
**Qualité de l'eau — Détermination de
l'effet toxique des sédiments sur la
croissance de *Myriophyllum aquaticum***

*Water quality — Determination of the toxic effect of sediment on the
growth behaviour of Myriophyllum aquaticum*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 16191:2013](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/93d57407-c449-4f20-bdf7-0dc78073515d/iso-16191-2013)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/93d57407-c449-4f20-bdf7-0dc78073515d/iso-16191-2013>



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 16191:2013

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/93d57407-c449-4f20-bdf7-0dc78073515d/iso-16191-2013>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2013

Droits de reproduction réservés. Sauf indication contraire, 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, l'affichage sur l'internet ou sur un Intranet, sans autorisation écrite préalable. Les demandes d'autorisation peuvent être adressées à l'ISO à l'adresse ci-après ou au 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	1
4 Principe	3
5 Interférences	3
6 Réactifs	3
7 Appareillage	5
8 Essai avec la substance de référence	6
9 Organisme d'essai	6
10 Mode opératoire	6
10.1 Préculture de <i>Myriophyllum aquaticum</i> pour l'essai contact.....	6
10.2 Préparation de l'échantillon témoin.....	6
10.3 Prélèvement, conservation et préparation des échantillons pour essai.....	7
10.4 Mode opératoire d'essai.....	7
10.5 Conditions d'exposition.....	7
10.6 Mesurages.....	8
11 Évaluation	9
11.1 Taux de croissance r	9
11.2 Moyennes par récipient d'essai et récipient témoin ($r_{V,T}$, $r_{V,C}$).....	9
11.3 Moyennes par échantillon pour essai et récipient témoin ($r_{S,T}$, $r_{S,C}$).....	9
11.4 Inhibition I	9
11.5 Estimation des valeurs de $CE(r)x$	9
11.6 Expression des résultats.....	11
12 Critères de validité	11
13 Rapport d'essai	11
Annexe A (informative) Figures	13
Annexe B (normative) Préparation d'une solution nutritive(milieu de Steinberg, selon l'ISO 20079)	15
Annexe C (informative) Fournisseurs	17
Annexe D (normative) Préparation de sédiments artificiels dopés	19
Annexe E (informative) Données de performances	21
Bibliographie	23

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 procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/CEI, Partie 1. Il convient, en particulier de prendre note des différents critères d'approbation requis pour les différents types de documents ISO. Le présent document a été rédigé conformément aux règles de rédaction données dans les Directives ISO/CEI, Partie 2 (voir www.iso.org/directives).

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. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou sur la liste ISO des déclarations de brevets reçues (voir www.iso.org/brevets).

Les éventuelles appellations commerciales utilisées dans le présent document sont données pour information à l'intention des utilisateurs et ne constituent pas une approbation ou une recommandation.

Le comité chargé de l'élaboration du présent document est l'ISO/TC 147, *Qualité de l'eau*, sous-comité SC 5, *Méthodes biologiques*.

[ISO 16191:2013](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/93d57407-c449-4f20-bdf7-0dc78073515d/iso-16191-2013)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/93d57407-c449-4f20-bdf7-0dc78073515d/iso-16191-2013>

Introduction

L'essai contact avec *Myriophyllum aquaticum*, décrit dans la présente Norme internationale, permet de mesurer les réponses de la plante à des substances dissoutes et liées à des particules présentes dans des échantillons de sédiments pendant une durée de 10 jours (Références [3],[4],[5],[6],[7],[8]).

La plante d'essai, *Myriophyllum aquaticum* (Velloso) Verdcourt (plume de perroquet) est un macrophyte de la classe des dicotylédones. Elle est originaire du fleuve Amazone en Amérique du Sud, mais s'est acclimatée dans le monde entier, en particulier dans les climats chauds. Elle a été introduite dans le monde entier afin d'être utilisée dans les aquariums intérieurs et extérieurs. En ce qui concerne son utilisation en tant qu'organisme d'essai, sa capacité de croissance émergée (aucun liquide supplémentaire comme surnageant n'est requis), son fort potentiel de régénération et sa croissance végétative sont exploités dans l'essai de contact. Par ailleurs, *Myriophyllum aquaticum* croît sans générer de pousses latérales pendant la période d'essai, ce qui facilite la manipulation en laboratoire. Il convient néanmoins de s'assurer qu'aucun matériel végétal vivant n'est perdu par le laboratoire.

Myriophyllum aquaticum peut être affectée par des substances phytotoxiques présentes dans les sédiments et les matériaux de dragage. L'inhibition de la croissance qui en découle est calculée à partir du paramètre (masse fraîche) par un certain nombre de méthodes de calcul définies.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

ISO 16191:2013

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/93d57407-c449-4f20-bdf7-0dc78073515d/iso-16191-2013>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 16191:2013

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/93d57407-c449-4f20-bdf7-0dc78073515d/iso-16191-2013>

Qualité de l'eau — Détermination de l'effet toxique des sédiments sur la croissance de *Myriophyllum aquaticum*

AVERTISSEMENT — Il convient que l'utilisateur de la présente Norme internationale connaisse bien 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 incombe à l'utilisateur 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. Il est nécessaire de s'assurer qu'aucun matériel végétal ne peut sortir du laboratoire.

IMPORTANT — Il est absolument essentiel que les essais réalisés conformément à la présente Norme internationale soient effectués par du personnel ayant suivi une formation appropriée.

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode permettant de déterminer la toxicité d'échantillons environnementaux sur la croissance de *Myriophyllum aquaticum*. La méthode décrite s'applique aux sédiments d'eau douce naturels et aux sédiments artificiels.

2 Références normatives

Les documents suivants, en tout ou partie, sont référencés de manière normative dans le présent document et sont indispensables pour son application. 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 5667-15, *Qualité de l'eau — Échantillonnage — Partie 15: Lignes directrices pour la conservation et le traitement des échantillons de boues et de sédiments*

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

ISO 10523, *Qualité de l'eau — Détermination du pH*

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

ISO 20079, *Qualité de l'eau — Détermination de l'effet toxique des constituants de l'eau et des eaux résiduaires vis-à-vis des lentilles d'eau (*Lemna minor*) — Essai d'inhibition de la croissance des lentilles d'eau*

OCDE 218, *Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques — Essai de toxicité sur les chironomes dans un système eau-sédiment chargé*

3 Termes et définitions

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

3.1

sédiment artificiel

sédiment artificiel défini

[SOURCE: ISO 10872:2010, définition 3.3, modifiée]

Note 1 à l'article: Voir [6.9](#).

3.2

chlorose

dépigmentation (jaunissement du tissu végétal)

[SOURCE: ISO 20079:2005, définition 3.3, modifiée]

3.3

échantillon témoin

sédiment artificiel prétraité selon les besoins de cet essai et servant de témoin négatif auquel est comparé l'effet sur le matériau d'essai correspondant

[SOURCE: ISO 10872:2010, définition 3.6, modifiée]

3.4

concentration efficace

$CE(r)_x$

concentration d'une substance dans un échantillon pour essai (CE_x) à laquelle un effet de x % est mesuré par rapport au témoin

[SOURCE: ISO 20079:2005, définition 3.9, modifiée]

Note 1 à l'article: Afin d'indiquer sans ambiguïté une valeur de CE dérivée du taux de croissance, il est proposé d'utiliser le symbole « $CE(r)_x$ ».

3.5

croissance émergée

aspect morphologique des macrophytes aquatiques, poussant au-dessus de la surface de l'eau

3.6

verticille supérieur

partie apicale de *Myriophyllum*

Note 1 à l'article: Voir [Figure A.1](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/93d57407-c449-4f20-bdf7-0dc78073515d/iso-16191-2013).

ITEH STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 16191:2013

3.7

nécrose

mort localisée d'un tissu végétal (c'est-à-dire apparition d'une coloration marron ou blanche)

[SOURCE: ISO 20079:2005, définition 3.16, modifiée]

3.8

solution nutritive

solution aqueuse contenant les nutriments et les micronutriments essentiels pour la croissance de *Myriophyllum* [SOURCE: ISO 20079:2005, définition 3.17, modifiée]

3.9

préculture

culture de *Myriophyllum aquaticum* utilisée pour l'acclimatation des plantes aux conditions d'essai et pour la croissance des plantes dont les verticilles seront utilisées au début de l'essai

[SOURCE: ISO 20079:2005, définition 3.19, modifiée]

Note 1 à l'article: Voir [Figure A.2](#).

3.10

réplicat

un parmi un nombre sélectionné de récipients d'essai (contenant un prélèvement de matériau provenant d'un seul échantillon et les organismes d'essai)

Note 1 à l'article: Chaque récipient est soumis à essai.

Note 2 à l'article: Les répliquats mentionnés dans la présente Norme internationale contiennent un échantillon de matériau (par exemple sédiment naturel) et trois verticilles de *Myriophyllum aquaticum*.

3.11**échantillon pour essai**

portion discrète d'un échantillon (par exemple, sédiment ou sédiment artificiel)

[SOURCE: ISO 10872:2010, définition 3.14, modifiée]

3.12**verticille**

feuilles disposées de façon circulaire autour d'un point central et entourant la tige

Note 1 à l'article: Voir [Figure A.1](#).

4 Principe

Les verticilles de *Myriophyllum aquaticum* sont exposés aux échantillons pour essai pendant une période de 10 jours. La croissance de *Myriophyllum aquaticum* dans un échantillon pour essai est comparée à sa croissance dans l'échantillon témoin. Les effets phytotoxiques sont quantifiés en tant qu'inhibition de la croissance (%) par rapport à la croissance dans l'échantillon témoin.

5 Interférences

Si la croissance de l'échantillon en condition témoin de *Myriophyllum* en utilisant un sédiment artificiel pose problème, il convient de vérifier les composants respectifs, en premier lieu pour exclure une contamination par exemple par des métaux lourds (kaolin), ou l'adéquation de la tourbe (si la tourbe recommandée n'est pas utilisée).

(standards.iteh.ai)

6 Réactifs

Utiliser dans la mesure du possible des réactifs de qualité analytique reconnue.

6.1 Eau, distillée ou déionisée ou eau de pureté équivalente, conductivité < 10 µS/cm.

6.2 Kaolin, kaolin en poudre (n° CAS 1332-58-7).

6.3 Carbonate de calcium, CaCO₃ en poudre (n° CAS 471-34-1).

6.4 Sable de quartz, granulométrie moyenne 170 µm (voir [Annexe C](#)).

6.5 Substance de référence, 3,5-dichlorophénol [C₆H₄OCl₂ (pureté ≥ 99 %), n° CAS 591-35-5].

6.6 Solution nutritive, utiliser le milieu Steinberg modifié tel que spécifié dans l'[Annexe B](#).

6.7 Tourbe, tourbe de sphaignes (par exemple tourbe de Lituanie), H2-H5, fine (granularité ≤ 5 mm) (voir [Annexe C](#)).

6.8 Tourbe en poudre, tourbe séchée ([6.7](#)) pendant 7 jours à température ambiante.

Étaler la tourbe sur des plateaux peu profonds et retourner la tourbe tous les 2 à 3 jours. Broyer ensuite la tourbe et la passer au tamis de 0,5 mm. Déterminer la masse sèche de la poudre de tourbe en faisant sécher un petit sous-échantillon à 60 °C pendant 3 h en quatre aliquotes et déterminer la masse sèche en repesant autant de fois que nécessaire jusqu'à obtention d'une masse constante (voir l'ISO 11465). Conserver la poudre de tourbe dans des récipients hermétiques jusqu'au moment de l'utilisation. Noter la masse sèche sur le récipient.

6.9 Sédiment artificiel, voir le [Tableau 1](#).

Tableau 1 — Constituants secs pour la composition du sédiment artificiel

Constituants	% de la masse sèche de sédiment	Caractéristiques
Tourbe en poudre	5	voir 6.8
Sable de quartz	74	granularité moyenne 170 µm
Kaolin	20	poudre
CaCO ₃ en poudre	1	qualité analytique

6.9.1 Sédiment artificiel utilisé comme échantillon témoin.

La préparation du sédiment artificiel utilisé comme sédiment témoin est décrite ci-dessous ([6.9.1.1](#) à [6.9.1.3](#)). Les constituants secs pour la préparation du sédiment artificiel peuvent être conservés séparément dans des récipients fermés hermétiquement dans un endroit sec et à l'abri de la lumière à température ambiante pendant au moins 6 mois.

NOTE Le respect des exigences suivantes ([6.9.1.1](#) à [6.9.1.3](#)) permet d'établir des conditions ambiantes stables dans le sédiment et d'éviter la séparation des composants du sédiment pendant l'essai.

6.9.1.1 Préparation d'une suspension de tourbe.

Prélever la quantité requise de tourbe en poudre ([6.8](#), [Tableau 1](#)) et de CaCO₃ en poudre (voir [Tableau 1](#)) et ajouter la solution nutritive ([6.6](#)) jusqu'à ce que la suspension puisse être mélangée aisément (au maximum 50 % de la masse sèche totale de sédiment). Mélanger soigneusement. Laisser la suspension de tourbe pendant 3 à 4 jours sous agitation modérée continue à température ambiante, pour stabiliser le pH. Ensuite, mesurer le pH de la suspension et l'ajuster si nécessaire à $6,7 \pm 0,5$ en ajoutant du CaCO₃ en poudre.

NOTE L'expérience ayant montré que le pH se situe à $6,7 \pm 0,5$, il n'est en général pas nécessaire d'ajouter du CaCO₃.

6.9.1.2 Ajout et mélange des composants du sédiment.

Mélanger la suspension de tourbe avec les autres constituants (sable de quartz et kaolin, voir [Tableau 1](#)) afin d'obtenir un sédiment homogène. Mesurer à nouveau le pH du mélange final et l'ajuster à $7,0 \pm 0,5$ en ajoutant du de CaCO₃ en poudre si nécessaire.

NOTE L'expérience ayant montré que le pH se situe à $7,0 \pm 0,5$, il n'est en général pas nécessaire d'ajouter du CaCO₃.

6.9.1.3 Conditionnement de la suspension de sédiment mélangé.

Ajouter la solution nutritive ([6.6](#)) comme liquide surnageant au-dessus du sédiment mélangé ([6.9.1.2](#)) selon le rapport suivant: 1 partie (en masse) de sédiment mélangé pour au maximum 0,5 partie (en volume) de solution nutritive. Conditionner ce mélange pendant 7 à 9 jours dans les conditions d'exposition (voir [10.5](#)) pour obtenir une flore microbienne stable et pour éviter la séparation des composants du sédiment durant l'essai. Au bout de 7 à 9 jours, éliminer soigneusement le surnageant de solution nutritive. Le sédiment est prêt pour une utilisation immédiate.

NOTE L'expérience a montré que le sédiment artificiel peut être conservé à une température comprise entre 4 °C et 8 °C à l'obscurité pendant 14 jours.

6.9.2 Sédiment artificiel pour préculture.

Mélanger les constituants secs du sédiment (voir [Tableau 1](#)) et agiter le mélange sec pendant 2 h à 3 h dans un agitateur rotatif à température ambiante. Le mélange de sédiment sec en poudre peut être conservé sans restriction dans un récipient hermétique placé à l'abri de la lumière, dans un endroit sec à température ambiante.

Peser 125 g de mélange de sédiment sec en poudre dans un récipient de préculture de 1 000 ml, ajouter (65 ± 5) ml de solution nutritive ([6.6](#)) et remuer soigneusement jusqu'à ce que le mélange soit homogène.

Il convient que la suspension de sédiment ait la consistance d'une boue. Tasser le sédiment en tapotant les récipients sur la table pour éliminer les bulles d'air et les interstices dans la matrice sédimentaire.

NOTE La croissance des précultures (voir [10.1](#)) dans un sédiment artificiel témoin ([6.9.1](#)) ou dans un sédiment artificiel pour préculture ([6.9.2](#)) n'a aucune influence notable sur les résultats de l'essai qui suit; les deux sédiments artificiels ([6.9.1](#) et [6.9.2](#)) peuvent donc servir de sédiment pour la préculture.

7 Appareillage

Matériel courant de laboratoire et, en particulier, les éléments suivants.

7.1 Autoclave.

7.2 Récipients cylindriques ou coniques, béciers en plastique ou en verre, cristallisoirs [par exemple pour la préculture: diamètre du fond 10 cm, diamètre de la partie supérieure 13 cm, hauteur 11 cm; pour l'essai: béciers en verre de 250 ml, forme basse; voir [Figure A.2 b](#)) et [Figure A.3 b](#)].

7.3 Étuve, environ 105 °C.

7.4 Incubateur thermostaté à éclairage constant, par exemple enceinte climatique.

7.5 Luxmètre, pour mesurer le rayonnement photosynthétiquement actif (PAR), dans la plage de longueurs d'ondes, adéquate pour la photosynthèse, comprise entre 400 nm et 700 nm, à l'aide d'un capteur quantique sphérique.

7.6 pH-mètre.

7.7 Balance de précision, précision requise de 0,1 mg.

7.8 Agitateur rotatif.

7.9 Scalpel ou ciseaux.

7.10 Tamis, en acier inoxydable, taille de maille de 0,5 mm.

7.11 Couvercles translucides, en verre ou en plastique, munis d'orifices (par exemple des trous) pour permettre l'échange d'air et d'humidité [voir [Figure A.2 b](#)) et [Figure A.3 b](#)].

7.12 Pinces.

7.13 Agitateur.

7.14 Électrode en verre, pour mesurer les valeurs de pH des solutions aqueuses et des sédiments.

7.15 Broyeur, pour pulvériser la tourbe après séchage (par exemple mixeur).

7.16 Mortier, pour homogénéiser les sédiments après séchage (voir [Annexe D](#)).

7.18 Sorbonne (voir [l'Annexe D](#)).

8 Essai avec la substance de référence

Pour s'assurer que les conditions d'essai en laboratoire (y compris l'état et la sensibilité des organismes d'essai) sont adéquates et qu'elles n'ont pas varié de façon significative, il est nécessaire de soumettre à essai régulièrement (au moins une fois tous les 6 mois), une substance de référence, en utilisant une concentration proche de sa valeur de CE_{50} basée sur le taux de croissance. Le 3,5-dichlorophénol (DCP), dont l'effet sur la croissance de *Myriophyllum aquaticum* a été démontré, constitue une substance de référence appropriée.

Le DCP est soumis à essai dans le sédiment artificiel conformément aux instructions relatives au dopage (voir [Annexe D](#)) et aux essais (voir [Article 10](#)). Il convient que l'inhibition de la croissance, à une concentration de 90 mg/kg en masse sèche de sédiment artificiel par rapport à la croissance dans l'échantillon témoin, se situe dans la gamme comprise entre 20 % et 50 %.

NOTE La plage des effets inhibiteurs pour le 3,5-dichlorophénol est basée sur les données de l'essai international interlaboratoires de la présente Norme internationale (voir l'[Annexe E](#)).

9 Organisme d'essai

Myriophyllum aquaticum (Velloso) Verdcourt (pour la source d'approvisionnement, voir l'[Annexe C](#)) est utilisé comme espèce test dans la présente Norme internationale. Les documents relatifs à son origine sont nécessaires. Les plantes provenant d'une population sauvage nécessitent une confirmation de leur taxonomie.

10 Mode opératoire

iTeh STANDARD PREVIEW

10.1 Préculture de *Myriophyllum aquaticum* pour l'essai contact

Utiliser le sédiment artificiel pour préculture ([6.9.2](#)). Planter les verticilles supérieurs fraîchement coupés à partir de cultures âgées de 5 semaines à 7 semaines dans le sédiment de préculture. Utiliser les couvercles translucides munis d'orifices pour l'échange d'air et d'humidité pour fermer les récipients. Incuber les plantes dans une enceinte climatique à $(24 \pm 1) ^\circ\text{C}$ à une intensité lumineuse comprise entre $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ et $75 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ou entre 4 100 lx et 5 550 lx (blanc neutre), avec un régime lumineux constant. Ajouter la solution nutritive ([6.6](#)) diluée à volume égal avec de l'eau ([6.1](#)) pour éviter la dessiccation et répartir les cultures de façon aléatoire tous les 3 à 4 jours. Au bout d'une semaine, retirer les couvercles pour permettre aux plantes de pousser sans entrave.

Il est recommandé de planter 7 à 9 verticilles supérieurs par récipient de préculture ([7.2](#), conique, diamètre du fond 10 cm, diamètre du haut 13 cm, hauteur 11 cm) et d'utiliser de nombreux récipients de préculture par essai. La longueur et l'épaisseur de la tige ont une influence sur la masse du verticille. Pour obtenir les verticilles les plus homogènes possibles pour l'essai, il est important de disposer de beaucoup de matériel végétal afin de choisir les verticilles qui conviennent pour l'essai.

Lors de l'hydratation, veiller à ce que les verticilles nouvellement plantés ne flottent pas au-dessus du sédiment. La solution nutritive diluée avec de l'eau est soigneusement ajoutée jusqu'à l'obtention d'une mince couche de liquide à la surface du sédiment. Au bout de quelques jours, lorsque les racines des verticilles ont poussé, il est possible d'ajouter plus de liquide (par exemple une hauteur de 0,5 cm).

NOTE Toute autre méthode de préculture est possible tant que les précultures ont une croissance émergée, dans des conditions de croissance comparables aux conditions d'essai, et que la validité des critères (taux de croissance $\geq 0,09$, variation dans l'échantillon témoin ≤ 15 %) est assurée.

10.2 Préparation de l'échantillon témoin

Utiliser le sédiment artificiel ([6.9.1](#)) comme échantillon témoin. Mesurer et enregistrer le pH. Remplir au moins trois récipients identiques avec chacun 80 g d'échantillon témoin fraîchement préparé. Avant d'utiliser les répliqués, tasser le sédiment en tapotant les récipients sur la table.