

---

---

**Qualité de l'eau — Essai d'inhibition de la  
consommation d'oxygène par des boues  
activées pour l'oxydation du carbone et  
de l'ammonium**

*Water quality — Test for inhibition of oxygen consumption by activated  
sludge for carbonaceous and ammonium oxidation*

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

ISO 8192:2007

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8f7c85ac-895a-4db5-90f6-  
bfbc371a6511/iso-8192-2007](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8f7c85ac-895a-4db5-90f6-bfbc371a6511/iso-8192-2007)



**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 8192:2007](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8f7c85ac-895a-4db5-90f6-bfbc371a6511/iso-8192-2007)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8f7c85ac-895a-4db5-90f6-bfbc371a6511/iso-8192-2007>

© ISO 2007

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](mailto:copyright@iso.org)  
Web [www.iso.org](http://www.iso.org)

Publié en Suisse

**Sommaire**

Page

<b>Avant-propos</b> .....	<b>iv</b>
<b>Introduction</b> .....	<b>v</b>
<b>1</b> <b>Domaine d'application</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b> <b>Références normatives</b> .....	<b>1</b>
<b>3</b> <b>Termes et définitions</b> .....	<b>1</b>
<b>4</b> <b>Principe</b> .....	<b>3</b>
<b>5</b> <b>Réactifs, milieux et inoculum</b> .....	<b>3</b>
<b>6</b> <b>Appareils</b> .....	<b>4</b>
<b>7</b> <b>Environnement de l'essai</b> .....	<b>5</b>
<b>8</b> <b>Mode opératoire</b> .....	<b>5</b>
<b>9</b> <b>Calcul et expression des résultats</b> .....	<b>9</b>
<b>10</b> <b>Validité des résultats</b> .....	<b>12</b>
<b>11</b> <b>Rapport d'essai</b> .....	<b>14</b>
<b>Annexe A</b> (informative) <b>Exemples d'unités de mesurage</b> .....	<b>15</b>
<b>Annexe B</b> (informative) <b>Appareillage pour cultiver de la boue activée nitrifiante</b> .....	<b>17</b>
<b>Annexe C</b> (informative) <b>Vue d'ensemble du mode opératoire d'essai</b> .....	<b>19</b>
<b>Annexe D</b> (informative) <b>Mélanges pour l'essai préliminaire</b> .....	<b>20</b>
<b>Annexe E</b> (informative) <b>Exemple de courbes d'inhibition</b> .....	<b>21</b>
<b>Bibliographie</b> .....	<b>22</b>

## 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 8192 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 8192:1986), qui a fait l'objet d'une révision technique.

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8f7c85ac-895a-4db5-90f6-bfbc371a6511/iso-8192-2007>

## Introduction

Les informations obtenues par la présente méthode, qui permettent d'évaluer la toxicité potentielle de substances, de mélanges et d'eaux résiduelles vis-à-vis des boues activées, peuvent être utiles pour estimer l'effet d'un matériau d'essai sur des populations bactériennes mixtes dans l'environnement aquatique, notamment dans les systèmes de traitement biologique aérobie. L'inhibition potentielle de la consommation d'oxygène par des substances chimiques et des eaux résiduelles n'est pas nécessairement uniforme pour les différentes sous-populations de communautés bactériennes et des effets sélectifs peuvent influencer profondément sur le résultat de l'essai.

Il existe deux groupes principaux de micro-organismes contribuant à la consommation d'oxygène totale par les boues activées: les organismes hétérotrophes principalement responsables de la décomposition des substrats à base de carbone (oxydation des composants carbonés) et les organismes autotrophes nitrifiants provoquant l'oxydation de l'ammonium en nitrate (nitrification). L'effet inhibiteur d'un échantillon d'essai peut s'exercer sur les deux groupes de micro-organismes ou il peut s'exercer de manière prédominante sur l'un d'eux uniquement. La nitrification est le processus généralement le plus favorable à l'inhibition sélective.

La présente Norme internationale peut être utilisée pour évaluer la toxicité des substances sur la consommation d'oxygène totale (c'est-à-dire l'oxydation des composants carbonés et la nitrification combinées) ou, en ajoutant délibérément un inhibiteur spécifique de la nitrification, pour évaluer la toxicité des substances sur l'oxydation des composants carbonés et la nitrification séparément.

Pour la détermination de l'inhibition de la nitrification selon la présente méthode, une boue activée suffisamment nitrifiante est exigée. Des indications sur la nitrification peuvent être obtenues dans l'ISO 9509 [4].

[ISO 8192:2007](#)

Il convient que l'utilisateur de cette méthode soit conscient que des problèmes particuliers peuvent nécessiter la spécification de conditions marginales supplémentaires.

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 8192:2007

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8f7c85ac-895a-4db5-90f6-bfbc371a6511/iso-8192-2007>

# Qualité de l'eau — Essai d'inhibition de la consommation d'oxygène par des boues activées pour l'oxydation du carbone et de l'ammonium

**AVERTISSEMENT** — Il convient que l'utilisateur de la présente Norme internationale maîtrise les pratiques courantes de laboratoire. La présente Norme internationale n'a pas pour but de traiter tous les problèmes de sécurité qui sont, le cas échéant, liés à son utilisation. Il est de la responsabilité de l'utilisateur de mettre en place des pratiques d'hygiène et de sécurité adéquates et de s'assurer de la conformité avec toutes les dispositions réglementaires nationales.

**IMPORTANT** — Il est indispensable que les essais menés selon la présente Norme internationale le soient par du personnel qualifié.

## 1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode d'évaluation de l'effet inhibiteur d'un échantillon d'essai sur la consommation d'oxygène des micro-organismes des boues activées.

La présente méthode est conçue pour représenter les conditions dans les stations de traitement des eaux résiduaires biologiques. Elle fournit des informations sur les effets inhibiteurs ou stimulateurs après un temps d'exposition court (habituellement de 30 min à 180 min ou même plus) des micro-organismes des boues activées à l'échantillon d'essai.

Cette méthode est applicable aux essais des eaux, des eaux résiduaires, des substances chimiques pures et des mélanges de substances chimiques. S'agissant des substances chimiques, la méthode porte sur les substances chimiques solubles dans les conditions de l'essai. Des précautions particulières sont nécessaires avec les produits à faible solubilité aqueuse, à haute volatilité et avec ceux qui consomment ou produisent de l'oxygène de manière abiotique.

## 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 3696, *Eau pour laboratoire à usage analytique — Spécification et méthodes d'essai*

## 3 Termes et définitions

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

### 3.1

#### **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 <sup>[3]</sup>, définition 2)

**3.2**  
**concentration de matières en suspension d'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 [6], définition 3.4)

**3.3**  
**taux de consommation d'oxygène**  
consommation d'oxygène par les micro-organismes de boues activées par unité de volume de boue et unité de temps

NOTE Cette grandeur est exprimée en milligrammes par litre par heure [mg/(l·h)].

**3.4**  
**taux spécifique de consommation d'oxygène**  
consommation d'oxygène par des micro-organismes de boue activée par unité de masse (matières en suspension) et unité de temps

NOTE Cette grandeur est exprimée en milligrammes par gramme par heure [mg/(g·h)].

**3.5**  
**inhibition de la consommation d'oxygène**  
diminution du taux de consommation d'oxygène d'une boue activée et d'une ou plusieurs substances biodégradables en présence de l'échantillon d'essai, par rapport à celui d'un mélange similaire sans échantillon d'essai

NOTE 1 Cette grandeur est exprimée en pourcentage.

NOTE 2 En l'absence de substrat, des substances chimiques (par exemple des agents découplants de phosphorylation) peuvent augmenter la consommation d'oxygène.

**3.6**  
**niveau toxique**  
plage de concentrations d'un échantillon d'essai dans laquelle se produit une inhibition de 0 % à 100 %

**3.7**  
**CE<sub>50</sub>**  
concentration efficace d'un échantillon d'essai produisant une inhibition calculée ou interpolée de 50 % de la consommation d'oxygène par rapport à un essai à blanc

**3.8**  
**nitrification**  
oxydation des composés d'ammonium par des bactéries

NOTE Généralement les produits intermédiaires d'une telle oxydation sont des nitrites et les produits ultimes des nitrates.

(ISO 6107-1:2004 [3], définition 49)

## 4 Principe

En présence de substances facilement biodégradables, la boue activée consomme de l'oxygène à un taux plus élevé qu'en leur absence, taux qui dépend, entre autres facteurs, de la concentration en micro-organismes. L'ajout d'un échantillon d'essai à une concentration toxique provoque une diminution du taux de consommation d'oxygène. Les taux sont mesurés à l'aide d'une électrode à oxygène. Le pourcentage d'inhibition de la consommation d'oxygène est estimé par comparaison du taux correspondant à l'échantillon d'essai avec celui d'un mélange témoin ne contenant pas d'échantillon d'essai.

La sensibilité de la boue activée peut être vérifiée avec une substance de référence adaptée. L'inhibition de la consommation d'oxygène par tous les micro-organismes des boues et par les micro-organismes hétérotrophes, et celle de l'oxydation des sels d'ammonium par les micro-organismes nitrifiants peuvent être exprimées séparément à partir de mesurages du taux de consommation en l'absence et en présence de *N*-allylthiourée (ATU), inhibiteur spécifique de l'oxydation de l'ammonium en nitrite par les micro-organismes intervenant dans la première étape de nitrification. La différence entre les deux valeurs d'oxygène est due à la nitrification et la valeur résiduelle en présence d'allylthiourée est due aux micro-organismes hétérotrophes. Toute consommation d'oxygène due à des processus abiotiques peut être détectée en déterminant le taux dans des mélanges contenant de l'échantillon d'essai, du milieu synthétique et de l'eau, mais en omettant la boue activée.

Dans certains cas (rares), une substance d'essai ayant de fortes propriétés réductrices peut provoquer une consommation d'oxygène abiotique mesurable. Dans ce cas, des témoins abiotiques sont nécessaires pour faire la différence entre la consommation d'oxygène par la substance d'essai et la respiration microbienne. Les témoins abiotiques peuvent être préparés en omettant l'inoculum des mélanges d'essai, ou en empoisonnant l'inoculum avec une solution de chlorure de mercure(II).

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

## 5 Réactifs, milieux et inoculum

Utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8f7c85ac-895a-4db5-90f6-1a1101060000/iso-8192-2007>

**5.1 Eau**, conforme au niveau de qualité 1 tel que défini dans l'ISO 3696, c'est-à-dire de l'eau distillée ou déionisée contenant moins de 1 mg/l de carbone organique dissous (COD).

**5.2 Inhibiteur de nitrification spécifique**, *N*-allylthiourée (ATU).

Dissoudre 2,50 g d'ATU dans 1 000 ml d'eau (5.1). L'ajout de 2,32 ml de cette solution mère à un échantillon de 500 ml donne une concentration finale de 11,6 mg/l ( $10^{-4}$  mol/l).

**5.3 Solution de chlorure de mercure(II)** (chlorure mercurique).

Si nécessaire (voir Article 4), préparer une solution de 0,10 g de chlorure de mercure(II) ( $\text{HgCl}_2$ ) dans 10 ml d'eau (5.1).

**AVERTISSEMENT** — Des précautions de sécurité rigoureuses et des mesures d'élimination des déchets spécifiques s'appliquent à l'utilisation de sels de mercure en laboratoire. L'emploi régulier de témoins abiotiques empoisonnés au chlorure mercurique n'est pas recommandé.

**5.4 Agent antimousse**, exempt de silicone.

**5.5 Substance de référence**, solution mère de 3,5-dichlorophénol (3,5-DCP) ou de *N*-méthyl-aniline (NMA).

Préparer une solution contenant 1,00 g de 3,5-DCP dans 1 000 ml d'eau (5.1). Utiliser de l'eau chaude et/ou l'ultrasonication pour accélérer la dissolution et compléter au volume après refroidissement à température ambiante.

Il est également possible d'utiliser de la NMA comme substance de référence, en particulier pour l'inhibition des processus de nitrification. Lors de l'utilisation de cette substance, préparer une solution contenant 1,00 g de NMA dans 1 000 ml d'eau (5.1).

**5.6 Milieu d'essai**, eau d'égout synthétique 1 (milieu OCDE concentré 100 fois).

Peptone	16 g
Extrait de viande	11 g
Urée [CO(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> ]	3 g
Chlorure de sodium (NaCl)	0,7 g
Chlorure de calcium dihydraté (CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O)	0,4 g
Sulfate de magnésium heptahydraté (MgSO <sub>4</sub> ·7 H <sub>2</sub> O)	0,2 g
Hydrogénophosphate de potassium (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	2,8 g
Eau (5.1)	1 l

Le pH de ce milieu synthétique doit être de  $7,5 \pm 0,5$ .

Si le milieu synthétique préparé n'est pas utilisé immédiatement, le conserver à l'abri de la lumière entre 0 °C et 4 °C, pendant une semaine au maximum.

Dans le cas contraire, stériliser le milieu synthétique préalablement au stockage ou ajouter la peptone et l'extrait de viande peu de temps avant de réaliser l'essai. Avant utilisation, s'assurer que le milieu est mélangé minutieusement et ajuster le pH, si nécessaire.

**5.7 Échantillon d'essai**, solution mère.

L'échantillon d'essai peut être une substance chimique pure, un mélange de substances chimiques, ou un produit chimique ou une eau résiduaire.

Préparer une solution mère de l'échantillon d'essai dilué dans de l'eau (5.1) à une concentration appropriée, par exemple 1 g/l ou 10 g/l. Les eaux résiduaires peuvent être utilisées sans dilution.

Pour les produits insolubles, une suspension ou une dispersion peut être préparée, ou l'échantillon d'essai peut être ajouté directement dans les récipients d'essai. Veiller à garantir la meilleure homogénéité possible. Voir, par exemple, l'ISO 10634 [7], pour la manipulation des produits insolubles.

**5.8 Inoculum**

Pour l'utilisation générale, il convient de prélever la boue activée à la sortie du bassin d'aération (là où les concentrations de substrat sont les plus faibles) d'une station d'eaux résiduaires traitant principalement des eaux d'égout d'origine domestique et fonctionnant de manière efficace. Selon l'objet de l'essai, tout type de boue activée, y compris la boue cultivée en laboratoire et celle cultivée à partir d'eaux résiduaires industrielles, peut également être utilisé à une concentration de matières en suspension appropriée de 2 g/l à 4 g/l, par exemple. Toutefois, les boues activées provenant de différentes stations de traitement sont susceptibles d'avoir des caractéristiques et des sensibilités différentes.

**6 Appareils**

Matériel courant de laboratoire et ce qui suit (voir Annexe A).

**6.1 Récipients d'essai:** des **bouteilles DBO** (demande biochimique en oxygène) de 250 ml à 300 ml ou des **erlenmeyers** munis de bouchons sont recommandés (voir Figure A.1). Il est également possible d'utiliser des récipients d'essai plus grands (voir Figure A.2).

Lorsqu'une bouteille DBO est utilisée pour les mesurages d'oxygène, un bouchon approprié préalablement percé permettant de fixer hermétiquement l'électrode à oxygène contre le col des récipients d'essai peut être nécessaire (voir Figure A.1). Afin d'éviter les pertes de liquide déplacé au moment de l'insertion de l'électrode

à oxygène, il est conseillé d'introduire tout d'abord un entonnoir ou un tube de verre à travers le bouchon, ou d'utiliser des récipients à bord évasé.

**6.2 Dispositif de mesurage de la concentration en oxygène**, comprenant une électrode à oxygène adaptée, une cuve pour contenir l'échantillon et un enregistreur (voir Figure A.2).

**6.3 Agitateurs magnétiques**, recouverts d'un matériau inerte.

#### 6.4 Dispositif d'aération

Si nécessaire, faire passer de l'air comprimé à travers un filtre approprié pour éliminer la poussière et l'huile, et à travers des flacons laveurs contenant de l'eau pour humidifier l'air. Aérer les récipients d'essai avec une pipette Pasteur ou un autre dispositif d'aération qui n'absorbe pas les substances chimiques.

**6.5 pH-mètre**

**6.6 Centrifugeuse de laboratoire**, adaptée à la boue, ayant une accélération de 10 000 m/s<sup>2</sup>.

**6.7 Appareillage pour cultiver de la boue nitrifiante en laboratoire** (voir Annexe B).

## 7 Environnement de l'essai

Conduire l'essai à une température se trouvant dans la plage de  $(22 \pm 2)$  °C et dans une atmosphère exempte de poussières et de vapeurs toxiques.

IteH STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

## 8 Mode opératoire

**8.1 Généralités** <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8f7c85ac-895a-4db5-90f6-bfbc371a6511/iso-8192-2007>  
ISO 8192:2007

Un schéma du mode opératoire est donné en Annexe C.

Les modes opératoires utilisés pour les boues nitrifiantes diffèrent de ceux utilisés pour les boues non nitrifiantes. En conséquence, il est conseillé de commencer par vérifier l'activité de nitrification de la boue activée (voir Annexe C).

L'utilisation de boue nitrifiante est uniquement nécessaire pour pouvoir déterminer l'influence d'un échantillon d'essai sur la nitrification. La boue nitrifiante n'est pas exigée si seule la respiration hétérotrophe est déterminée.

Afin de vérifier l'activité de nitrification de la boue, procéder à l'essai de nitrification (8.8) et calculer le taux de nitrification, le cas échéant, conformément à 9.2.

Cet essai préliminaire sert à rechercher la plage de concentrations pour l'essai définitif qui suit.

Voir 8.9 pour avoir un aperçu de cet essai préliminaire.

### 8.2 Élimination de la mousse

Des difficultés peuvent survenir si de la mousse se forme durant l'incubation dans la mesure où cette dernière, et les matières solides de boues qu'elle porte, sont expulsées hors des récipients d'aération. La formation occasionnelle de mousse peut simplement provenir de la présence d'eau d'égout synthétique, mais il convient de l'anticiper si l'échantillon d'essai est, ou contient, un agent de surface. La perte de matières solides de boue des mélanges d'essai conduira à des taux de respiration artificiellement diminués qui pourraient être interprétés par erreur comme un résultat d'inhibition. En outre, l'aération des solutions d'agent de surface concentre l'agent de surface dans la couche de mousse; la perte de mousse du système d'essai réduira les concentrations d'exposition.

En cas de formation de mousse, ajouter un agent antimousse exempt de silicone (5.4). Si le problème est associé à la présence d'eau d'égout synthétique, modifier le concentré d'eau d'égout (5.6) en incluant un agent antimousse (5.4) à un taux de 50 µl/l. Si la formation de mousse est provoquée par l'échantillon d'essai, déterminer la quantité (généralement quelques gouttes d'une pipette Pasteur) nécessaire à l'élimination de la mousse à la concentration d'essai maximale, puis traiter tous les récipients d'aération individuels de manière identique (y compris ceux dans lesquels il n'y a pas de mousse, par exemple les témoins et les récipients de référence).

### 8.3 Préparation de l'inoculum

Lorsque cela est nécessaire, éliminer les particules grossières par sédimentation pendant une courte durée, par exemple 15 min, et récupérer par décantation la couche supérieure contenant les matières les plus fines pour utilisation. Il est aussi possible d'homogénéiser la boue en utilisant un mélangeur pendant quelques secondes. Lorsque cela est nécessaire, éliminer les particules grossières à l'aide d'un tamis adapté.

La boue peut être lavée de la manière suivante: tout d'abord, centrifuger (6.6) la boue pendant environ 10 min à approximativement 10 000 m/s<sup>2</sup> et éliminer le surnageant. Remettre la boue en suspension dans de l'eau du robinet exempte de chlore, procéder à une nouvelle centrifugation puis répéter, si nécessaire, les processus de lavage et de centrifugation. Déterminer la masse de matière sèche d'un volume connu de boue. Remettre enfin la boue en suspension dans de l'eau du robinet exempte de chlore afin d'obtenir la concentration de boue activée nécessaire, d'environ 3 g/l de matières en suspension.

Une fois la concentration de matières en suspension ajustée, aérer de manière continue la boue activée, et dans la mesure du possible, l'utiliser dans les 24 h suivant le prélèvement. Si ce n'est pas possible, la boue activée peut être nourrie pendant un jour supplémentaire au maximum avec un milieu synthétique (voir 5.6) à un taux ne dépassant pas 50 ml par litre par jour, à condition de ne provoquer aucune modification significative de son activité et que la nitrification – si initialement présente – ne soit pas perdue. Les modifications peuvent également être minimisées en réfrigérant la boue activée à 4 °C pendant 4 j au maximum sans alimentation [13]. Dans tous les cas, l'origine, la concentration, tout prétraitement et tout entretien de la boue activée doivent être indiqués dans le rapport d'essai. La connaissance de possibles modifications des boues susceptibles d'intervenir durant le stockage est insuffisante. Par conséquent, il convient que toutes les opérations de stockage de boue et/ou de traitement soient identiques pour tous les échantillons utilisés dans une étude en cours.

**AVERTISSEMENT — Les boues cultivées en laboratoire peuvent être moins actives avec un spectre plus limité de substrats que les boues provenant de stations de traitement des eaux résiduaires.**

### 8.4 Mélanges d'essai

Incuber les mélanges d'essai dans des conditions d'aération forcée. Commencer l'incubation (aération) pour chaque préparation dès le contact entre l'inoculum de boue activée et les autres constituants du mélange, et terminer après un temps d'exposition spécifié lorsque le taux de diminution de la concentration d'oxygène dissous est mesuré.

La capacité de l'appareillage utilisé pour mesurer les taux de consommation d'oxygène détermine la manière dont les incubations commencent. Par exemple, si le système comprend une seule électrode, les mesurages s'effectuent un par un. Dans ce cas, préparer les différents mélanges nécessaires à l'essai, mais mettre de côté l'inoculum, qui sera ajouté à chaque dispositif de la série de manière décalée, en commençant les incubations à intervalles programmés, par exemple 10 min à 15 min.

Si, en revanche, le système de mesurage comprend plusieurs électrodes, ce qui facilite les mesurages multiples et simultanés, l'inoculum peut alors être ajouté en même temps dans les groupes appropriés de récipients.

La concentration de boue activée dans les mélanges d'essai est nominale de 1 500 mg/l de matières en suspension. Mesurer la consommation d'oxygène après 30 min d'incubation. Si davantage d'informations sont nécessaires après un temps de contact prolongé, effectuer des mesurages supplémentaires après 180 min d'incubation. Selon l'objectif de l'essai, le temps d'incubation peut être prolongé davantage, par exemple jusqu'à 27 h. Dans le cas d'un essai de 27 h, ajouter le milieu synthétique (5.6) après 24 h d'incubation (sans le milieu synthétique), puis aérer pendant 3 h supplémentaires. Cela doit être indiqué dans le rapport d'essai.