les substances utilisées au large des côtes, où il est urgent de tester la biodégradabilité en milieu marin. La présente Norme internationale donne une description du contrôle de la biodégradation dans des systèmes d'essai marins; elle est basée sur une ligne directrice de l'OCDE et sur l'expérience acquise par un groupe de travail de la Commission d'Oslo et de Paris (OSPARCOM), qui a sélectionné des méthodes ISO normalisées appropriées, lesquelles ont été adaptées à des conditions marines et vérifiées par un essai interlaboratoires.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 16221:2001](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4937d0ed-ca4d-4ae6-92a5-1b2fed14e489/iso-16221-2001)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4937d0ed-ca4d-4ae6-92a5-1b2fed14e489/iso-16221-2001>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 16221:2001

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4937d0ed-ca4d-4ae6-92a5-1b2fed14e489/iso-16221-2001>

Qualité de l'eau — Lignes directrices pour la détermination de la biodégradabilité en milieu marin

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie cinq méthodes de détermination de la biodégradabilité aérobie ultime des composés organiques en milieu marin par des micro-organismes aérobies dans des systèmes d'essai aquatiques statiques. Les méthodes de dégradation normalisées mises en œuvre pour les essais en eau douce sont modifiées et adaptées à des conditions marines. Ces méthodes sont les suivantes: essai de décroissance du COD (ISO 7827), essai en fiole fermée (ISO 10707), essai en fiole fermée à deux phases (ISO 10708), essai d'évolution du CO₂ (ISO 9439) et essai de l'espace de tête du CO₂ (ISO 14593).

Ces méthodes s'appliquent à des composés organiques

- a) solubles dans l'eau dans les conditions de l'essai utilisé;
- b) peu solubles dans l'eau dans les conditions de l'essai utilisé; dans ce 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) volatils, à condition qu'un essai approprié réalisé dans des conditions adéquates soit utilisé;
- d) n'ayant pas d'effet inhibiteur sur les micro-organismes soumis à l'essai, à la concentration choisie pour les essais. L'existence d'un effet inhibiteur peut être mise en évidence suivant la méthode proposée dans la présente Norme internationale.

NOTE Les conditions décrites dans la présente Norme internationale ne correspondent pas toujours aux conditions optimales permettant un degré de biodégradation maximal. Pour les méthodes de biodégradation en eau douce, voir l'ISO 14593 et l'ISO 15462, et pour la biodégradation à de faibles concentrations, voir l'ISO 14592.

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 7827, *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 9439, *Qualité de l'eau — Évaluation de la biodégradabilité aérobie ultime en milieu aqueux des composés organiques — Essai de dégagement de dioxyde de carbone*.

ISO 10707, *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, *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 14592-1, *Qualité de l'eau — Évaluation de la biodégradabilité aérobie des composés organiques à faibles concentrations — Partie 1: Essai par agitation de fiole avec des eaux de surface ou des suspensions eaux de surface/sédiments.*

ISO 14592-2, *Qualité de l'eau — Évaluation de la biodégradabilité aérobie des composés organiques à faibles concentrations — Partie 2: Modèle de la rivière à écoulement continu avec biomasse liée.*

ISO 14593, *Qualité de l'eau — Évaluation en milieu aqueux de la biodégradabilité aérobie ultime des composés organiques — Méthode par analyse du carbone inorganique dans des récipients hermétiquement clos (Essai au CO₂ dans l'espace de tête).*

3 Termes et définitions

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

3.1

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, normalement, production de nouvelle biomasse

3.2

biodégradation primaire

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

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 16221:2001](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4937d0ed-ca4d-4ae6-92a5-1b2fed14e489/iso-16221-2001)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4937d0ed-ca4d-4ae6-92a5-1b2fed14e489/iso-16221-2001>

3.3

carbone organique total COT

totalité du carbone présent dans la matière organique, dissous et en suspension dans l'échantillon d'eau

3.4

carbone organique dissous COD

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

NOTE La centrifugation à 40 000 m·s⁻² pendant 15 min ou la filtration sur membrane avec un diamètre de pores de 0,2 µm à 0,45 µm sont des exemples de méthodes de séparation de phases.

3.5

carbone inorganique total CIT

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

3.6

carbone inorganique dissous CID

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

NOTE La centrifugation à 40 000 m·s⁻² pendant 15 min ou la filtration sur membrane avec un diamètre de pores de 0,2 µm à 0,45 µm sont des exemples de méthodes de séparation de phases.

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

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

NOTE Elle est exprimée dans ce cas en milligrammes d'oxygène consommé par milligramme (ou par gramme) du composé à analyser.

3.8**demande biochimique en oxygène****DBO**

concentration en masse d'oxygène dissous consommé dans des conditions définies par l'oxydation biologique aérobie d'un composé chimique ou d'une matière organique dans l'échantillon d'eau

NOTE Elle est exprimée dans ce cas en milligrammes d'oxygène consommé par milligramme (ou par gramme) du composé à analyser.

3.9**demande théorique en oxygène****DThO**

quantité théorique d'oxygène nécessaire pour oxyder complètement un composé chimique, calculée à partir de la formule moléculaire

NOTE Elle est exprimée dans ce cas en milligrammes d'oxygène consommé par milligramme (ou par gramme) du composé à analyser.

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

quantité théorique de dioxyde de carbone formé après l'oxydation complète d'un composé chimique, calculée à partir de la formule moléculaire

NOTE Elle est exprimée dans ce cas en milligrammes d'oxygène consommé par milligramme (ou par gramme) du composé à analyser.

3.11**quantité théorique de carbone inorganique****CITh**

quantité théorique de carbone inorganique formé après l'oxydation complète d'un composé chimique, calculée à partir de la formule moléculaire

NOTE Elle est exprimée dans ce cas en milligrammes d'oxygène consommé par milligramme (ou par gramme) du composé à analyser.

3.12**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 de dégradation est achevée, et où le degré de biodégradation d'un composé chimique ou d'une matière organique représente environ 10 % de biodégradation

NOTE Elle est exprimée en jours.

3.13**niveau maximal de biodégradation**

taux 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 exprimé en pourcentage.

3.14

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 exprimée en jours.

3.15

phase de plateau

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

NOTE Elle est exprimée en jours.

3.16

préexposition

préincubation 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

3.17

préconditionnement

préincubation 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

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

4 Principe

La présente Norme internationale décrit cinq méthodes de détermination de la biodégradabilité des composés organiques en milieu marin par des micro-organismes aérobies à l'aide de systèmes d'essai aquatiques statiques. Les méthodes de dégradation normalisées mises en œuvre pour les essais en eau douce sont modifiées et adaptées pour être utilisées à cet effet.

Les mélanges d'essai sont constitués d'un mélange d'eau de mer naturelle ou artificielle, de bactéries marines et du composé organique constituant la seule source de carbone et d'énergie à une concentration appropriée. Les mélanges d'essai et témoins sont incubés à la température souhaitée. Le mesurage des paramètres définis, comme décrit dans les méthodes d'essai fondamentales, permet de suivre la biodégradation ultime pendant une période spécifiée. La biodégradation basée sur l'élimination du COD (carbone organique dissous) est déterminée en comparant les concentrations mesurées au début et à la fin de l'essai, comme spécifié dans l'essai de décroissance du COD (ISO 7827). La DBO (demande biochimique en oxygène) est mesurée et comparée à la demande théorique en oxygène (DThO) ou à la demande chimique en oxygène (DCO) comme spécifié dans l'essai en fiole fermée (ISO 10707) et dans l'essai en fiole fermée à deux phases (ISO 10708). L'évolution du dioxyde de carbone (CO₂) est déterminée et comparée au dioxyde de carbone théorique (CO₂Th), à l'aide de l'essai d'évolution du CO₂ (ISO 9439) et le CIT (carbone inorganique total) est déterminé et comparé au carbone inorganique théorique (CITh) suivant l'essai de l'espace de tête du CO₂ (ISO 14593).

Si nécessaire et s'il existe une méthode d'analyse spécifique pour la substance, il est possible d'obtenir des informations concernant la dégradabilité primaire en mesurant la perte du composé à analyser pendant l'essai. De même, la biodégradation peut être déterminée à une concentration faible en utilisant des composés à analyser radiomarqués (généralement au ¹⁴C) (ISO 14592).

5 Environnement de l'essai

L'incubation doit avoir lieu à l'abri de la lumière ou sous lumière diffuse, à la température souhaitée, généralement comprise entre 15 °C et 25 °C, maintenue constante à ± 1 °C près tout au long de l'essai. Dans les cas où le but de l'étude est de simuler des situations environnementales, les essais peuvent être effectués à des températures non comprises dans cette plage.

6 Réactifs

Utiliser comme milieu d'essai de l'eau de mer naturelle (6.2) ou artificielle (6.3). Utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue.

6.1 Eau, distillée ou déionisée, contenant moins de 1 mg de COD par litre.

6.2 Eau de mer naturelle

6.2.1 Échantillonnage et prétraitement

Utiliser toute eau de mer d'origine naturelle. Prélever un échantillon dans un récipient soigneusement nettoyé et le transporter au laboratoire, de préférence dans les deux jours suivant le prélèvement. Pendant le transport, éviter que la température de l'échantillon dépasse de façon significative la plage 10 °C à 30 °C.

Fournir les informations suivantes:

- le lieu et la profondeur du prélèvement;
- l'état de pollution et de trophie du site d'échantillonnage (par exemple concentration en nitrate, ammonium et phosphate) et l'aspect de l'échantillon;
- la date de prélèvement et le temps écoulé entre l'échantillonnage et le début de l'essai;
- la température au moment du prélèvement;
- la salinité et le COD (utiliser par exemple l'ISO 8245).

Lorsque de l'eau de mer naturelle est utilisée, il est normalement possible d'obtenir des micro-organismes en nombre suffisant et aucune inoculation supplémentaire n'est nécessaire.

Il est recommandé de déterminer dans l'eau de mer naturelle le nombre de bactéries hétérotrophes formant des colonies, par exemple par dénombrement dans une boîte de Petri en utilisant une gélose marine. Une concentration bactérienne adéquate correspond à environ 10^5 cellules par millilitre dans les récipients d'essai. Lorsque l'eau de mer naturelle présente une densité bactérienne trop faible, inoculer tel que décrit pour l'eau de mer artificielle (6.3). Vérifier l'activité de l'eau de mer naturelle au moyen du composé de référence.

NOTE 1 Normalement, il convient de ne pas exposer préalablement l'inoculum et l'eau de mer naturelle au composé à analyser dans le but d'obtenir 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 préalablement exposés, 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 d'exposition préalable soit détaillée dans le rapport d'essai. Des inocula préexposés peuvent être obtenus à partir d'essais de biodégradation de laboratoire effectués en milieu marin dans diverses conditions, ou à partir d'échantillons prélevés en des lieux où sont réunies les conditions d'environnement appropriées (par exemple zones contaminées).

NOTE 2 La quantité de bactéries destinées à l'essai peut être augmentée, par exemple par centrifugation et remise en suspension dans un échantillon d'eau de mer plus petit.

Pour réduire la concentration de COD ou DBO dans le blanc, il est possible de procéder à un conditionnement préalable. Incuber l'échantillon à l'abri de la lumière ou sous lumière diffuse à la température de l'essai, dans des conditions aérobies, pendant une période pouvant atteindre une semaine. Lorsque l'inoculum ajouté contient trop de COD (quantité supérieure à 10 % du carbone organique ajouté par le composé à analyser), éliminer le surplus en nettoyant avec de l'eau de mer artificielle (6.3) et en centrifugeant. La teneur en carbone inorganique total (CIT) de l'eau de mer naturelle est généralement élevée; si tel est le cas, la teneur en CIT doit être réduite conformément à l'ISO 14593. Pour cela, mesurer le pH de l'échantillon d'eau de mer, l'aérer avec de l'air exempt de CO₂ pendant environ 1 h tout en maintenant le pH à 6,5 à l'aide d'acide chlorhydrique concentré (HCl), puis rétablir le pH à sa valeur de départ à l'aide d'hydroxyde de sodium (NaOH).