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

Water quality — Selection of tests for biodegradability

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO/TR 15462:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a1811afb-fe6a-48de-87ae-5a84c6ef654e/iso-tr-15462-2006>



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/TR 15462:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a1811afb-fe6a-48de-87ae-5a84c6ef654e/iso-tr-15462-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a1811afb-fe6a-48de-87ae-5a84c6ef654e/iso-tr-15462-2006>

© 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 Termes et définitions	1
3 Évaluations et recommandations	4
Annexe A (informative) Comparaison des Normes internationales ISO avec les Lignes directrices de l'OCDE	22
Bibliographie	23

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO/TR 15462:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a1811afb-fe6a-48de-87ae-5a84c6ef654e/iso-tr-15462-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a1811afb-fe6a-48de-87ae-5a84c6ef654e/iso-tr-15462-2006>

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.

Exceptionnellement, 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), il peut décider, à la majorité simple de ses membres, de publier un Rapport technique. Les Rapports techniques sont de nature purement informative et ne doivent pas nécessairement être révisés avant que les données fournies ne soient plus jugées valables ou utiles.

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/TR 15462 a été élaboré 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/TR 15462:1997), qui a fait l'objet d'une révision technique.

Introduction

La biodégradation de substances et d'éléments présents dans les eaux résiduaires ne dépend pas uniquement des structures moléculaires du matériau d'essai, mais également de facteurs supplémentaires importants, tels que

- les milieux d'essai, aquatiques ou terrestres;
- 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 présence d'autres substrats organiques;
- 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 sur les surfaces);
- les propriétés physiques et chimiques du système d'essai (par exemple volume du mélange d'essai et des récipients d'essai, d'élimination du CO₂ et concentration en oxygène, température);
- les conditions d'essai (par exemple mélange, agitation, mode d'aération, statique ou dynamique, récipients d'essai ouverts ou fermés);
- la 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 «exacte» ou «de référence». La reproductibilité des résultats d'essai, que les méthodes ou les conditions d'essai utilisées soient identiques ou non, peut être faible et les résultats d'essai obtenus peuvent être différents. En général, un matériau d'essai, qu'il soit facilement ou peu biodégradable, donnera des résultats d'essai similaires en cas de reproduction ou de répétition de l'essai. Les substances partiellement ou modérément biodégradables, et qui nécessitent des consortiums de bactéries particulières ou des périodes d'adaptation prolongées, vont souvent produire des résultats très variables.

Les essais de biodégradabilité indiqués dans le présent Rapport technique sont conçus pour déterminer la biodégradabilité de substances chimiques ou d'eaux résiduaires dans des conditions normalisées. Les résultats d'essai sont nécessaires pour prévoir le comportement de biodégradation des matériaux d'essai dans des environnements aquatiques naturels ou industriels, par exemple dans des rivières, des lacs, des étangs, dans la mer, des usines de traitement des eaux résiduaires ou dans des digesteurs. Pour améliorer leur valeur prédictive, il convient que les méthodes d'essai simulent, jusqu'à un certain degré, ce type de milieux. Étant donné que les conditions sont souvent très différentes dans ces milieux, parfois diamétralement opposées, les méthodes normalisées indiquées reflètent ces différences. Il est par conséquent nécessaire de proposer un nombre suffisant de méthodes d'essai normalisées différentes, afin de pouvoir choisir la mieux adaptée, en fonction de l'objectif spécifique visé.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO/TR 15462:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a1811afb-fe6a-48de-87ae-5a84c6ef654e/iso-tr-15462-2006>

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

1 Domaine d'application

Le présent Rapport technique donne une vue d'ensemble des essais de biodégradation pour le milieu aquatique normalisés par l'ISO et fournit des recommandations pour leur utilisation. L'Annexe A inclut également les lignes directrices pour le milieu aquatique de l'OCDE, car ces méthodes sont parfois identiques à celles des Normes internationales ISO ou constituent des suppléments utiles. En outre, des essais d'inhibition employant des bactéries et des mélanges d'inoculum de bactéries sont inclus dans le présent Rapport technique, car une toxicité potentielle sur l'inoculum constitue une information importante pour le choix et la réalisation des essais de biodégradabilité. Il est notamment très utile de déterminer par avance la toxicité bactérienne, en utilisant le même inoculum que celui prévu pour l'essai de biodégradation, avant de commencer les essais de biodégradation.

2 Termes et définitions

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

2.1

boue activée

biomasse et matière inerte produites dans le traitement aérobie des eaux résiduaires par la croissance de bactéries et d'autres micro-organismes en présence d'oxygène dissous

2.2

demande biochimique en oxygène

DBO

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

NOTE Aux fins du présent Rapport technique, elle est exprimée en milligrammes de consommation d'oxygène par milligramme ou gramme de composé d'essai.

2.3

phase de biodégradation

moment à partir de la fin du temps de latence d'un essai jusqu'à ce qu'environ 90 % du taux maximal de biodégradation ait été atteint

NOTE Elle est exprimée en jours.

2.4

biogaz

dioxyde de carbone et méthane produits par des bactéries anaérobies

2.5

demande chimique en oxygène

DCO

concentration massique en oxygène équivalente à la quantité d'un oxydant spécifique consommé par un composé chimique ou une matière organique lorsqu'un échantillon d'eau est traité à l'aide de cet oxydant dans des conditions définies

NOTE Elle est exprimée en consommation d'oxygène par milligramme ou gramme de composé d'essai.

2.6
concentration de matières solides en suspension d'une boue activée
quantité de matières solides obtenues par filtration ou centrifugation dans des conditions connues d'un volume connu de boue activée puis par séchage à environ 105 °C jusqu'à masse constante

NOTE Des matières solides en suspension dans la liqueur mixte sont également souvent utilisées.

2.7
degré d'adsorption sur une boue activée
pourcentage d'un composé d'essai éliminé par tout procédé, hormis la biodégradation, dans les conditions d'un essai aqueux statique spécifique avec une boue activée, déterminé en comparant la concentration au début de l'essai à celle à la fin de l'essai

2.8
boue digérée
mélange de phases décantées d'eaux usées et de boue activée, qui ont été placées en incubation dans un digesteur anaérobie à environ 35 °C afin de réduire la biomasse et les nuisances olfactives et d'améliorer l'essorabilité de la boue, et qui se compose d'un consortium de bactéries fermentatives et méthanogènes anaérobies produisant du dioxyde de carbone et du méthane

2.9
carbone inorganique dissous
CID
partie du carbone inorganique dans l'eau qui ne peut pas être éliminée par une séparation de phases spécifique

NOTE La séparation de phases peut être obtenue, par exemple, par centrifugation de l'échantillon d'eau à 40 000 m/s² pendant 15 min ou par filtration sur membrane en utilisant des membranes avec des pores de 0,45 µm de diamètre.

2.10
carbone organique dissous (COD)
partie du carbone organique dans un échantillon d'eau qui ne peut pas être éliminée par une séparation de phases spécifique

NOTE La séparation de phases peut être obtenue, par exemple par centrifugation de l'échantillon d'eau à 40 000 m/s² pendant 15 min ou par filtration sur membrane en utilisant des membranes avec des pores de 0,45 µm de diamètre.

2.11
temps de latence
période à partir du début d'un essai jusqu'à ce que l'adaptation et/ou la sélection des micro-organismes de dégradation soient atteintes et que le degré de biodégradation d'un composé chimique ou de la matière organique ait augmenté pour atteindre environ 10 % du taux maximal de biodégradation

NOTE Il est exprimé en jours.

2.12
taux maximal de biodégradation
degré maximal de biodégradation d'un composé chimique ou de la matière organique dans un essai au-dessus duquel aucune biodégradation supplémentaire n'a lieu dans l'essai

NOTE Il est exprimé en pourcentage.

2.13
matières solides en suspension dans la liqueur mixte
MSSL
concentration des matières solides dans la liqueur mixte, exprimée en matière sèche déterminée dans des conditions définies

[ISO 6107-3:1993, 48]

2.14**phase de plateau**

période à partir de la fin de la phase de biodégradation jusqu'à la fin de l'essai

NOTE Elle est exprimée en jours.

2.15**pré-conditionnement**

pré-incubation d'un inoculum dans les conditions de l'essai en l'absence du composé chimique et/ou de matière organique, dans le but d'améliorer les performances de l'essai par acclimatation des micro-organismes aux conditions d'essai

2.16**pré-exposition**

pré-incubation d'un inoculum en présence d'un composé chimique et/ou de matière organique, dans le but d'améliorer la capacité de cet inoculum à biodégrader le matériau d'essai par l'adaptation et la sélection des micro-organismes

2.17**biodégradation anaérobie primaire**

taux de dégradation atteint lorsqu'un composé d'essai subit tout changement structurel, autre qu'une minéralisation complète, suite à l'action de microbes anaérobies

2.18**biodégradation primaire**

changement structurel (transformation) d'un composé chimique sous l'action de micro-organismes provoquant la perte d'une propriété spécifique

2.19**demande théorique en oxygène****DThO**

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

NOTE Dans ce cas, elle est exprimée en milligrammes de consommation d'oxygène par milligramme ou gramme de composé d'essai.

2.20**carbone organique total****COT**

ensemble de carbone présent dans la matière organique dissoute et en suspension dans l'eau

2.21**biodégradation aérobie ultime**

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

2.22**carbone inorganique total****CIT**

ensemble du carbone inorganique dans l'eau provenant du dioxyde de carbone et du carbonate

2.23**quantité théorique de dioxyde de carbone formé****ThCO₂**

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

NOTE Elle est exprimée en milligrammes de dioxyde de carbone par milligramme ou gramme de composé d'essai.

2.24

quantité théorique de carbone inorganique formé

ThCI

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

NOTE Elle est exprimée en milligrammes de carbone par milligramme ou gramme de composé d'essai.

2.25

biodégradation anaérobie ultime

taux de dégradation atteint lorsqu'un composé d'essai est utilisé par des micro-organismes anaérobies ayant pour résultat de la production de dioxyde de carbone, de méthane, de sels minéraux et de nouveaux constituants cellulaires microbiens (biomasse)

3 Évaluations et recommandations

3.1 Méthodes d'essai de biodégradation

Les méthodes d'essai de la biodégradabilité aérobie n'ont pas toutes le même potentiel, et ce, principalement en raison des différences entre les densités microbiennes, les concentrations des substances d'essai et la durée des essais utilisées. L'ISO 7827 (méthode par analyse du COD), l'ISO 9439 (essai de dégagement du CO₂), l'ISO 9408 (essai de la consommation en oxygène), ISO 10708 (demande biochimique en oxygène en fiole fermée à deux phases) et l'ISO 14593 (essai de mesurage du CO₂ dans l'espace de tête) ont à peu près le même potentiel. Ces méthodes sont des normes largement utilisées pour les études relatives à la biodégradation en milieu aquatique et correspondent dans leur principe aux essais de l'OCDE portant sur la biodégradabilité facile. La durée des essais est de 28 jours. Des boues activées ayant une concentration ne dépassant pas 30 mg/l de substance sèche sont souvent employées comme inoculum. Les fioles d'essai de l'ISO 10707 (essai en fiole fermée) ont une inoculation faible, ne sont pas agitées ou aérées et ont par conséquent un potentiel de dégradation moins important, mais elles sont particulièrement utiles et applicables aux composés d'essai volatils et inhibiteurs. Cet essai correspond dans son principe aux essais de DBO connus (ISO 5815-1 et ISO 5815-2), qui ne sont toutefois pas recommandés pour les substances car les conditions d'essai sont très rigoureuses et la durée de l'essai (5 jours) est très courte. De nombreuses substances seraient alors classées comme non biodégradables et s'en trouveraient discriminées. La DBO₅ est l'essai de biodégradation aquatique le plus ancien et son adaptabilité aux eaux résiduaires a été démontrée depuis de nombreuses années.

L'ISO 9887 (Méthode SCAS) et l'ISO 9888 (Méthode Zahn-Wellens) proposent des essais avec une concentration élevée d'inoculum. L'ISO 9887 utilise un substrat supplémentaire (eaux usées) et l'essai peut être étendu au-delà de la durée d'essai habituelle de 28 jours. Ces essais ont donc un fort potentiel de dégradation et peuvent être utilisés pour déterminer la biodégradabilité intrinsèque des substances chimiques appelée «biodégradabilité intrinsèque», selon la philosophie de l'OCDE. Étant donné que ces essais utilisent des systèmes ouverts basés sur la détermination du COD, ils ne peuvent pas être appliqués directement à des substances volatiles ou solubles dans l'eau. L'ISO 11733 (essai de simulation des boues activées) propose un essai dynamique en continu simulant une usine de traitement des eaux résiduaires comprenant des techniques de nitrification et de dénitrification. L'ISO 14592 (méthode par agitation de flacon/essai de simulation de rivière) propose un essai spécial pour la biodégradation des substances à de faibles concentrations réalistes d'un point de vue environnemental. Cet essai est par ailleurs adapté à la détermination de la cinétique de biodégradation dans l'environnement aquatique. L'ISO 14592-1 propose un essai statique simulant des plans d'eaux stagnantes tels que les lacs ou les étangs, l'ISO 14592-2 propose un système dynamique et simule les eaux vives telles que les rivières. L'ISO 11734 (méthode par mesurage de la production de biogaz) propose le seul essai aquatique normalisé pour la biodégradabilité anaérobie et s'applique indépendamment à des essais de biodégradabilité aérobie. Il convient que cet essai s'applique en priorité aux substances chimiques qui ne sont pas suffisamment dégradées par des procédés aérobies et qui, de préférence, s'adsorbent sur des boues activées et entrent de cette manière dans des digesteurs anaérobies d'usines de traitement des eaux résiduaires. L'ISO 16221 est une norme d'essai relative aux essais de biodégradation en milieu marin et comporte cinq essais avec des paramètres d'analyse différents basés sur des essais en eau douce reconnus, adaptés aux conditions marines.

La cinétique et le degré de dégradation pouvant varier dans différents compartiments environnementaux, les résultats obtenus à partir de différentes méthodes d'essai peuvent donc varier pour le même matériau d'essai. On s'attend clairement à obtenir des différences entre les essais de biodégradation aérobie et anaérobie ainsi qu'entre les systèmes d'essai d'eau douce et d'eau de mer. Il est également évident que le potentiel de dégradation augmente lorsque les conditions d'essai sont favorables. Les essais réalisés avec des concentrations élevées d'inoculum et qui autorisent même une pré-exposition de l'inoculum et l'extension de la durée d'essai jusqu'à ce que la phase de plateau soit atteinte, montreront plus souvent une biodégradation que les essais ayant des conditions moins favorables. Une concentration d'essai optimale est un paramètre important: celle-ci n'est ni trop élevée pour éviter le risque d'inhibition, ni trop faible pour éviter qu'il ne soit difficile ou impossible de déterminer exactement et précisément l'élimination du COD, la consommation d'oxygène ou la production de dioxyde de carbone. À l'extrême, il se peut qu'aucune biodégradation ne se produise à de très faibles concentrations (par exemple très inférieures à 1 mg/l), car la valeur limite pour permettre une dégradation est trop faible.

Les substances chimiques qui ne se dégradent pas dans les essais assez rigoureux de biodégradabilité facile peuvent toutefois se dégrader dans les essais plus puissants de biodégradabilité intrinsèque. Néanmoins, il est possible qu'elles ne réussissent pas à se dégrader dans l'essai de simulation en continu des boues activées. Les essais de biodégradabilité facile peuvent donner des résultats contradictoires qui ne peuvent pas uniquement s'expliquer par la différence de puissance de dégradation, comme dans le cas de l'essai réalisé en fiole fermée (ISO 10707) et considéré comme ayant un faible potentiel. L'expérience montre que des résultats différents peuvent même être obtenus avec des essais supposés avoir le même potentiel de dégradation (tels que ceux des Normes internationales ISO 7827, ISO 9408 et ISO 9439), dans lesquels les substances sont préparées, agitées et aérées de manière identique et qui utilisent la même concentration d'inoculum. Cela est lié aux différentes techniques d'analyse utilisées. La consommation et par là même le mesurage de l'oxygène, différent de la production et du mesurage du dioxyde de carbone qui constitue la dernière étape des processus de biodégradation aérobie. De plus, une partie du dioxyde de carbone restera dissoute dans l'eau d'essai et il existe un décalage entre sa détermination et sa production biologique. La quantité totale de dioxyde de carbone est uniquement mesurée après l'acidification qui survient à la fin de l'essai. Ce défaut de production de CO₂ est pratiquement complètement éliminé en employant la méthode d'essai de mesurage du CO₂ dans l'espace de tête (ISO 14593). Une autre amélioration est également offerte par un nouveau développement analytique qui détermine le CO₂ produit par le mesurage en continu de la conductivité au lieu du CID. Des degrés de biodégradation équivalents prendront plus de temps qu'avec l'élimination du COD ou la consommation d'oxygène et cela pourrait influencer l'accomplissement de la fenêtre de 10 jours (voir 3.5).

Des résultats différents peuvent même être obtenus dans des récipients parallèles avec la même méthode d'essai, par exemple lorsque les temps de latence varient et que l'essai est terminé avant que la phase de plateau soit atteinte. L'expérience a montré que les substances chimiques facilement dégradables donnent généralement des résultats comparables, il en est de même pour les substances peu dégradables, dont la persistance relative est détectée avec pratiquement tous les systèmes d'essai. Les substances chimiques ayant une capacité de biodégradation intermédiaire donnent des résultats plus cohérents dans les essais avec un potentiel de dégradation plus élevé ou lorsque des inoculums pré-exposés sont utilisés. Les substances peu biodégradables peuvent néanmoins être éliminées dans les usines de traitement des eaux résiduaires si elles présentent par exemple un potentiel d'adsorption élevé sur les boues activées. Ces processus d'adsorption n'ont pas toujours lieu parallèlement aux processus de biodégradation. L'ISO 18749 (essai statique) est adaptée à la détermination de cette élimination spéciale.

3.2 Paramètres d'analyse et expression des résultats d'essai

Dans la plupart des essais normalisés, des informations sont demandées sur la biodégradabilité ultime, c'est-à-dire la décomposition complète d'une substance organique en des catabolites inorganiques que sont le CO₂ et l'eau. Des paramètres globaux tels le COD, la DBO ou le dégagement de CO₂ sont utilisés afin de déterminer la dégradation aérobie complète (minéralisation). La DBO et le CO₂ indiquent toujours clairement la biodégradabilité, tandis que l'élimination du COD peut tout aussi bien être liée à la biodégradation qu'à une élimination abiotique telle qu'une adsorption sur des boues activées ou une évaporation. Dans le cas des substances ayant une faible solubilité dans l'eau, il n'est pas possible de déterminer le COD car la substance d'essai serait éliminée de la solution par filtration ou centrifugation; par conséquent, ce paramètre ne peut pas être utilisé. La production de biogaz (méthane et dioxyde de carbone) mesurée par des changements de pression est le paramètre d'analyse habituel dans les essais anaérobie.

Pour des raisons analytiques, les paramètres globaux exigent plutôt des concentrations élevées de substance d'essai. S'il convient que la concentration d'essai soit aussi proche que possible des concentrations naturelles, par exemple pour des raisons de cinétiques, il est recommandé d'utiliser une faible concentration d'essai. Dans ce cas, des techniques d'analyses spécifiques de la substance sont utilisées pour étudier les transformations biologiques d'une substance chimique, également appelées biodégradabilité primaire. Si des concentrations encore plus faibles sont exigées, des substances radiomarquées sont nécessaires. D'autres techniques d'analyse peuvent également être adaptées au suivi de la biodégradation, mais seules les méthodes mentionnées dans le présent Rapport technique sont utilisées dans des essais normalisés.

Dans le mesurage du COD, la concentration initiale est comparée à la concentration finale. Lorsque l'on utilise la DBO et le CO_2 , les mesurages durant l'essai sont accumulés puis comparés à la fin de l'essai avec les valeurs théoriques respectives DThO et Th CO_2 qui sont calculées à partir de la formule moléculaire de la substance d'essai. À partir des valeurs mesurées, les pourcentages de biodégradation sont calculés et représentés graphiquement par rapport à la période d'incubation afin de présenter une courbe de dégradation. Les courbes de biodégradation présentent fréquemment

- un temps de latence marqué, pendant lequel les micro-organismes de l'inoculum s'adaptent à la substance d'essai, suivi par
- la phase de dégradation réelle pendant laquelle la conversion de la substance d'essai a lieu: le COD est alors éliminé, l'oxygène est utilisé et le CO_2 est produit, et
- une phase de plateau pendant laquelle la biodégradation est achevée et aucune autre biodégradation significative n'est mesurée.

Le résultat d'essai est généralement le degré de dégradation en %, déterminé sous forme d'une valeur moyenne dans la phase de plateau. Si cela n'est pas possible, parce qu'il y a seulement un petit nombre de points de données disponibles ou si la phase de plateau n'a pas été clairement obtenue, on utilise alors la valeur la plus élevée dans la phase de plateau ou la valeur mesurée le dernier jour de l'essai.

3.3 Seuils de réussite de la biodégradation

Le pourcentage de biodégradation, tel qu'exprimé par l'élimination du COD pour la biodégradabilité ultime ou par l'élimination de la substance d'essai pour la biodégradabilité primaire, peut atteindre 100 %. Il est recommandé de vérifier que les processus d'élimination abiotiques, tels que l'adsorption physique, sont négligeables dans un essai, sinon il convient de les prendre en compte dans le calcul. Dans les conditions statiques limitantes des essais de biodégradation facile (voir 3.5), on suppose que des valeurs égales à 100 % ne peuvent pas être attendues dans la fenêtre de 10 jours, ou même pendant une durée d'essai totale de 28 jours. En conséquence, des valeurs d'élimination de COD > 70 % et de la substance d'essai > 80 %, déterminées à l'aide d'une méthode d'analyse spécifique de la substance, ont été adoptées comme seuils de réussite de biodégradation ultime ou primaire. L'expérience a montré que les substances qui satisfont à ces critères atteignent en général des valeurs plus élevées dans les essais de simulation de boues activées et dans le milieu réel. En fait, dans de nombreux cas, des valeurs supérieures à respectivement 70 % et 80 % sont souvent obtenues dans les essais statiques de biodégradation facile.

La production de CO_2 et la consommation d'oxygène dans les essais statiques, exprimées sous la forme de pourcentage de la valeur théorique, respectivement la Th CO_2 et la DThO, sont toujours inférieures au pourcentage déterminé par élimination du COD (voir les Références [2] et [3]). Cela est en particulier visible lorsque des mesurages simultanés sont effectués, par exemple en utilisant la méthode de combinaison du CO_2 /COD décrite à l'Annexe D de l'ISO 9439:1999. Ce phénomène s'explique par le fait que dans un métabolisme bactérien, une partie du carbone organique de la substance d'essai est biochimiquement oxydée et donc transformée en CO_2 , tandis que d'autres parties sont utilisées pour la synthèse de nouveau matériau cellulaire ou se retrouvent dans des produits métaboliques organiques. Ces parties ne sont pas oxydées et ne contribuent pas à la production de CO_2 mais prennent néanmoins part à la biodégradation ultime. La proportion de carbone organique transformé en matériau cellulaire dépend de facteurs tels que la nature de la substance d'essai et de la gamme d'espèces bactériennes présentes. Il n'existe toutefois pas de valeur unique pouvant être adoptée comme «seuil de réussite commun» dans ces cas. Les données issues d'essais interlaboratoires menés pendant la normalisation et l'établissement de ces méthodes, ainsi que l'expérience de nombreux laboratoires, a conduit à la détermination du seuil de réussite actuellement utilisé et accepté de > 60 % de la DThO ou Th CO_2 dans les essais de biodégradation facile. Une discussion et des exemples relatifs aux seuils de réussite recommandés par l'OCDE sont données à la Référence [3].