
**Qualité de l'eau — Essai de toxicité pour
l'évaluation de l'inhibition de la
nitrification des micro-organismes des
boues activées**

*Water quality — Toxicity test for assessing the inhibition of nitrification
of activated sludge microorganisms*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 9509:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ad0b3473-37ae-4e47-986e-2803ebb8cd9f/iso-9509-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ad0b3473-37ae-4e47-986e-2803ebb8cd9f/iso-9509-2006>



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 9509:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ad0b3473-37ae-4e47-986e-2803ebb8cd9f/iso-9509-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ad0b3473-37ae-4e47-986e-2803ebb8cd9f/iso-9509-2006>

© ISO 2006

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.org
Web www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
Introduction	v
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	2
3 Termes et définitions	2
4 Principe	3
5 Réactifs et matériaux	3
6 Appareillage	4
7 Mode opératoire	5
8 Calcul et expression des résultats	6
9 Validité des résultats	6
10 Fidélité	7
11 Rapport d'essai	8
Annexe A (normative) Détermination de l'activité nitrifiante d'une boue activée	9
Annexe B (normative) Exemple pour la préparation de l'essai	10
Annexe C (informative) Appareillage pour la culture d'une boue activée nitrifiante	11
Bibliographie	13

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 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. 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 du présent document 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.

L'ISO 9509 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 9509:1989), qui a fait l'objet d'une révision technique.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ad0b3473-37ae-4e47-986e-2803ebb8cd9f/iso-9509-2006>

Introduction

La nitrification est un processus important du traitement des eaux résiduaires car il est nécessaire pour réduire les effets polluants de l'ammonium dans les rejets traités déversés dans les milieux récepteurs aquatiques. De plus, il est nécessaire de convertir l'ammonium en nitrate pour être en mesure ensuite de procéder à la dénitrification (en produisant de l'azote sous forme de gaz) lors de la phase d'anoxie du procédé applicable aux boues activées, ce qui réduit considérablement le potentiel d'eutrophisation dans les milieux récepteurs aquatiques. La nitrification est, en général, réalisée par deux groupes distincts d'espèces bactériennes autotrophes. La présente Norme internationale décrit une méthode d'évaluation de l'inhibition de la production d'azote oxydé (nitrites plus nitrates) ou de l'élimination de l'ammonium, par la boue activée nitrifiante.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 9509:2006](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ad0b3473-37ae-4e47-986e-2803ebb8cd9f/iso-9509-2006>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 9509:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ad0b3473-37ae-4e47-986e-2803ebb8cd9f/iso-9509-2006>

Qualité de l'eau — Essai de toxicité pour l'évaluation de l'inhibition de la nitrification des micro-organismes des boues activées

AVERTISSEMENT — Les boues activées et les eaux usées contiennent des organismes potentiellement pathogènes. Il y a donc lieu de les manipuler avec les précautions appropriées.

Les substances d'essai toxiques ou celles dont les propriétés ne sont pas connues doivent être manipulées avec précautions.

Il convient que l'utilisateur de la présente Norme Internationale connaisse bien les pratiques courantes de laboratoire. La présente norme n'a pas pour but de traiter tous les problèmes de sécurité qui sont, le cas échéant, liés à son utilisation. Il incombe à l'utilisateur de la présente norme d'établir des pratiques appropriées en matière d'hygiène et de sécurité, et de s'assurer de la conformité à la réglementation nationale en vigueur.

IMPORTANT — Il est absolument essentiel que les essais conduits conformément à la présente norme soient effectués par un personnel ayant reçu une formation adéquate.

(standards.iteh.ai)

1 Domaine d'application

La présente Norme Internationale spécifie une méthode d'évaluation de l'effet inhibiteur à court terme des eaux et des eaux résiduaires ou des substances d'essai sur les bactéries nitrifiantes des boues activées. L'effet inhibiteur est estimé sur une période d'exposition habituelle de 3 h, pouvant aller jusqu'à 24 h dans le cas de boues faiblement nitrifiantes.

La méthode est applicable aux boues activées nitrifiantes provenant d'eaux usées d'origine domestique et de synthèse, ainsi qu'aux boues provenant d'eaux résiduaires industrielles, mélangées ou non avec des eaux résiduaires d'origine domestique.

L'activité nitrifiante de la boue est vérifiée par des essais en présence et en l'absence d'un inhibiteur spécifique (par exemple *N*-allylthiourée; voir Annexe A). Si le taux de nitrification se situe à l'intérieur d'une plage qui convient pour l'essai, c'est-à-dire de 2 mg d'azote par gramme de matière en suspension et par heure à 6,5 milligrammes d'azote par gramme de matière en suspension et par heure, on peut utiliser la boue directement; si ce n'est pas le cas, des ajustements sont nécessaires (voir Article 9).

Cette méthode est applicable aux substances chimiques non volatiles, solubles dans l'eau ainsi qu'aux eaux résiduaires.

Si des boues provenant de sources différentes réagissent différemment à une concentration donnée d'un inhibiteur, c'est principalement parce qu'il se produit une réaction entre l'inhibiteur et les constituants de la boue. Il en résulte une neutralisation partielle de l'effet toxique. En outre, puisque l'essai ne dure que quelques heures, il se peut que les effets inhibiteurs diminuent ou augmentent sur une période plus longue, par exemple, dans le cas des systèmes continus de boues activées (voir l'ISO 5667-16).

2 Références normatives

Les documents de référence suivants sont indispensables pour l'application du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence s'applique (y compris les éventuels amendements).

ISO 5667-16, *Qualité de l'eau — Échantillonnage — Partie 16: Lignes directrices pour les essais biologiques des échantillons*

ISO 6777, *Qualité de l'eau — Dosage des nitrites — Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire*

ISO 7150-1, *Qualité de l'eau — Dosage de l'ammonium — Partie 1: Méthode spectrométrique manuelle*

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

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants s'appliquent.

3.1

nitrification

oxydation des composés de l'ammonium par des bactéries

NOTE Généralement, le produit intermédiaire est le nitrite, et le produit final, le nitrate

[ISO 6107:2004, 49]

3.2

substance d'essai

substances chimiques pures, mélanges clairement définis de substances chimiques, produits chimiques, eaux résiduaires, traitées ou non

3.3

boue activée

amas biologique (floc) formé, au cours du traitement d'une eau résiduaire, par la croissance de bactéries et d'autres micro-organismes en présence d'oxygène dissous

[ISO 6107-1:2004, 2]

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

[ISO 9888:1999, 3.4]

3.5

niveau toxique

niveau de concentration d'une substance d'essai au-dessus duquel se produit une inhibition de 10 % à 100 %

[ISO 8192:—¹]

1) À publier. (Révision de l'ISO 8192:1986)

3.6**CE₅₀**

concentration effective de substance d'essai déduite par calcul ou interpolation produisant une inhibition de la nitrification de 50 % par rapport à un blanc

4 Principe

Le pourcentage d'inhibition de la nitrification par des concentrations variées de substance d'essai est calculé en évaluant la différence de concentration en azote oxydé (nitrate plus nitrite) produite, ou en ammonium utilisée, dans des conditions normalisées, par l'oxydation des sels d'ammonium après l'aération parallèle d'une boue nitrifiante, en présence et en l'absence de la substance d'essai.

5 Réactifs et matériaux

5.1 Eau déionisée pour la préparation de solutions mères définies. Pour les opérations de nettoyage, l'eau du robinet convient également.

Vérifier que l'eau est exempte de substances chimiques pouvant inhiber les processus de nitrification (par exemple des ions Cu²⁺).

5.2 Boues activées nitrifiantes

Prélever un volume suffisant de boue activée nitrifiante dans une installation locale de traitement des eaux résiduaires ou dans un laboratoire (voir Annexe C), où se déroule une nitrification. Selon le but de l'essai, la boue peut être prélevée dans des installations traitant principalement des eaux usées d'origine domestique, des mélanges d'eaux résiduaires industrielles et d'origine domestique ou des eaux résiduaires industrielles, uniquement. Il convient de noter la provenance de la boue et des eaux résiduaires traitées car les résultats de l'essai dépendent souvent de l'origine de la boue utilisée (voir Référence [6]). Maintenir la boue en aérobie. La toxicité pour la nitrification pouvant varier avec le temps de stockage (voir Référence [1]), il convient de procéder aux évaluations dès que possible après le prélèvement et, de préférence, dans les 24 h (voir l'ISO 5667-16).

Au lieu d'utiliser une boue activée provenant d'une installation de traitement d'eaux résiduaires, la boue nitrifiante peut être cultivée en laboratoire (voir Annexe C).

Bien que l'on puisse utiliser en l'état la boue prélevée, il est préférable de la laver pour éliminer les inhibiteurs et nitrates présents avant de la remettre en suspension dans de l'eau du robinet exempte de chlore et de nitrates. Cette opération de lavage facultative peut être réalisée par centrifugation ou décantation. Centrifuger la boue (par exemple à 10 000 min⁻¹ pendant 5 min) ou la laisser se décanter et éliminer le liquide surnageant. Laver le résidu avec un volume d'eau du robinet égal au volume initial, de nouveau centrifuger ou laisser se décanter, puis éliminer à nouveau le liquide surnageant. Finalement, remettre en suspension la boue centrifugée ou décantée dans un volume approprié d'eau du robinet pour obtenir la concentration requise de matières en suspension dans la liqueur mixte (par exemple 3 g/l) et aérer jusqu'à utilisation.

5.3 Milieu complet

Dissoudre 5,04 g d'hydrogencarbonate de sodium, NaHCO₃, et 2,65 g de sulfate d'ammonium, (NH₄)₂SO₄, dans 1 l d'eau (5.1).

NOTE Lorsque ce milieu est dilué dans un rapport de 1 à 10 (1 + 9) avec de l'eau (5.1), il contient 56 mg d'azote par litre et a une valeur de pH de 7,6 environ. Il permet de produire au moins 25 mg/l d'azote oxydé sans modification du pH.

5.4 Milieu pour les échantillons d'eaux résiduaires

5.4.1 Milieu A

Dissoudre 10,08 g d'hydrogénocarbonate de sodium, NaHCO_3 , dans 1 l d'eau (5.1).

5.4.2 Milieu B

Dissoudre 5,3 g de sulfate d'ammonium, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, dans 1 l d'eau (5.1).

5.5 Inhibiteur de référence

Dissoudre 1,16 g de *N*-allylthiourée (ATU) dans 1 l d'eau (5.1).

Il est également possible d'utiliser d'autres inhibiteurs, par exemple la 2-chloro-6-(trichlorométhyl)pyridine mais il convient d'étudier préalablement la concentration requise et le mode d'addition.

5.6 Solution mère de la substance d'essai

Préparer une solution mère de la substance d'essai ou mettre en suspension cette dernière dans de l'eau distillée (5.1) à une concentration appropriée, par exemple de 1 g/l ou de 10 g/l.

Si nécessaire, ajuster le pH de la solution mère à $7,6 \pm 0,1$.

5.7 Échantillons d'eaux résiduaires

Prélever un échantillon représentatif des eaux résiduaires et le conserver à une température inférieure à 4 °C pendant une durée la plus courte possible (voir par exemple l'ISO 5667-16). Il convient d'ajuster le pH de l'échantillon à $7,6 \pm 0,1$ sauf s'il faut déterminer l'effet de la totalité de l'échantillon. Il est nécessaire de connaître la concentration en ammonium-N de l'échantillon, si cette concentration n'est pas connue, la déterminer.

Habituellement, l'inhibition de la nitrification commence à avoir lieu aux concentrations dépassant environ 100 mg/l d'ammonium-N. Lorsque la disparition de l'ammonium-N sert à mesurer le taux de nitrification, les erreurs augmentent quand la concentration initiale en ammonium-N est élevée car, aux environs de 20 mg/l de N, la différence entre les concentrations initiale et finale demeure faible. De la même façon, de l'ammonium peut être assimilé par des bactéries hétérotrophes pour la synthèse des cellules. Ainsi, il convient que la concentration en ammonium-N ne dépasse pas 56 mg/l, comme prévu, et, de préférence, qu'elle soit la même dans tous les récipients pour une même série de déterminations. Cela est réalisable en séparant la source d'ammonium, milieu B (5.4.2), du tampon, milieu A (5.4.1), et en ajoutant un volume constant de milieu A, mais des quantités appropriées différentes de milieu B et d'eau.

6 Appareillage

6.1 Récipients

6.1.1 **Fioles coniques**, par exemple de 200 ml ou 500 ml, ou

6.1.2 **Éprouvettes graduées**, de 100 ml.

6.2 **Pipettes Pasteur**, ou tout autre système pour l'aération.

6.3 Alimentation en air

6.3.1 **Alimentation en air comprimé**, humidifié par passage à travers une pissette contenant de l'eau, pour une utilisation avec les éprouvettes de 100 ml (6.1.2).

6.3.2 Agitateur, variante de l'aération à l'air diffusé pour une utilisation avec les fioles coniques (6.1.1).

6.4 Appareillage de filtration

6.5 Filtres en fibres de verre ou en papier, sans dégagement ni adsorption de l'ammonium-N ou de l'azote N-oxydé.

6.6 Appareillage et réactifs, pour la détermination analytique de l'ammonium-N et/ou de l'azote N-oxydé.

7 Mode opératoire

7.1 Préparation

Si l'activité nitrifiante de la boue n'est pas connue, déterminer le taux conformément à l'Annexe A. Il est recommandé d'utiliser des boues ayant des taux de nitrification compris entre 2 mg d'azote par gramme de matière en suspension et par heure [mg de N par (g·h)] et 6,5 mg d'azote par gramme de matière en suspension et par heure [mg de N par (g·h)] pour la période d'essai de 3 h. Les boues dont l'activité se situe en dehors de cette plage peuvent être ramenées à celle-ci soit par dilution avec de l'eau (5.1), soit par concentration par décantation ou centrifugation (voir Article 9). Si cela n'est pas possible, choisir une boue plus activement nitrifiante provenant d'une autre origine.

Si les échantillons pour essai ne contiennent pas d'ammonium-N, ajouter un volume du milieu d'hydrogénocarbonate/sulfate d'ammonium (5.3) égal à un dixième du mélange réactionnel final, V_F , dans chaque série de récipients (respectivement les fioles 6.1.1 ou les éprouvettes 6.1.2). Ensuite, ajouter des volumes égaux ($V_F/2$) de boue nitrifiante lavée (5.2) de façon à ce que la concentration finale de matières en suspension soit approximativement de 1 500 mg/l. Enfin, ajouter un volume approprié, habituellement 5 ml, de solution d'essai (5.6) et suffisamment d'eau (5.1) pour compléter au volume final, V_F , identique dans toutes les fioles (voir l'exemple donné dans l'Annexe B). Faire en sorte que la boue n'entre pas en contact avec la solution non diluée de la substance d'essai. <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ad0b3473-37ae-4e47-986e-28931b18e10f/iso-9509-2006>

Inclure un récipient témoin contenant de la boue, le milieu et de l'eau mais sans substance d'essai et un récipient de référence contenant de la boue, le milieu, de l'eau et l'inhibiteur de référence [$V_F/100$ de la solution d'ATU (5.5), 11,6 mg/l]. Si nécessaire, à titre de contrôle supplémentaire, prélever un échantillon dans le témoin pour mesurer la concentration initiale en ammonium-N.

Si l'échantillon pour essai (par exemple des eaux résiduaires) contient de l'ammonium, ajouter le milieu A $V_F/20$ (5.4.1) dans chaque fiole au lieu du milieu complet $V_F/10$ (5.3), puis ajouter la boue lavée ($V_F/2$). Enfin, ajouter des volumes suffisants de milieu B (5.4.2) et d'eau (5.1), puis l'un des volumes (ou dilutions) de l'échantillon pour essai d'eaux résiduaires de façon à obtenir le volume final V_F et une concentration en ammonium-N de 56 mg/l.

7.2 Incubation

Incuber tous les récipients à une température constante de $22\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ à l'abri de la lumière ou sous une lumière diffuse pendant 4 h [ou davantage si l'activité de la boue est inférieure à 2 mg de N par (g·h)] et aérer les mélanges soit en faisant passer de l'air comprimé humidifié (6.3.1) à travers les éprouvettes graduées (6.1.2), soit en agitant les fioles coniques (6.1.1) à une vitesse permettant de maintenir la boue en suspension et la concentration d'oxygène dissous au-dessus de 4 mg/l.

NOTE Les eaux résiduaires concentrées peuvent nécessiter une aération supplémentaire pour maintenir la concentration d'oxygène dissous au-dessus de 4 mg/l.

Au terme de l'incubation, prélever un volume approprié d'échantillon dans chaque récipient en vue de la détermination analytique de l'azote oxydé (nitrate plus nitrite) (par exemple ISO 6777, ISO 7890-1) et/ou de la concentration en ammonium (appliquer, par exemple, l'ISO 7150-1). Filtrer immédiatement les échantillons sur un filtre en fibres de verre ou en papier lavé (6.4, 6.5).