
**Qualité de l'eau — Préparation et
traitement des composés organiques
peu solubles dans l'eau en vue de
l'évaluation de leur biodégradabilité
en milieu aqueux**

*Water quality — Preparation and treatment of poorly water-
soluble organic compounds for the subsequent evaluation of their
biodegradability in an aqueous medium*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 10634:2018

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/be63930d-bba3-4b81-8a21-24537931dcac/iso-10634-2018>



iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 10634:2018](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/be63930d-bba3-4b81-8a21-24537931dcac/iso-10634-2018)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/be63930d-bba3-4b81-8a21-24537931dcac/iso-10634-2018>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2018

Tous droits réservés. Sauf prescription différente ou nécessité dans le contexte de sa mise en œuvre, 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, ou la diffusion sur l'internet ou sur un intranet, sans autorisation écrite préalable. Une autorisation peut être demandée 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 401 • Ch. de Blandonnet 8
CH-1214 Vernier, Genève
Tél.: +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 Présentation des méthodes de préparation et d'analyse appropriées	2
4.1 Méthodes de préparation.....	2
4.2 Méthodes d'analyse.....	2
5 Addition directe et addition avec un support inerte	2
5.1 Généralités.....	2
5.2 Réactifs.....	3
5.3 Appareillage.....	3
5.4 Mode opératoire.....	4
5.4.1 Addition directe.....	4
5.4.2 Addition sur un support inerte.....	4
6 Traitement aux ultrasons et traitement physique	4
6.1 Généralités.....	4
6.2 Appareillage.....	4
6.3 Mode opératoire utilisant une sonde à ultrasons.....	4
6.3.1 Préparation du composé d'essai.....	4
6.3.2 Protocole expérimental.....	5
6.4 Mode opératoire utilisant un bain à ultrasons.....	5
6.5 Autres méthodes.....	5
7 Adsorption sur un support inerte avec un solvant volatil éliminé du système	6
7.1 Généralités.....	6
7.2 Réactifs.....	6
7.3 Appareillage.....	7
7.4 Mode opératoire.....	7
8 Addition avec un solvant non biodégradable ou un agent émulsifiant	8
8.1 Généralités.....	8
8.2 Réactifs.....	8
8.3 Appareillage.....	9
9 Essais préliminaires	9
9.1 Réactifs.....	9
9.1.1 Choix de la concentration en agent émulsifiant.....	9
9.1.2 Choix de la concentration en huile minérale.....	9
9.1.3 Choix de la concentration en huile de silicone.....	10
9.2 Mode opératoire.....	10
9.2.1 Utilisation du solvant.....	10
9.2.2 Utilisation de l'agent émulsifiant.....	10
9.2.3 Utilisation de l'huile minérale.....	10
9.2.4 Utilisation de l'huile de silicone.....	11
9.3 Autres additifs.....	11
10 Combinaison des méthodes	11
11 Rapport d'essai	12
Annexe A (informative) Exemples de courbes de biodégradabilité	13
Bibliographie	15

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 (IEC) 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/IEC, 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/IEC, Partie 2 (voir www.iso.org/directives).

L'attention est attirée 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 dans la liste des déclarations de brevets reçues par l'ISO (voir www.iso.org/brevets).

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité, à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

(standards.iteh.ai)

Pour une explication de la nature volontaire des normes, la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute information au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'Organisation mondiale du commerce (OMC) concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir www.iso.org/avant-propos.

Le présent document 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 10634:1995) qui a fait l'objet d'une révision technique pour tenir compte du retour d'information des utilisateurs, des nouvelles technologies et des réactifs disponibles.

Il convient que l'utilisateur adresse tout retour d'information ou toute question concernant le présent document à l'organisme national de normalisation de son pays. Une liste exhaustive desdits organismes se trouve à l'adresse www.iso.org/fr/members.html.

Introduction

Les travaux de normalisation menés au sein de l'ISO/TC 147/SC 5 montrent qu'il n'est pas possible de mettre au point dans l'immédiat une méthode unique pour l'évaluation de la biodégradabilité des composés organiques peu solubles dans l'eau (c'est-à-dire $< 100 \text{ mg/l}$ [1][2][3]). En effet, le choix du mode opératoire le plus approprié pour obtenir une émulsion ou une dispersion satisfaisante de ces substances dans les milieux d'essai dépend, en particulier, de leurs propriétés physico-chimiques. Il est donc nécessaire de laisser à l'appréciation du laboratoire chargé des essais la sélection de la méthode la plus adaptée en fonction de son expérience propre et des informations sur les substances fournies par le demandeur. C'est pourquoi le présent document décrit plusieurs méthodes de traitement des composés organiques peu solubles dans l'eau avant de réaliser des essais de biodégradabilité, en ayant pour objectif de faire en sorte que, pour une méthode donnée, le même mode opératoire soit mis en œuvre par tous les laboratoires, rendant ainsi plus aisée la comparaison des résultats. Il convient de mémoriser les spécificités du protocole choisi pour évaluer et interpréter les résultats de l'essai de biodégradation.

Les méthodes décrites dans le présent document ne donneront pas nécessairement les mêmes résultats de biodégradabilité du composé d'essai si elles sont utilisées en parallèle. L'emploi de solvants et de méthodes de dispersion ou d'émulsion peuvent être des sources supplémentaires d'incertitude et peuvent conduire à des résultats d'essai différents de ceux obtenus sans utiliser ces méthodes. De plus, il est possible de produire des dispersions ou émulsions qui n'existeraient pas comme telles à l'état naturel. Ainsi, il est recommandé de réaliser les essais de biodégradabilité par addition directe d'un composé d'essai en parallèle des méthodes de dispersion car il convient que l'activité de l'inoculum utilisé soit comparable. La présence de micro-organismes capables de dégrader le composé d'essai est supposée identique. La composition et l'activité peuvent varier lorsque les essais sont effectués ultérieurement.

(standards.iteh.ai)

Conformément aux normes actuelles applicables aux essais de biodégradabilité, il convient de soumettre à essai uniquement les composés purs ou contenant une faible quantité d'impuretés. Il n'est pas recommandé d'effectuer des essais de biodégradabilité pour les mélanges hétérogènes ou pour des composés multicomposés car les résultats de ces essais sont difficiles à interpréter, notamment lorsque la dégradation est partielle. De plus, l'utilisation de solvants et de méthodes de dispersion peuvent conduire à des distributions hétérogènes et non représentatives ainsi qu'à des résultats trompeurs lors des essais de biodégradabilité ultérieurs.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 10634:2018

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/be63930d-bba3-4b81-8a21-24537931dcac/iso-10634-2018>

Qualité de l'eau — Préparation et traitement des composés organiques peu solubles dans l'eau en vue de l'évaluation de leur biodégradabilité en milieu aqueux

AVERTISSEMENT — Il convient que l'utilisateur du présent document connaisse bien les pratiques courantes de laboratoire. Le présent document n'a pas pour but de traiter de tous les problèmes de sécurité qui sont, le cas échéant, liés à son utilisation. Il incombe à l'utilisateur de la présente norme d'établir des pratiques appropriées en matière d'hygiène et de sécurité.

IMPORTANT — Il est indispensable que les essais menés selon le présent document soient effectués par un personnel adéquatement qualifié.

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie des méthodes de préparation de composés organiques peu solubles dans l'eau (c'est-à-dire, des composés liquides et solides) ayant une solubilité dans l'eau inférieure à environ 100 mg/l et leur introduction dans des récipients d'essai, en vue de réaliser un essai de biodégradabilité en milieu aqueux selon des méthodes normalisées.

Les essais de biodégradabilité applicables sont des méthodes utilisant l'analyse du dioxyde de carbone dégagé décrite dans l'ISO 9439 et la détermination de la demande en oxygène décrite dans l'ISO 9408 et respectant les précautions habituelles de l'ISO 10707. On peut ainsi noter que les méthodes de mesure de l'élimination du carbone organique dissous (COD) ne sont pas appropriées.

Le présent document ne décrit pas les méthodes d'essai de biodégradation. Il se limite à la description des méthodes d'introduction des composés d'essai dans le milieu d'essai et à leur maintien à l'état dispersé.^[4] Ces méthodes sont mises en œuvre en respectant les conditions expérimentales décrites dans les méthodes normalisées pour l'évaluation de la biodégradabilité. L'ISO 9439, qui repose sur le dégagement de CO₂, ne convient pas pour soumettre à essai les composés volatils.

Certaines des méthodes de préparation décrites dans le présent document peuvent ne pas être acceptées par les organismes de réglementation pour tirer des conclusions au sujet de la facilité de biodégradabilité des composés d'essai.

Des exemples de courbes de biodégradabilité sont donnés en [Annexe A](#).

2 Références normatives

Les documents suivants cités dans le texte constituent, pour tout ou partie de leur contenu, des exigences 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 9408, *Qualité de l'eau — Évaluation, en milieu aqueux, de la biodégradabilité aérobie ultime des composés organiques par détermination de la demande en oxygène dans un respiromètre fermé*

ISO 9439, *Qualité de l'eau — Évaluation de la biodégradabilité aérobie ultime en milieu aqueux des composés organiques — Essai de dégagement de dioxyde de carbone*

ISO 10707, *Qualité de l'eau — Évaluation en milieu aqueux de la biodégradabilité aérobie "ultime" des composés organiques — Méthode par analyse de la demande biochimique en oxygène (essai en fiole fermée)*

3 Termes et définitions

Aucun terme n'est défini dans le présent document.

L'ISO et l'IEC tiennent à jour des bases de données terminologiques destinées à être utilisées en normalisation, consultables aux adresses suivantes:

- ISO Online browsing platform: disponible à l'adresse <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia: disponible à l'adresse <http://www.electropedia.org/>

4 Présentation des méthodes de préparation et d'analyse appropriées

4.1 Méthodes de préparation

Le présent document décrit plusieurs méthodes d'introduction des composés d'essai dans le milieu d'essai. Les méthodes de préparation sont indiquées ci-après:

- addition directe: cette méthode est recommandée pour les composés peu solubles en remplacement de la préparation d'une solution mère;
- dispersion aux ultrasons: cette méthode peut être appliquée aux composés liquides non volatils et aux composés solides;
- adsorption ou pesée sur un support inerte;
- dispersion ou solubilisation avec un additif;
- combinaison des méthodes énumérées ci-dessus.

NOTE Concernant la combinaison des méthodes, les techniques sont généralement appliquées également individuellement en parallèle (c'est-à-dire avec le même inoculum) pour pouvoir établir si une méthode exerce une action prédominante ou si les deux contribuent à favoriser la biodisponibilité et la biodégradation.

4.2 Méthodes d'analyse

La concentration en composé d'essai doit satisfaire aux exigences des ISO 9439, ISO 9408 et ISO 10707.

Lorsque le composé d'essai est introduit directement ou sur support inerte, dans le récipient d'essai, il n'est pas nécessaire de confirmer la concentration d'essai.

Lorsque la méthode de préparation utilise une solution mère du composé d'essai, il est nécessaire de confirmer la concentration d'essai. Pour cela:

- une méthode d'analyse spécifique est requise si le support ou l'additif est un produit chimique organique (par exemple, tensioactif);
- l'analyse du carbone organique total (COT) est acceptable si le support ou l'additif est un composé inorganique (par exemple, gel de silice) ou si une dispersion homogène est obtenue par traitement physique (par exemple, traitement aux ultrasons).

5 Addition directe et addition avec un support inerte

5.1 Généralités

Il convient de réaliser en parallèle les essais de biodégradabilité du composé d'essai par addition directe et avec les méthodes de dispersion car il convient que l'activité de l'inoculum utilisé soit comparable. La présence de micro-organismes capables de dégrader le composé d'essai est supposée identique.

Le composé d'essai est pesé et introduit directement dans les récipients d'essai, ou pesé sur un support inerte, et introduit dans les récipients d'essai qui sont soumis à une agitation continue.

Les composés solides peuvent être broyés (par exemple au moyen d'un mortier et d'un pilon) le plus finement possible avant d'être pesés. Il est admis d'utiliser de l'azote liquide.

NOTE L'ajout de la substance d'essai adsorbée sur un support inerte peut influencer sur le résultat de biodégradation final. La biodisponibilité du composé peut se trouver limitée par l'adsorption sur le support inerte. De ce fait, il peut s'ensuivre une diminution de la biodégradation mesurée (par exemple, si l'adsorption à la surface du matériau inerte limite l'accès de la substance d'essai à l'inoculum). Dans le cas où le composé d'essai est toxique pour les microorganismes, il n'est pas impossible que la limitation de la biodisponibilité restreigne l'effet toxique et augmente le résultat de la biodégradation.

5.2 Réactifs

5.2.1 Supports inertes.

Il est possible d'utiliser du gel de silice, des filtres en fibres de verre, des lames de microscope ou tout autre support inerte non biodégradable ne relarguant pas de carbone organique ou inorganique dans le milieu aqueux.

Il convient de valider le choix du support par des études préliminaires établissant qu'il est inerte et exempt de carbone. Pour éviter ou réduire au maximum les effets de surface, la quantité de support doit être minimale. Il convient que le composé d'essai soit adsorbé sur la surface.

Par exemple, les supports suivants sont appropriés:

- lame de microscope;
- lame en polyéthylène;
- lame en acier inoxydable;
- gel de silice pour chromatographie en couche mince (granulométrie 15 µm);
- gel de silice pour chromatographie sur colonne (granulométrie 200 µm à 500 µm).

5.3 Appareillage

5.3.1 Agitateurs.

Un nombre suffisant d'agitateurs est requis pour agiter tous les récipients d'essai lors d'un essai de biodégradabilité donné, excepté pour l'essai en fiole fermée (voir ISO 10707).

Les barreaux d'agitation doivent être constitués d'un matériau dont aucun ingrédient du revêtement en matière plastique ne pourra contaminer le milieu d'essai, ni adsorber les composés d'essai. Il faut éviter que le processus d'agitation n'augmente la température dans les récipients d'essai.

5.3.2 Récipients.

Il est recommandé d'utiliser du matériel de laboratoire en verre ou de la verrerie de laboratoire chimiquement inerte pour peser et préparer l'échantillon afin d'éviter toute contamination par du carbone et toute adsorption du composé d'essai.

5.3.3 Disperseurs mécaniques (par exemple Ultra-turrax¹⁾).

1) Ultra-turrax® est un exemple de produit approprié disponible sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

5.4 Mode opératoire

5.4.1 Addition directe

Les composés d'essai doivent être pesés et ajoutés directement dans les récipients d'essai.

Les composés liquides non visqueux doivent être ajoutés à l'aide d'une seringue volumétrique de haute précision en tenant compte de leur densité relative.

5.4.2 Addition sur un support inerte

5.4.2.1 Composé d'essai solide

Sur le support choisi (5.2.1), peser une quantité du composé correspondant à la concentration en carbone organique requise par la méthode d'essai.

Introduire un support avec le composé d'essai dans chacun des récipients d'essai.

Introduire un support sans composé d'essai dans chacun des récipients témoins.

5.4.2.2 Composé d'essai liquide

Peser le composé liquide ou visqueux, sans traitement. Préparer la quantité de composé d'essai requise par la méthode d'essai de biodégradabilité, à mélanger avec le support.

Par exemple, avec un volume final de solution d'essai de 1 l, ajouter 50 mg du support (5.2.1) et la quantité de composé d'essai nécessaire pour le récipient d'essai par pesée directe, puis émulsifier au moyen du disperseur mécanique pendant 1 min. Dans le même temps, répéter ce mode opératoire en utilisant uniquement le support dans les récipients témoins. Après avoir mélangé le support inerte et le composé d'essai liquide, on ajoute l'eau de dilution et l'inoculum.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/be63930d-bba3-4b81-8a21-24537931dcac/iso-10634-2018>

6 Traitement aux ultrasons et traitement physique

6.1 Généralités

Une émulsion ou une dispersion du composé d'essai est préparée à l'aide d'une sonde à ultrasons ou d'un bain à ultrasons, et introduite dans les récipients d'essai qui sont agités en continu (voir 5.3.1 et 5.3.2).

6.2 Appareillage

6.2.1 **Sonde à ultrasons**, capable de produire une fréquence d'environ 20 kHz à 35 kHz.

6.2.2 **Bain à ultrasons**, capable de produire une fréquence d'environ 20 kHz à 35 kHz.

6.2.3 **Agitateurs**, en nombre suffisant pour assurer l'agitation de la totalité des récipients d'essai (voir 5.3.2).

6.3 Mode opératoire utilisant une sonde à ultrasons

6.3.1 Préparation du composé d'essai

6.3.1.1 Préparation d'une solution mère

Ajouter, par exemple, 1 g ou 1 ml du composé d'essai dans un bécher de 500 ml contenant environ 400 ml d'eau désionisée.

Le composé d'essai doit être présent en excès de façon à obtenir une solution saturée.

6.3.1.2 Préparation avec la quantité requise

Ajouter la quantité requise du composé d'essai dans les récipients d'essai contenant le milieu minéral sans inoculum.

6.3.2 Protocole expérimental

Installer la sonde à ultrasons (6.2.1) de façon que sa pointe soit la plus proche possible de l'interface entre le milieu minéral et le composé d'essai.

Utiliser un agitateur (6.2.3) pour agiter le récipient d'essai afin que le composé ne reste pas en surface.

Régler la fréquence de la sonde entre environ 20 kHz et 35 kHz et appliquer ce traitement pendant environ 5 min à 30 min.

Arrêter la sonde et laisser décanter l'émulsion ou la dispersion pendant 15 min à 30 min.

Certains composés sont sujets à la décomposition ultrasonique due à une augmentation de la température de la solution mère. Ce problème peut être évité en mesurant et en contrôlant la température, en réduisant la puissance de la sonde à ultrasons ou en effectuant un traitement aux ultrasons intermittent. Pour éviter toute surchauffe, il est possible de refroidir le récipient d'essai, par exemple en le plaçant sur de la glace pilée ou dans de l'eau froide. Dans certains cas, le composé peut être dégradé par le traitement. Si tel est le cas, il convient d'utiliser une autre méthode.

En cas d'utilisation d'une solution mère, analyser une partie aliquote de l'émulsion ou de la dispersion obtenue et déterminer la concentration en composé d'essai, après décanter, en utilisant une méthode d'analyse appropriée. Introduire un volume approprié de l'émulsion ou de la dispersion dans chacun des récipients d'essai afin d'obtenir la concentration en carbone organique requise par la méthode d'essai utilisée.

Il peut être difficile d'obtenir une émulsion ou une dispersion stable. Un soin particulier est donc requis lorsque les parties aliquotes sont réparties dans les récipients d'essai. S'il se révèle impossible d'obtenir une émulsion suffisamment stable ou une concentration suffisamment élevée pour effectuer l'essai, il est possible d'introduire le composé d'essai directement dans le milieu d'essai et de le disperser au moyen d'ultrasons dans les récipients utilisés pour l'essai avant d'ajouter l'inoculum.

6.4 Mode opératoire utilisant un bain à ultrasons

Préparer les récipients d'essai avec la concentration requise en composé d'essai dans le milieu minéral et sans inoculum. Introduire les récipients d'essai dans le bain à ultrasons (6.2.2).

Régler la fréquence du bain entre environ 20 kHz et 35 kHz et appliquer ce traitement pendant environ 5 min à 30 min. L'apport d'énergie du traitement aux ultrasons dépend de nombreux facteurs et il convient d'évaluer l'effet lors d'essais préliminaires afin d'obtenir une combinaison appropriée de la puissance électrique et de la durée de traitement.

Arrêter le bain et laisser décanter les émulsions ou les dispersions pendant 15 min à 30 min (voir 6.3.2).

6.5 Autres méthodes

Parmi les traitements physiques et hormis le traitement aux ultrasons, d'autres méthodes d'amélioration de la biodisponibilité sont envisageables, par exemple les émulsions de Pickering, telles que décrites par Kalashnikova^[5]:

«Emulsions are stabilized by surface-active species such as surfactant molecules with an affinity for both phases. Surfactants, the conventional stabilizers, are continuously adsorbed and desorbed at the interface. This is at the origin of the phase separation phenomenon since competition between adsorption and coalescence occurs. In the past few years, solid particles have been used to replace