
Qualité du sol — Effets des polluants vis-à-vis des vers de terre —

Partie 2:

Détermination des effets sur la reproduction de *Eisenia fetida*/*Eisenia andrei*

iTeh STANDARD PREVIEW

(standards.iteh.ai)

Soil quality — Effects of pollutants on earthworms —

*Part 2: Determination of effects on reproduction of Eisenia fetida/
Eisenia andrei*

ISO 11268-2:2012

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2134989e-39f8-47a8-89d9-1fda4cc74098/iso-11268-2-2012>



iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

ISO 11268-2:2012

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2134989e-39f8-47a8-89d9-1fda4cc74098/iso-11268-2-2012>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2012

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	1
3 Termes et définitions	2
4 Principe	3
5 Réactifs et matériaux	4
6 Appareillage	6
7 Mode opératoire	6
7.1 Plan d'expérimentation	6
7.2 Préparation des mélanges d'essai	7
7.3 Introduction des vers de terre	9
7.4 Conditions d'essai et mesurages	9
7.5 Substance de référence	9
8 Calcul et expression des résultats	9
8.1 Calcul	9
8.2 Expression des résultats	9
9 Validité de l'essai	10
10 Analyse statistique	10
10.1 Généralités	10
10.2 Essais à une seule concentration	10
10.3 Essais à plusieurs concentrations	11
11 Rapport d'essai	12
Annexe A (informative) Détermination de la toxicité chronique des substances chimiques pour les vers de terre dans des conditions tropicales	13
Annexe B (informative) Élevage d'<i>Eisenia fetida</i> et d'<i>Eisenia andrei</i>	15
Annexe C (informative) Détermination de la capacité de rétention d'eau d'un sol artificiel	16
Annexe D (informative) Techniques de comptage des vers juvéniles éclos des cocons	17
Annexe E (informative) Performance de la méthode	18
Bibliographie	20

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 11268-2 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 190, *Qualité du sol*, sous-comité SC 4, *Méthodes biologiques*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 11268-2:1998), qui a fait l'objet d'une révision technique.

L'ISO 11268 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Qualité du sol — Effets des polluants vis-à-vis des vers de terre*:

- *Partie 1: Détermination de la toxicité aiguë vis-à-vis de Eisenia fetida/Eisenia andrei*
- *Partie 2: Détermination des effets sur la reproduction de Eisenia fetida/Eisenia andrei*
- *Partie 3: Lignes directrices relatives à la détermination des effets sur site*

Introduction

Des systèmes d'essais écotoxicologiques sont mis en œuvre pour obtenir des informations sur les effets des contaminants présents dans le sol et sont proposés en complément d'une analyse chimique conventionnelle (voir l'ISO 15799^[34] et l'ISO 17616^[35]). L'ISO 15799 comprend une liste et une brève caractérisation des systèmes d'essai recommandés et normalisés et l'ISO 17616 donne des lignes directrices pour le choix et l'évaluation des essais biologiques. Les systèmes d'essais aquatiques sur éluat de sol sont mis en œuvre pour obtenir des informations sur la fraction des contaminants susceptibles d'atteindre les eaux souterraines par le mouvement de l'eau (fonction de rétention des sols), alors que les systèmes d'essais terrestres sont utilisés pour évaluer la fonction d'habitat des sols. En tant que systèmes d'essais normalisés utilisant des vers de terre comme organismes indicateurs pour la fonction d'habitat du sol, un essai de toxicité aiguë pour la survie et un essai de toxicité chronique pour la reproduction sont disponibles.

La présente partie de l'ISO 11268 décrit une méthode basée sur la détermination des effets sublétaux des sols contaminés pour des vers de terre adultes des espèces *Eisenia fetida* (Savigny 1826) et *Eisenia andrei* (André 1963). La méthode peut éventuellement être utilisée pour évaluer le potentiel toxique aigu pour les vers de terre de produits chimiques ajoutés à un sol standard (par exemple un sol artificiel). En dernier lieu, des informations sont fournies sur la manière d'utiliser cette méthode pour évaluer des produits chimiques dans des conditions tropicales (voir l'Annexe A).

Eisenia fetida et *Eisenia andrei* sont considérés comme étant représentatifs de la faune du sol et des vers de terre en particulier. Des informations de base sur l'écologie des vers de terre et leur utilisation en écotoxicologie sont disponibles. D'autres espèces, par exemple *Aporrectodea caliginosa*, *Lumbricus rubellus* et *Lumbricus terrestris*, ont également été utilisés comme organismes d'essai. En général, ces espèces ou d'autres ne se sont pas avérées être plus sensibles, et les bases de données et l'expérience dans l'évaluation des sols sont également réduites^{[16][17]}.

La présente partie de l'ISO 11268 a été élaborée en tenant compte des modes opératoires d'essai adoptés par l'Organisation de coopération et de développement économiques^{[27][28]} et par l'Union européenne^[11].

(standards.iteh.ai)
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2134989e-39f8-47a8-89d9-1fda4cc74098/iso-11268-2-2012>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 11268-2:2012

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2134989e-39f8-47a8-89d9-1fda4cc74098/iso-11268-2-2012>

Qualité du sol — Effets des polluants vis-à-vis des vers de terre —

Partie 2:

Détermination des effets sur la reproduction de *Eisenia fetida*/ *Eisenia andrei*

AVERTISSEMENT — Les sols contaminés peuvent contenir des mélanges inconnus de produits chimiques toxiques, mutagènes ou nocifs d'une autre manière ou des micro-organismes infectieux. Des risques pour la santé au travail peuvent survenir en raison de la poussière ou de l'évaporation de produits chimiques pendant la manipulation et l'incubation. Il convient de prendre des mesures pour éviter tout contact avec la peau.

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 11268 spécifie l'une des méthodes permettant d'évaluer la fonction d'habitat des sols et de déterminer les effets de contaminants du sol et de produits chimiques sur la reproduction d'*Eisenia fetida*/*Eisenia andrei* par absorption cutanée et ingestion. Cet essai chronique s'applique aux sols et aux matériaux de type sol de qualité inconnue, provenant par exemple de sites contaminés, de sols amendés, de sols après remédiation, de sols agricoles ou autres sites d'intérêt et de déchets.

Les effets des substances sont évalués à l'aide d'un sol standard, de préférence un substrat de sol artificiel défini. Pour les sols contaminés, les effets sont déterminés dans le sol soumis à essai et dans un sol témoin. Selon l'objectif de l'étude, le substrat témoin et de dilution (gamme de dilutions d'un sol contaminé) peut être soit un sol non contaminé comparable à l'échantillon de sol à évaluer (sol de référence), soit un sol standard (par exemple un sol artificiel).

Des informations sont fournies sur la manière d'utiliser cette méthode pour évaluer des produits chimiques dans des conditions tempérées ainsi que dans des conditions tropicales.

La méthode ne s'applique pas aux substances volatiles, c'est-à-dire aux substances pour lesquelles H (constante de Henry) ou le coefficient de partage air/eau est supérieur à 1, ou pour lesquelles la pression de vapeur à 25 °C excède 0,013 3 Pa.

Cette méthode ne tient pas compte de la stabilité de la substance pendant l'essai.

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 10381-6, *Qualité du sol — Échantillonnage — Partie 6: Lignes directrices pour la collecte, la manipulation et la conservation, dans des conditions aérobies, de sols destinés à l'évaluation en laboratoire des processus, de la biomasse et de la diversité microbiens*

ISO 10390, *Qualité du sol — Détermination du pH*

ISO 10694, *Qualité du sol — Dosage du carbone organique et du carbone total après combustion sèche (analyse élémentaire)*

ISO 11260, *Qualité du sol — Détermination de la capacité d'échange cationique effective et du taux de saturation en bases échangeables à l'aide d'une solution de chlorure de baryum*

ISO 11268-1, *Qualité du sol — Effets des polluants vis-à-vis des vers de terre — Partie 1: Détermination de la toxicité aiguë vis-à-vis de Eisenia fetida/Eisenia andrei*

ISO 11277, *Qualité du sol — Détermination de la répartition granulométrique de la matière minérale des sols — Méthode par tamisage et sédimentation*

ISO 11465, *Qualité du sol — Détermination de la teneur pondérale en matière sèche et en eau — Méthode gravimétrique*

3 Termes et définitions

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

3.1

contaminant

substance ou agent présent(e) dans le sol et résultant de l'activité humaine

[ISO 15176:2002]

3.2

croissance

augmentation de la biomasse (c'est-à-dire la masse fraîche des organismes)

NOTE Elle est exprimée en pourcentage de la masse fraîche des organismes au début de l'essai.

3.3

reproduction

nombre moyen de jeunes produits par récipient d'essai après huit semaines d'incubation dans des conditions d'essai spécifiées

iTeh STANDARD PREVIEW

(standards.iteh.ai)

3.4

RE_x (taux efficace) ou CE_x (concentration efficace)

taux ou concentration de l'échantillon pour essai ou de la substance d'essai auquel ou à laquelle la reproduction est réduite de x % par rapport au témoin

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2134989e-39f8-47a8-89d9-1fda4cc74098/iso-11268-2-2012>

3.5

essai limite

essai à une seule concentration comprenant au moins quatre réplicats pour chacun, l'échantillon pour essai sans dilution ou la plus forte concentration de substances d'essai mélangées dans le sol témoin et le témoin

3.6

plus faible taux (RMEO) ou concentration ayant un effet observé (CMEO)

pourcentage le plus faible d'un échantillon pour essai dans un sol témoin, ou concentration la plus faible d'une substance, pour lequel (laquelle) un effet statistiquement significatif est observé

NOTE La CMEO est exprimée en pourcentage de masse sèche de sol d'essai par masse sèche de mélange d'essai. Tous les mélanges d'essai supérieurs à la CMEO ont un effet dommageable supérieur ou égal à celui observé à la CMEO. Si cette condition ne peut pas être satisfaite, il convient d'expliquer comment la CMEO et la CSEO (3.7) ont été choisies.

3.7

RSEO (taux sans effet observé) ou CSEO (concentration sans effet observé)

pourcentage de sol d'essai immédiatement inférieur à la RMEO/CMEO ou concentration d'essai la plus élevée d'une substance soumise à essai qui, comparée au témoin, n'a aucun effet léthal ou autre effet statistiquement significatif, tel qu'une réduction de la reproduction ou une modification de la masse (probabilité d'erreur $p < 0,05$)

NOTE La CSEO est exprimée en pourcentage de masse sèche du sol d'essai par masse sèche du mélange d'essai.

3.8

sol de référence

sol non contaminé spécifique au site (par exemple prélevé au voisinage d'un site contaminé) ayant des propriétés similaires (concentrations d'éléments nutritifs, pH, teneur en carbone organique et texture) à celles du sol soumis à essai

3.9**sol standard**

sol prélevé sur le terrain ou sol artificiel dont les principales propriétés (par exemple pH, texture, teneur en matières organiques) se situent dans une gamme connue

EXEMPLE Euro-Soils^[11], sol artificiel^[27], sol standard LUFA^[23].

NOTE Les propriétés des sols standards peuvent différer de celles du sol d'essai.

3.10**sol témoin**

sol de référence ou sol standard utilisé comme témoin et comme milieu pour préparer une gamme de dilutions avec les échantillons pour essai ou une substance de référence qui satisfait les critères de validité

NOTE Pour un sol naturel, il est recommandé de démontrer sa capacité à être utilisé pour un essai et à atteindre les critères de validité de l'essai avant de l'utiliser dans un essai définitif.

3.11**mélange d'essai**

mélange d'un sol contaminé ou de la substance soumise à essai avec un **sol témoin** (3.10)

NOTE Les mélanges d'essai sont donnés en pourcentage de sol contaminé sur la base de la masse sèche du sol.

3.12**ratio de mélange d'essai**

rapport entre le sol soumis à essai et le sol témoin dans un mélange d'essai

NOTE Différents ratios peuvent être appliqués dans une gamme de dilutions afin de déterminer une relation dose-réponse.

(standards.iteh.ai)

4 Principe

ISO 11268-2:2012

Les effets sur la reproduction de vers de terre adultes (espèce *Eisenia fetida* ou *Eisenia andrei*) exposés au sol soumis à essai sont comparés à ceux observés pour des échantillons exposés à un sol témoin. Le cas échéant, les effets sont déterminés sur la base de l'exposition à une gamme de dilutions du sol contaminé ou à une gamme de concentrations de la substance soumise à essai. De plus, les observations relatives à la croissance et à la survie des vers de terre adultes sont consignées. Les mélanges d'essai sont préparés au début de l'essai et ne sont pas renouvelés au cours de la période d'essai.

Au bout de quatre semaines, les vers adultes sont retirés des récipients d'essai et les effets sur la mortalité et la biomasse sont mesurés par comptage et pesée. L'effet sur la reproduction, qui constitue le critère d'effet final, est mesuré en comptant le nombre de jeunes éclos des cocons après une période supplémentaire de quatre semaines. Les résultats obtenus lors des essais sont comparés à ceux obtenus avec un sol témoin ou, le cas échéant, sont utilisés pour déterminer respectivement les dilutions ou les concentrations qui ne provoquent pas d'effet sur la biomasse, la mortalité et la reproduction (RMEO/CMEO) ainsi que la dilution (concentration) entraînant une réduction de x % du nombre de juvéniles éclos des cocons par rapport au témoin (RE_x/CE_x , 56 jours).

Lorsqu'une gamme de dilutions ou de concentrations est soumise à essai, toutes les dilutions/concentrations d'essai supérieures à la RMEO/CMEO) doivent avoir un effet dommageable supérieur ou égal à celui observé à la RMEO/CMEO. Lorsqu'on ne connaît pas la dilution/concentration à laquelle le sol soumis à essai/la substance d'essai est susceptible de produire un effet, il est utile de conduire l'essai en deux étapes.

- Un essai préliminaire est réalisé conformément à l'ISO 11268-1 pour obtenir une indication de la dilution/concentration produisant un effet et de la dilution/concentration ne provoquant pas de mortalité (RSEO/CSEO). Les dilutions/concentrations à utiliser au cours de l'essai définitif peuvent ensuite être choisies.
- Un essai définitif pour déterminer les effets sublétaux du (des dilutions de) sol contaminé ou la concentration de la substance chimique qui, lorsqu'il (elle) est uniformément réparti(e) dans le sol standard, n'a pas d'effet significatif sur le nombre de jeunes éclos des cocons comparé au témoin (RSEO/CSEO) et la plus faible concentration produisant un effet (RMEO/CMEO).

NOTE L'utilisation d'un sol de référence est une exigence essentielle pour démontrer l'état actuel de la population soumise à essai et éviter toute mauvaise interprétation des résultats.

5 Réactifs et matériaux

5.1 Réactif biologique, constitué de vers de terre adultes de l'espèce *Eisenia fetida* ou *Eisenia andreii*^{[15][19]}^[20], âgés de deux mois à un an, possédant un clitellum et dont la masse humide est comprise entre 300 mg et 600 mg (*E. fetida*) ou entre 250 mg et 600 mg (*E. andreii*).

Sélectionner les vers à utiliser pour l'essai de manière à obtenir, dans la mesure du possible, une population homogène du point de vue de l'âge, de la taille et de la masse. Il convient de préférence de sélectionner les vers dans un élevage synchrone ayant une structure d'âge relativement homogène. Laver les vers à l'eau potable avant l'essai.

NOTE Un exemple de technique d'élevage d'*Eisenia fetida*/*Eisenia andreii* est donné dans l'Annexe B.

Avant l'utilisation, conditionner les vers sélectionnés pendant 1 jour à 7 jours dans un sol standard ou un sol témoin. La nourriture, qui est également utilisée comme source d'alimentation dans le cadre de l'essai (voir 5.3), doit être dispensée en quantité suffisante (voir 7.4).

5.2 Échantillon soumis à essai, qui peut être constitué d'un sol prélevé sur le terrain ou d'un sol témoin amendé par le mélange d'essai.

5.2.1 Sols prélevés sur le terrain, sol ou déchets

Le ou les échantillons peuvent être un sol prélevé sur un site industriel, agricole ou autre site d'intérêt, ou des déchets (par exemple matériau de dragage, boues provenant d'une station d'épuration des eaux urbaines, matériau composite ou fumier) pour lesquels une éventuelle mise en dépôt terrestre est envisagée.

Les échantillons pour essai doivent être tamisés à 4 mm et soigneusement mélangés. Si nécessaire, le sol peut être séché à l'air sans chauffage avant le tamisage. Il convient que la conservation des échantillons pour essai soit aussi courte que possible. Conserver le sol conformément à l'ISO 10381-6 en utilisant des récipients qui réduisent au minimum les pertes de contaminants du sol par volatilisation et sorption sur les parois des récipients. Il convient de ne pas corriger le pH du sol car il peut avoir une incidence sur la biodisponibilité des contaminants du sol.

Pour l'interprétation des résultats d'essai, les caractéristiques suivantes doivent être déterminées pour chaque échantillon de sol prélevé sur le terrain:

- pH conformément à l'ISO 10390;
- texture (sable, limon, vase) conformément à l'ISO 11277;
- teneur en eau conformément à l'ISO 11465;
- capacité de rétention d'eau conformément à l'Annexe C;
- capacité d'échange cationique conformément à l'ISO 11260;
- carbone organique conformément à l'ISO 10694.

NOTE Il est important de mesurer la capacité de rétention d'eau de tous les mélanges utilisés dans l'essai.

5.2.2 Sol témoin, soit a) sol de référence (3.8) soit b) sol standard (3.9) permettant la présence de vers de terre.

- a) Si des sols de référence provenant de zones non contaminées voisines d'un site contaminé sont disponibles, il convient de les traiter et de les caractériser de la même manière que les échantillons soumis à essai. S'il est impossible d'exclure une contamination toxique ou des propriétés inhabituelles du sol, il convient de préférer des sols témoins standards.

- b) Pour évaluer les effets de substances mélangées au sol ou pour préparer les dilutions de l'échantillon soumis à essai, des sols standards doivent être utilisés pour préparer l'échantillon pour essai. Les propriétés du sol standard prélevé sur le terrain doivent être consignées dans le rapport.

Le substrat appelé «sol artificiel» peut être utilisé comme un sol standard et a la composition suivante:

	Pourcentage exprimé en masse sèche
— Tourbe de sphaignes, finement moulue, exempte de tout résidu végétal visible	10 %
— Argile kaolinique contenant au moins 30 % de kaolinite	20 %
— Sable de quartz industriel (contenant en majorité du sable fin, constitué à plus de 50 % de grains de granulométrie comprise entre 0,05 mm et 0,2 mm)	69 %

Environ 0,3 % à 1,0 % de carbonate de calcium (CaCO_3 , pulvérisé, de qualité analytique) sont nécessaires pour obtenir un pH de $6,0 \pm 0,5$.

NOTE 1 Afin de prendre en compte les propriétés des substances fortement non polaires [$\log K_{ow} > 2$, où K_{ow} est le coefficient de partage (octanol/eau)] ou ionisantes, 5 % de tourbe se sont avérés suffisants pour maintenir la structure souhaitée du sol artificiel.

NOTE 2 Il a été démontré qu'*Eisenia fetida* peut respecter les critères de validité, même en ce qui concerne la reproduction, lorsqu'il est soumis à essai dans des sols ayant une plus faible teneur en carbone organique (par exemple 2,7 %)^[18], et des expériences prouvent que cette teneur peut être obtenue dans un sol artificiel avec 5 % de tourbe. Par conséquent, avant d'utiliser un tel sol dans un essai définitif, il n'est pas nécessaire de démontrer que le sol artificiel permet de respecter les critères de validité, sauf si la teneur en tourbe est inférieure à la valeur spécifiée ci-dessus^[28].

Préparer le sol artificiel au moins trois jours avant le début de l'essai, en mélangeant soigneusement les constituants secs indiqués ci-dessus dans un mélangeur de laboratoire de grandes dimensions. Une partie de l'eau déionisée nécessaire est ajoutée pendant le mélange. Il convient de tenir compte de l'eau qui est utilisée pour introduire le mélange d'essai dans le sol. La quantité de carbonate de calcium nécessaire peut varier selon les propriétés du lot particulier de tourbe de sphaignes et il convient qu'elle soit déterminée par des mesurages effectués sur des sous-échantillons immédiatement avant l'essai. Conserver le sol artificiel mélangé à température ambiante pendant au moins deux jours pour équilibrer l'acidité. Pour déterminer le pH et la capacité maximale de rétention d'eau, le sol artificiel sec est pré-humidifié un jour ou deux jours avant le début de l'essai en ajoutant de l'eau déionisée de manière à atteindre approximativement la moitié de la teneur finale en eau requise correspondant de 40 % à 60 % de la capacité maximale de rétention d'eau.

La capacité totale de rétention d'eau est déterminée conformément à l'Annexe C; le pH est déterminé conformément à l'ISO 10390.

5.3 Alimentation. Est considéré comme acceptable tout aliment dont la qualité s'est avérée appropriée pour le maintien, au minimum, de la masse des vers pendant l'essai. L'expérience a montré que la farine d'avoine, la poudre de pomme de terre écrasée^[20], la bouse de vache ou le crottin de cheval constitue un aliment adéquat. Il convient de procéder à des contrôles afin de s'assurer que les vaches ou les chevaux produisant ce fumier ne sont pas traités par des médicaments ou d'autres substances, tels que des activateurs de croissance, des nématicides ou des produits vétérinaires comparables pouvant avoir un effet nocif sur les vers pendant l'essai. Le fumier recueilli en milieu naturel est recommandé, car l'expérience a montré que la bouse de vache disponible dans le commerce, utilisée comme engrais dans les jardins, peut avoir des effets nocifs sur les vers. Il convient que le fumier soit séché à l'air, finement broyé et pasteurisé avant l'emploi.

Avant utilisation, il convient de contrôler la qualité de chaque lot de nourriture fraîche en le donnant à un élevage de vers non soumis à essai. Il convient que la croissance et la production de cocons ne diminuent pas par rapport à celles de vers élevés dans un substrat ne contenant pas le nouveau lot de nourriture (conditions telles que décrites dans l'OCDE 207^[27]).

5.4 Acide borique, utilisé comme substance de référence.