Compendium des méthodes d'échantillonnage et d'analyse (CWEA) - Table des matières

Mise à jour du 20 janvier 2022

Prélèvements et mesures de terrain (P)

	Référence CWEA	Version actuelle	Version antérieure
Méthode concernant le flaconnage, le transport et la conservation des échantillons	P-1	4	P-1
Méthode de prélèvement des eaux de surface	P-2	2	
Méthode de forage et d'équipement de piézomètres dans l'optique de la caractérisation globale d'un site potentiellement pollué	P-3	2	
Méthode de prélèvement des eaux souterraines dans les aquifères non superficiels	P-4	4	P-4
Modèle de fiche de prélèvement des eaux souterraines dans les aquifères non superficiels et dans les aquifères superficiels (P4 et P5)	P-4 et P-5 – Fiche prélèvement		
Méthode de prélèvement des eaux souterraines dans les aquifères superficiels	P-5	3	P-5
Méthode de prélèvement de sol en place à finalité environnementale	P-6	3	P-6
Méthode de description des sols et terres excavées à finalité environnementale	P-7	3	P-7
Modèle de fiche de prélèvement de sol en place (ex-LOG de forage) et de fiche de prélèvement de terre excavée (ex-fiche de description d'andain)	P7 – Fiche prélèvement		
Méthode de description des sols et terres excavées à finalité environnementale – Annexes	P7 – Annexes	3	P-7-Annexes
Méthode pour le géoréférencement des points de prélèvement et de mesure	P-8	2	P-8
Méthode pour certains prélèvements spéciaux	P-9	2	
Méthode pour la dénomination des échantillons	P-10	2	
Méthode d'échantillonnage des terres agricoles	P-11	1	
Méthode de prélèvement des effluents industriels au moyen d'un échantillonneur automatique	P-13	1	
Méthode de mesure du débit d'un effluent industriel en canalisations ouvertes ou non en charge	P-14	1	
Méthode de mesure du pH de l'eau in situ par la	P-15	1	

méthode électrochimique			
Méthode de mesure de la conductivité électrique de l'eau in situ	P-16	1	
Méthode de mesure in situ de l'oxygène dissous de l'eau par la méthode électrochimique	P-17	1	
Méthode de mesure in situ de l'oxygène dissous de l'eau par la méthode optique	P-18	1	
Méthode de mesure in situ de la turbidité de l'eau par la méthode optique en lumière diffusée	P-19	1	
Méthode pour le prélèvement de sédiments dans les cours d'eau non navigables	P-20	1	
Définition d'une méthodologie d'échantillonnage de déchets	P-21	1	
Définition d'une méthodologie d'échantillonnage des sols à excaver	P-22	1	
Méthode d'échantillonnage des boues de STEP	P-23	1	
Méthode d'échantillonnage des digestats de biométhanisation	P-24	1	
Méthode d'échantillonnage des composts	P-25	1	
Méthode de prélèvement de matériaux stockés en andains	P-26	1	

Analyse des sols (y compris terres excavées, sédiments et matières utilisées sur ou dans les sols) (S)

Prétraitement des échantillons (S-I)	Référence CWEA	Version actuelle	Version antérieure
Prétraitement au laboratoire	S-I-0	3	
Prétraitement des échantillons pour analyses physico-chimiques ou pour analyse des contaminants organiques	S-I-1	4	S-I-1
Prétraitement des échantillons pour analyses organiques	S-I-2	2	
Calcul de la teneur en matière sèche par détermination du résidu sec ou de la teneur en eau	S-I-3	4	S-I-3
Essai de lixiviation de sols et déchets fragmentés, de sédiments et de boues – méthode en batch	S-I-4	1	

Analyses minérales (S-II)	Référence CWEA	Version actuelle	Version antérieure
Extraction des éléments métalliques en trace (ETM) solubles dans l'eau régale – méthode à reflux	S-II-1.1	3	S-II-1

Extraction des éléments métalliques en trace (ETM) solubles dans l'eau régale – méthode assistée par micro-ondes	S-II-1.2	1	
Dosage des éléments métalliques en trace dans les extraits à l'eau régale : Méthode par absorption atomique avec flamme et atomisation électrothermique	S-II-2.1	2	S-II-2.1
Dosage des éléments métalliques en trace dans les extraits à l'eau régale : Méthode par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (ICP-AES)	S-II-2.2	2	S-II-2.2
Dosage des éléments métalliques en trace dans les extraits à l'eau régale : Méthode par spectroscopie d'émission atomique avec plasma induit par haute fréquence (ICP-MS)	S-II-2.3	1	
Dosage du mercure dans les extraits d'eau régale : dosage par absorption atomique de vapeur froide	S-II-3	2	S-II-3
Dosage du chrome(VI) dans les matériaux solides par digestion alcaline et chromatographie ionique	S-II-4	4	S-II-4
Dosage des cyanures totaux	S-II-5.1	4	S-II-5.1
Dosage des cyanures totaux et libres – Méthodes d'analyse en flux continu	S-II-5.2	4	S-II-5.2
Détermination du pH eau	S-II-6.1	3	
Détermination du pH KCl	S-II-6.2	2	
Détermination de la conductivité électrique	S-II-7	3	
Détermination des carbonates	S-II-8	3	
Détermination de l'azote total par combustion sèche	S-II-9.1	3	
Détermination de l'azote total – méthode de Kjeldahl modifié	S-II-9.2	2	
Détermination de l'azote Kjeldahl	S-II-9.3	2	
Détermination de l'azote nitrique, nitreux et ammoniacal dans les extraits KCl	S-II-10	2	
Détermination de l'azote nitrique et de l'azote ammoniacal des matières utilisées sur ou dans les sols	S-II-11	3	
Extraction des éléments minéraux disponibles dans les terres agricoles	S-II-12	3	

Analyses organiques (S-III)	**Référence CWEA**	**Version actuelle**	**Version antérieure**
Détermination par chromatographie gazeuse/spectrométrie de masse des hydrocarbures aromatiques, du naphtalène et des hydrocarbures halogénés volatils – Méthode par purge et piégeage avec désorption thermique	S-III-1.1	4	S-III-1.1
Détermination par chromatographie	S-III-1.2	2	S-III-1.2

gazeuse/spectrométrie de masse des hydrocarbures aromatiques et halogénés volatils et de certains éthers dans les sols – Méthode par espace de tête statique			
Détermination de l'indice phénol	S-III-2.1	3	S-III-2.1
Détermination du phénol par chromatographie en phase gazeuse avec détection par spectrométrie de masse	S-III-2.2	3	S-III-2.2
Détermination des hydrocarbures aromatiques polycycliques par HPLC	S-III-3.1	3	S-III-3.1
Détermination des hydrocarbures aromatiques polycycliques par GC/MS	S-III-3.2	2	S-III-3.2
Détermination de l'indice hydrocarbure C5-C11 et fractionnement aromatique/aliphatique par chromatographie en phase gazeuse	S-III-4	3	S-III-4
Détermination de l'indice hydrocarbure C10-C40 par chromatographie en phase gazeuse	S-III-5	5	S-III-5
Fractionnement des hydrocarbures aromatiques et aliphatiques semi-volatils et quantification par chromatographie en phase gazeuse	S-III-7	3	
Détermination du carbone organique et total par combustion sèche	S-III-8.1	2	
Détermination du carbone organique par oxydation sulfochromique	S-III-8.2	3	
Détermination par chromatographie gazeuse et détection par capture d'électrons des PCB n°28, 52, 101, 138, 153 et 180 dans les sols y compris les sédiments	S-III-9	1	
Détermination par chromatographie gazeuse et détection par capture d'électrons des PCB n°28, 52, 101, 138, 153 et 180 dans les huiles usagées	S-III-10	1	

Analyses agronomiques (S-IV)	**Référence CWEA**	**Version actuelle**	**version antérieure**
Détermination de la granulométrie, du taux de pierres et impuretés	S-IV-1	1	
Détermination du pouvoir germinatif	S-IV-2	1	
Détermination de la température d'auto-échauffement	S-IV-3	1	
Détermination de la phytotoxicité	S-IV-4	1	
Détermination de la valeur neutralisante	S-IV-5	2	
Détermination de la stabilité d'un compost au moyen d'un respiromètre fermé (méthode Oxitop)	S-IV-6	1	

Analyse des eaux (E)

Paramètres généraux (E-I)	Référence CWEA	Version actuelle	Version antérieure
Détermination du taux de matières en suspension – Méthode par filtration sur filtre en fibre de verre	E-I-4	1	
Détermination de la demande chimique en oxygène (DCO)	E-I-7	1	
Détermination de la demande chimique en oxygène (ST-DCO) – Méthode à petite échelle en tube fermé	E-I-8	1	

Analyses minérales (E-II)	Référence CWEA	Version actuelle	Version antérieure
Dosage des éléments métalliques en traces dans les eaux – méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec atomisation électrothermique en four graphite	E-II-1.1	2	E-II-1.1
Dosage des éléments métalliques en traces dans les eaux – méthode par spectrométrie d'émission optique avec plasma induit par haute fréquence (ICP-OES)	E-II-1.2.1	2	E-II-1.2.1
Dosage des éléments métalliques en traces dans les eaux – méthode par spectrométrie de masse avec plasma induit par haute fréquence (ICP-MS)	E-II-1.2.2	2	E-II-1.2.2
Dosage du mercure dans les eaux – méthode par spectrométrie atomique de vapeur froide	E-II-2.1	2	E-II-2.1
Dosage du mercure dans les eaux – méthode par spectrométrie de fluorescence atomique de vapeur froide	E-II-2.2	3	E-II-2.2
Dosage du chrome (VI) dans les eaux par détection spectrophotométrique	E-II-3.1	4	E-II-3
Dosage du chrome (VI) dans les eaux par chromatographie ionique	E-II-3.2	1	
Dosage des cyanures totaux et libres – méthodes d'analyse en flux continu	E-II-4	2	E-II-4
Dosage de l'azote Kjeldahl	E-II-5	1	
Dosage de l'azote nitreux par analyse en flux (FIA) et détection spectrométrique	E-II-6	1	
Détermination des anions dissous par chromatographie ionique en phase liquide	E-II-7	1	
Détermination de l'azote total	E-II-8	1	
Détermination des orthophosphates par spectrophotométrie	E-II-9	1	
Détermination du phosphore par spectrophotométrie	E-II-10	1	

Analyses organiques (E-III)	Référence CWEA	Version actuelle	Version antérieure
Détermination par chromatographie gazeuse/spectrométrie de masse des hydrocarbures aromatiques et halogénés volatils, du naphtalène et de certains éthers dans l'eau – méthode par purge et piégeage avec désorption thermique	E-III-1.1	3	E-III-1.1
Détermination par chromatographie gazeuse/spectrométrie de masse des hydrocarbures aromatiques et halogénés volatils, du naphtalène et de certains éthers dans l'eau – méthode par espace de tête statique	E-III-1.2	2	E-III-1.2
Détermination de l'indice phénol dans les eaux	E-III-2.1	2	E-III-2.1
Détermination de l'indice phénol dans les eaux par chromatographie gazeuse	E-III-2.2	1	
Dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques par HPLC dans les eaux	E-III-3.1	2	E-III-3.1
Dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques par GC/MS dans les eaux	E-III-3.2	2	E-III-3.2
Détermination de l'indice hydrocarbure C5-C11 et fractionnement aromatique/aliphatique par chromatographie en phase gazeuse	E-III-4	3	E-III-4
Détermination de l'indice hydrocarbure C10-C40 par chromatographie en phase gazeuse	E-III-5	3	E-III-5
Détermination par chromatographie gazeuse et par détection par capture d'électrons des PCB n°28, 52, 101, 118, 138, 153 et 180 dans les eaux	E-III-6	1	
Dosage du chlorothalonil sa, du métolachlore, métazachlore et de leur métabolite par ulc/ms/ms	E-III-7	1	
Détermination du chloridazon et de ses metabolites	E-III-8	1	

Analyses microbiologiques (E-IV)	Référence CWEA	Version actuelle	Version antérieure
Recherche et dénombrement de *Legionella pneumophila* dans les eaux	E-IV-1	1	
Prélèvement d'eaux "propres" en vue de la recherche de légionelles	E-IV-2.1	1	
Prélèvement d'eaux "industrielles" en vue de la recherche de légionelles	E-IV-2.2	1	
Procédure particulière relative aux prélèvements des eaux de piscines en vue de leurs analyses bactériologiques et chimiques	E-IV-2.3	1	
Dénombrement des micro-organismes revivifiables à 22 °C et/ou à 36 °C – incorporation en gélose	E-IV-3	1	
Recherche et dénombrement des entérocoques	E-IV-4	1	

intestinaux – filtration sur membrane			
Recherche et dénombrement des Staphylocoques pathogènes et/ou *Staphylococcus aurens* – filtration sur membrane	E-IV-5	1	
Recherche et dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* – filtration sur membrane	E-IV-6	1	

Analyses écotoxicologiques (E-V)	Référence CWEA	Version actuelle	Version antérieure
Détermination de l'inhibition de la croissance des algues d'eau douce avec des algues vertes unicellulaires	E-V-1	1	
Détermination de l'inhibition de la croissance des algues d'eau douce avec des algues vertes unicellulaires – Méthode en kit (ALGALTOXKIT)	E-V-2	1	
Détermination de la toxicité aigue (EC50-48h) par *Daphnia magna straus* – Méthode conventionnelle (daphnies issues d'élevage)	E-V-3	2	
Détermination de la toxicité aigue (EC50-48h) par *Daphnia magna straus* – Méthode en kit (DAPHTOXKIT)	E-V-4	2	
Détermination de la toxicité chronique par *Daphnia magna straus* – Méthode 21 jours	E-V-5	1	
Détermination de la toxicité chronique par *Daphna magna straus* – Méthode simplifiée (14 -16 j)	E-V-6	1	

Méthodes Air (A)

Méthodes générales	Référence CWEA	Version actuelle	Version antérieure
Généralités sur les techniques de prélèvements et d'analyse des émissions atmosphériques industrielles	A-I-1	1	
Aménagement des conduits industriels pour les mesures à l'émission des sources fixes	A-I-2	1	
Emissions atmosphériques : techniques de prélèvement et d'analyse des gaz majeurs	A-I-3	2	
Emissions atmosphériques : analyseurs de poussières en continu	A-I-4	1	
Emissions atmosphériques : prélèvement et analyse du formaldéhyde	A-1-6	1	

Analyses organiques	Référence CWEA	Version actuelle	Version antérieure
Détermination du Levoglucosan et de ses isomères par GC-MS	A-III-1	1	

Méthodes déchets (D)

Prétraitement des échantillons (D-I)	Référence CWEA	Version actuelle	Version antérieure
Calcul de la teneur en matière sèche par détermination du résidu sec ou de la teneur en eau	D-I-3	1	

Analyses minérales (D-II)	Référence CWEA	Version actuelle	Version antérieure
Détermination du pouvoir calorifique supérieur par la méthode de la bombe calorimétrique et calcul du pouvoir calorifique inférieur	D-II-1	1	
Caractérisation des déchets – Essais de comportement a la lixiviation – Essai de capacité de neutralisation acide et basique	D-II-2	1	
Détermination de la teneur totale en carbone, hydrogène, azote et soufre	D-II-3	1	
Détermination de la concentration en métaux dans les échantillons de bois	D-II-4	3	D-II-4
Détermination de la perte au feu des déchets, boues et sédiments	D-II-5	1	
Digestion des éléments solubles dans l'eau régale – méthode à reflux	D-II-6.1	1	
Digestion des éléments solubles dans l'eau régale – méthode assistée par micro-ondes	D-II-6.2	1	
Dosage des éléments traces solubles dans l'eau régale présents dans les boues, bio-déchets traités par spectrométrie d'émission atomique avec plasma induit par haute fréquence (ICP MS)	D-II-7.1	1	
Dosage des éléments traces solubles dans l'eau régale présents dans les boues, bio-déchets traités par spectrométrie d'émission atomique avec plasma induit par haute fréquence (ICP AES)	D-II-7.2	1	
Dosage du mercure soluble dans l'eau régale présent dans les boues, bio-déchets traités et les déchets par spectrométrie d'absorption atomique de vapeur froide (SAA-VP)	D-II-8.1	1	
Dosage du mercure soluble dans l'eau régale présent dans les boues, bio-déchets traités et les déchets par spectrométrie de fluorescence atomique de vapeur froide (SFA-VP)	D-II-8.2	1	
Dosage des cyanures totaux	D-II-9.1	1	
Dosage des cyanures aisément libérables et totaux – méthode d'analyse en flux continu	D-II-9.2	1	

Glossaire

	Référence CWEA	Version actuelle	Version antérieure
Glossaire	Glossaire	1	

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date de validité
P-1	4	01/01/2019
Méthode concernant la constitution, le flaconnage, le transport et la conservation des échantillons		

Domaine d'application		
Matrice	Echantillons solides et liquides	
Référence normative	NBN EN ISO 5667-3	2018

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

Cette méthode concerne les bonnes pratiques pour la constitution, le flaconnage, le transport et la conservation des échantillons solides et liquides. En ce qui concerne leur prélèvement, il faut se référer aux procédures P-2 à P-26 en fonction de la matrice prélevée.

2. Procédure

2.1. Dispositions particulières pour le prélèvement d'échantillons solides

2.1.1. Constitution de l'échantillon

Échantillon élémentaire :
Les échantillons élémentaires sont établis à partir de matière provenant d'un seul point de prélèvement. Le point de prélèvement et, dans le cas des prélèvements de sol ou de sous-sol, la profondeur de l'échantillonnage sont consignés par le préleveur.

Dans le cas des investigations à finalité environnementale, les éléments grossiers sont soustraits à l'échantillon avant le remplissage du flacon.

Les flacons sont systématiquement remplis à ras-bord et la matière tassée en vue de laisser un minimum d'air dans le flacon. Une fois l'échantillon constitué, le flacon ne sera plus ouvert avant sa prise en charge par le laboratoire.

Le volume des échantillons élémentaires est de minimum 25 cm^3 et répond aux exigences du laboratoire sur base du set de paramètres à analyser.

Le préleveur veillera systématiquement à utiliser les équipements de protection individuelle appropriés. Par ailleurs, les prélèvements sont effectués à l'aide de matériel propre et de gants de prélèvement jetables qui seront renouvelés préalablement à chaque prélèvement.

Échantillon composite :
Les échantillons composites sont établis à partir de matière provenant de plusieurs points de prélèvement. En d'autres termes, un échantillon composite est issu du mélange d'une série d'échantillons ponctuels prélevés conformément à une stratégie d'échantillonnage préétablie.

Les échantillons ponctuels utilisés pour constituer un échantillon composite ont tous un volume identique qui ne peut être inférieur à 10 cm^3 et permettant, sur base de la stratégie d'échantillonnage, d'établir un échantillon composite d'un volume suffisant pour le set de paramètres à analyser sur base des exigences du laboratoire.

Les échantillons ponctuels peuvent être rassemblés au fur et à mesure des investigations ou conditionnés individuellement pour être rassemblés ultérieurement.

Wallonie

Si plusieurs échantillons composites sont utilisés pour investiguer un même lot, le préleveur peut au choix :

- soit constituer chaque échantillon composite individuellement une fois qu'un nombre d'échantillons ponctuels suffisant a été prélevé,
- soit rassembler l'ensemble des échantillons ponctuels prévus par la stratégie puis constituer les échantillons composites à partir de cet ensemble.

Le rassemblement des échantillons ponctuels est réalisé dans un contenant propre et neutre vis-à-vis des paramètres à analyser et d'un volume suffisant sur base du nombre d'échantillons élémentaires prévus par la stratégie. Une fois les échantillons élémentaires nécessaires rassemblés pour constituer l'échantillon composite, la matière est homogénéisée puis la taille de l'échantillon est réduite conformément aux recommandations du point 2.1.2.

Les flacons des échantillons composites sont systématiquement remplis à ras-bord et la matière tassée en vue de laisser un minimum d'air dans le flacon. Une fois l'échantillon constitué, le flacon ne sera plus ouvert avant sa prise en charge par le laboratoire.

Le préleveur veillera systématiquement à utiliser les équipements de protection individuelle appropriés. Par ailleurs, les prélèvements sont effectués à l'aide de matériel propre et de gants de prélèvement jetables qui seront renouvelé préalablement à la constitution de chaque échantillon composite.

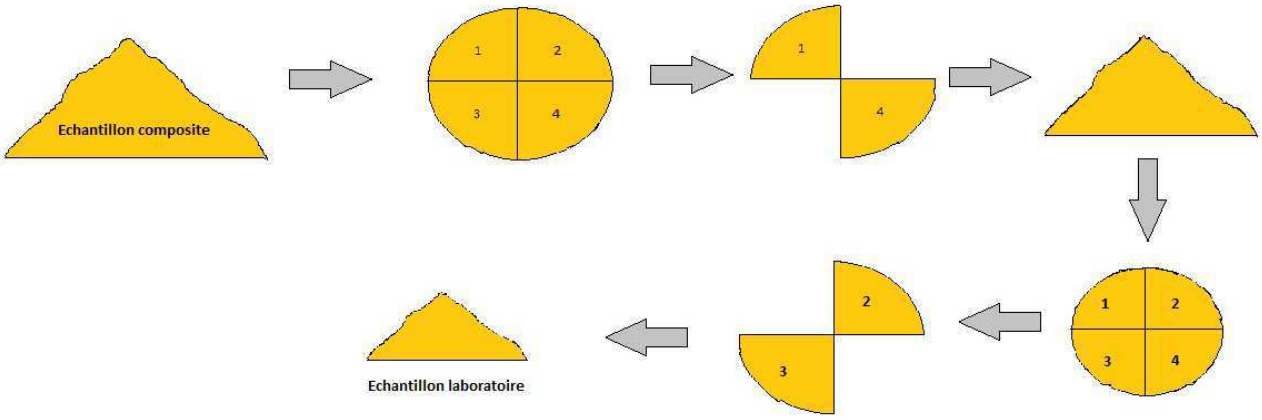
2.1.2. Réduction de la taille de l'échantillon

Lorsque la taille de l'échantillon composite constitué est plus importante que la quantité nécessaire pour la réalisation des analyses en laboratoire, il est conseillé de réduire sa taille en effectuant un sous-échantillonnage. Cette réduction peut être réalisée au choix au laboratoire ou sur le terrain. Pour des questions de transport et de stockage, il peut être préférable de la réaliser sur le terrain.

La taille finale de l'échantillon après réduction ne pourra être inférieure à la taille minimale d'un échantillon élémentaire.

2.1.2.1. Réduction d'un échantillon par quartage

L'échantillon global est placé sur une surface propre et neutre vis-à-vis des paramètres à analyser. Un cône régulier est constitué au moyen d'une pelle composée d'un matériau neutre également. Ce cône est retourné plusieurs fois jusqu'à homogénéisation du tas. Le nouveau cône ainsi constitué est divisé en quatre secteurs de volume identique. Les deux secteurs diamétralement opposés sont conservés et mélangés à nouveau pour reconstituer un cône régulier. On procède ainsi de suite jusqu'à obtenir le volume d'échantillon souhaité.



Si plusieurs échantillons sont nécessaires, les deux secteurs non retenus sont à nouveau mélangés et l'échantillon est réduit jusqu'à obtention de la masse nécessaire pour un deuxième échantillon. Il convient de répéter ce processus jusqu'à obtention du nombre d'échantillons requis.

2.1.2.2. Réduction d'un échantillon au moyen d'une échantillonneuse diviseuse

Une échantillonneuse diviseuse est constituée de deux bacs récoltants alimentés par des trémies croisées ; l'ouverture des trémies doit être supérieure à trois fois la taille particulaire maximale. L'échantillon est passé sur les trémies de façon à obtenir deux échantillons d'un volume équivalent. Seul le produit d'un seul bac est conservé. Le procède est répété jusqu'à obtention d'un échantillon de taille souhaitée. Cette méthode ne convient pas pour des matériaux humides.

Il est important de veiller à ce que ce type d'outillage soit propre préalablement à son utilisation.

2.2. Dénomination des échantillons

Le système de dénomination des échantillons est laissé à l'appréciation du producteur. Ce système doit permettre une identification univoque des échantillons et du point de prélèvement en coordination avec le laboratoire d'analyse.

2.3. Conditionnement et flaconnage

Les flacons utilisés sont clairement étiquetés et conformes aux exigences du laboratoire qui effectuera les analyses. Il est conseillé de conditionner certains flacons avec des réactifs stabilisants toujours en accord avec le laboratoire.
La définition des exigences en matière de flaconnage et de conditionnement se base sur les tableaux suivants.

2.3.1. Solides

Paramètres minéraux et assimilés

Groupe	Paramètres concernés	Flaconnage	Conditionnement	Remarques
Métaux S	As, Cd, Cr_{tot}, Cr^{VI}, Cu, Hg, Ni, Pb, Zn, CN_{libre}, CN_{total}	PE – PP - Verre	-	-
Matière sèche	Matière sèche	PE – PP - Verre	-	-
Paramètres Amendements de sols agricoles	Paramètres amendants N-NO_2 / N-NO_3 / N_{tot} / NH_4OH / P_2O_5 / MgO	Sachet ou seau en PEHD	-	-
Valeur neutralisante S	Valeur neutralisante	PE - Verre	-	-
Perte au feu S	Perte au feu à 550 °C	PE - Verre	-	-
Fluor S	Fluor total	PE – PP	-	-
Lixiviat S	Essai de lixiviation	Sachet ou seau en PEHD, PE ou PP - Verre	-	-
pH – conductivité	pH – conductivité	Sachet ou seau en PEHD, PE ou PP - Verre	-	-

Paramètres organiques

Groupe	Paramètres concernés	Flaconnage	Conditionnement	Remarques
Volatils S	Benzène, Toluène, Ethylbenzène, Xylènes, Styrène, Solvants chlorés, MTBE, Hydrocarbures C5-C11	Verre coloré	-	Flacon rempli au maximum ou flacon taré avec solvant
Phénol S	Phénol	Verre coloré	-	-
HAP S	Hydrocarbures aromatiques polycycliques	Verre coloré	-	-
C10-C40 S	Hydrocarbures pétroliers C10-C40	Verre coloré	-	-
Perte au feu S	Perte au feu à 550 °C	PE - Verre	-	-

Matière organique S	Carbone organique	PE – PP – Verre	-	-
PCB S	Polychlorobiphenyls	Verre	-	-
Pesticides S	Pesticides organochlorés	Verre	-	-

2.3.2. Sédiments

Le conditionnement des sédiments est réalisé dans des seaux en PE aussi bien pour les paramètres minéraux que les paramètres organiques. Les seaux sont munis d'un couvercle.

2.3.3. Eaux

Paramètres minéraux

Groupe	**Paramètres concernés**	**Flaconnage**	**Conditionnement**	**Remarques**
Anions E	Cl^-, F^-, NO_3^-, SO_4^{--}	PE – PP	-	-
Cyanures E	Cyanures libres, cyanures totaux	PE – PP	NaOH (pH > 12)	-
DBO	Demande biologique en oxygène	PE – PP	-	-
DCO	Demande chimique en oxygène	PE – PP	H_2SO_4 (pH < 2)	-
MES	Matières en suspension	PE – PP – Verre	-	Ne pas remplir le flacon complètement pour homogénéiser
Métaux 1 E	As, Cd, Cr_{tot}, Cu, Ni, Pb, Zn	PE – PP	HNO_3 (pH < 2)	-
Métaux 2 E	Cr VI	PE – PP	-	-
Métaux 3 E	Hg	Verre coloré	$K_2Cr_2O_7/HNO_3$	AAS-Vapeur froide
Métaux 3 E	Hg	Verre coloré	$Br^{--}BrO_3^-/HCl$	Fluorescence atomique-Vapeur froide
Nutriants	NO_2^-, NH_4^+, ortho-P, $N_{Kjeldahl}$	Verre coloré	$CHCl_3$	-

Paramètres organiques

Groupe	Paramètres concernés	Flaconnage	Conditionnement	Remarques
Volatils E	Benzène, Toluène, Ethylbenzène, Xylènes, Styrène, Solvants chlorés	Verre avec septum	Hydrogénosulfate de sodium pentahydraté	-
Volatils E	MTBE, Hydrocarbures C5-C11	Verre avec septum	-	-
Phénol E	Phénol	Verre coloré	H_3PO_4 (pH = 4)	-
HAP E	Hydrocarbures aromatiques polycycliques	Verre coloré	-	-
C10-C40 E	Hydrocarbures pétroliers C10-C40	Verre coloré	-	Laisser 50 ml libres pour incorporer le solvant ou rincer la bouteille au solvant.
PCB E	Polychlorobiphenyls	Verre coloré	-	-
Pesticides E	Pesticides organochlorés	Verre coloré	-	-

2.4. Remplissage, transport et conservation

Pour les eaux, les flacons non préconditionnés sont rincés avec l'eau du point de prélèvement avant le remplissage. En général, les flacons sont remplis à ras bord sauf contre-indication du laboratoire. Il faut veiller à ce qu'il n'y ait pas de bulle d'air dans le flacon.

Sur le terrain, les échantillons sont conservés au frais dans une enceinte réfrigérée entre 2 et 8 °C. Une glacière avec glaçons à -18 °C peut suffire moyennant le respect de quelques précautions (conserver à l'ombre, limiter le nombre d'ouvertures,…).

Pendant le transport et pendant le stockage transitaire éventuel, la température dans l'enceinte frigorifique est contrôlée en continu de manière à vérifier que les conditions de conservation sont respectées. Il en est de même pour les conditions de stockage au laboratoire avant et après analyses.

Les échantillons sont déposés au laboratoire dans des délais compatibles avec ceux exigés par les analyses.

P-2V2 – MÉTHODE DE PRÉLÈVEMENT DES EAUX DE SURFACE

1. Introduction

Il peut être intéressant de caractériser un cours d'eau traversant un site pollué de manière à évaluer l'impact de ce site sur le cours d'eau en question.

Le ou les prélèvements seront réalisés dans une zone de courant homogène.

2. Dénomination des échantillons

On se référera à la méthode P-10 décrivant les prescriptions en la matière.

3. Conditionnement et flaconnage

Le flaconnage, clairement étiqueté, est constitué de flacons conformes aux exigences du laboratoire qui effectuera les analyses. Il est conseillé de conditionner certains flacons avec des réactifs stabilisants toujours en accord avec le laboratoire.

On se référera à la méthode P-1 décrivant les prescriptions en la matière.

4. Matériel, prélèvement et remplissage

De manière générale, l'ensemble du matériel utilisé pour le prélèvement est constitué d'un matériau n'affectant pas le résultat des analyses demandées.

Les flacons non préconditionnés sont rincés avec l'eau du point de prélèvement avant remplissage. En général, les flacons sont remplis à ras bord sauf contrindication du laboratoire.

4.1. Échantillon ponctuel

Lorsque le point d'échantillonnage n'est pas directement accessible, on peut être amené à mettre en œuvre du matériel de prélèvement soit par puisage, soit par pompage. Le matériel sera soigneusement rincé avec l'eau du point avant tout remplissage de flacons.

En cas d'accessibilité, il est conseillé de remplir les flacons directement dans le flux en veillant à se placer à l'aval courant afin d'apporter le moins de perturbations possible. Chaque flacon est immergé à la profondeur désirée ; le bouchon est alors retiré. Le goulot est dirigé vers l'amont. Les flacons pré conditionnés seront toutefois remplis à l'aide d'un cruchon afin d'éviter une dilution du conditionnement par débordement.

Un échantillon ponctuel est fortement sujet aux effets de pépites.

ORIGINAL 2014

4.2. Échantillon composite

Afin de se prémunir autant que faire ce peut des effets de pépites, il est conseillé de constituer un échantillon composite qui couvrira une plage de temps ou de flux représentative de la variabilité supposée ou avérée.

Pour ce faire, on utilisera un échantillonneur automatique équipé d'une pompe péristaltique ; il sera réfrigéré à 4 °C.

5. Paramètres physico-chimiques

Lorsque les mesures des paramètres physico-chimiques sont demandées, elles sont effectuées dans un récipient ouvert sans simultanéité et dans l'ordre suivant :

- mesure de la conductivité,
- mesure du pH,
- mesure de la teneur en oxygène dissous.

La température est saisie sur la sonde de mesure de la conductivité. La mesure de la turbidité est réalisée sur des échantillons prélevés directement et indépendamment.

6. Filtration

Si l'analyse des métaux dissous est demandée, le flacon correspondant est rempli avec de l'eau filtrée à 0.45 µm. Cette filtration doit avoir lieu sur le terrain autant que possible. La méthodologie est la suivante :

- mesurer la turbidité (NTU) ;
- filtrer sur le terrain sur filtre à 0.45 µm. La façon la plus simple de procéder est de filtrer au moyen d'une seringue équipée du filtre adéquat. Les filtres seront à usage unique et seront renouvelés autant de fois que nécessaire pour remplir le flacon concerné ;
- si la filtration n'a pu avoir lieu sur le terrain (turbidité excessive par exemple), l'échantillon est dirigé vers le laboratoire dans un flacon **non acidifié** ; la filtration est alors effectuée au laboratoire dans les meilleurs délais ; ce délai est noté dans le rapport d'analyse.

Pour les autres paramètres concernant les eaux de surface, il n'y a pas de filtration.

7. Géoréférencement des points de prélèvement

On se référera à la méthode P-8 décrivant les prescriptions en la matière.

ORIGINAL 2014

8. Conservation et transport

On se référera à la méthode P-1 décrivant les prescriptions en la matière.

9. Référence

ISO 5667-6.

ORIGINAL 2014

P-3V2 – MÉTHODE DE FORAGE ET D'ÉQUIPEMENT DE PIÉZOMÈTRES DANS L'OPTIQUE DE LA CARACTÉRISATION GLOBALE D'UN SITE POTENTIELLEMENT POLLUÉ

1. Domaine d'application

Cette présente méthode ne concerne que le forage et l'équipement de piézomètres dans l'optique de la caractérisation d'un site potentiellement pollué et plus particulièrement des eaux souterraines et des gaz situés sous l'emprise ou à proximité de ce site. Elle ne concerne donc pas le forage et l'équipement de puits ayant pour finalité la production d'eau, le drainage, la caractérisation hydrogéologique de l'aquifère ou géomécanique du sous-sol.

Cette méthode n'aborde pas non plus les considérations préalables indispensables qui amènent à définir une stratégie d'échantillonnage.

ORIGINAL 2014

2. Dénomination des ouvrages

On se référera à la méthode P-10 décrivant les prescriptions en la matière.

3. Technique de forage

Le choix de la technique de forage utilisée est lié à la nature des formations géologiques ou entropiques à traverser et aux dimensions de l'ouvrage (diamètre et profondeur).

De manière générale, les techniques utilisées pour la mise en place de tels ouvrages devront éviter de perturber toute pollution en place, par le déplacement de celle-ci, ou par son augmentation par la mise en œuvre de fluides de forage.

Le tableau en annexe 1 donne une idée des avantages et inconvénients liés à certaines techniques usuelles.

3.1. Formations meubles en général

Dans ce type de formations, les terrains tiennent généralement bien dans la zone non saturée en eau ; par contre, une fois dans la zone saturée, ils perdent leur cohésion et le trou devient boulant. La technique du forage la mieux adaptée est le battage d'une gouge ou cuiller à sec avec tubage à l'avancement. De surcroît, cette technique convient également pour récupérer les échantillons de sol pour une caractérisation chimique.

3.2. Formations cohérentes

Si la nappe à échantillonner se trouve en terrains cohérents, il est généralement utile de mettre en place un avant-puits pour stabiliser les terrains de couverture (voir point 5).

Certaines techniques de forage en terrains cohérents mettent en œuvre des lubrifiants de forage (boues ou mousses) ou des fluides (air) de transport pour assurer la remontée des déblais. Seule la technique à l'air est autorisée. Cette technique ne permet qu'une analyse visuelle des terrains traversés et ne permet pas la récupération d'échantillons à soumettre à des analyses chimiques.

4. Prévention des pollutions

4.1. Par le matériel mis en œuvre

Le matériel mis en œuvre utilise des hydrocarbures comme carburant, lubrifiant ou fluide hydraulique. La maîtrise de ces fluides doit être complète ; pour s'en assurer, il convient :

- de débuter le chantier de forage avec une machine propre ;
- de vérifier que les raccords hydrauliques et les bourrages des vérins sont étanches ;
- de maintenir le matériel et les accessoires de forage propres.

Afin de parer à une avarie, un sac de matière absorbante sera tenu à disposition de manière à limiter l'étendue d'une perte accidentelle de fluides.

Les filets des tiges de forage seront secs ou enduits d'une graisse biodégradable. La fiche descriptive du produit sera fournie en annexe du rapport.

Les pleins ou appoints en carburant ou autres substances hydrocarbonées seront effectués dans un endroit approprié à l'écart des points désignés pour les forages.

4.2. Par le forage en lui-même

Les déblais excédentaires du forage, qui n'ont pas contribué au remblayage du puits, seront entreposés dans des contenants adéquats pour assurer leur conservation en attendant un éventuel transport vers un lieu d'élimination. Cette élimination sera confirmée par l'autorité.

4.3. Entre nappes superposées

Si deux nappes sont superposées, on veillera à ne pas les mettre en communication afin d'éviter toutes contaminations croisées.

Si seule la nappe supérieure est ciblée, le forage devra s'arrêter au sommet de l'horizon étanche de séparation. Si d'aventure cet horizon venait à être percé, il faut rapidement remblayer le puits avec de l'argile gonflante jusqu'à la base de la nappe supérieure.

Si seule la nappe inférieure est ciblée, on forera un avant-puits afin d'isoler la nappe supérieure (voir point 5).

ORIGINAL 2014

5. Avant-puits

L'avant-puits à large diamètre n'est en principe éventuellement nécessaire que lors de l'exécution de puits profonds (profondeur supérieure à 20 m) et dans deux cas de figures :

- pour traverser les terrains meubles boulants et arriver sur les formations cohérentes potentiellement aquifères ;
- pour soustraire une tranche de terrains aquifères ou non du forage piézométrique proprement dit (cas de deux nappes superposées par exemple).

Le trou est alors équipé d'un tubage perdu d'un diamètre légèrement inférieur au diamètre de forage. L'espace annulaire est rempli par au moins un mètre d'argile gonflante à la base (granulés ou poudre en vrac) et est cimenté sur le reste de la hauteur par injection d'un mélange de ciment Portland (2/3) et d'eau (1/3). Après prise, le forage est continué avec un diamètre inférieur.

6. Géométrie de l'ouvrage piézométrique

Indépendamment de la présence d'un éventuel avant-puits, la géométrie de l'ouvrage proprement dit est dictée par la profondeur et la puissance de la nappe à atteindre, par la nature des terrains à traverser et par la disponibilité de techniques de forage adéquates.

La profondeur de l'ouvrage est fonction des objectifs à atteindre en matière de prélèvement. Ces objectifs peuvent ne viser que la couche de sur nageant éventuelle, la nappe en moyenne, une couche plus dense ou un horizon particulier.

Il est parfois utile de prolonger le forage dans le socle imperméable sur un à deux mètres afin de constituer un piège à sédiments.

Dans le présent contexte, il est utile de minimiser le diamètre de forage, celui-ci déterminant en principe le volume de purge recommandé. Toutefois, il faut tenir compte :

- d'un diamètre minimum du tubage piézométrique afin de pouvoir mettre en place le matériel de pompage adéquat en maintenant un espace annulaire libre suffisant pour limiter les pertes de charges ;
- de l'espace à réserver au massif filtrant entre le tubage piézométrique et le diamètre extérieur de forage.

7. Équipement piézométrique

Les matériaux qui participent à l'équipement du puits, que ce soit le tubage piézométrique ou les matériaux de comblement ou de remplissage (bouchon, filtre) doivent être neutres vis-à-vis du milieu et des paramètres analytiques suivis.

ORIGINAL 2014

7.1. Tubage piézométrique

Matière

Les tubages piézométriques sont habituellement fabriqués en acier, en PVC ou en PEHD. C'est le PEHD qui présente le plus d'intérêt dans la présente optique.

Diamètre

Le diamètre du tubage piézométrique est égal à environ la moitié de celui du forage dans l'aquifère. Toutefois, l'espace annulaire entre le tubage piézométrique et les parois du forage doit être suffisant pour mettre correctement en place le massif filtrant. Le diamètre sera donc adapté en conséquence.

Tubes crépinés - tubes aveugles

Les crépines ont théoriquement une ouverture optimale en rapport avec la granulométrie du terrain concerné. Dans les puits peu profonds, étant donné que les débits de purge seront faibles, il est prudent de choisir intentionnellement une largeur de fente faible (0.1 à 0.5 mm) afin de garantir une meilleure filtration dans les terrains fins. Dans les puits plus profonds et en terrains cohérents, la largeur de fente peut être plus large (1 à 2 mm). Les crépines seront installées depuis le fond du puits jusqu'à un mètre au dessus du niveau d'eau au moins, voire sur toute la hauteur de l'aquifère. Elles seront prolongées par du tubage aveugle de même diamètre jusqu'en surface. On peut envisager la mise en place d'une chaussette autour de la crépine, cette chaussette réduisant le risque de colmatage. Dans un piège à sédiments, le tubage est aveugle.

Pour les piézomètres de plus de 5 mètres de profondeur, seuls des tubes vissés à sec ou soudés sont admis ; pour les piézomètres de 5 mètres et moins de profondeur, les tubes emboités sont admis. Dans tous les cas, les tubes collés sont exclus. Ils sont équipés d'un bouchon de fond qui sera éventuellement bétonné sur une faible hauteur.

Certaines études ciblant des horizons précis imposeront la mise en place de tubes crépinés à des profondeurs précises. Le reste du tubage sera alors réalisé avec du tubage aveugle.

7.2. Matériaux de remplissage

Massif filtrant

Le massif filtrant est mis en place dans l'espace annulaire sur toute la hauteur crépinée augmentée de 10 % pour couvrir le tassement. Il est constitué d'un sable ou d'un gravier criblé dont la taille de la plus petite particule aura un diamètre deux fois supérieur au moins à la largeur de fente du tube crépiné. Le coefficient d'uniformité $C_u = d_{60}/d_{10}$ sera inférieur à 2 (d_{60} diamètre de grain correspondant à 60 % de la matière passante - d_{10} diamètre de grain correspondant à 10 % de la matière passante).

La composition chimique du sable n'aura pas d'incidence sur celle de l'eau.

ORIGINAL 2014

Bouchon d'argile gonflante

Un bouchon d'argile gonflante (bentonite en vrac ou en granulés) est mis en place dans l'espace annulaire au dessus du massif filtrant sur au moins un mètre si possible. Le coefficient de gonflement de l'argile sera d'au moins trois.

La composition chimique de l'argile n'aura pas d'incidence sur celle de l'eau.

Remblayage

Le solde de la hauteur de l'espace annulaire non encore comblé est remblayé avec les matières extraites du forage qui correspondent aux mêmes profondeurs.

7.3. Protection de surface

Selon les cas, les piézomètres seront terminés, soit par un couvercle de sécurité hors sol, soit par un pot de rue au ras du sol. Le dispositif sera cimenté dans un socle dans le sol ou débordant. Ce socle aura les dimensions approximatives de 50 x 50 x 15 cm³. La protection de surface sera étanche aux eaux de ruissellement et devra apporter une sécurisation suffisante afin d'éviter des pollutions volontaires après installation de l'ouvrage.

ORIGINAL 2014

8. Nettoyage du puits

Directement après l'équipement du puits, on procède à un nettoyage sous la forme d'un pompage de purge. La pompe est placée dans le fond et le débit réglé afin d'obtenir un rabattement maximum. En cas de mauvaise alimentation, le puits est purgé complètement.

Le nettoyage du puits peut également être effectué par "air-lift".

9. Présence de gaz

Si la présence de gaz est suspectée ou recherchée, on se référera au CWBP (cahier n° 2 &2.3.12.5.6.) qui décrit les exigences complémentaires en la matière.

10. Géoréférencement des ouvrages

On se référera à la méthode P-8 décrivant les prescriptions en la matière.

11. Abandon de l'ouvrage

La condamnation d'un piézomètre se fait en le remplissant sur toute la hauteur piézométrique plus 1 mètre d'une argile gonflante d'un coefficient de gonflement de 3 au moins. Le reste de la colonne est cimenté par un mélange de ciment Portland (2/3) et d'eau (1/3). Après prise, le (ou les) tubage(s) est (sont) recoupé(s) au niveau du sol.

12. Rapport

Trois rapports types sont joints en annexe 2. Les couches traversées seront décrites selon la méthode P-7 décrivant les prescriptions en la matière.

13. Références

Méthode AFNOR FD X 31-614.

ANNEXES

Annexe 1 : Récapitulatif des avantages et inconvénients de quelques techniques de forages piézométriques.

Annexe 2 : Rapports types.

ORIGINAL 2014

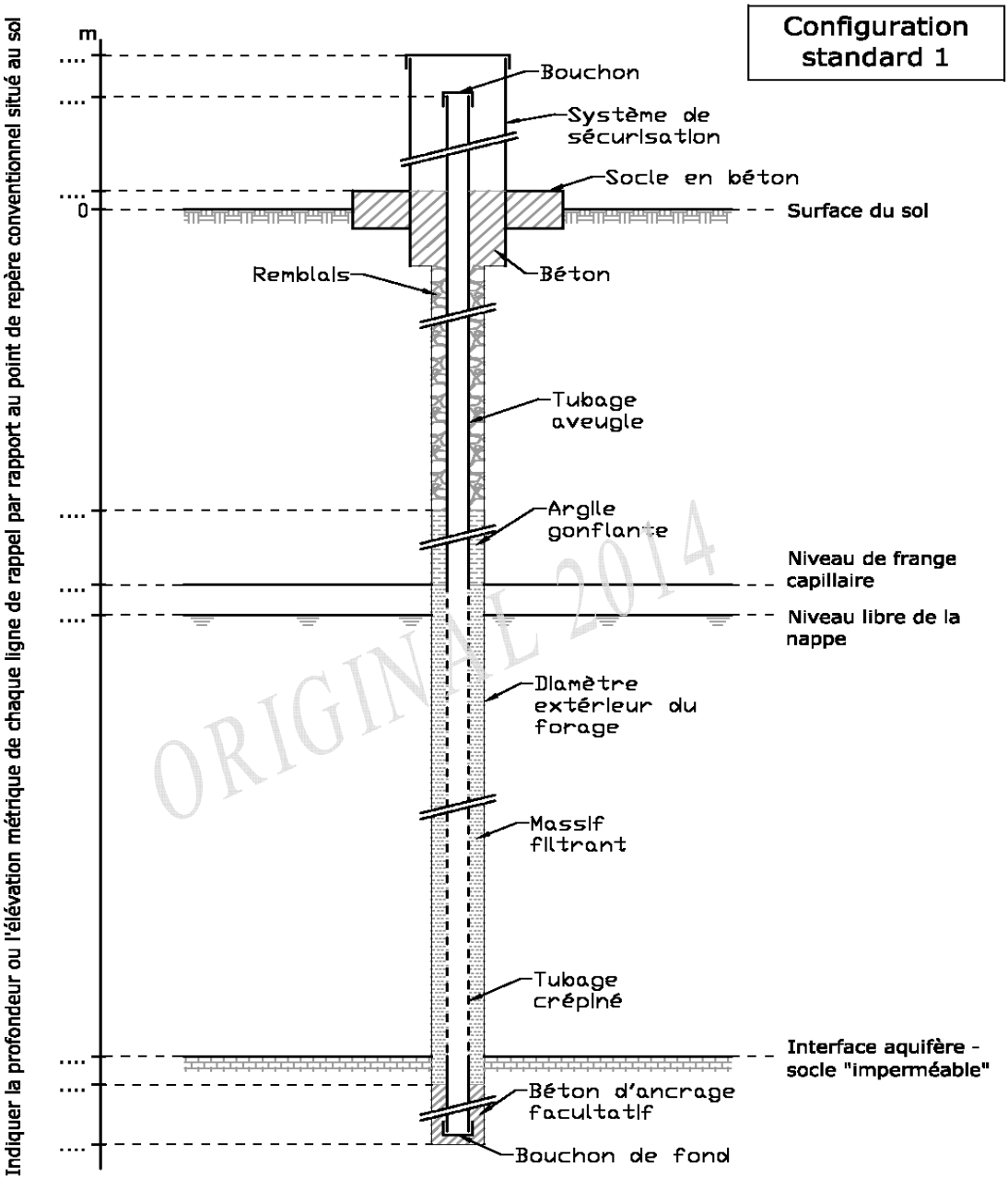
Récapitulatif des avantages et inconvénients de quelques techniques de forages piézométriques

Matériel principal	Terrains meubles	Terrains rocailleux	Sous eau	Échantillon	Fluide
Tarière manuelle	+/-	---	Si meuble et cohésif	+	Néant
Tarière mécanique pleine	+	+	-	---	Néant
Tarière mécanique creuse	+	+	+	+	Néant
Battage mécanique à la gouge	+++	+	+/-	+	Néant
Battage mécanique avec gouge et tubage à l'avancement	+++	+	+++	+++	Néant
Marteau fond de trou ou hors trou	-	+	-	---	Oui
Carottage	+	+++	+/-	+++/---	Oui
Battage direct du tube piézométrique	+	-	+	Néant	Néant

ORIGINAL 2014

Identification de l'ouvrage :

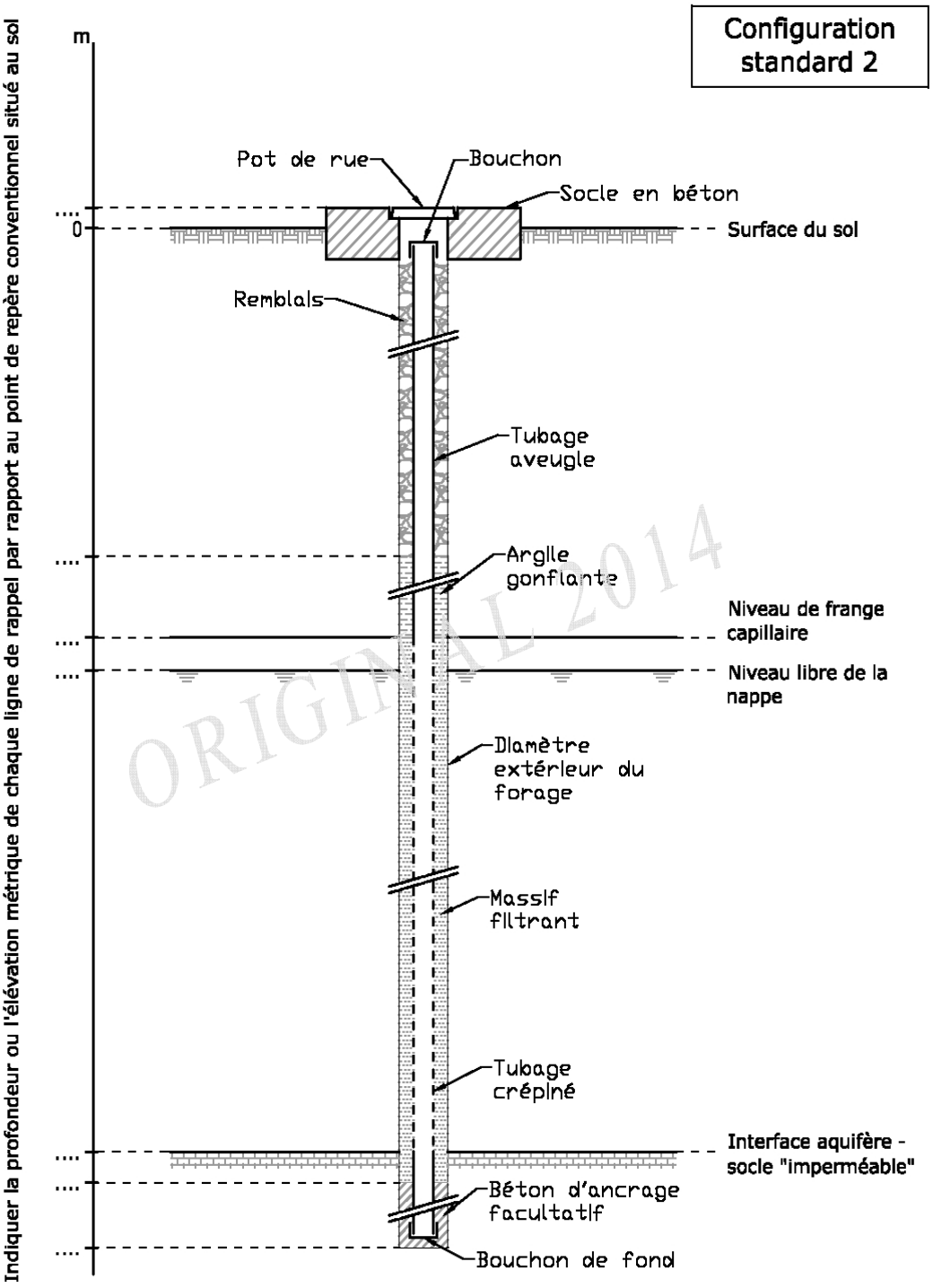
Configuration standard 1



ORIGINAL 2014

Descriptif des tubages (en mètres)	Descriptif des matières
Diamètre du forage piézométrique :	Nature des remblais : .....
Diamètre du tubage piézométrique :	Nature de l'argile gonflante (type - indice de gonglement) : .....
Ouverture des crépines :	Nature du massif filtrant (type - C_u) : .....

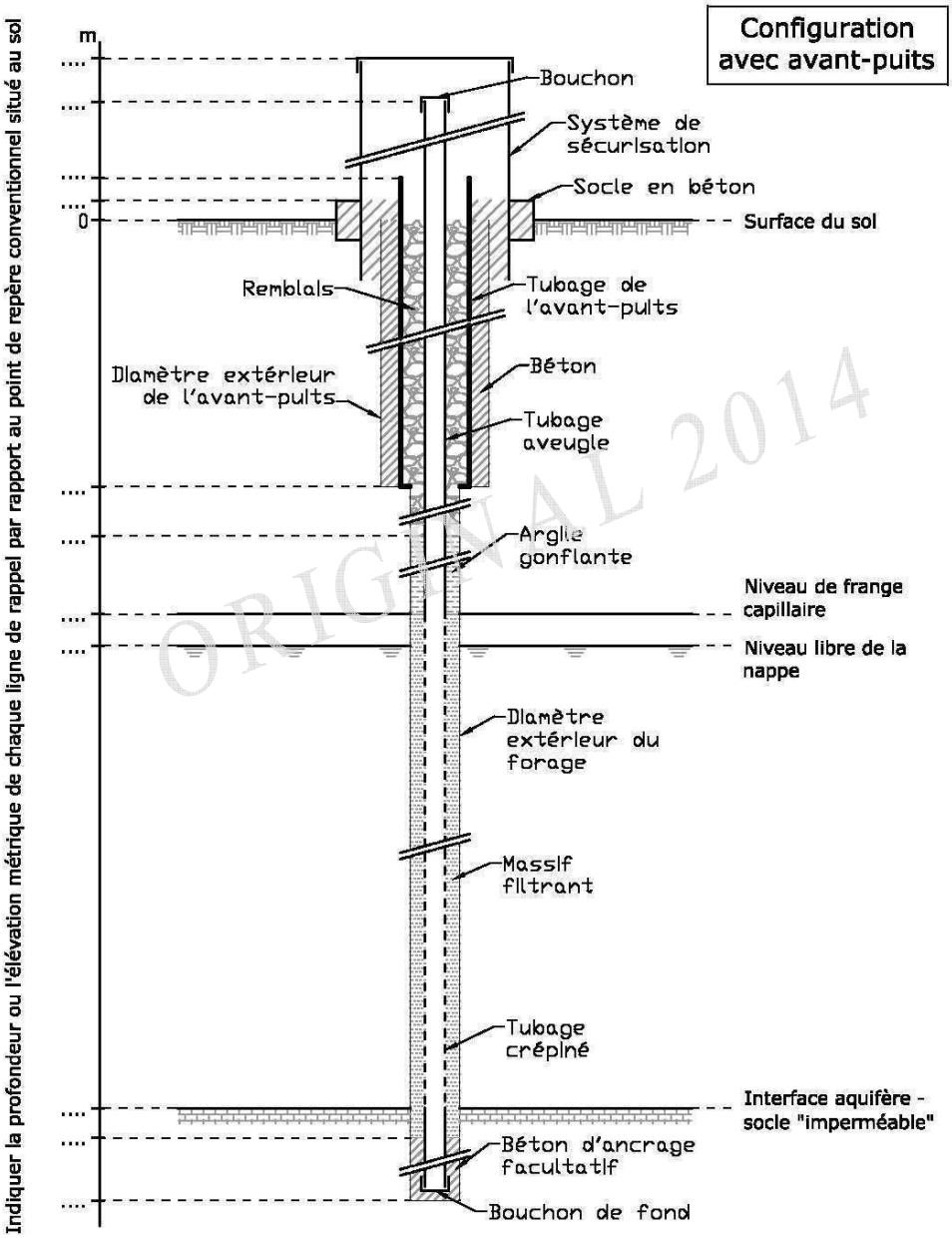
Identification de l'ouvrage :



ORIGINAL 2014

Descriptif des tubages (en mètres)	Descriptif des matières
Diamètre du forage piézométrique :	Nature des remblais : .....
Diamètre du tubage piézométrique :	Nature de l'argile gonflante (type - indice de gonglement) : .....
Ouverture des crépines :	Nature du massif filtrant (type - C_U) : .....

Identification de l'ouvrage : .....



ORIGINAL 2014

Descriptif des tubages (en mètres)	Descriptif des matières
Diamètre de l'avant-puits :	Nature des remblais : .....
Diamètre du tubage de l'avant-puits :	Nature de l'argile gonflante (type - indice de gonglement) : .....
Diamètre du forage piézométrique :	Nature du massif filtrant (type - C_u) : .....
Diamètre du tubage piézométrique :	
Ouverture des crépines :	

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
P-4	4	20/01/2022
Méthode de prélèvement des eaux souterraines dans les aquifères non superficiels		

Domaine d'application		
Matrice	Eaux souterraines	
Référence normative	NF X 31-615 ISO 5667-11 (part 11)	2017 2009

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Introduction

Pour caractériser correctement une eau souterraine, il faut s'assurer que l'échantillon prélevé provient directement de l'aquifère; en effet, une eau qui a séjourné longtemps dans un puits ou un piézomètre, voit ses propriétés physico-chimiques fortement modifiées.

Pour éviter ce phénomène, il faut renouveler l'eau contenue dans l'ouvrage en réalisant une purge plus ou moins longue en fonction du débit de pompage et du volume à renouveler.

Toutes les données du pompage sont reprises sur un rapport de prélèvement dont on trouvera le modèle en annexe.

2. Dénomination des échantillons

On se référera à la méthode P-10 décrivant les prescriptions en la matière.

3. Niveau piézométrique

Avant toute intervention, le niveau d'eau est mesuré au moyen d'une sonde piézométrique. Le point de repère est clairement identifié; en général, il correspond au sommet du tubage piézométrique voire du tubage de protection. Idéalement, ce point de repère sera géoréférencé avec une précision pentacentimétrique en altitude et décimétrique en plan.

Lorsque le contexte historique l'exige, on peut constater la présence ou l'absence d'une couche surnageante significative au moyen d'une sonde piézométrique d'interface. En cas de présence avérée, l'immersion d'une pompe entraînera une pollution de celle-ci.

Pendant le pompage, le niveau piézométrique est suivi en continu, voire séquentiellement. Les mesures en fonction du temps sont reprises sur le rapport de pompage.

4. Pompes et accessoires

Les caractéristiques de la pompe sont adaptées aux propriétés du puits (diamètre essentiellement) et de l'aquifère (perméabilité, profondeur piézométrique). Les pompes les plus utilisées ont un diamètre de 2 voire 3 pouces (50 à 75 mm). Dans le cas d'un puits complet ou assimilé, sauf exigences particulières, la pompe est immergée à mi-hauteur noyée. Dans le cas d'un puits traditionnel, la pompe est placée au plus près du fond en évitant de remobiliser l'éventuel dépôt.

L'ensemble de la ligne de prélèvement est constituée d'un matériau n'affectant pas le résultat des analyses demandées.

5. Paramètres physico-chimiques

5.1. Mesures

Pendant toute la durée du pompage, les paramètres pH, t° et conductivité sont mesurés en continu ou séquentiellement (par exemple toutes les 5 minutes), idéalement dans une cellule fermée, voire dans un récipient ouvert; dans ce cas, le récipient servant à la mesure sera alimenté avec l'eau de pompage en évitant toute agitation. L'oxygène dissous et la turbidité sont également mesurés à titre indicatif.

Lorsque ces mesures sont effectuées en cellule fermée, les sondes sont placées d'amont en aval dans l'ordre suivant :

- sonde de mesure de la conductivité,
- sonde de mesure du pH,
- sonde de mesure de la teneur en oxygène dissous.

La température est saisie sur la sonde de mesure de la conductivité. La mesure de la turbidité est réalisée sur des échantillons prélevés en ligne.

Lorsque les mesures sont effectuées dans un récipient ouvert, les mesures sont effectuées dans le même ordre sans simultanéité.

Les mesures en fonction du temps sont reprises sur le rapport de pompage.

5.2. Critère de stabilisation des paramètres de base

On considère le critère de stabilisation des paramètres physico-chimiques de base comme atteint lorsque les écarts relatifs sur chacun des trois paramètres, sur deux valeurs séparées par 10 minutes, sont inférieurs à 1 % depuis au moins 10 minutes. Un exemple de rapport est fourni en annexe.

6. Volumes de rinçage, de purge et de prélèvement

On distingue le volume de rinçage, le volume de purge et le volume analytique.

6.1. Volume de rinçage

Le volume de rinçage correspond à la circulation d'une quantité jugée suffisante d'eau à prélever pour rincer la ligne de prélèvement dans sa totalité et ainsi limiter les contaminations éventuelles dues aux prélèvements antérieurs. Il est fixé arbitrairement à 250 litres pour une pompe de 2 pouces et à 1500 litres pour une pompe de 3 pouces. Dans le cas de la mise en œuvre d'un matériel à usage unique, le rinçage n'est pas de mise.

ISSeP
Institut scientifique de service public

6.2. Volume de purge

Le volume de purge correspond à la quantité d'eau pompée afin de renouveler l'eau située dans l'ouvrage pour satisfaire aux critères de prélèvement. Le volume conseillé de purge est arbitrairement fixé à 3 fois le volume d'eau contenu dans le forage avant pompage, massif filtrant compris.

En négligeant l'épaisseur du tubage piézométrique, il peut être calculé par la formule suivante :

$$VP_{cs} = 3 * \frac{\pi}{4} \{(\Phi_f^2 - \Phi_p^2) * 0{,}25 + \Phi_p^2\} * Hn * 1000$$

avec VP_{cs} : le volume de purge conseillé exprimé en litres,
Φ_f : le diamètre du forage exprimé en mètres,
Φ_p : le diamètre du tube piézométrique exprimé en mètres,
Hn : la hauteur noyée du forage exprimée en mètres,

en considérant une porosité efficace du filtre situé dans l'espace annulaire de 25 %.

Le tableau suivant donne le volume de purge conseillé par mètre noyé pour quelques diamètres types.

Diamètre du forage (m)	Diamètre du tube piézométrique (m)	Volume de purge conseillé par mètre noyé (litres)
0,06	0,030	3,7
0,1	0,050	10
0,15	0,050	17
0,20	0,050	28
0,25	0,075	47
0,25	0,100	54
0.25	0,125	64

Si le diamètre du forage est inconnu, on lui donnera arbitrairement une valeur égale à 2 fois le diamètre du tubage piézométrique.

La formule se simplifie alors :

$$VP_{cs} = 3 * \frac{\pi}{4} (1{,}75\Phi_p^2) * Hn * 1000$$

donc

$$VP_{cs} = 4123\ \Phi_p^2 * Hn$$

Wallonie

6.3. Volume analytique

Le volume analytique est le volume nécessaire au remplissage de l'ensemble des flacons à fournir au laboratoire pour assurer l'entièreté du programme prévu.

7. Débit de pompage

Le choix d'un débit de pompage est très souvent le résultat d'un compromis entre le temps que l'on peut consacrer à la purge et le rabattement induit.

Il est conseillé de ne pas excéder 20% de rabattement par rapport à la hauteur noyée; au-delà, la formation aquifère risque de se nettoyer et on risque de voir la turbidité augmenter. Dans ce cas, diminuer le débit afin de stabiliser le rabattement à la valeur maximum.

Le débit peut être mesuré au moyen d'un débitmètre électromagnétique, volumétrique, par empotement avec un volume d'empotement adapté au débit. L'utilisation d'un déversoir peut également être envisageable.

Noter tous les événements concernant les changements éventuels de débits sur le rapport.

8. Prélèvement

Les conditions autorisant la prise d'échantillons sont les suivantes :

- le volume de la purge correspond au moins au volume de rinçage (critère impératif);

et

- le volume de la purge correspond au moins au volume conseillé,

ou

le critère de stabilisation des trois paramètres physico-chimiques de base (pH, t° et conductivité) est atteint.

Si besoin et afin d'éviter un excès de turbulences et des débordements, le débit de pompage est diminué de moitié lors du remplissage des flacons de prélèvement.

9. Filtration

Dans le cas des aquifères non superficiels, la filtration est interdite en particulier dans le contexte du suivi des centres d'enfouissement technique. Si toutefois celle-ci est demandée (pour le dosage des métaux dissous par exemple), elle doit être clairement renseignée dans le rapport. Cette filtration doit avoir lieu sur le terrain autant que possible.

La méthodologie est alors la suivante :

- mesurer la turbidité (NTU) ;
- filtrer sur le terrain sur filtre à 0.45 µm. La façon la plus simple de procéder est de filtrer au moyen d'une seringue équipée du filtre adéquat. Les filtres seront à usage unique et seront renouvelés autant de fois que nécessaire pour remplir le flacon concerné ;
- si la filtration n'a pu avoir lieu sur le terrain (turbidité excessive par exemple), l'échantillon est dirigé vers le laboratoire dans un flacon **non acidifié** ; la filtration est alors effectuée au laboratoire dans les meilleurs délais ; ce délai est noté dans le rapport d'analyse.

10. Cas particulier : surnageants ou plongeants

La présence de sur-nageants ou de sous-nageants change la façon d'appréhender la problématique de la caractérisation d'une nappe; en effet, un prélèvement classique, tel qu'envisagé jusqu'à présent dans la présente méthode, entraînerait une remobilisation de ces pollutions sans pour autant apporter d'informations quantitativement valables. On se trouve donc confronté, non plus à une caractérisation de la masse aquifère (pollution diffuse), mais bien à une caractérisation de la zone concernée par la pollution concentrée. Il est donc interdit de purger un piézomètre qui est concerné par le présent paragraphe.

10.1. Caractérisation quantitative

L'estimation de l'épaisseur de cette couche peut être constatée par une sonde d'interface qui est sensible à des contrastes de conductivités et d'indices de réfraction. Cela suppose que le polluant soit peu conducteur, ce qui est généralement le cas. La sonde doit donc traverser entièrement la couche en question.

10.2. Caractérisation qualitative

Afin de déterminer la nature du polluant et son homogénéité verticale, on devra envisager des prélèvements de faible volume à différentes profondeurs en fonction de d'épaisseur constatée de la couche. Pour ce faire, on immergera une pompe à usage unique aux profondeurs en question et on procédera à un prélèvement après une courte purge correspondant au volume de la ligne de prélèvement multiplié par 1.5 afin de s'assurer que le liquide prélevé provient bien de la profondeur attendue. Le liquide de purge sera placé dans un conteneur adéquat et éliminé.

11. Conditionnement et flaconnage

Le flaconnage, clairement étiqueté, est constitué de flacons conformes aux exigences du laboratoire qui effectuera les analyses. Il est conseillé de conditionner certains flacons avec des réactifs stabilisants toujours en accord avec le laboratoire.

On se référera à la méthode P-1 décrivant les prescriptions en la matière.

ISSeP
Institut scientifique de service public

12. Remplissage, transport et conservation

On se référera à la méthode P-1 décrivant les prescriptions en la matière.

Afin d'éviter tout débordement des flacons lors du remplissage de ceux-ci, le débit de pompage sera diminué de moitié comme indiqué précédemment. Cependant, il est indiqué de procéder au remplissage à partir d'un by-pass dont le débit peut être ajusté indépendamment.

13. Géoréférencement des points de prélèvement

On se référera à la méthode P-8 décrivant les prescriptions en la matière.

14. Rapport

Un modèle de rapport est fourni en annexe ainsi qu'un exemple.

15. Informations de révisions

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont :
Ajout de la mention « Identification du préleveur » dans les annexes

ANNEXES

Modèle de rapport.
Exemple de rapport.

Wallonie

Institut scientifique de service public

Rapport de pompage

Identification du préleveur
Nom, Prénom :

Signature :

Agissant sous couvert de
(référence enregistrement/agrément) :

Identification du point
Référence du site :

Référence du point :

Date de prélèvement :

Données géométriques
Diamètre du tubage piézométrique (m) :
Diamètre de forage (m) :
Volume métrique de purge (m³) :
Nature du repère :
Hauteur repère/sol (m) :
Profondeur piézométrique/repère (m)
Profondeur ouvrage/repère (m) :

Instructions de pompage
Type de pompe :
Profondeur de la pompe (m) :
Volume de rinçage (m³) :
Volume de purge conseillé (m³) :
Débit pressenti (m³/h) :
Volume analytique (l) :

Temps	Compteur	V. total	Q	Prof. Pz	Δ	pH	t°	σ (20°C)	O2		Turb.	Remarque
(min)		(l)	(l/h)	(m)	(m)		(°C)	(µS/cm)	(%)	(mg/l)	(NTU)	compteur :
		-	-		-							

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

Rapport de pompage (Piézomètre non superficiel - exemple)

Identification du préleveur
Nom, Prénom :
A. DUPONT
Signature :
XXX
Agissant sous couvert de
(référence enregistrement/agrément)
PS00DGS2020_PRELEVEU
RSOL_
Dupont A

Identification du point
Référence du site :
2010RW0231C1
Référence du point :
PF03 Nature du repère :
Date de prélèvement :
12/07/2010

Données géométriques
Diamètre du tubage piézométrique (m) : 0,060 2"
Diamètre de forage (m) : 0,150
Volume métrique de purge (m³) : 0,020
sommet tube pz
Hauteur repère/sol (m) : 0,85
Profondeur piézométrique/repère (m) 3,36
Profondeur ouvrage/repère (m) : 15,00

Instructions de pompage
Profondeur de la pompe (m) : 9,18
Volume de rinçage (m³) : 0,25
Volume de purge conseillé (m³) : 0,23
Débit pressenti (m³/h) :
Volume analytique (l) : 3,00

Temps (min)	Compteur	V. total (l)	Q (l/h)	Prof. Pz (m)	Δ (m)	pH	t° (°C)	σ (20°C) (µS/cm)	O2 (%)	O2 (mg/l)	Turb. (NTU)	Remarques
0	0			3,36	0,000	7,08	16,7	943	60,0	6,70	100,00	
1	6	6	360	5,85	2,490	7,03	14,3	991	26,0	2,50	15,70	
2	18	18	720	6,38	3,020	7,04	14,1	1004	24,0	2,50	22,10	
3	23	23	300	6,72	3,360	7,03	14,1	1020	21,0	2,20	55,50	
4	31	31	480	6,92	3,560	7,02	14,1	1036	17,0	1,80	64,20	
5	39	39	480	7,06	3,700	7	14,1	1048	15,0	1,60	41,20	
10	79	79	480	7,27	3,910	6,99	14,1	1080	14,0	1,40	105,00	
15	114	114	420	7,34	3,980	6,94	14	1098	13,0	1,40	33,90	
20	149	149	420	7,35	3,990	6,98	13,9	1104	13,0	1,40	10,10	
25	185	185	432	7,39	4,030	6,97	13,9	1115	13,0	1,40	8,62	
30	206	206	252	7,41	4,050	6,96	13,9	1124	13,0	1,30	9,99	
35	233	233	324	7,42	4,060	6,98	13,9	1127	13,0	1,30	4,10	
40	269	269	432	7,43	4,070	6,97	14,1	1135	12,0	1,30	2,97	
45	304	304	420	7,45	4,090	6,96	14,1	1136	12,0	1,30	2,97	
50	340	340	432	7,45	4,090	6,96	14,1	1142	12,0	1,30	1,29	
55	376	376	432	7,46	4,100	6,96	14,1	1144	12,0	1,30	1,31	
60	411	411	420	7,48	4,120	6,96	14,1	1147	12,0	1,30	0,92	
65	446	446	420	7,47	4,110	6,96	14,1	1148	12,0	1,30	0,96	
70	481	481	420	7,49	4,130	6,96	14,1	1150	12,0	1,30	1,00	
75	517	517	432	7,49	4,130	6,96	14,1	1152	12,0	1,30	1,83	Prélèvement

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
P-5	3	20/01/2022
Méthode de prélèvement des eaux souterraines dans les aquifères superficiels		

Domaine d'application		
Matrice	Eaux souterraines	
Référence normative	NF X 31-615 ISO 5667-11 (part 11)	2017 2009

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Introduction

Pour caractériser correctement une eau souterraine, il faut s'assurer que l'échantillon prélevé provient directement de l'aquifère; en effet, une eau qui a séjourné longtemps dans un puits ou un piézomètre, voit ses propriétés physico-chimiques fortement modifiées.

Pour éviter ce phénomène, il faut renouveler l'eau contenue dans l'ouvrage en réalisant une purge plus ou moins longue en fonction du débit de pompage et du volume à renouveler.

En général, les piézomètres mis en place pour étudier des nappes superficielles sont de faible diamètre; à l'exception des nappes alluviales, les formations aquifères sont elles-mêmes souvent peu perméables. La technique de prélèvement dépendra donc essentiellement de la qualité de l'alimentation qui rythmera la ou les purges successives.

On distinguera donc trois catégories de piézomètres :

- les piézomètres bien alimentés,
- les piézomètres mal alimentés,
- les piézomètres insuffisamment alimentés.

Le protocole de prélèvement sera adapté à chaque type de situation.

Toutes les données du pompage sont reprises sur un rapport de prélèvement dont on trouvera le modèle en annexe.

2. Dénomination des échantillons

On se référera à la méthode P-10 décrivant les prescriptions en la matière.

3. Définitions

Piézomètre bien alimenté

Un piézomètre bien alimenté est caractérisé par un débit de réalimentation équivalent ou à peine inférieur au débit de pompage choisi de sorte que le rabattement induit dans la colonne est faible ou (et) stable.

Piézomètre mal ou insuffisamment alimenté

Un piézomètre mal ou insuffisamment alimenté est caractérisé par un débit de réalimentation faible à très faible qui induit un rabattement significatif dans la colonne pour le débit de pompage choisi, rabattement qui ne montre aucune tendance à la stabilisation.

De manière arbitraire, un piézomètre est qualifié de mal alimenté pour un débit donné si, une fois entièrement purgé, le temps de remontée lors de la recharge du premier mètre du fond est compris entre 30 min. et 1 heure. Il est qualifié d'insuffisamment alimenté si ce même temps est supérieur à 1 heure.

4. Niveau piézométrique

Avant toute intervention, le niveau d'eau est mesuré au moyen d'une sonde piézométrique. Le point de repère est clairement identifié; en général, il correspond au sommet du tubage piézométrique voire du tubage de protection. Idéalement, ce point de repère sera géoréférencé avec une précision pentacentimétrique en altitude et décimétrique en plan.

Lorsque le contexte historique l'exige, on peut constater la présence ou l'absence d'une couche surnageante significative au moyen d'une sonde piézométrique d'interface. En cas de présence avérée, l'immersion d'une pompe entraînera une pollution de celle-ci.

Pendant le pompage, le niveau piézométrique est suivi en continu, voire séquentiellement. Les mesures en fonction du temps sont reprises sur le rapport de pompage.

5. Pompes et accessoires

Les caractéristiques de la pompe sont adaptées aux propriétés du puits (diamètre essentiellement) et de l'aquifère (perméabilité, profondeur piézométrique). Les pompes les plus utilisées sont de type péristaltique (pompe hors trou) et miniature électrique (fond de trou).

L'ensemble de la ligne de prélèvement est constitué d'un matériau n'affectant pas le résultat des analyses demandées. Dans le cas d'utilisation de pompes à usage unique, la ligne de prélèvement l'est également.

6. Paramètres physico-chimiques

6.1. Mesures

Pendant toute la durée du pompage, les paramètres pH, t° et conductivité sont mesurés en continu ou séquentiellement (par exemple toutes les 5 minutes), idéalement dans une cellule fermée, voire dans un récipient ouvert; dans ce cas, le récipient servant à la mesure sera alimenté avec l'eau de pompage en évitant toute agitation. L'oxygène dissous et la turbidité sont également mesurés à titre indicatif.

Lorsque ces mesures sont effectuées en cellule fermée, les sondes sont placées d'amont en aval dans l'ordre suivant :

- sonde de mesure de la conductivité,
- sonde de mesure du pH,
- sonde de mesure de la teneur en oxygène dissous.

La température est saisie sur la sonde de mesure de la conductivité. La mesure de la turbidité est réalisée sur des échantillons prélevés en ligne.

Lorsque les mesures sont effectuées dans un récipient ouvert, les mesures sont effectuées dans le même ordre sans simultanéité.

Les mesures en fonction du temps sont reprises sur le rapport de pompage.

6.2. Critère de stabilisation des paramètres de base

On considère le critère de stabilisation des paramètres physico-chimiques de base comme atteint lorsque les écarts relatifs sur chacun des trois paramètres, sur deux valeurs séparées par 10 minutes, sont inférieurs à 1 % depuis au moins 10 minutes. Un exemple de rapport est fourni en annexe.

7. Volumes de rinçage, de purge et de prélèvement

On distingue le volume de rinçage, le volume de purge et le volume analytique.

7.1. Volume de rinçage

Le volume de rinçage correspond à la circulation d'une quantité jugée suffisante d'eau à prélever pour rincer la ligne de prélèvement dans sa totalité et ainsi limiter les contaminations éventuelles dues aux prélèvements antérieurs. Il est fixé arbitrairement à 250 litres pour une pompe de 2 pouces et à 1500 litres pour une pompe de 3 pouces. Dans le cas de la mise en œuvre d'un matériel à usage unique, le rinçage n'est pas de mise.

7.2. Volume de purge

Le volume de purge correspond à la quantité d'eau pompée afin de renouveler l'eau située dans l'ouvrage pour satisfaire aux critères de prélèvement. Le volume conseillé de purge est arbitrairement fixé à 3 fois le volume d'eau contenu dans le forage avant pompage, massif filtrant compris.

En négligeant l'épaisseur du tubage piézométrique, il peut être calculé par la formule suivante :

$$VP_{cs} = 3 * \frac{\pi}{4} \{(\Phi_f^2 - \Phi_p^2) * 0{,}25 + \Phi_p^2\} * Hn * 1000$$

avec VP_{cs} : le volume de purge conseillé exprimé en litres,
Φ_f : le diamètre du forage exprimé en mètres,
Φ_p : le diamètre du tube piézométrique exprimé en mètres,
Hn : la hauteur noyée du forage exprimée en mètres,

en considérant une porosité efficace du filtre situé dans l'espace annulaire de 25 %.

Le tableau suivant donne le volume de purge conseillé par mètre noyé pour quelques diamètres types.

Diamètre du forage (m)	Diamètre du tube piézométrique (m)	Volume de purge conseillé par mètre noyé (litres)
0,06	0,030	3,7
0,1	0,050	10
0,15	0,050	17
0,20	0,050	28
0,25	0,075	47
0,25	0,100	54
0.25	0,125	64

Si le diamètre du forage est inconnu, on lui donnera arbitrairement une valeur égale à 2 fois le diamètre du tubage piézométrique.

La formule se simplifie alors :

$$VP_{cs} = 3 * \frac{\pi}{4}(1{,}75\Phi_p^{\,2}) * Hn * 1000$$

donc

$$VP_{cs} = 4123\ \Phi_p^{\,2} * Hn$$

7.3. Volume analytique

Le volume analytique est le volume nécessaire au remplissage de l'ensemble des flacons à fournir au laboratoire pour assurer l'entièreté du programme prévu.

8. Débit de pompage

Ce paragraphe ne concerne que les piézomètres bien alimentés. Dans les autres cas, le débit de pompage a peu d'importance puisque la vidange est inévitable.

Le choix d'un débit de pompage est très souvent le résultat d'un compromis entre le temps que l'on peut consacrer à la purge et le rabattement induit.

Il est conseillé de ne pas excéder 20 % de rabattement par rapport à la hauteur noyée; au-delà, la formation aquifère risque de se nettoyer et on risque de voir la turbidité augmenter. Dans ce cas, diminuer le débit afin de stabiliser le rabattement à la valeur maximum.

Le débit peut être mesuré au moyen d'un débitmètre électromagnétique, volumétrique, par empotement avec un volume d'empotement adapté au débit. L'utilisation d'un déversoir peut également être envisageable.

Noter tous les événements concernant les changements éventuels de débits sur le rapport.

9. Protocole de prélèvement

9.1. Identification du type de piézomètres

La pompe est placée à mi-hauteur noyée. La purge est débutée en suivant attentivement le rabattement. Si le rabattement est faible ou (et) stable pour le débit choisi, le piézomètre est qualifié de **bien alimenté**.

Si la pompe est rapidement dénoyée, descendre celle-ci au fond du piézomètre (sans atteindre les éventuelles vases du fond) et purger le piézomètre jusqu'à dénoyer à nouveau la pompe. Conserver l'eau de cette première purge. Noter la courbe de remontée (5 points au minimum) et calculer par extrapolation éventuelle le temps de remontée nécessaire pour le premier mètre. Si ce temps est compris entre 30 minutes et 1 heure, le piézomètre est qualifié de **mal alimenté**; si le temps est supérieur à 1 heure, il est qualifié d'**insuffisamment alimenté**.

9.2. Piézomètre bien alimenté

Dans ce cas, suivre la "procédure de prélèvement des eaux souterraines non superficielles" en adaptant le matériel aux caractéristiques géométriques du piézomètre.

9.3. Piézomètre mal alimenté

Une première purge complète a été effectuée pour constater le régime d'alimentation du piézomètre. Mesurer les paramètres physico-chimiques sur l'eau de la purge. Une première remontée (5 points au minimum) a été enregistrée.

Lorsque le niveau est remonté suffisamment pour fournir un volume équivalent au moins au volume analytique, procéder à une nouvelle purge complète et mesurer à nouveau les paramètres physico-chimiques sur l'eau de cette deuxième purge. Enregistrer la deuxième remontée (5 points au minimum).

Procéder à une troisième purge dans les mêmes conditions en réalisant les mêmes constats.

Après la troisième remontée, prélever le volume analytique en remplissant directement les flacons. Terminer en mesurant une quatrième fois les paramètres physico-chimiques.

Pendant toute l'opération, la ligne de prélèvement dédicacée reste en place. Elle est ensuite entièrement éliminée.

9.4. Piézomètre insuffisamment alimenté

On procède comme dans le cas d'un piézomètre mal alimenté mais le nombre de purges obligatoires est limité à une. Toute purge supplémentaire est souhaitée et doit être clairement indiquée.

10. Filtration

Le dosage des métaux dans les eaux souterraines exige une filtration sur membrane à 0.45 µm. Cette filtration doit avoir lieu sur le terrain autant que possible. La méthodologie est la suivante :

- mesurer la turbidité (NTU) ;
- filtrer sur le terrain sur filtre à 0.45 µm. La façon la plus simple de procéder est de filtrer au moyen d'une seringue équipée du filtre adéquat. Les filtres seront à usage unique et seront renouvelés autant de fois que nécessaire pour remplir le flacon concerné ;
- si la filtration n'a pu avoir lieu sur le terrain (turbidité excessive par exemple), l'échantillon est dirigé vers le laboratoire dans un flacon **non acidifié** ; la filtration est alors effectuée au laboratoire dans les meilleurs délais ; ce délai est noté dans le rapport d'analyse.

11. Cas particuliers

11.1. Sur-nageants et sous-nageants

La présence de sur-nageants ou de sous-nageants change la façon d'appréhender la problématique de la caractérisation d'une nappe; en effet, un prélèvement classique, tel qu'envisagé jusqu'à présent dans la présente méthode, entraînerait une remobilisation de ces pollutions sans pour autant apporter d'informations quantitativement valables. On se trouve donc confronté, non plus à une caractérisation de la masse aquifère (pollution diffuse), mais bien à une caractérisation de la zone concernée par la pollution concentrée. Il est donc interdit de purger un piézomètre qui est concerné par le présent paragraphe.

Caractérisation quantitative

L'estimation de l'épaisseur de cette couche peut être constatée par une sonde d'interface qui est sensible à des contrastes de conductivités et d'indices de réfraction. Cela suppose que le polluant soit peu conducteur, ce qui est généralement le cas. La sonde en question doit donc traverser entièrement la couche en question.

Caractérisation qualitative

Afin de déterminer la nature du polluant et son homogénéité verticale, on devra envisager des prélèvements de faible volume à différentes profondeurs en fonction de d'épaisseur constatée de la couche. Pour ce faire, on immergera une pompe à usage unique aux profondeurs en question et on procédera à un prélèvement après une courte purge correspondant au volume de la ligne de prélèvement multiplié par 1.5 afin de s'assurer que le liquide prélevé provient bien de la profondeur attendue. Le liquide de purge sera placé dans un conteneur adéquat et éliminé.

11.2. Lixiviats de décharges

Les lixiviats de décharges sont prélevés sous forme d'échantillons ponctuels en mettant en œuvre le matériel adapté en fonction de l'accessibilité de ceux-ci (seau, pompe à usage unique, …).

12. Conditionnement et flaconnage

Le flaconnage, clairement étiqueté, est constitué de flacons conformes aux exigences du laboratoire qui effectuera les analyses. Il est conseillé de conditionner certains flacons avec des réactifs stabilisants toujours en accord avec le laboratoire.

On se référera à la méthode P-1 décrivant les prescriptions en la matière.

13. Remplissage, transport et conservation

On se référera à la méthode P-1 décrivant les prescriptions en la matière.

Afin d'éviter tout débordement des flacons lors du remplissage de ceux-ci, le débit de pompage sera diminué de moitié comme indiqué précédemment. Cependant, il est indiqué de procéder au remplissage à partir d'un by-pass dont le débit peut être ajusté indépendamment.

14. Géoréférencement des points de prélèvement

On se référera à la méthode P-8 décrivant les prescriptions en la matière.

ISSeP
Institut scientifique de service public

15. Rapport

Un modèle de rapport est fourni en annexe ainsi qu'un exemple.

16. Informations de révisions

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont :
Ajout de la mention « Identification du préleveur » dans les annexes

ANNEXES

Modèle de rapport.
Exemple de rapport.

ISSeP
Institut scientifique de service public

Rapport de pompage

Identification du préleveur
Nom, Prénom :

Signature :

Agissant sous couvert de
(référence enregistrement/agrément) :

Identification du point
Référence du site :

Référence du point :

Date de prélèvement :

Données géométriques
Diamètre du tubage piézométrique (m) :
Diamètre de forage (m) :
Volume métrique de purge (m³) :
Nature du repère :
Hauteur repère/sol (m) :
Profondeur piézométrique/repère (m)
Profondeur ouvrage/repère (m) :

Instructions de pompage
Type de pompe :
Profondeur de la pompe (m) :
Volume de rinçage (m³) :
Volume de purge conseillé (m³) :
Débit pressenti (m³/h) :
Volume analytique (l) :

Temps (min)	Compteur	V. total (l)	Q (l/h)	Prof. Pz (m)	Δ (m)	pH	t° (°C)	σ (20°C) (µS/cm)	O2 (%)	O2 (mg/l)	Turb. (NTU)	Remarque compteur :
		-	-		-							

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

Rapport de pompage (Piézomètre bien alimenté - exemple)

Identification du préleveur	**Identification du point**	**Données géométriques**		**Instructions de pompage**	
Nom, Prénom :	Référence du site :	Diamètre du tubage piézométrique (m) :	0,035	Type de pompe :	péristal.
A. DUPONT	**2010RW0231C1**	Diamètre de forage (m) :	0,114	Profondeur de la pompe (m) :	2,15
Signature :	Référence du point :	Volume métrique de purge (m³) :	0,010	Volume de rinçage (m³) :	néant
XXX	**PF03**	Nature du repère :	sommet tube pz	Volume de purge conseillé (m³) :	0,02
Agissant sous couvert de	Date de prélèvement :	Hauteur repère/sol (m) :	0,65	Débit pressenti (m³/h) :	
(référence enregistrement/agrément)	12/07/2010	Profondeur piézométrique/repère (m)	1,15	Volume analytique (l) :	3,00
PS00DGS2020_PRELEVEU RSOL_ Dupont A		Profondeur ouvrage/repère (m) :	3,15		

Temps	Compteur	V. total	Q	Prof. Pz	Δ	pH	t°	σ (20°C)	O2		Turb.	Remarques
(min)		(l)	(l/h)	(m)	(m)		(°C)	(µS/cm)	(%)	(mg/l)	(NTU)	
0		0		1,150		6,15	11,8	350	88,0	10,30		
7		10		1,350		6,15	9,0	346	89,0	10,60		
13		20		1,520		6,00	7,7	321	90,0	10,60		
19		30		1,610		6,60	8,0	321	74,0	8,80		
25		40		1,640		6,64	8,2	318	74,0	8,80		
32		50		1,680		6,66	8,3	325	74,0	8,80		
39		60		1,690		6,65	7,9	327	74,0	8,70		
46		70		1,700		6,64	8,0	332	74,0	8,80		
53		80		1,710		6,65	8,0	329	74,0	8,80		
60		90		1,710		6,64	7,9	329	74,0	8,80		
68		100		1,715		6,64	8,0	328	74,0	8,80		Prélèvement

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

Rapport de pompage (Piézomètre mal alimenté - exemple)

Identification du préleveur	**Identification du point**	**Données géométriques**		**Instructions de pompage**	
Nom, Prénom :	Référence du site :	Diamètre du tubage piézométrique (m) :	0,035	Type de pompe :	péristal.
A. DUPONT	**2010RW0231C1**	Diamètre de forage (m) :	0,114	Profondeur de la pompe (m) :	2,15
Signature :	Référence du point :	Volume métrique de purge (m³) :	0,010	Volume de rinçage (m³) :	néant
XXX	**PF03**	Nature du repère :	sommet tube pz	Volume de purge conseillé (m³) :	0,02
Agissant sous couvert de	Date de prélèvement :	Hauteur repère/sol (m) :	0,65	Débit pressenti (m³/h) :	
(référence enregistrement/agrément)	12/07/2010	Profondeur piézométrique/repère (m)	1,15	Volume analytique (l) :	3,00
PS00DGS2020_PRELEVEU		Profondeur ouvrage/repère (m) :	3,15		
RSOL_					
Dupont A					

Temps (min)	Compteur	V. total (l)	Q (l/h)	Prof. Pz (m)	Δ (m)	pH	t° (°C)	σ (20°C) (µS/cm)	O2 (%)	O2 (mg/l)	Turb. (NTU)	Remarque compteur :
0		0		1,150		6,15	11,8	350	88,0	10,30		Pompe à 2,15 m
3		4		2,150								Piézomètre mal alimenté
Purge 1												Pompe à 3,00 m
0		4		2,150								
4		8		3,000		6,22	8,9	341	88,0	10,40		
Remontée 1												
0				3,000								
15				2,480								
30				2,080								
45				1,790								
60				1,570								
75				1,400								
Purge 2												
0				1,400								
7		7		3,000		6,64	8,2	318	74,0	8,80		
Remontée 2												
0				3,000								
15				2,460								
30				2,030								
45				1,740								
60				1,510								
75				1,340								
Purge 3												
0				1,340								
7		7		3,000		6,61	8,2	318	74	8,8		
Remontée 3												
0				3,000								
15				2,450								
30				2,010								
45				1,710								
60				1,470								
75				1,290								
Prélèvement		7				6,6	8,1	320	73,5	8,75		

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

Rapport de pompage (Piézomètre insuffisamment alimenté - exemple)

Identification du préleveur	**Identification du point**	**Données géométriques**		**Instructions de pompage**	
Nom, Prénom :	Référence du site :	Diamètre du tubage piézométrique (m) :	0,035	Type de pompe :	péristal.
A. DUPONT	**2010RW0231C1**	Diamètre de forage (m) :	0,114	Profondeur de la pompe (m) :	2,15
Signature :	Référence du point :	Volume métrique de purge (m³) :	0,010	Volume de rinçage (m³) :	néant
XXX	**PF03**	Nature du repère :	sommet tube pz	Volume de purge conseillé (m³) :	0,02
Agissant sous couvert de	Date de prélèvement :	Hauteur repère/sol (m) :	0,65	Débit pressenti (m³/h) :	
(référence enregistrement/agrément)	12/07/2010	Profondeur piézométrique/repère (m)	1,15	Volume analytique (l) :	3,00
PS00DGS2020_PRELEVEU RSOL_ Dupont A		Profondeur ouvrage/repère (m) :	3,15		

Temps (min)	Compteur	V. total (l)	Q (l/h)	Prof. Pz (m)	Δ (m)	pH	t° (°C)	σ (20°C) (µS/cm)	O2 (%)	O2 (mg/l)	Turb. (NTU)	Remarque compteur :
0		0		1,150		6,15	11,8	350	88,0	10,30		Pompe à 2,15 m
3		4		2,150								Piézomètre mal alimenté
Purge 1												Pompe à 3,00 m
0		4		2,150								
4		8		3,000		6,22	8,9	341	88,0	10,40		
Remontée 1												
0				3,000								
15				2,880								
30				2,760								
45				2,650								
60				2,540								
120				2,150								
240				1,850								
360				1,630								
480				1,440								
Prélèvement		6				6,64	8,2	3,18	74,0	8,80		

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date de validité
P-6	3	01/01/2019
Méthode de prélèvement de sol en place à finalité environnementale		

Domaine d'application		
Matrice	Sol en place	
Référence normative	ISO 18400-102	2017

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

Cette méthode énonce les lignes directrices pour réaliser des prélèvements de sol en place.

Les objectifs visés sont de prélever de la matière en vue d'établir des échantillons conformément à la stratégie d'échantillonnage établie préalablement et/ou d'acquérir des données *in situ* à finalité environnementale.

2. Critères déterminant le choix de la méthode de prélèvement

La technique de prélèvement et le choix du matériel sont établis sur base de l'expérience du responsable des forages et au regard d'une série de critères en lien avec les objectifs et les contraintes des prélèvements.

Une série non exhaustive de critères déterminants pour le choix de la méthode est détaillée ci-dessous.

2.1. Stratégie

La stratégie d'échantillonnage est établie préalablement à la campagne de prélèvements sur base des prescriptions des guides méthodologiques en vigueur. C'est elle qui définit le nombre, la profondeur et le type d'échantillons à prélever ainsi que les éventuels équipements (piézomètre, piézair, ...) à mettre en place et les techniques d'investigations applicables sur base des contraintes identifiées.

Parmi les types d'échantillons à envisager figurent :

- Les échantillons remaniés sont obtenus avec la majorité des techniques d'investigations du sol. Ils sont généralement considérés comme moins représentatifs que les échantillons non remaniés.
- Les échantillons non remaniés sont les plus appropriés pour investiguer les polluants volatils. En l'absence de contraintes de terrain, ils sont à préférer aux échantillons remaniés.
- Les échantillons composites (ou échantillons mélangés) conviennent pour investiguer des pollutions non distribuées par tache. Ils sont établis à partir d'un certain nombre de prélèvements ponctuels tel que défini dans la stratégie d'échantillonnage. Les échantillons composites sont par nature remaniés.
- Les échantillons ponctuels conviennent à la fois pour investiguer des pollutions distribuées par tache et des pollutions non distribuées par tache via une interprétation statistique.

La technique d'investigation choisie doit permettre d'extraire suffisamment de matière du sol pour établir des échantillons en regard des prescriptions du protocole P1 et des exigences du

laboratoire d'analyse et pour réaliser la description des horizons traversés conformément au protocole P-7.

La technique d'investigation doit également permettre la mise en place des éventuels équipements prévus dans la stratégie en respect des prescriptions du protocole P3.

2.2. Contraintes de terrain

Les contraintes de terrain sont évaluées via une étude de bureau préalable et via une visite de site.

L'étude de bureau doit permettre d'évaluer en première approche le type de sol qui sera rencontré en cours d'investigation et la profondeur approximative de l'eau souterraine. Ces informations sont obtenues notamment par une étude cartographique et par d'éventuelles données de terrain obtenues dans les environs du site.

Lors de cette étude préliminaire, si des forages sont prévus dans le domaine public, une demande doit impérativement être adressée par le maitre d'ouvrage et par le l'entrepreneur en charge des travaux à tous les impétrants pour obtenir des plans d'implantation des câbles et conduites enterrées conformément à la réglementation en vigueur. Si un impétrant est incapable de fournir ces plans, une demande doit être adressée pour qu'une personne habilitée vienne réaliser une reconnaissance de terrain.

Pour les forages implantés au droit de parcelles privées, une demande doit être adressée au propriétaire du terrain qui doit pouvoir localiser les câbles et conduites présents au droit de sa propriété.

Si un doute subsiste sur l'implantation précise de câbles et conduites enterrés, un forage de reconnaissance réalisé à la tarière manuelle doit être réalisé sur le premier mètre afin d'éviter tout risque pour les opérateurs et les infrastructures.

La visite de terrain doit notamment permettre d'évaluer l'accessibilité, la place disponible et le nivellement au droit des points de prélèvements. Elle doit également inventorier les différents types de recouvrement rencontrés sur le site. Des prescriptions particulières complémentaires peuvent figurer dans les guides méthodologiques en vigueur.

2.3. Propriétés des polluants

Les propriétés des polluants visés par l'échantillonnage peuvent influencer la technique de prélèvement à mettre en place. C'est surtout le caractère volatil ainsi que la toxicité des polluants qu'il y a lieu de prendre en compte.

Pour caractériser une pollution volatile, il y a lieu de prélever préférentiellement un échantillon non remanié.

La technique de prélèvement visant une pollution réputée très toxique sera déterminée en vue d'empêcher toute exposition des personnes en charge des prélèvements, des riverains et du public en général.

3. Techniques disponibles

Une liste non exhaustive des techniques de prélèvements de sol fréquemment utilisées en Wallonie est présentée. Des précisions sur les avantages et inconvénients de ces différentes techniques figurent dans la norme ISO 18400-102:2017.

3.1. Diagnostic de surface

Le diagnostic de surface consiste à gratter manuellement la surface du sol sur 1 à 5 cm de profondeur à l'aide d'une spatule ou d'une pelle. Il permet de constituer des échantillons de surface composites selon un maillage prédéfini.

Cette technique n'est applicable que pour des problématiques spécifiques nécessitant des échantillons dans la frange superficielle du sol comme les pollutions d'origine atmosphérique par exemple.

3.2. Excavatrice

Les sondages par excavatrice permettent d'atteindre très rapidement de faibles profondeurs et d'extraire une grande quantité de matière du sol. Cette méthode est considérée comme optimale pour la description du sol et notamment pour établir la typologie d'un remblai.

Etant donné que les terres excavées via excavatrice sont fortement remaniées, cette technique ne convient pas pour échantillonner un sol affecté ou potentiellement affecté d'une pollution volatile.

L'excavatrice peut être utilisée pour réaliser des fouilles ponctuelles ou des tranchées. Les tranchées sont particulièrement appropriées pour déterminer précisément l'extension latérale d'une typologie de remblai.

Si plusieurs typologies de sol sont rencontrées en cours d'excavation, l'opérateur en séparera les déblais dans la mesure du possible afin de procéder à un remblayage conforme aux horizons en place ou à une évacuation sélective le cas échéant.

Pour des raisons de sécurité, les échantillons ne sont jamais collectés sur les parois des tranchées et fouilles mais bien au sein des déblais disposés à distances raisonnables de l'excavation.

Les excavations réalisées dans le cadre d'un assainissement, précédées d'une étude de stabilité en bonnes et dues formes ne sont pas concernées par le présent protocole.

3.3. Tarière manuelle

Le matériel consiste en une tête de prélèvement munie généralement de deux couteaux plus ou moins verticaux. Ces couteaux permettent la découpe et l'introduction du sol dans la tête par rotation de l'ensemble à la force des bras. Différents types de têtes adaptées aux différentes textures de sols sont disponibles.

Les échantillons produits via cette technique sont remaniés et généralement de faible qualité en raison des retombées de terres fréquentes dans le fond du forage depuis les parois.

Cette technique est principalement utilisée dans les endroits difficiles d'accès ou en intérieur en raison de sa très grande portativité. Elle ne convient pas aux sols rocailleux (notamment certains remblais de construction) ou trop peu cohésifs. Elle est limitée à 5 m de profondeur, dans les cas favorables. Elle ne doit être employée que lorsqu'aucune autre technique n'est applicable.

La tarière manuelle est recommandée pour réaliser les pré-forages de reconnaissance dans le premier mètre à proximité des câbles et conduites enterrés.

3.4. Tarière mécanique

Le forage est effectué au moyen de tiges tarières (vis d'Archimède ou vis sans fin). La rotation est assurée par une machine motorisée plus ou moins lourde en fonction des diamètres mis en œuvre et des profondeurs à atteindre. Les déblais remontent le long des tiges dans la colonne de forage. En l'absence de tubage à l'avancement, les déblais sont en contact avec les parois du forage et sont contaminés par les terrains sus-jacents. Dans les terrains boulants ou fluants, l'alésage permanent du trou entraine une augmentation de la proportion des remontées latérales par rapport au terrain en cours de forage.

Les échantillons produits via cette technique sont remaniés et généralement de faible qualité, surtout pour les sols situés au-delà de l'horizon superficiel. De même, alors que la description de la nature des différents horizons rencontrés peut être réalisée assez rigoureusement pour autant que l'épaisseur de ceux-ci soit suffisante, il est délicat d'évaluer précisément les profondeur des sommets et bases des typologies rencontrées. Les LOG de forages établis sur base de cette technique sont donc généralement considérés comme de mauvaise qualité.

Elle est recommandée uniquement pour réaliser des prélèvements au sein de l'horizon superficiel et dans les situations où les autres techniques seraient jugées inopérantes. A titre d'exemple, elle est recommandée dans les sols contenant des éléments grossiers décimétriques (galet, ...). Elle peut également être utilisée en vue de placer des équipements (piézairs, piézomètres, ...) ne nécessitant aucune prise d'échantillon de sol.

Cette technique permet d'atteindre 10 à 15 m de profondeur et peut faire l'objet d'un tubage à l'avancement. Dans ce dernier cas, la qualité des échantillons s'améliore, bien que toujours remaniés.

3.5. Tarière mécanique creuse

C'est le même principe que la tarière mécanique simple mais les tiges de tarières sont creuses, permettant le passage d'outils de prélèvement. Cette technique permet de carotter en quasi-continu ou de prélever des échantillons à des profondeurs ciblées. Les terrains boulants sont tenus par les tiges tarières qui font office de tubage.

Cette technique peut fournir des échantillons de bonne qualité mais ne convient pas pour la description des horizons traversés.

3.6. Tubage à l'avancement

Le tubage à l'avancement n'est pas une technique de forage à proprement parler mais une méthode qui consiste à réaliser le forage au centre d'un tubage métallique qui sera enfoncé dans le sol après chaque passe de forage. Le tubage à l'avancement nécessite une machine de forage spécialement équipée et ne convient donc pas pour les méthodes de forage manuelles. Elle permet d'éviter que le trou du forage ne s'éboule entre les passes et permet de traverser des nappes d'eau souterraines en limitant l'écoulement de l'eau d'un horizon à l'autre.

Le tubage à l'avancement convient donc particulièrement aux forages dans les terrains peu cohésifs et pour les investigations sous le niveau piézométrique. Elle est également recommandée en présence d'une couche de produit surnageant.

3.7. Forage à la gouge à percussion

Une gouge est un cylindre creux, ajouré latéralement ou non, munie d'un taillant à la base et surmontée d'un système de couplage au train de tiges modulable. Elle est battue dans le sol au moyen d'un marteau mécanique ou hydraulique. L'échantillon captif est en contact avec la colonne de forage dans le cas d'une gouge ajourée latéralement. Il faut alors éliminer le matériau qui a été en contact avec la colonne de forage.

Le système est léger (marteau mécanique portable) ou lourd (machine de forage) en fonction des diamètres et des profondeurs à atteindre. Les LOG de forages établis sur base de cette technique sont généralement de bonne qualité.

Certaines machines de forage à la gouge mécanique sont équipées pour prélever des échantillons à l'aide de "liner". Il s'agit de tubes de PVC inclus dans la gouge qui entourent la carotte de forage et conserve la structure du sol. Une fois le liner extrait de la gouge, le tube est sectionné en vue de sélectionner précisément les profondeurs visées par l'échantillonnage et fermé hermétiquement

aux deux extrémités. L'utilisation de liner est le meilleur moyen d'obtenir des échantillons non remaniés. Cette technique est optimale pour investiguer une pollution volatile mais est peu propice à la description du sol, du moins au niveau de l'échantillon prélevé. Par ailleurs, la présence du liner au sein de la gouge peut induire une perte de charge et une réduction de la quantité de matière récupérée via cette méthode.

Le forage à la gouge permet d'atteindre facilement 10 m de profondeur dans les terrains dont la charge caillouteuse n'est pas trop importante, voire plus dans les terrains propices.

4. Bonnes pratiques

Toutes les mesures sont prises en cours de prélèvement de sol en place pour garantir la protection de la santé et la sécurité des travailleurs, des personnes fréquentant le terrain et du public en général.

Des mesures sont également mises en place pour limiter un maximum l'impact des travaux sur la qualité de l'environnement.

Afin d'éviter de contaminer les échantillons, il est impératif de travailler avec du matériel propre et des gants d'échantillonnage jetables qui seront renouvelés préalablement à chaque échantillonnage. Il y a donc lieu de nettoyer les gouges et vrilles entre chaque passe de forage. De plus, la matière qui est utilisée pour constituer l'échantillon qui sera envoyé au laboratoire pour analyse doit être prélevée au sein de la carotte de forage après avoir retiré la couche de terre superficielle qui pourrait être entrée en contact avec les parois de forage.

L'ajout de lubrifiant (eau, boue, ...) en cours de forage est strictement proscrit dans le cadre des études environnementales. Cette pratique n'est tolérée que pour percer l'éventuel recouvrement de surface au droit du point de prélèvement avec une cloche diamantée. Dans ce cas précis, il faut limiter au maximum la quantité d'eau ajoutée et éviter de prélever un échantillon directement sous le revêtement.

Afin d'éviter toute dégradation de l'échantillon, la matière qui constitue ce dernier doit être le moins manipulée possible. Une fois le pot d'échantillonnage fermé, il n'y a pas lieu de le rouvrir. Le cas échéant, un échantillon de description séparé de l'échantillon d'analyse peut être constitué en vue d'être manipulé ultérieurement.

Il est recommandé d'adapter la stratégie pour éviter au maximum de traverser les horizons peu perméables surmontés d'une nappe d'eau polluée ou potentiellement polluée. Si cette manœuvre est inévitable, elle doit impérativement être réalisée via un tubage à l'avancement. De plus, une fois l'opération terminée, l'étanchéité de la couche traversée devra être restituée en comblant le trou de forage avec un matériau faiblement étanche (de l'argile expansive par exemple) sur toute la hauteur de l'horizon en question.

5. Flaconnage, conservation et dénomination des échantillons

Les flacons sont remplis de manière à laisser le moins de place possible à l'air et sont fermés de manière étanche.

On se référera à la méthode P-1 décrivant les prescriptions en la matière.

6. Géoréférencement des points de prélèvement

Il faut se référer à la méthode P-8 décrivant les prescriptions en la matière.

7. Rapport de prélèvement

Le rapport contient toutes les données permettant d'identifier le terrain, le donneur d'ordre, la personne en charge des forages, la personne en charge de prélèvement et reprend un descriptif détaillé des coupes de terrain pour chaque point de reconnaissance. Ce descriptif se base sur la méthode P-7.

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
P-7	3	20/01/2022
Méthode de description des sols et terres excavées à finalité environnementale		

Domaine d'application		
Matrices	Sols en place et terres excavés	
Référence normative	ISO 25177	2018

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

Cette méthode énonce les lignes directrices pour la description de sols en place et de terres excavées dans le cadre d'un contrôle environnemental.

L'objectif visé est de produire une description précise du sol ou de la terre et de ses éventuels composants exogènes et de proposer, le cas échéant, une typologie spécifique.

2. Méthodologie

La description de sol et de terres est réalisée sur des échantillons spécifiques et différents de ceux destinés à l'analyse afin d'éviter la contamination et/ou l'aération de ces derniers.

Les échantillons de description sont prélevés par sondages selon la méthodologie renseignée au protocole P-6 du CWEA. Le sondage via excavatrice doit être privilégié lorsque les conditions de terrain et la stratégie d'investigations le permettent. Si les sondages sont réalisés par forage, il y a lieu de choisir un diamètre de forage le plus large possible en fonction de contraintes permettant de prélever suffisamment de matière pour établir des échantillons de description et des échantillons destinés à l'analyse.

Les échantillons de description sont étalés sur une surface propre (table ou film plastique) en vue d'inventorier le contenu. La description se fait dans un environnement lumineux et immédiatement après le prélèvement.

Tous les horizons traversés en cours de forage doivent faire l'objet d'une description minutieuse.

Au besoin, des essais rapides de terrain peuvent être réalisés en vue d'acquérir des données techniques complémentaires.

3. Dénomination du sondage et des échantillons

La dénomination des sondages et des échantillons doit contenir les informations nécessaires pour permettre leur identification de façon univoque.

Se référer au protocole P-1 (méthode concernant le flaconnage, le transport et la conservation des échantillons) à ce sujet.

4. Description

Les différents critères détaillés ci-dessous (texture, éléments grossiers, humidité, couleur(s), indices organoleptiques de pollution) doivent systématiquement figurer dans la description. L'absence d'éléments grossiers ou d'indices organoleptiques de pollution par exemple doit être spécifiquement précisée le cas échéant. La description d'une terre ou d'un sol peut également

inclure tout critère complémentaire jugé utile par le préleveur (présence d'infrastructures, contrainte lors de la description, …).

4.1. Texture

La texture (ou classe texturale) d'un sol ou d'une terre est la proportion relative des différentes fractions granulométriques d'un sol, répondant à un système de classification. (ISO 11074:2015).

Les fractions granulométriques à considérer sont les suivantes :

- sable : 50 µm – 2 mm
- limon : 2 µm – 50 µm
- argile : 0 – 2 µm

Les éléments de diamètre supérieur à 2 mm sont considérés comme des éléments grossiers et ne sont pas pris en compte pour déterminer la classe texturale.

Les proportions relatives de ces 3 fractions granulométriques sont ensuite utilisées pour déterminer la classe texturale conformément au "diagramme des classes texturales" (Légende de la Carte Numérique des Sols de Wallonie - version 2 – 2007) tel que présenté à la Figure 1.

Etant donné les incertitudes sur les proportions relatives des fractions granulométriques déterminées sur base d'une description de terrain, la classe texturale est évaluée en première approche sur le terrain sur base d'indications macroscopiques. Des recommandations pratiques pour la détermination de la texture d'un sol sur le terrain sont renseignées à l'annexe D de la norme ISO/DIS 25177:2017 (annexe E en français de la norme 25177:2008).

Des précisions quant à la classe texturale peuvent par la suite être apportées sur base des analyses granulométriques réalisées en laboratoire. Celles-ci ne se substituent toutefois pas aux observations de terrain.

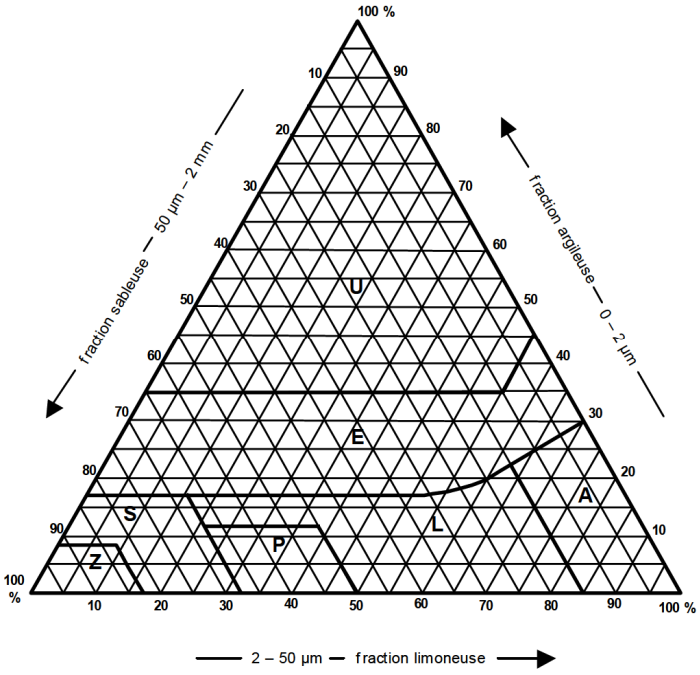


Figure 1 : Diagramme des classes texturales (Légende de la Carte Numérique des Sols de Wallonie - version 2 - 2007)

- **Z** : sable ;
- **S** : sable limoneux, sable argileux
- **P** : limon sableux léger ;
- **L** : limon sableux, limon sableux lourd ;
- **A** : limon léger, limon, limon lourd ;
- **E** : argile légère, argile sableuse, argile, argile limoneuse ;
- **U** argile lourde, argile lourde sableuse, argile très lourde.

4.2. Eléments grossiers

Les éléments grossiers sont tous les éléments contenus dans le sol ou la terre d'un diamètre supérieur à 2 millimètres. Ils peuvent être d'origine naturelle (gravier, blocs, …) ou anthropique (maçonnerie, éléments de voirie, déchets, …).

Dans le cadre de la description, il y a lieu de faire un inventaire aussi précis que possible de la nature de tous les éléments grossiers ainsi que leurs caractéristiques (taille, couleur, …). Il y a également lieu d'estimer la proportion totale d'éléments grossiers et l'abondance des éléments majoritaires. Une attention particulière doit être donnée aux éléments susceptibles d'influencer la composition chimique du matériau (scories, charbons, goudrons, …).

A titre indicatif, des figures de proportions pour différentes fractions en éléments grossiers sont présentées en annexe 1.

La présence de propagules de plantes invasives doit également être renseignée le cas échéant.

4.3. Humidité

Il faut préciser que l'humidité d'un sol ou d'une roche peut se décliner selon une série de notions spécifiques à l'hydrogéologie et la pédologie (eau totale, eau porale, eau disponible, ...). L'humidité d'un sol ou d'une terre observable sur le terrain peut renvoyer à différentes de ces notions en fonction notamment de la classe texturale.

L'estimation de l'humidité d'un sol trouve donc son utilité essentiellement pour des considérations de nature hydrogéologique et principalement en vue de déterminer la position de la surface piézométrique et de dimensionner l'équipement à mettre en place le cas échéant.

L'estimation de l'humidité d'un sol ou d'une terre est donc évaluée en première approche dans le cadre de la description environnementale et vise à classer le matériau dans l'une des 5 catégories ci-dessous :

1. Sec :
   Absence d'eau observable et couleurs possiblement plus claires de l'échantillon qui fonce lorsque de l'eau y est ajoutée. Matériau peu cohésif en l'absence d'argile.

2. Légèrement humide :
   Absence d'eau observable, cohésion de la terre légèrement plus importante que si sec.

3. Humide :
   Absence d'eau libre, l'échantillon ne fonce pas si on y ajoute de l'eau, présence d'humidité sur les doigts qui manipulent l'échantillon, aucun changement de couleur si on ajoute de l'eau.

4. Très humide :
   Présence d'eau libre au sein d'une partie des pores, présence d'eau sur les doigts qui manipulent l'échantillon, de l'eau s'échappe si l'échantillon est compressé.

5. Saturé :
   De l'eau sature tous les pores de terre, l'échantillon rejette de l'eau s'il est manipulé.

Plus que l'humidité du matériau, c'est surtout la variation d'humidité au sein d'un profil ou au sein d'un horizon qu'il est important d'observer et de décrire.

4.4. Couleur

La détermination de la couleur se fait toujours sur un matériau humide. Si l'échantillon est sec, il faut donc l'humidifier préalablement à la description.

La couleur d'un sol ou d'une terre peut être décrite selon l'une des 2 méthodes suivantes :

1. En utilisant un référentiel de couleur standardisé de type "Munsell® Soil Color Charts" ou équivalent. Ce type d'outil renseigne un code spécifique pour chaque nuance de couleur et est considéré comme optimal pour la description des couleurs du sol.

2. En décrivant la couleur le plus précisément possible en combinant une couleur principale et une couleur secondaire assorties de qualificatifs (foncé, clair, bigarré, ...).
   Exemples : *Gris-jaune clair ;*
   Brun-bordeaux foncé avec des bigarrures vert-bouteille foncé ;

4.5. Indices organoleptiques de pollution

Les indices organoleptiques de pollutions sont tous les indices qui pourraient laisser penser que le sol ou la terre visé par la description est pollué. Il peut s'agir d'odeurs particulières (hydrocarbures, ...), d'éléments exogènes (scories, débris de charbon, ...), d'indices visuels (irisation, goudron, couleur anormale...) ou encore de résultats de tests rapides sur le terrain (mesure PID, ...).

La mise en évidence d'indices organoleptiques de pollution repose directement sur l'expérience et l'expertise de la personne en charge de la description.

4.6. Géoréférencement des sondages

Le géoréférencement des sondages est réalisé si la stratégie d'investigation le nécessite. On se référera à la méthode P-8 décrivant les prescriptions en la matière.

4.7. Autres

Toute autre information permettant de mieux appréhender la situation environnementale doit être incluse dans la description du sol ou de la terre. Le type de recouvrement en surface par exemple permet d'évaluer en première approche les risques de lessivage. La présence d'une canalisation au sein d'un horizon et son état permettent d'envisager des axes d'écoulement préférentiels voire de considérer une source potentielle de pollution supplémentaire.

La personne en charge de la description doit déterminer la nécessité ou non de consigner des informations complémentaires.

5. Typologie

Une typologie est une catégorie dans laquelle un sol ou, par extension, une terre peut être rangé et qui est déterminée par un ou plusieurs caractères pédologiques tels que la texture, la

nature et l'abondance d'éléments grossiers (d'origine anthropique ou naturelle) ou encore ses caractéristiques organoleptiques (couleurs, toucher, ...).

Etant donné la très grande variété de typologies qu'il est possible de rencontrer dans les remblais, et vu le champ d'application de la présente méthode, il n'est pas nécessaire de déterminer une typologie selon un référentiel standardisé tel que ceux utilisés en pédologie par exemple. Il appartient à la personne en charge des descriptions de définir les typologies rencontrées en cours de sondages site par site.

L'intitulé d'une typologie doit contenir les informations nécessaires à son identification univoque au sein d'un terrain. Par exemple : "sable jaune clair", "limon vert clair à scories et briquaillons", "remblais brun foncé caillouteux à briques", ...

Au sein d'un site, une typologie regroupe donc un ensemble continu ou non de matériau (sol ou terre excavée) à la composition et aux propriétés a priori identiques à l'exception des éventuelles pollutions distribuées par tache potentiellement y incluses.

Si l'étude environnementale s'échelonne en plusieurs phases d'étude ou si plusieurs personnes sont en charge des descriptions ou des prélèvements, il est recommandé d'établir des échantillons de référence pour les différentes typologies en présence qui serviront de standard de comparaison pour le reste de la campagne.

6. Rapportage

La description d'un profil de forage est réalisée via un log de forage (« fiche de prélèvement de sol en place »). La description d'un lot de terres excavées et réalisée via une fiche de description d'andain (« fiche de prélèvement de terre excavée »).

Des modèles de ces documents sont présentés à titre indicatif en annexes 2 et 3.

Les fiches de prélèvement de sols en place (LOG de forage) doivent au minimum contenir les informations suivantes :

- Données administratives :
  - Identification du site
  - Identification du point de prélèvement
  - Identité du foreur (et référence d'agrément)
  - Identité du préleveur et référence de l'autorisation sous laquelle le prélèvement est effectué (numéro d'enregistrement du préleveur ou numéro d'agrément de l'expert)
  - Date et météo (précipitations essentiellement)

- Données techniques :
  - Méthode de forage (y compris excavations)
  - Diamètre du forage

- Données lithologiques (pour chacun des horizons rencontrés)
  - Profondeurs minimale et maximale
  - Type de matrice (revêtement/remblai/terrain naturel)
  - Texture
  - Eléments grossiers (inventaire et abondances)
  - Humidité
  - Couleur
  - Indices organoleptiques de pollution éventuels
  - Profondeur et nom des échantillons prélevés
  - Profondeur du refus le cas échéant

- Typologie supposée de chacun des horizons (propre au site)

- Données hydrogéologiques (le cas échéant)
  - Dimensions et profondeur du piézomètre ou piézair
  - Volume de la purge
  - Couleur de l'eau en fin de purge
  - Indice de pollution dans l'eau
  - Présence de produit pur

Les fiches de prélèvement de terres excavées (fiche de description d'andain) doivent au minimum contenir les informations suivantes :

- Données administratives :
  - Identification du site
  - Identification du lot et des sous-lots le cas échéant
  - Identité du préleveur et référence de l'autorisation sous laquelle le prélèvement est effectué (numéro d'enregistrement du préleveur ou numéro d'agrément de l'expert)
  - Date et météo (précipitations essentiellement)

- Données techniques :
  - Méthode de prélèvement (y compris excavations)
  - Volume du lot et des sous-lots le cas échéant
  - Nombre d'échantillons élémentaires et composites par lots et sous-lots.
  - Dénomination des échantillons composites

- Données lithologiques :
  - Type de matrice (remblai/terrain naturel)
  - Texture
  - Eléments grossiers (inventaire et abondances)
  - Humidité
  - Couleur
  - Indices organoleptiques de pollution éventuels
  - Typologie supposée (en lien avec le site d'origine le cas échéant)

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
P-7	3	20/01/2022

Méthode de description des sols et terres excavées à finalité environnementale

ANNEXES

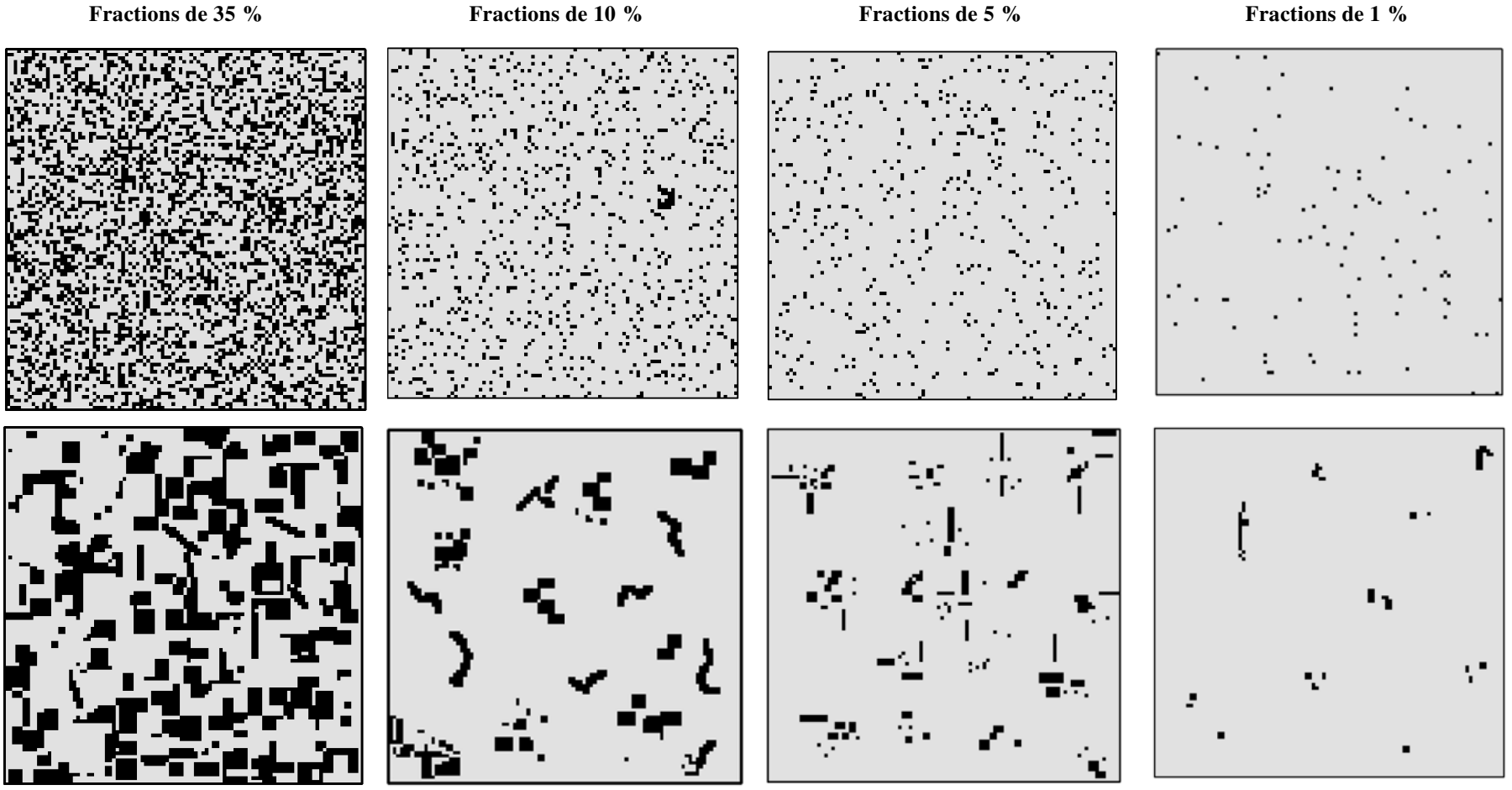
Domaine d'application		
Matrices	Sols en place et sols excavés	
Référence normative	ISO 25177	2018

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

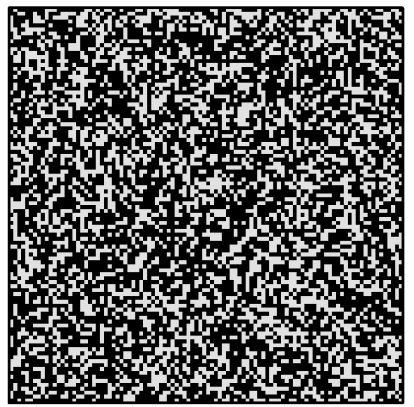
Annexe 1 : figures de proportions

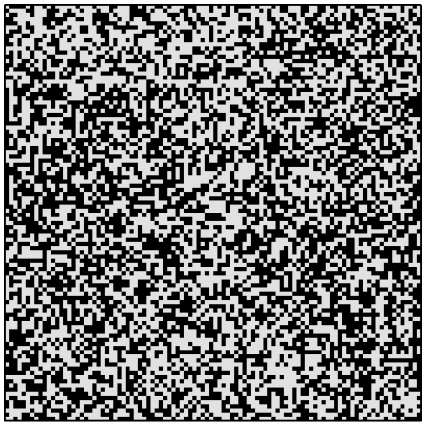
Wallonie

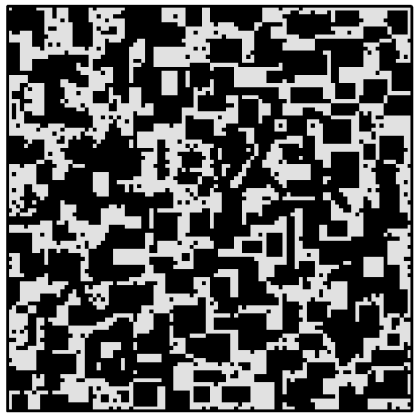

Fractions de 35 %
Fractions de 10 %
Fractions de 5 %
Fractions de 1 %

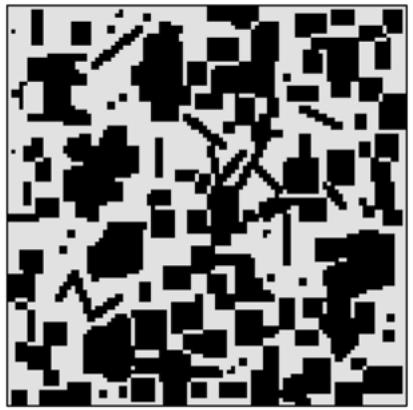
Fractions de 60 %

Fractions de 50 %









ISSeP
Institut scientifique de service public

Annexe 2 : Exemple de fiche de prélèvement de sol en place (LOG de forage)

(Disponible en format Excel sur le site internet de l'ISSeP)

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

CODE SITE :
NOM SITE :
DATE DE FORAGE :
FOREUR :
PRELEVEUR(nom, prénom) :
N° d'enregistrement (préleveur) et/ou d'agrément (experts)

Pluie O / N
Niveau d'eau (date de mesure)
Piézomètre Oui / Non
Purge Oui / Non **Volume (en l) :**
Couleur de l'eau
Remarques

FORAGE N°
Méthode de Forage :
Diamètre de forage :
Diamètre du piézomètre :

Piézomètre / Piézair				Profondeur (m)		Type de matrice (origine)	Matrice		Eléments grossiers et abondances	Humidité	Couleur	Indice de pollution	Remarques / typologie	Echantillon	
massif filtrant	Filtre	Profondeur		Min	Max		principale	secondaire						Nom - Prof. (m)	Analyses

Bentonite
Sable
Béton
Filtre

V Niveau d'eau

Légende :

REV = Revetement
SP = Sol en Place
RBL = Rembai
RT = Remblai Technique
...

A =Argile
L = Limon
S = Sable

SE = sec
PH = peu humide
H = humide
TH = très humide
SA = saturé

Signature du préleveur :

ISSeP
Institut scientifique de service public

Annexe 3 : Exemple de fiche de prélèvement de terre excavée (fiche de description d'andains)

(Disponible en format Excel sur le site internet de l'ISSeP)

Wallonie

Institut scientifique de service public

CODE SITE

NOM SITE

PRELEVEUR (nom, prénom)

N° d'enregistrement (préleveur) et/ou d'agrément (experts)

Code LOT

Méthode de Forage :

Diamètre de forage :

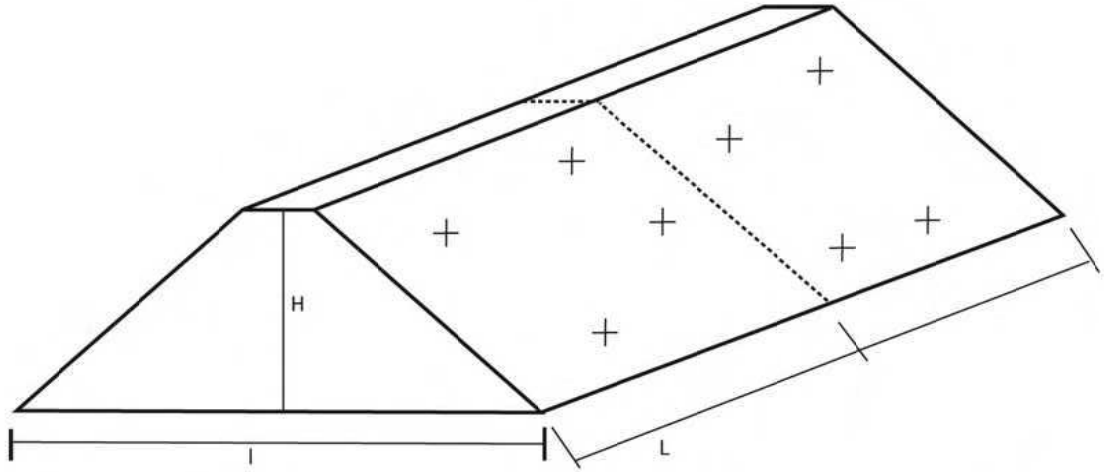
DATE

Pluie O / N

Description du lot

Type de matrice (origine)	
Matrice principale	
Matrice secondaire	
Eléments grossiers et abondances	
Humidité	
Couleur	
Indice de pollution	
Remarques / typologie	

Schéma du lot avec localisation des points de prélèvement et dimensions



(Exemple)

	Volume (m³)	Nombre d'échantillons composites	Nombre d'andains		Volume (m³)	Nom de l'échantillon composite	Nombre d'échantillons élémentaires
LOT 1				...			
LOT 2				...			
...				...			

Légende :		
	A =Argile	SE = sec
	L = Limon	PH = peu humide
	S = Sable	H = humide
		TH = très humide
		SA = saturé

Signature du préleveur:

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date de validité
P-8	2	01/01/2019
Méthode pour le géoréférencement des points de prélèvement et de mesure		

Domaine d'application		
Matrice	Echantillons solides et liquides	
Référence normative	-	-

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

Cette méthode a pour objet de donner les lignes directrices pour le géoréférencement des points de prélèvement, c'est-à-dire leur rattachement à un système de coordonnées géographiques ou cartographiques existant.

Les bonnes pratiques quant au choix du référentiel et de la méthode de lever en fonction du type de prélèvement effectué sont exposées.

Deux méthodes de positionnement sont aussi brièvement présentées.

2. Procédure

2.1. Référentiels en usage en Wallonie

Le système de coordonnées planimétrique utilisé est le Lambert 2008[a].

Le système de référence altimétrique utilise l'altitude orthométrique référencée au Deuxième Nivellement Général (DNG).

2.2. Nature des points levés

Le tableau ci-dessous liste les principaux points à lever dans le contexte des suivis environnementaux. Il renvoie vers les procédures de prélèvement du CWEA. Les informations de précision attendue et les instructions de lever sont adaptées du catalogue Waltopo mis en place par la Direction de la Géométrologie du Service public de Wallonie (dernière mise à jour : 2016). Ce catalogue permet une uniformisation des levers et mesures topographiques en Wallonie. Il s'agit d'un dictionnaire topographique inventoriant sous forme de fiches les points rencontrés sur le terrain et susceptibles d'être géoréférencés.

La dernière version du catalogue complet Waltopo est téléchargeable sur le Géoportail de Wallonie : http://geoportail.wallonie.be/waltopo

[a] En novembre 2017, une généralisation de l'utilisation du système Lambert 2008, en remplacement du Lambert Belge 72, a été initiée par le SPW dans le cadre de la directive INSPIRE. Pour la **transmission des données** de nature géographique vers l'Union Européenne, le système Lambert 2008 devient le référentiel utilisé. Pour ce qui est de la **production des données**, une période transitoire reste à définir (source : http://geoportail.wallonie.be/home/ressources/outils/Lambert-belge-2008-LB08.html, consulté le 13/09/2018).

Nature du point	Procédure de prélèvement	Fiche(s) Waltopo	Précision attendue	Instructions de lever
Piézomètre	P-3, P-4, P-5	139	XY : 0,1 – 0,3 m Z : 0,1 – 0,3 m[b]	Point central de l'équipement, sur le couvercle, rabattre le point mesuré au centre
Point de forage ou de sondage (sol en place, sol agricole)	P-3, P-6, P-11	141, 142	XY : 0,1 – 0,3 m Z : 0,1 – 0,3 m	Mesure au niveau du sol
Prélèvement en eau de surface (cours d'eau, mare, lac,…)	P-2	259 à 262	XY : 0,5 – 1 m Z : 0,3 – 0,5 m	Lever un point à la surface de l'eau
Puits traditionnel, puits foré	P-2, P-3, P-4	263	XY : 0,1 – 0,3 m Z : 0,1 – 0,3 m[b]	Levé du point central, rabattre le point mesuré au centre
Source	P-2, P-3, P-4	264	XY : 0,3 – 0,5 m Z : 0,3 – 0,5 m[b]	Levé du point central de la source
Echantillon de sédiments	P-20	298	XY : 0,5 – 1 m Z : 0,1 – 0,3 m	Mesure du point prélevé
Lot agricole / andain / tas	P-23, P-24, P-25, P-26	319	XY : 0,3 – 0,5 m Z : 0,3 – 0,5 m	Mesure du bord inférieur et prise d'un point de niveau sur le dépôt (code WT 250). N.B. La densité de points à lever est laissée à l'appréciation du géomètre.

[b] Insuffisant pour la réalisation de courbes piézométriques, où une précision centimétrique est nécessaire

2.3. Méthodes de travail

Le choix de la méthode de géoréférencement est laissé à l'appréciation de l'opérateur de la mesure. Ce choix est conditionné par une série de facteurs (matériel disponible, précision de positionnement souhaitée, praticabilité du terrain,…).

Sont reprises ci-dessous et à titre indicatif différentes méthodes de travail susceptibles d'être employées pour le géoréférencement d'un point. Une connaissance préalable par l'opérateur des outils et méthodes utilisés est nécessaire pour la bonne réalisation des levers.

2.3.1. Géoréférencement par mesures GNSS[c]

Le géoréférencement à l'aide d'un récepteur GNSS peut être réalisé par positionnement absolu ou différentiel en fonction de la précision attendue de la mesure.

Mesure par positionnement absolu
Les coordonnées du point sont établies par rapport à la position « connue » de la constellation de satellites visibles par le récepteur.

Les bonnes pratiques pour réaliser une mesure de précision sont :

- Un minimum de cinq satellites visibles par le récepteur ;
- Un GDOP (Global Dilution of Precision) inférieur à 2-3 (caractérise la dispersion des satellites) ;
- Une utilisation du récepteur en zone dégagée (absence de bâtiments, d'arbres,…) ;
- Conserver la valeur moyenne issue de plusieurs mesures réalisées à minimum 30 min d'intervalle (pour faire varier la constellation des satellites en présence) permet d'augmenter la précision de position.

Précision attendue = métrique

Mesure par positionnement différentiel
Le récepteur doit avoir une connexion avec un réseau de stations de base (Walcors - Flepos - GPSBru).

Walcors est le réseau permanent de 23 stations de référence recouvrant la Région wallonne. Les coordonnées du point sont établies par rapport au réseau de stations fixes dont la position est connue exactement. Ces stations reçoivent les signaux des mêmes satellites que les récepteurs mobiles présents dans leur zone d'action, et elles estiment en permanence l'erreur locale de positionnement du GPS en comparant la position calculée avec leur position réelle. Les données de correction sont transmises au récepteur en temps réel (RTK) ou en post-traitement.

Précision attendue = centimétrique

[c] Global Navigation Satellite System ou système de positionnement par satellite, souvent appelé par abus de langage GPS. Le GPS étant uniquement le système développé par les Etats-Unis.

2.3.2. Lever terrestre avec rattachement au référentiel

Lorsque l'usage d'un récepteur GNSS est compromis (zone urbaine ou forestière), ou pour réaliser des levers de grande précision.

Entrent dans cette catégorie les levés locaux effectués au moyen d'un niveau, d'un théodolite ou d'une station totale. Ces levés sont rattachés au référentiel en prenant appui sur des points de coordonnées connues (bornes géodésiques IGN ou des points au sol mesurés par une des techniques GPS).

Précision attendue = centimétrique à millimétrique

P-9V3 – MÉTHODE POUR CERTAINS PRÉLÈVEMENTS SPÉCIAUX

1. Objet

Cette méthode a pour objet de définir les lignes directrices régissant les prélèvements dans des configurations spéciales comme les prélèvements :

- en andains,
- en fûts,
- en citernes,
- dans les transformateurs électriques,
- sur bandes transporteuses.

2. Sécurité

Bien que les consignes élémentaires de sécurité soient d'application dans tous les sites investigués, le prélèvement de substances de nature incertaine, de surcroît dans des conditions confinées, exige une attention particulière. L'emploi de masques intégraux, voire de masques avec filtre adapté, est conseillé.

3. Dénomination des échantillons

On se référera à la méthode P-10 décrivant les prescriptions en la matière.

4. Prélèvements en andains

4.1. Généralités

Les techniques de prélèvement mises en œuvre doivent respecter les exigences décrites dans la méthode P-6 ; le choix de la technique dépendra essentiellement de l'accessibilité des lieux de prélèvement.

Si l'andain est suffisamment consolidé et stable, on peut y déambuler et forer depuis sa crête ou ses flancs. Sinon, il faut prélever dans les flancs depuis le sol ou faire appel à un engin muni d'une pelle et y pratiquer des saignées.

L'andain doit être traversé de part en part en veillant à ne pas percer l'éventuelle barrière d'étanchéité à la base. En cas de percement, on veillera à mettre en place un bouchon d'argile gonflante d'un coefficient de gonflement au moins égal à trois.

La colonne d'échantillon ainsi récupérée ne peut être considérée comme pondéralement représentative de la masse puisque chaque tranche horizontale est représentée par un même volume d'échantillon. De ce fait, il est important de prélever plusieurs colonnes d'échantillon et de mélanger les échantillons suivant les différents scénarii proposés.

ORIGINAL 2014

4.2. Prélèvements par le haut ou par saignées - Scénarii déterministes d'échantillonnage

On considère schématiquement qu'un andain a une longueur importante par rapport à sa largeur et qu'il a une section verticale transversale à son allongement en forme de trapèze isocèle.

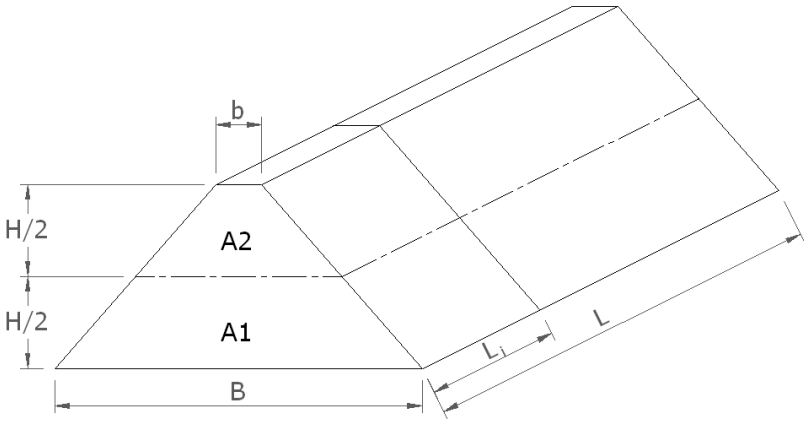


Schéma d'un andain

On définit :

B = largeur de la base au sol,
b = largeur de la crête,
H = hauteur sol-crête,
L = longueur de l'andain.

On fait passer un plan horizontal à mi-hauteur de l'andain ; ce plan délimite deux volumes représentés par les aires A_1 et A_2.

Les échantillons seront prélevés dans des sections transversales suivant les règles établies ci-après.

Détermination du nombre N de forages ou saignées

Chaque forage ou saignée constitue un échantillon élémentaire.

Le nombre N d'échantillons élémentaires est défini dans la méthode principale renvoyant à la présente méthode.

On arrondit au multiple de 3 supérieur en respectant le maximum prescrit dans la méthode principale renvoyant à la présente méthode.

Détermination du nombre de S sections à échantillonner

On part du principe que 3 forages ou saignées seront réalisés par section. Le nombre N d'échantillons élémentaires divisé par 3 fournit donc le nombre de sections S à échantillonner.

ORIGINAL 2014

Détermination de la position des sections à échantillonner

On mesure la longueur L de l'andain et on la divise par 2S. On positionne ainsi la première section à la distance L_1 = L/2S, la deuxième à la distance L_2 = 3L/2S, puis L_3 = 5L/2S soit suivant la suite arithmétique :

$$L_i = \frac{L}{2S} * (2i - 1)$$
$$i \in [1, S]$$

Détermination de la position des forages ou saignées dans les sections à échantillonner

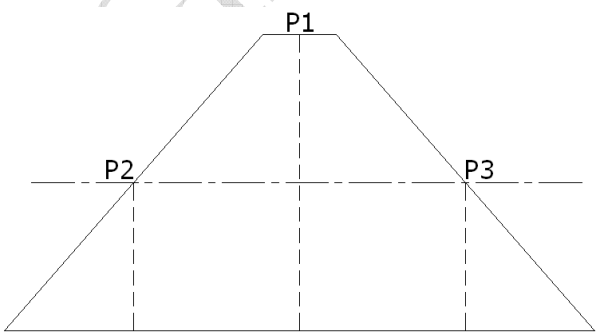
Afin que les deux volumes de l'andain soient représentés correctement, il faut prélever une quantité de matière dans chaque volume proportionnellement à chaque aire soit :

$$A_1 = \frac{H}{4} * \left(\frac{3B}{2} + \frac{b}{2} \right)$$
$$A_2 = \frac{H}{4} * \left(\frac{B}{2} + \frac{3b}{2} \right)$$

Le rapport entre les deux aires est :

$$A = \frac{A_2}{A_1} = \frac{B + 3b}{3B + b}$$

Scénario 1 : le rapport A est compris entre 1/3 et 1/2 ce qui entraine que $0 \leq b < 0.2B$

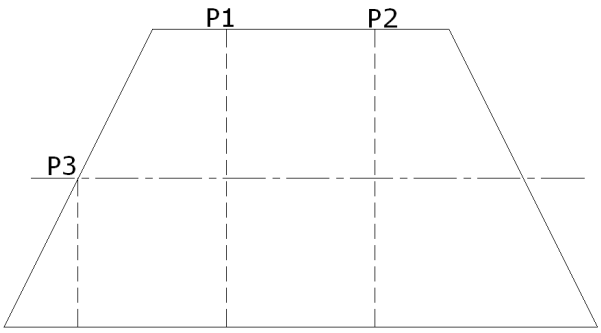


On échantillonnera suivant un forage central complet ou une saignée centrale complète P1 et deux forages latéraux ou saignées latérales à mi-hauteur P2 et P3.

L'échantillon représentatif de la section est donc constitué de 4 tronçons : P1 (pondération H) + P2 (pondération H/2) + P3 (pondération H/2).

ORIGINAL 2014

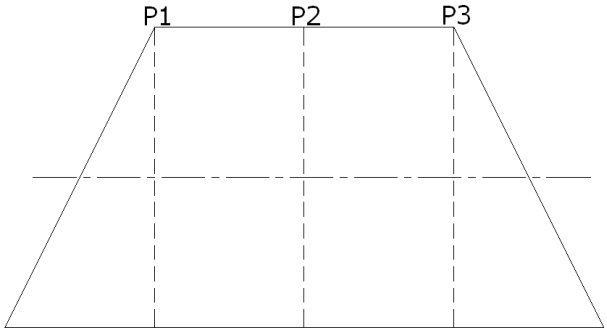
Scénario 2 : le rapport A est compris entre 1/2 et 5/6 ce qui entraine que $0.2B \leq b < 0.7B$



On échantillonnera suivant deux forages complets ou deux saignées complètes P1 et P2 et un forage latéral ou une saignée latérale à mi-hauteur P3. Ce dernier sera implanté alternativement d'un côté à l'autre de l'andain d'une section à l'autre. Les points P1 et P2 se situent à b/4 du bord de l'andain.

L'échantillon représentatif de la section est donc constitué de 5 tronçons : P1 (pondération H) + P2 (pondération H) + P3 (pondération H/2).

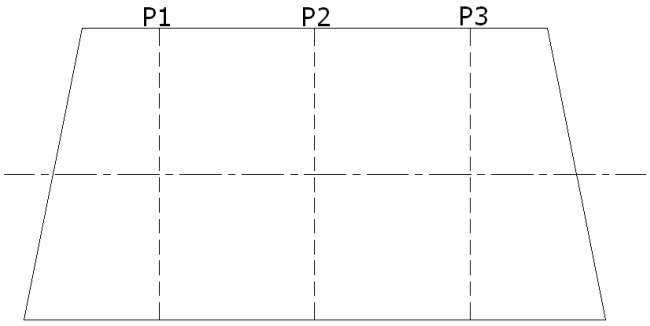
Scénario 2bis : le rapport A est compris entre 1/2 et 5/6 ce qui entraine que $0.2B \leq b < 0.7B$



On échantillonnera suivant trois forages complets ou trois saignées complètes P1, P2 et P3. Les points P1 et P3 se situent au bord de l'andain, le P2 étant au centre. La passe échantillonnée dans l'aire supérieure d'un des points P1 ou P3 sera rejetée alternativement d'une section à l'autre.

L'échantillon représentatif de la section est donc constitué de 5 tronçons : P1 (pondération H) + P2 (pondération H) + P3 (pondération H/2) ou P1 (pondération H/2) + P2 (pondération H) + P3 (pondération H).

Scénario 3 : le rapport A est compris entre 5/6 et 1 ce qui entraine que $0.7B \leq b \leq B$



On échantillonnera suivant trois forages complets ou trois saignées complètes P1, P2 et P3. Les points P1 et P3 se situent à b/6 du bord de l'andain, le P2 étant au centre.

L'échantillon représentatif de la section est donc constitué de 3 tronçons : P1 (pondération H) + P2 (pondération H) + P3 (pondération H).

Remarque – mode opératoire pour l'échantillonnage par saignées :

- les saignées sont effectuées de manière à dégager une coupe ;
- cette coupe est alors échantillonnée avec le godet uniquement afin d'éviter les risques d'enfouissement du personnel de prélèvement ;
- on constitue un sous-échantillon à partir de la matière située dans le godet en prenant de la matière en au moins 4 endroits du godet et en respectant les pondérations définies dans les scénarii précédemment décrits.

4.3 Prélèvements par les flancs

Lorsque l'andain est particulièrement instable (coefficient de frottement interne faible ou siccité importante), il n'est pas possible de déambuler sur sa surface. On peut alors prélever latéralement avec une gouge manuelle et en une seule passe de manière à investiguer le tas au plus profond possible de la masse. L'axe du forage sera légèrement incliné de manière à profiter un minimum de la gravité. Dans cette situation de repli, on considère un seul scénario.

Détermination du nombre N de forages ou saignées

Chaque forage ou saignée constitue un échantillon élémentaire.

On détermine le nombre N d'échantillons élémentaires suivant la règle définie dans la méthode P-21 ; on arrondit au multiple de 2 supérieur avec un maximum de 42.

Détermination du nombre de S sections à échantillonner

On part du principe que 2 forages seront réalisés par section. Le nombre N d'échantillons élémentaires divisé par 2 fournit donc le nombre de sections S à échantillonner.

ORIGINAL 2014

Détermination de la position des sections à échantillonner

On mesure la longueur L de l'andain et on la divise par 2S. On positionne ainsi la première section à la distance L_1 = L/2S, la deuxième à la distance L_2 = 3L/2S, puis L_3 = 5L/2S soit suivant la suite arithmétique :

$$L_i = \frac{L}{2S} * (2i - 1)$$
$$i \in [1, S]$$

Détermination de la position des forages dans les sections à échantillonner

Dans ce cas de figure, il n'est pas possible de respecter une règle de proportionnalité des aires traversées par les prélèvements ; on effectuera simplement une prise d'échantillon de chaque côté de l'andain en pénétrant le plus possible au cœur du tas.

4.4. Constitution de l'échantillon final

Les échantillons élémentaires sont rassemblés et homogénéisés au fur et à mesure de leur prélèvement. La taille de l'échantillon final est éventuellement réduite.

On se référera à la méthode P-21 § 5 décrivant les prescriptions en la matière.

5. Prélèvements en fûts

5.1. Identification du fût - Fiche signalétique

Le fût est clairement identifié avec un marquage indélébile et photographié. La fiche signalétique identifiant le fût est soigneusement copiée et photographiée. Signaler l'absence de fiche.

5.2. Prélèvement

Le fût est ouvert de façon à pouvoir être refermé de manière étanche ; si le bouchon d'origine ne le permet pas, le remplacer par un système de bouchage présentant les mêmes garanties.

Le prélèvement doit concerner toute la hauteur contenue dans le fût afin de vérifier la présence ou non d'une ségrégation (présence de plusieurs phases). On peut utiliser des tubes transparents en téflon, en PEHD ou une matière approchante, tubes qu'on enfile sur un guide équipé d'un bouchon de fond ; une fois le tube enfiché et le guide retiré, on place un bouchon de tête. Le tube est essuyé à l'aide d'un papier absorbant qui est éliminé dans un sac poubelle spécifique.

Pour autant que le produit contenu dans le fût soit pompable, on peut également immerger un tuyau de prélèvement lesté en son extrémité, celui-ci étant relié à une pompe péristaltique. On peut ainsi constituer des échantillons provenant de profondeurs différentes. En cas de présence de plusieurs phases (en général trois maximum), il faut échantillonner chaque phase séparément

ORIGINAL 2014

en immergeant la ligne de prélèvement à mi-hauteur de chacune. Une fois les prélèvements effectués, le tuyau est éliminé dans un sac poubelle spécifique.

5.3. Echantillonnage

Tube

Afin d'éviter de mélanger les différentes phases présentes, il est conseillé d'échantillonner le tube sur site. Chaque phase macroscopiquement identifiée est échantillonnée et conditionnée dans un flacon adéquat. On peut utiliser des seringues à usage unique pour percer le tube et prélever les liquides. Le trou de seringue est alors colmaté avec du tape. Si le liquide n'est pas pompable, il faut envisager une congélation et couper de petits tronçons de produit pour les soumettre à l'analyse.

Dans tous les cas, le tube est ramené au laboratoire et servira d'échantillon témoin. Pour ce faire, le tube peut être rangé dans un fourreau porte tube. Le transport et le stockage se font verticalement afin d'éviter de mélanger les différentes phases.

Déchets : paire de gants – papier absorbant – seringues

Pompage

L'extrémité du tuyau de prélèvement est descendue jusqu'à la profondeur de prélèvement désirée. On purge la ligne quelques secondes afin de garantir la provenance du liquide. Le produit de la purge est récolté dans un flacon (seau) spécifique. En fonction des objectifs, on peut prélever des échantillons à diverses profondeurs en remontant, pas à pas, la ligne et en purgeant de la même manière que précédemment. En fin d'opération, le produit des purges successives est rejeté dans la citerne.

Déchets : paire de gants – papier absorbant – ligne de prélèvement – récipient de purge

6. Prélèvements en citernes

6.1. Identification de la citerne - Fiche signalétique

La citerne est clairement identifiée avec un marquage indélébile et photographiée. La fiche signalétique identifiant la citerne est soigneusement copiée et photographiée. Signaler l'absence de fiche.

6.2. Prélèvement

La citerne est ouverte de façon à pouvoir être refermée de manière étanche ; si le bouchon d'origine ne le permet pas, le remplacer par un système de bouchage présentant les mêmes garanties.

Le prélèvement doit concerner toute la hauteur contenue dans la citerne afin de vérifier la présence ou non d'une ségrégation (présence de plusieurs phases). Cependant, à contrario d'un fût, la profondeur d'une citerne est souvent plus importante. Il sera donc parfois difficile de

ORIGINAL 2014

mettre en œuvre le même matériel que pour les prélèvements dans les fûts. On peut alors immerger un tuyau de prélèvement lesté en son extrémité, celui-ci étant relié à une pompe péristaltique. Pour autant que le liquide soit pompable, on peut ainsi constituer des échantillons provenant de profondeurs différentes. Une fois les prélèvements effectués, le tuyau est éliminé dans un sac poubelle spécifique.

6.3. Echantillonnage

L'extrémité du tuyau de prélèvement est descendue jusqu'au fond de la citerne afin d'en apprécier la profondeur. On purge la ligne quelques secondes afin de garantir la provenance du liquide. Le produit de la purge est récolté dans un flacon (seau) spécifique. En fonction des objectifs, on peut prélever des échantillons à diverses profondeurs en remontant, pas à pas, la ligne et en purgeant de la même manière que précédemment. En fin d'opération, le produit des purges successives est rejeté dans la citerne.

Déchets : paire de gants – papier absorbant – ligne de prélèvement – récipient de purge

7. Prélèvement d'huile dans les transformateurs électriques

7.1. Consignes de sécurité particulières

Le préleveur doit s'assurer que le transformateur électrique est hors réseaux et inopérant.

Si le transformateur est toujours utilisé, le propriétaire doit garantir sa mise hors réseau momentanée ; pour ce faire, il est indispensable de recourir, soit aux services d'un électricien de l'entreprise, soit aux services du distributeur d'électricité du réseau local.

7.2. Identification du transformateur

Le transformateur et sa fiche d'identification sont photographiés ; la fiche d'identification est soigneusement recopiée. Signaler l'absence de fiche.

7.3. Prélèvement

Idéalement et a fortiori si le transformateur est hors service depuis longtemps, le prélèvement doit concerner toute la hauteur d'huile afin d'éviter de biaiser l'échantillon en cas de ségrégation par densité. Le bouchon de remplissage est ouvert de façon à pouvoir être refermé de manière étanche (faire sauter le scellement au besoin) ; si le bouchon d'origine ne le permet pas, le remplacer par un système de bouchage présentant les mêmes garanties.

On peut alors immerger un tuyau de prélèvement lesté en son extrémité, celui-ci étant relié à une pompe péristaltique. Une fois les prélèvements effectués, le tuyau est éliminé dans un sac poubelle spécifique.

Sceller le bouchon après le prélèvement.

ORIGINAL 2014

Parfois, le bouchon de remplissage est équipé de chicanes qui empêchent l'introduction d'un tuyau. Dans ce cas, on prélèvera par le bouchon de vidange de fond. Il faut bien s'assurer que le bouchon de vidange est équipé d'une vanne d'arrêt fonctionnelle.

Préciser le mode de prélèvement dans le rapport.

7.4. Echantillonnage par le bouchon de remplissage

L'extrémité du tuyau de prélèvement est descendue jusqu'au fond du réservoir afin d'en apprécier la profondeur. On purge la ligne quelques secondes afin de garantir la provenance du liquide. Le produit de la purge est récolté dans un flacon (seau) spécifique. Prélever quatre échantillons d'un même volume successivement dans la zone du fond, au premier tiers, au second tiers et dans la zone de surface ; purger la ligne de prélèvement entre chaque prise de la même manière que précédemment. L'échantillon final est constitué du mélange homogénéisé des trois échantillons élémentaires. En fin d'opération, le produit des purges successives est rejeté dans la citerne.

Déchets : paire de gants – papier absorbant – ligne de prélèvement – récipient de purge

8. Prélèvements sur bandes transporteuses

8.1. Généralités

Lorsque la taille des particules d'un produit transporté n'est pas homogène, les mouvements et les vibrations engendrées font que les fines particules denses ont tendance à se rassembler en bas du flux ; il est donc important de bien prélever toute la largeur de la bande et toute l'épaisseur du lit de manière à obtenir un échantillon représentatif.

8.2. Détermination du nombre N d'échantillons élémentaires

On se référera à la méthode principale renvoyant à la présente méthode.

Chaque échantillon élémentaire est constitué d'une section complète du lit convoyé.

8.3 Taille des échantillons élémentaires

On se référera à la méthode principale renvoyant à la présente méthode.

8.4. Détermination de la position des sections à échantillonner

Le temps total T de transit du lot est estimé. On détermine ainsi la première section à échantillonner après un défilement de $T_1 = T/2N$, la deuxième après un défilement total de $T_2 = 3T/2N$, puis $T_3 = 5T/2N$ soit suivant la suite arithmétique :

ORIGINAL 2014

$$T_i = \frac{T}{2N} * (2i-1)$$
$$i \in [1, N]$$

En résumé, une fois le premier échantillon prélevé, le pas d'échantillonnage est T/N.

8.5. Echantillonnage

Bande transporteuse à l'arrêt

Si une possibilité existe de faire arrêter la bande, l'arrêter en suivant les prescriptions définies au point 8.4. Echantillonner alors toutes la largeur et toute l'épaisseur du lit dans la même proportion. Ajuster le volume prélevé de manière à ce que le volume de chaque échantillon élémentaire ait le même volume à 10 % près.

Bande transporteuse en mouvement

Aux temps définis en 8.4., faire coulisser le contenu de la section en reprenant l'entièreté du lit vers un récipient. Ajuster le volume prélevé de manière à ce que le volume de chaque échantillon élémentaire ait le même volume à 10 % près.

Une autre façon de procéder est de prélever aux temps définis depuis un point de déversement. Ajuster le volume prélevé de manière à ce que le volume de chaque échantillon élémentaire ait le même volume à 10 % près.

8.6. Constitution de l'échantillon final

Les échantillons élémentaires sont rassemblés et homogénéisés au fur et à mesure de leur prélèvement. La taille de l'échantillon final est éventuellement réduite.

On se référera à la méthode P-21 § 5 décrivant les prescriptions en la matière.

ORIGINAL 2014

9. Géoréférencement des points de prélèvement

On se référera à la méthode P-8 décrivant les prescriptions en la matière.

10. Flaconnage, transport et conservation

On se référera à la méthode P-1 décrivant les prescriptions en la matière.

11. Références

ISO 5667-13
ISO 10381-8

ORIGINAL 2014

P-10V2 – MÉTHODE POUR LA DÉNOMINATION DES ECHANTILLONS

1. Objet

Cette procédure a pour objet la dénomination des échantillons de certaines matières de manière à en garantir l'unicité et la traçabilité. Pour les autres matières, on conserve la dénomination locale.

2. Dénomination dans le cadre des sites et sols pollués

Les échantillons sont identifiés par une chaîne constituée de la concaténation des codes suivants :

Dénomination RW + Campagne + Numéro de campagne + Moyen de reconnaissance + Numéro d'ordre du moyen dans un même type + Matrice + Numéro d'ordre du prélèvement.

Dénomination RW : dénomination imposée par l'administration et composée d'un nombre fixe de caractères (ex : 2009SP0125).

Campagne + numéro de campagne : imposé par l'administration et composé d'un nombre fixe de caractères suivi d'un numéro précisant la campagne (ex : C03 codera la troisième campagne sur le site en question).

Moyen de reconnaissance : code permettant d'identifier le type de moyen ou de situation suivant la liste exhaustive suivante :

RV	:	rivière ou cours d'eau en général,
FL	:	flaque,
FR	:	forage,
PT	:	puits traditionnel,
PF	:	puits foré équipé en piézomètre,
TR	:	tranchée,
FT	:	fût,
CT	:	citerne,
AU	:	autre.

Ce code est suivi d'un numéro d'ordre pour un même type de moyen (ex : FR008 codera le huitième forage).

Matrice : code permettant d'identifier le type de matrice suivant la liste exhaustive suivante :

GAZ	:	gaz, air,
ESU	:	eau de surface,
ESO	:	eau souterraine,
LIQ	:	liquide autre,
SOL	:	sol en place ou non y compris sols non naturels,
BOU	:	boue,
DEC	:	déchet particulier,

ORIGINAL 2014

DIL	:	déchet industriel liquide,
DIP	:	déchet industriel pâteux ou boue,
DIS	:	déchet industriel solide.

Ce code est suivi d'un numéro d'ordre du prélèvement pour une même matrice (ex : SOL04 codera le quatrième prélèvement de sol) dans ce même ouvrage.

Le masque d'encodage du numéro d'échantillon sera donc :

9999RW9999C99XX999XXX99

Exemple : **2010RW0231C02PF004ESO02** codera de manière univoque le **2**ème échantillon d'eau souterraine prélevé dans le puits foré numéro **4** lors de la **2**ème campagne de reconnaissances sur le site **231**, le numéro de dossier ayant été attribué en **2010**.

3. Dénomination dans le cadre des terres agricoles

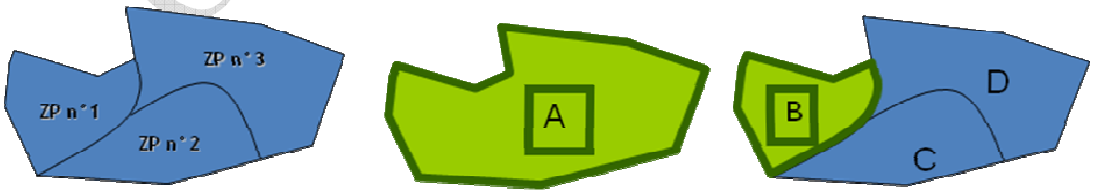
Les échantillons sont identifiés par une chaîne constituée de la concaténation des codes suivants :

Dénomination RW + Date de génération du rapport + Identifiant A/Z + Centroïde X,Y

Dénomination RW : dénomination imposée par l'administration et composée d'un nombre fixe de caractères reprenant l'année et les lettres TA (pour terre agricole) (ex : 2011TA)

Date de génération du rapport : code le mois et le jour de génération du rapport d'échantillonnage sous la forme mm/jj (ex : 0226)

Identifiant A/Z : Différencie si la zone considérée pour l'échantillon est la parcelle (A) ou une zone de prélèvement incluse dans cette parcelle (B/Z).



Centroïde X,Y : Coordonnées du centroïde forcé de la zone considérée pour l'échantillon, constituées de 15 caractères et exprimées en WGS84.

ORIGINAL 2014

Le masque d'encodage du numéro d'échantillon sera donc :

9999TA9999X999999999999999

Exemple : **2010TA0225B491234566654321** codera de manière univoque un échantillon de terre agricole issu de la zone de prélèvement B dont les coordonnées du centroïde exprimés en WGS84 sont de latitude nord = 49.123456 et longitude est = 6.654321, prélevé le 25 février 2010.

L'utilisation de l'outil de génération et de compression de code unique d'identification des échantillons disponible via le portail web du SPW-DGARNE (http://dps.environnement.wallonie.be/StartPage?isFIREFOX=0), comme indiqué dans la P-11, permet de générer automatiquement cet identifiant, de le compresser et également de générer un code barre deux dimensions, unique, propre à l'échantillon.

ORIGINAL 2014

P-11V1 – MÉTHODE D'ECHANTILLONNAGE DES SOLS AGRICOLES

1. Introduction

La présente méthode définit le mode d'échantillonnage des horizons cultivés ou humifères.

Les analyses envisagées sont réalisées :

- en vue d'émettre un diagnostic environnemental de la parcelle (éléments traces);
- dans le but d'évaluer ou de contrôler le niveau de fertilité d'une parcelle de terre.

Elle ne s'applique pas aux études pédologiques, à la détermination des reliquats d'azote minéral ni à la recherche de pollutions ponctuelles.

ORIGINAL 2014

2. Dénomination des échantillons

On se référera à la méthode P-10 décrivant les prescriptions en la matière.

Un outil de génération de code unique d'identification des échantillons et de compression de ce code est disponible via le portail web du SPW-DGARNE (http://dps.environnement.wallonie.be/StartPage?isFIREFOX=0). Cet outil peut être utilisé moyennant identification préalable et permet également de générer un code barre deux dimensions, unique, propre au code de l'échantillon.

3. Conditionnement et flaconnage

On se référera à la méthode P-1 décrivant les prescriptions en la matière.
Etant donné la nécessité d'analyse des éléments traces métalliques, le flaconnage devra être de type PE-PP-verre, d'une contenance de 500 g minimum.

4. Prélèvement et échantillonnage

4.1. Volume de l'échantillon

L'échantillon supposé représentatif d'une zone dite homogène est en fait constitué d'un certain nombre d'échantillons élémentaires prélevés dans une couche de profondeur donnée (échantillon composite); son volume est éventuellement réduit pour constituer l'échantillon final à soumettre aux analyses.

4.2. Matériel de prélèvement

Le matériel en général sera inerte vis-à-vis des paramètres à analyser.

Le système de prélèvement est constitué d'une sonde tubulaire (par exemple de type gouge) de faible diamètre (par exemple 3 cm) en acier inoxydable. Le diamètre est volontairement limité afin d'essayer d'éviter l'étape de réduction de quantité de matière pour aboutir à l'échantillon analytique.
Les sondes peuvent être manuelles ou mécanisées.
Les échantillons élémentaires sont rassemblés dans un seau en PEHD d'une contenance de 10 litres.

4.3. Epoque de prélèvement

Pour une analyse de caractérisation, d'évaluation ou de diagnostic, la date de prélèvement importe peu au cours de l'année. Par contre, après un apport de matières fertilisantes, il faut éviter de prélever tant que l'horizon de surface n'a pas retrouvé une homogénéité suffisante. A cette fin, il faut attendre de 1 à 3 mois après l'apport d'engrais et minimum 3 mois après l'apport d'amendement.

Il est préférable d'éviter de prélever dans un sol non ressuyé.

Dans le cas d'un renouvellement d'analyse de contrôle, il faut procéder à l'échantillonnage du sol à la même époque de l'année et si possible après la même culture.

4.4. Zone de prélèvement

Délimitation des zones de prélèvement pour une analyse de caractérisation ou de suivi

Dans la parcelle, délimiter les zones

- de même culture dans un même état végétatif,
- de même précédent cultural,
- caractérisées par un relief homogène,
- caractérisées par un sol homogène du point de vue couleur, structure, texture, profondeur, éléments grossiers et humidité.

Un échantillon sera réalisé pour chacune des zones homogènes de la parcelle.

Un outil d'aide à la délimitation des zones de prélèvement au sein de la parcelle est disponible via le portail du SPW-DGARNE (http://dps.environnement.wallonie.be/StartPage?isFIREFOX=0). Cet outil peut être utilisé pour définir les zones d'analyse, moyennant identification préalable.

4.5. Réalisation de l'échantillonnage

L'échantillon final, d'environ 500g, sera représentatif des prélèvements élémentaires réalisés sur une zone **homogène**, comme définit au point 4.4 de la présente procédure, et dont la surface est inférieure ou égale à 5 hectares.

ORIGINAL 2014

La surface de la zone de prélèvement peut être adaptée en fonction des conditions particulières d'exploitation non homogène, des données scientifiques disponibles sur les caractéristiques des sols ou l'hétérogénéité des sols. L'outil d'aide à la délimitation des zones de prélèvement (http://dps.environnement.wallonie.be/StartPage?isFIREFOX=0), fait office d'avis du fonctionnaire dirigeant à l'administration en permettant de moduler la surface de ces zones de prélèvement.

Il faut effectuer au minimum 20 prélèvements élémentaires sur la zone homogène.

Il est judicieux de ne pas augmenter inutilement le nombre de prélèvements élémentaires afin de ne pas devoir réduire l'échantillon composite résultant.

4.6. Répartition des prélèvements élémentaires

Sur chaque zone homogène définie, réaliser les prélèvements élémentaires sur la circonférence d'un cercle de 15 m de rayon situé au centre ; les prélèvements sont effectués de manière aléatoire en prenant toutefois la peine d'éviter :

- les limites de zones,
- les traces d'engins agricoles,
- les bordures,
- les endroits de stockage des amendements,
- les endroits de surpâturage (mangeoires, abreuvoirs,…).

4.7. Profondeur de prélèvement

En grande culture, la profondeur de prélèvement est de 25 cm. En prairie, elle est de 15 cm.

4.8. Exécution des prélèvements élémentaires

A chaque emplacement de prélèvement élémentaire, enlever l'éventuelle végétation qui couvre le sol, sans attaquer le système racinaire, et enfoncer la sonde verticalement jusqu'à la profondeur adéquate.

Rassembler les différents prélèvements élémentaires dans un seau de dix litres en PEHD afin de constituer l'échantillon composite.

4.9. Constitution de l'échantillon analytique

Idéalement, l'échantillon composite pèse environ 500 g. Dans ce cas, il n'exige pas de réduction de poids. L'échantillon composite est donc l'échantillon analytique.

Si l'échantillon composite est plus volumineux, il faut procéder à sa réduction. Pour ce faire, étaler l'échantillon sur une bâche plastique sèche, propre et inerte vis-à-vis des paramètres à analyser. Mélanger l'échantillon pour l'homogénéiser visuellement. Prélever 10 fois 50 g de manière aléatoire pour constituer l'échantillon analytique.

ORIGINAL 2014

5. Conservation et transport

L'échantillon analytique est conditionné conformément à la P1-Flaconnage, transport et conservation dans un récipient PE-PP-Verre. Il est conservé et transporté à température ambiante (< 25°C) et à l'abri de la lumière directe du soleil.

Les identifiants sont placées à l'extérieur du contenant ainsi que sur le rapport d'échantillonnage.

Le rapport d'échantillonnage accompagne chaque échantillon.

6. Géoréférencement de l'échantillon

On se référera à la méthode P-8 décrivant les prescriptions en la matière.

L'utilisation de l'outil de délimitation des zones de prélèvement (http://dps.environnement.wallonie.be/StartPage?isFIREFOX=0), moyennant identification préalable, permet le géoréférencement automatique de l'échantillon.

7. Rapport

Un rapport d'échantillonnage est exigé pour chaque parcelle échantillonnée.

Un modèle de rapport contenant les informations minimales à fournir, est disponible en annexe 1 de cette procédure. Un exemple de rapport complété est disponible en annexe 2.

Il est possible de générer ce rapport précomplété en utilisant l'outil de délimitation des zones de prélèvement (http://dps.environnement.wallonie.be/StartPage?isFIREFOX=0), moyennant identification préalable.

ORIGINAL 2014

8. Références

ISO 10381-1
ISO 10381-4
NF X 31-100

9. Annexes

Annexe 1 : Modèle de rapport d'échantillonnage.
Annexe 2 : Exemple de rapport d'échantillonnage complété.

CWEA – RAPPORT DE L'ÉCHANTILLONNAGE DES TERRES AGRICOLES DANS LE CADRE DE L'ÉPANDAGE DE MATIÈRES AMENDENTES

DONNÉES RELATIVES AU DESTINATAIRE :

N° de client : .....

N° de référence du destinataire : .....

Nom-Prénom : .....

Adresse : .....

Code postal : .....

Localité : .....

Téléphone : .....

Mail : .....

IDENTIFICATION DE LA PARCELLE

Code référence de la parcelle : .....
Localisation X ;Y (cfr P-8) : .....
Superficie : .....

IDENTIFICATION DES ZONES DE PRÉLÈVEMENT

Carte de localisation des zones de prélèvement sur la parcelle :
Tableau des zones de prélèvement :

Zone	Code échant. interne	Occupation	Coordonnées. centroïde	
		%	x	y

Zone	Texture	Drainage	Charge		Substrat		Divers
			Nature	Abondance	Nature	Prof sol.	

Code de dénomination des échantillons (cfr P10) :

A :

B : .....

C : .....

D : .....

Nb : Si l'échantillon représente toute la parcelle, seul le code de la zone A doit être complété.
Si plusieurs échantillons sont constitués sur la parcelle, le code A ne doit pas être.. complété.

ORIGINAL 2014

Date du prélèvement : ____/____/____
Identification de l'échantillonneur : .....

IDENTIFICATIONS COMPLÉMENTAIRES *(FACULTATIVES)*

Carte de la parcelle :

Présence d'un ruisseau, fossé, … : O / N
Distance du cours d'eau par rapport au centre de la ZA : .....
Présence d'un point d'eau : .....
Localisation dans quelle ZA : .....
Pente générale de chaque ZA ou de la ZA : .....
Localisation des zones d'affouragement, stockage temporaire des amendements, …

ORIGINAL 2014

CWEA – RAPPORT DE L'ÉCHANTILLONNAGE DES TERRES AGRICOLES DANS LE CADRE DE L'ÉPANDAGE DE MATIÈRES AMENDENTES

DONNÉES RELATIVES AU DESTINATAIRE :

N° de client : .....

N° de référence du destinataire : .....

Nom-Prénom : .....

Adresse : .....

Code postal : .....

Localité : .....

Téléphone : .....

Mail : .....

IDENTIFICATION DE L'UNITÉ DE LA PARCELLE

Code référence de la parcelle : .....
Localisation X ;Y (cfr P-8) : X = 177 570 m ; Y = 14 522 m .....
Superficie : 18,4ha .....

IDENTIFICATION DES ZONES DE PRÉLÈVEMENT

Carte de localisation des zones de prélèvement sur la parcelle :

Tableau des zones de prélèvement :

Zone	Code échant. interne	Occupation	Coordonnées. centroïde	
		%	X (m)	Y (m)
B	code propre au labo	60	177572	145028
C	Ex :eta04758	40	177566	145084

Zone	Texture	Drainage	Charge		Substrat		Divers
			Nature	Abondance	Nature	Prof sol.	
B	Limon	Excessif à imparfait	-	< 5%	Argile ou argile sableuse	> 40 cm	-
C	Limon	Excessif à imparfait	gravier	5 - 15%	-	> 40 cm	Alluvion ou colluvion

Code de dénomination des échantillons (cfr P10) :

A : .....

B : 2010TA1025B506014124800856 .....

C : 2010TA1025C506253254800725 .....

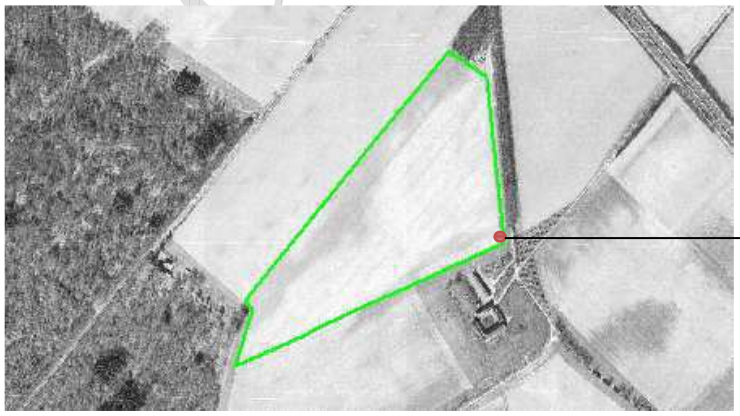
D : .....

Nb : Si l'échantillon représente toute la parcelle, seul le code de la zone A doit être complété.
Si plusieurs échantillons sont constitués sur la parcelle, le code A ne doit pas être complété.

Date du prélèvement : 25/10/2010
Identification de l'échantillonneur : .....

IDENTIFICATIONS COMPLÉMENTAIRES *(FACLUTATIVES)*

Carte de la parcelle :



ORIGINAL 2014

Présence d'un ruisseau, fossé, … : N
Distance du cours d'eau par rapport au centre de la ZA : .....
Présence d'un point d'eau : Non .....
Localisation dans quelle ZA : .....
Pente générale de chaque ZA ou de la ZA :B=0% et C=5%.....
Localisation des zones d'affouragement, stockage temporaire des amendements, … : .....
Stockage boue dans coin inférieur droit de la parcelle.....

ORIGINAL 2014

P-13V1 – MÉTHODE DE PRÉLÈVEMENT DES EFFLUENTS INDUSTRIELS AU MOYEN D'UN ÉCHANTILLONNEUR AUTOMATIQUE

1. Introduction

Certaines matrices liquides présentent une grande variabilité qualitative et quantitative dans le temps ; c'est plus particulièrement le cas des effluents qui dépendent eux-mêmes des processus de fabrication mis en œuvre.

Pour caractériser ces rejets de manière fidèle, on ne peut envisager de se contenter d'un échantillon ponctuel qui ne représente qu'un instantané de la situation. Il faut alors multiplier les prises d'échantillons élémentaires (aliquotes) afin de se mettre à l'abri autant que possible des effets ponctuels (effets de pépites).

Seule une bonne connaissance du processus industriel permettra de choisir judicieusement son schéma d'échantillonnage et donc les bons critères de déclenchement et d'arrêt de l'échantillonnage.

ORIGINAL 2014

2. Dénomination des échantillons

On se référera à la méthode P-10 décrivant les prescriptions en la matière.

3. Echantillonneur automatique

Un échantillonneur automatique est composé de :

- une ligne de prélèvement,
- une pompe,
- un contrôleur commandant la pompe et éventuellement un bras répartiteur,
- un conteneur réfrigéré pour les flacons,
- d'un port informatique permettant le raccordement à un moniteur externe (mesure du débit ou autres paramètres).

3.1. Ligne de prélèvement

La ligne de prélèvement est le tuyau plongeant dans l'effluent et amenant l'échantillon dans le ou les flacons ; on considère que le segment de pompe n'en fait pas partie. Cette ligne est constituée d'une matière neutre vis-à-vis des paramètres à analyser. Son diamètre interne est de 9 mm au minimum. Elle est équipée d'une crépine dont les ouvertures ont un diamètre de 5 mm au minimum. La ligne est remplacée après chaque usage et la crépine nettoyée et rincée à l'eau alimentaire. Étant donné le coût du segment de pompe, celui-ci ne sera remplacé que si nécessaire.

3.2. Pompe

La pompe est soit à dépression, soit péristaltique ; cette dernière créant des mini dépressions limite le dégazage de l'effluent.

La pompe sera suffisamment puissante pour garantir une vitesse ascensionnelle de 0.5 m/s de l'effluent dans la ligne de prélèvement.

3.3. Contrôleur

Il permet de :

- programmer les paramètres de prélèvement (séquençage),
- commander la pompe,
- commander le bras répartiteur orientant l'aliquote vers le ou les flacons,
- interfacer les mesures envoyées par un moniteur externe.

3.4. Conteneur réfrigéré pour les flacons

Le conteneur sera réfrigéré (réfrigérateur ou glace) de manière à conserver les échantillons dans une ambiance à une température comprise entre 0 et 4 °C ; l'évolution de la température est mémorisée dans l'échantillonneur de manière à apporter la preuve du respect des conditions de conservation.

3.5. Port informatique

Cette entrée permet de raccorder un moniteur externe qui permettra le pilotage éventuel de l'échantillonneur au travers d'une mesure de débit, d'un paramètre physico-chimique (pH, conductivité, niveau, gradient,…) ou d'une impulsion (consécutive au démarrage d'une pompe par exemple).

On se référera à la méthode P-14 décrivant les prescriptions en la matière.

ORIGINAL 2014

4. Consignes de sécurité

4.1. Consignes générales de sécurité

Les consignes générales de sécurité sont propres à chaque entreprise ; elles sont transmises au sous-traitant au travers de l'ouverture de chantier qui est souvent accompagnée d'une séance d'information et d'un éventuel examen.

4.2. Consignes particulières de sécurité

Les consignes particulières de sécurité inhérentes à l'opération de prélèvement ont essentiellement deux origines :

- le travail en milieu confiné,
- la manipulation de l'effluent.

Travail en milieu confiné

Si une personne doit entrer dans un lieu confiné, il faut toujours :

- vérifier l'absence de risque d'explosion à l'aide d'un explosimètre ou d'un appareil similaire;
- vérifier l'absence de gaz toxiques comme H_2S, CO, CO_2, … à l'aide d'un détecteur approprié;
- vérifier que la teneur en oxygène est suffisante (environ 20 %);
- ne pénétrer dans un espace confiné que si d'autres personnes se trouvent à l'extérieur, en nombre suffisant pour pouvoir effectuer un sauvetage. L'opérateur qui entre dans un espace confiné doit toujours porter un harnais de secours complet relié à l'extérieur par un cordage de sécurité. La communication directe avec tous les opérateurs doit toujours être possible ;
- que l'opérateur porte un appareil de protection respiratoire ainsi que au moins deux personnes à l'extérieur ;
- porter les vêtements de protection adéquats (combinaison, bottes en caoutchouc, gants, lunettes et casque) ;
- porter un moniteur de contrôle de l'atmosphère. Si l'appareil indique que les conditions ne sont pas bonnes, toutes les personnes présentes dans l'espace confiné doivent évacuer et l'espace confiné doit être ventilé.

Manipulation de l'effluent

Les personnes travaillant en contact avec des effluents industriels doivent respecter les réglementations nationales comportant des prescriptions relatives à la vaccination.

En fonction de la nature de l'effluent, il est recommandé de :

- porter des gants et des lunettes pendant toute la manipulation,
- de se désinfecter les mains une fois la manipulation terminée.

En cas de contact avec un effluent toxique, les personnes exposées ne doivent ni manger, ni boire, ni fumer avant de s'être entièrement lavées.

Site de prélèvement

L'échantillonneur sera clairement balisé plus particulièrement en cas de trappillon soulevé ou entrouvert pour laisser passer la ligne de prélèvement.

ORIGINAL 2014

5. Mise en place

5.1. Site

Il est indispensable de choisir un emplacement représentatif de l'effluent à examiner, particulièrement dans le cas d'eaux de rejet brutes, dont la composition peut varier considérablement au cours du temps. Une étude préalable (processus industriel, nombre de points de rejet, type de caniveaux, type d'écoulements,…) sera réalisée pour implanter au mieux le ou les prélèvements.

La canalisation devra être nettoyée avant de commencer l'échantillonnage afin d'éliminer toute trace d'incrustation, boue, film bactérien, etc.

L'échantillonneur sera placé aussi près que possible du point de prélèvement.

5.2. Ligne de prélèvement

La ligne de prélèvement sera la plus courte possible. On évitera les cols de cygnes. Elle sera équipée d'une crépine dont les ouvertures auront un diamètre de 5 mm au minimum.

Dans la zone de prélèvement, l'effluent devra idéalement être homogène, brassé et turbulent. La crépine sera donc installée :

- en aval d'un déversoir ou en amont à 1/3 de la hauteur d'eau à partir de la surface ;
- dans le fond d'un canal à fond plat.

Dans le cas d'un écoulement faible, il faut éviter de dénoyer la crépine ; pour ce faire, installer la crépine à l'amont d'une légère retenue artificielle en veillant à empêcher la sédimentation de l'effluent.

5.3. Autres

Le ou les flacons seront rincés trois fois avec l'eau du point de prélèvement avant d'être placés dans l'échantillonneur.

Avant de quitter les lieux, l'échantillonneur devra être scellé.

En cas de faible gèle, la ligne de prélèvement devra être isolée thermiquement.

6. Paramètres d'échantillonnage

Le volume de la prise d'échantillon est ajusté avant chaque démarrage. Chaque prise élémentaire aura un volume de 50 ml minimum.

Pendant l'exécution de la séquence, chaque prise d'échantillon est précédée d'un rinçage de la ligne de prélèvement.

ORIGINAL 2014

Le volume final prélevé dans chaque flacon sera au moins égal au volume analytique. Tout appoint ponctuel sera clairement signalé dans le rapport.

Le conteneur sera réfrigéré de manière à conserver les échantillons dans une ambiance à une température comprise entre 0 et 4 °C ; l'évolution de la température est mémorisée dans l'échantillonneur.

7. Séquence d'échantillonnage

Les prises d'échantillons sont séquencées suivant 4 modes possibles :

- en fonction du débit,
- en fonction du temps,
- en fonction d'un déclenchement sur un paramètre extérieur et ensuite en fonction d'un des deux modes précédents,
- en fonction d'un déclenchement sur un paramètre extérieur avec prise d'un échantillon élémentaire à chaque déclenchement.

C'est le contrôleur qui permet la programmation de la séquence.

Dans le cas d'un rejet en continu, le préleveur mettra tout en œuvre pour effectuer préférentiellement un prélèvement dans l'ordre de priorité suivant :

- prélèvement mono flacon proportionnellement au débit avec mesure et exploitation de cette mesure par l'échantillonneur ;
- prélèvement multi-flacons proportionnellement au temps avec reconstruction à posteriori de l'échantillon final de manière pondérée sur base des données débitmétriques disponibles ;
- prélèvement mono flacon proportionnellement au temps.

Dans le cas d'un rejet séquentiel, le préleveur mettra tout en œuvre pour effectuer préférentiellement un prélèvement dans l'ordre de priorité suivant :

- prélèvement mono flacon proportionnellement au débit avec mesure et exploitation de cette mesure par l'échantillonneur après déclenchement de la séquence sur le fonctionnement de la pompe ou la montée d'un niveau repère ;
- prélèvement mono flacon proportionnellement au temps après déclenchement de la séquence sur le fonctionnement de la pompe ou la montée d'un niveau repère.

7.1. Echantillonnage proportionnellement au débit

Ce séquençage exige évidemment de procéder à la mesure du débit en continu avec exploitation des données par le contrôleur de l'échantillonneur.

La mesure du débit se fait :

- par mesure directe de la vitesse de l'effluent et de la section passante de la canalisation,

ORIGINAL 2014

- par mesure directe de la hauteur d'eau en amont d'un seuil avec conversion de la hauteur en débit via la fonction ou l'abaque liant la hauteur au débit.

Pour le détail de la mesure du débit, on se référera à la méthode P-14 décrivant les prescriptions en la matière.

Le débit est préalablement estimé de manière à dimensionner au mieux le pas d'échantillonnage afin de fournir un volume analytique suffisant à la fin de la séquence.

7.2. Echantillonnage proportionnel au temps

La cadence de prélèvement est étudiée de manière à fournir un volume au moins égal au volume analytique en fin de séquence.

7.3. Echantillonnage avec déclenchement d'une séquence sur un paramètre extérieur

L'échantillonneur, programmé dans un des deux modes précédemment décrit, peut déclencher sa séquence de prélèvement sur réception d'une consigne :

- impulsion correspondant au démarrage d'une pompe,
- dépassement d'une valeur fixée (niveau, pH, conductivité, gradient,…).

7.4. Echantillonnage avec déclenchement ponctuel sur un paramètre extérieur

L'échantillonneur peut déclencher un prélèvement ponctuel à chaque réception d'une consigne comme décrite en 7.3.

8. Période d'échantillonnage

Afin de caractériser un effluent industriel, la période de temps couverte par la séquence de prélèvement doit au moins correspondre à un cycle complet de production et de rejet.

Dans le cadre du calcul de la taxe, cette période est fixée à au moins 24 heures ; cependant, cette période peut être étendue afin de mieux couvrir le processus industriel.

La durée de l'échantillonnage dépendra de la stabilité de l'échantillon et des délais d'analyses pour les différents paramètres concernés. Elle peut varier de quelques heures (pour la détection des composés organiques volatiles ou pour la DBO_5) à plusieurs jours (pour les composés inorganiques stables).

On se référera aux méthodes analytiques décrivant les prescriptions en la matière.

ORIGINAL 2014

9. Conditionnement et flaconnage

Le ou les flacons placés dans l'échantillonneur automatique ne peuvent pas être conditionnés.

Par contre, le flaconnage secondaire destiné aux analyses sera clairement étiqueté et constitué de flacons conformes aux exigences du laboratoire. Il est conseillé de conditionner certains flacons avec des réactifs stabilisants toujours en accord avec le laboratoire.

On se référera à la méthode P-1 décrivant les prescriptions en la matière.

10. Remplissage, transport et conservation

On se référera à la méthode P-1 décrivant les prescriptions en la matière.

Le bidon contenant les aliquotes doit être agité avant le remplissage des flacons afin de bien homogénéiser l'échantillon. Il faut régulièrement ré-homogénéiser l'échantillon dans le bidon si le nombre de flacons à remplir est important.

11. Maintenance des échantillonneurs

La ligne de prélèvement devra être renouvelée lors de chaque changement de point en ce compris le tuyau allant de la pompe au bidon.

Le segment de la pompe devra être remplacé suivant les normes établies par le constructeur de l'échantillonneur automatique. Il sera rincé à l'eau de distribution après chaque prélèvement.

L'ensemble des joints des tubes doivent pouvoir être détachés, nettoyés et remplacés facilement. L'échantillonneur devra rester propre.

12. Rapport

Le rapport de prélèvement reprendra les renseignements suivants :

- le nom de l'entreprise avec le(s) nom(s) de la (des) personne(s) de contact ;
- la date de prélèvement ;
- le nom de la personne ayant réalisé le prélèvement ;
- une ou plusieurs photos du (des) point(s) de prélèvement ;
- un résumé du suivi de la bonne maintenance du matériel utilisé ;
- la méthode d'échantillonnage utilisée (débit/temps, séquence d'échantillonnage, volume prélevé par l'échantillonneur, l'appoint éventuellement apporté) ;
- les données enregistrées par l'échantillonneur automatique (température du frigo, heures des prélèvements élémentaires formant l'échantillon composite, débit de l'effluent, température de l'effluent, …) sous forme graphique et/ou dans un tableau ;

ORIGINAL 2014

- les mesures de terrain prisent manuellement à partir de l'échantillon composite (température, conductivité, pH,…) ;
- la nature et la quantité d'agents de conservation ajoutés ;
- le suivi des conditions de transport (température du frigo, heure de réception).

13. Références

ISO 5667-10.

ORIGINAL 2014

P-14V1 – MÉTHODE DE MESURE DU DÉBIT D'UN EFFLUENT INDUSTRIEL EN CANALISATIONS OUVERTES OU NON EN CHARGE

1. Domaine d'application

Cette méthode réglemente la mesure du débit d'un effluent industriel en canalisations ouvertes ou non en charge. L'objectif principal est d'exploiter les mesures effectuées en vue de piloter un échantillonneur automatique pour procéder à un échantillonnage séquencé proportionnel au débit. Les exigences techniques sont donc valables pour le placement d'un appareil de mesure ponctuelle (contrôle, calcul de la taxe) ainsi que pour l'installation d'un système à demeure pour un suivi journalier (autocontrôle).

Nous renvoyons aux constructeurs pour les installations fixes et pour la fourniture des courbes d'étalonnage utiles.

ORIGINAL 2014

2. Introduction

Il existe deux types de mesures du débit :

- les mesures directes qui consistent en la mesure d'un profil de vitesses et d'une hauteur de liquide dans une section de géométrie connue ; l'intégration de la vitesse sur la section permet de calculer le débit ;
- les mesures indirectes qui consistent à mesurer la hauteur d'eau en amont d'un artefact permettant de lier directement cette hauteur d'eau au débit. Ces artefacts sont, soit un canal jaugeur, soit un seuil déversoir (en V, trapézoïdal, rectangulaire voire une combinaison).

3. Artefacts permettant la mesure indirecte du débit

Ces ouvrages créent une retenue en amont permettent de convertir une mesure de débit en simple mesure de hauteur d'eau. Ils sont de deux types :

- les déversoirs,
- les canaux jaugeurs.

3.1. Les déversoirs - principaux types

L'écran que constitue le déversoir provoque une remontée du niveau de l'eau à l'amont qui se stabilise à débit constant. La mesure de la hauteur à l'amont est donc proportionnelle au débit.

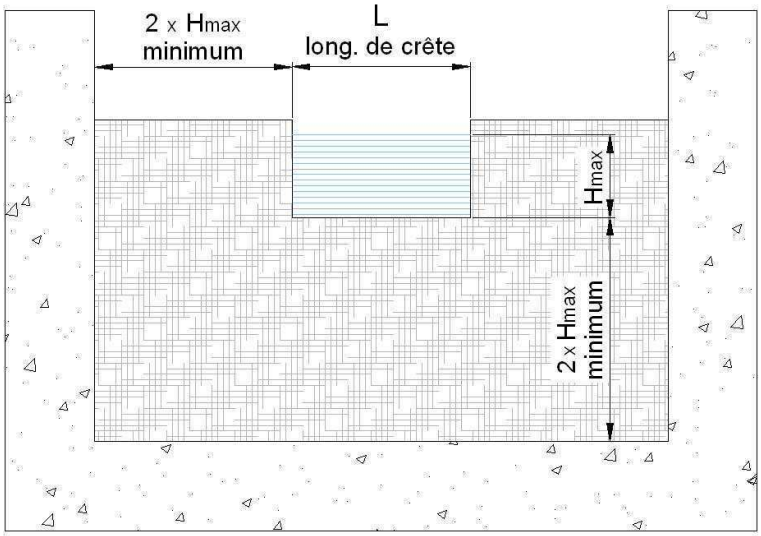
Déversoirs à parois minces

Un déversoir à paroi mince est qualifié comme tel lorsque la lame déversante n'est en contact avec la crête que suivant une ligne mince munie d'un bord de fuite à 45°. La lame d'eau doit se déverser librement vers l'aval avec création d'une zone d'air libre entre le déversoir et cette

lame. De ce fait, la hauteur d'eau à l'amont du déversoir ne dépend pas de la hauteur d'eau à l'aval.

Les types les plus couramment rencontrés sont :

- les *déversoirs à échancrure triangulaire* ; ce sont les plus précis pour les faibles débits avec une bonne étendue ; ils sont peu recommandés pour les flux élevés.



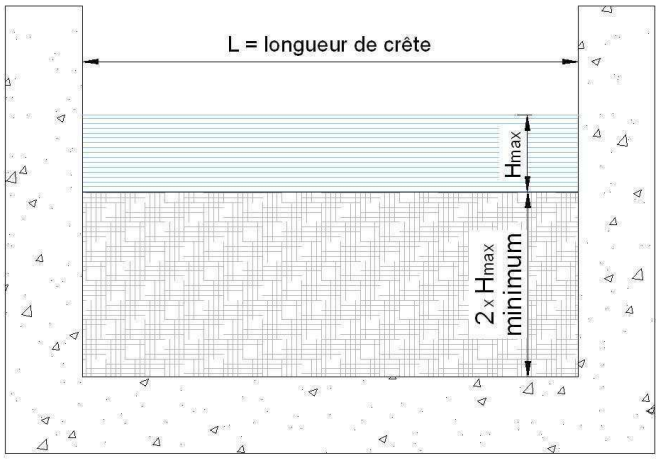
La formule liant la hauteur H à l'amont du déversoir au débit Q est de la forme :

$Q = C*H^{2.5}$

avec C une constante dépendant de la géométrie du déversoir et des unités choisies.

- les *déversoirs à échancrure rectangulaire (sans contractions latérales)* ; peu précis et déconseillés pour les faibles débits, ils autorisent une étendue un peu moins large mais des débits maximum plus élevés. Cependant, l'absence de contractions latérales rend difficile une aération correcte sur les bords (imprécisions).

ORIGINAL

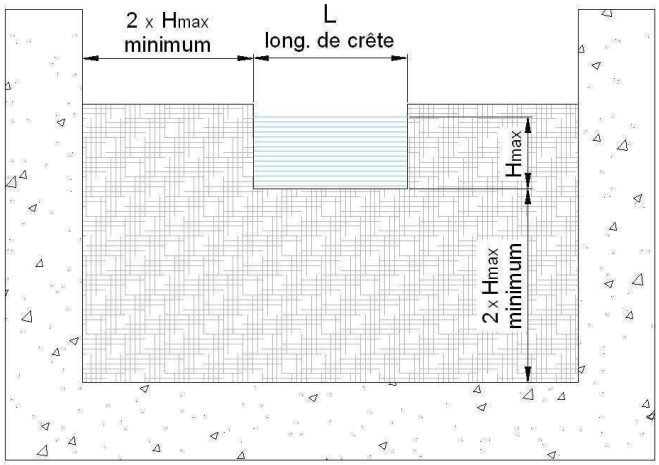


La formule liant la hauteur H à l'amont du déversoir au débit Q est de la forme :

$Q = C*L*H^{1.5}$

avec C une constante dépendant des unités choisies et L la largeur passante (largeur de crête).

- les *déversoirs à échancrure rectangulaire* (avec contractions latérales) ; idem sans contractures latérales mais les contractures latérales permettent une meilleure aération donc une meilleure exactitude.



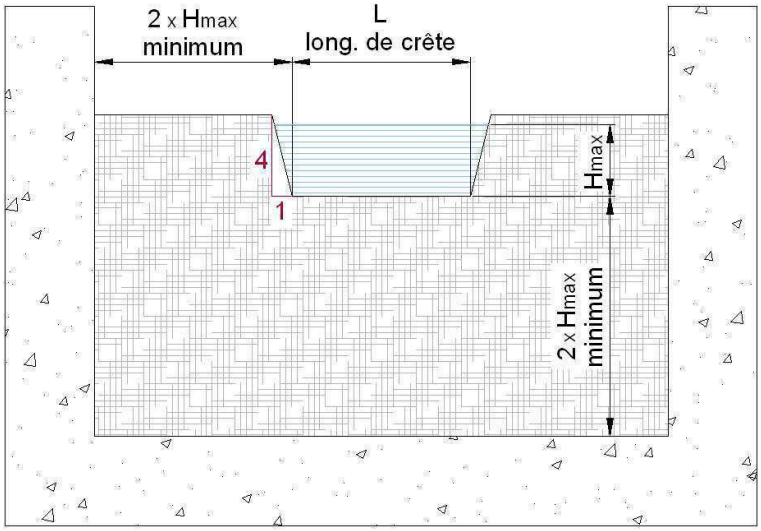
La formule liant la hauteur H à l'amont du déversoir au débit Q est de la forme :

$Q = C*(L - 0.2*H)*H^{1.5}$

avec C une constante dépendant des unités choisies et L la largeur passante (largeur de crête).

- les *déversoirs à échancrure trapézoïdale* ; mêmes propriétés que les déversoirs à échancrure rectangulaire avec contractions latérales mais l'étendue du débit est un peu plus large au détriment de la précision.

FINAL 2014



Lorsque les côtés du trapèze ont une pente de 4/1, la formule liant la hauteur H à l'amont du déversoir au débit Q est de la forme :

$Q = C*L*H^{1.5}$

avec C une constante dépendant des unités choisies et L la largeur passante à la base (largeur de crête de base).

Autres

Il est possible de combiner plusieurs types de déversoirs par superposition ; on combine alors les formules en additionnant les débits en tenant compte d'une zone d'imprécision à chaque débordement d'un déversoir inférieur.

La gamme des débits concernée par la présente méthode ne requiert qu'exceptionnellement la mise en place de systèmes lourds comme les déversoirs à seuil épais. Ceux-ci sont donc volontairement ignorés.

ORIGINAL 2

3.2. Canaux jaugeurs

Il en existe de plusieurs types mais tous sont basés sur l'effet Venturi.

Un canal jaugeur modifie le cours rectiligne du conduit d'évacuation ; il est composé d'une partie convergente, d'une gorge où se fait l'effet Venturi et d'une section divergente d'évacuation. Les différentes sections peuvent présenter des pentes identiques ou différentes selon les types.

Le rétrécissement dans la gorge provoque une augmentation du niveau à l'amont qui se stabilise à débit constant créant ainsi un déversoir sans écran. La mesure de la hauteur à l'amont est donc proportionnelle au débit.

3.3. Comparaison succincte entre déversoirs et canaux jaugeurs

A taille égale, un canal jaugeur permet une beaucoup plus large étendue du débit qu'un déversoir. Il ne constitue pas un piège à sédiments et est donc beaucoup plus facile à entretenir. Cependant, il est plus cher à l'installation. L'augmentation de hauteur dans un canal jaugeur étant moins importante que dans un déversoir pour couvrir une plage de débits plus large, la précision est moins bonne.

3.4. Puits de mesure

Un puits de mesure consiste en une cavité latérale reliée au conduit d'évacuation par un canal de section faible ; ce canal peut être sous-marin ou (et) équipé d'une grille.

Le but de ce puits est d'éviter :

- l'effet de vaguelettes,
- l'ensablement ou l'obstruction du canal dans lequel est pratiquée la mesure de hauteur,
- l'effet de moussants éventuels.

ORIGINAL 2014

4. Mesure du débit

Les mesures du débit sont pratiquées

- soit directement en mesurant la vitesse et la hauteur d'eau,
- soit indirectement au moyen de dispositifs tels que décrits au point 3.

Indépendamment et selon les techniques mises en oeuvre, les sondes utilisées sont

- soit immergées avec les risques de sédimentation, voire même d'accrochage de déchets plus importants en taille dans les liquides chargés ;
- soit émergées avec d'autres risques d'interférences (mousse, vent).

4.1. Types de sondes permettant des mesures directes (vitesse et hauteur d'eau combinées)

Sonde immergée

- Certaines *sondes électromagnétiques jumelées à une jauge pressiométrique* permettent de mesurer la vitesse instantanée par effet Doppler dans une zone d'écoulement proche du fond ainsi que la hauteur d'eau dans le canal. La combinaison de la vitesse mesurée sur toute la section, de la hauteur d'eau dans le conduit et de la connaissance de la géométrie de celui-ci permettent le calcul du débit instantané.

  Cette technique exige un minimum de particules en suspension dans le liquide afin de permettre la réflexion des ondes ; un liquide trop chargé empêche cependant ces mêmes réflexions. On ne peut donc envisager le placement de ce genre de sondes dans des effluents mixtes industriels et sanitaires sans risque majeur d'obstruction.

Sonde émergée

- La technologie « *RADAR* », grâce à une sonde suspendue au dessus de l'effluent, permet de mesurer la vitesse moyenne du liquide ; couplée à une sonde ultrasonique, on détermine la distance qui sépare la sonde de la surface ; moyennant la connaissance de la géométrie du canal, on connait le débit.

  Le coût de ce type de sonde est très élevé. De par la présence de la sonde ultrasonique, la technique ne convient pas pour les liquides moussants ; elle est également sensible au vent.

  Certaines sondes radar n'utilisent pas de sonde ultrasonique et s'affranchissent ainsi davantage des défauts de celle-ci (mousse, vent,…).

4.2. Types de sondes permettant des mesures indirectes (hauteur d'eau uniquement)

Sondes immergées

- *Sondes pressiométriques* : la hauteur d'eau est mesurée par mesure de la pression en tenant compte de la densité du fluide. Les systèmes les plus fréquents sont les capteurs piézométriques et les capteurs de contrepression de bullage.

  Ces mesures sont sujettes aux variations de la pression atmosphérique.

Sondes émergées

- *Sonde ultrasonique* : un capteur situé hors de l'effluent émet un son d'une fréquence supérieure à 20 kHz ; l'onde est réfléchie à la surface du fluide et est reçue par un capteur qui mesure le déphasage avec le signal de sortie. On détermine ainsi la distance entre le capteur et la surface du liquide.

  Cette technique est robuste mais peu précise ; elle ne convient pas pour les liquides moussants. Elle est également sensible au vent.

- Il existe des *sondes mécaniques* à flotteur qui sont citées pour mémoire, celles-ci n'étant plus guerre d'actualité.

ORIGINAL 2014

5. Placement des sondes

5.1 En fonction du type de sonde

Sonde ultra-son

La sonde ultra-son doit être placée verticalement par apport à la surface de l'effluent, le capteur vers le bas. La distance entre le capteur et l'effluent devra être comprise dans la gamme admise par le constructeur. Pour une meilleure précision, il faut placer la sonde le plus près possible du niveau maximum.

Sonde pressiométrique avec capteur piézométrique

La sonde doit être placée dans le sens prévu par le constructeur et doit rester complètement immergée tout au long des prises de mesures. Un niveau minimal de hauteur d'eau déterminé par le fabricant doit être respecté, en deçà, les valeurs perdent de leur précision.

Sonde pressiométrique avec capteur de contrepression de bullage

Cette sonde est utilisée avec un tuyau qui relie le module de l'échantillonneur à l'effluent. Dans ce tuyau, passent les bulles qui vont permettre de mesurer la contrepression. Ce tuyau ne devra pas dépasser la longueur maximale prévue par le constructeur. Il devra être aussi court que possible pour limiter les pertes de charge.

Un niveau minimal de hauteur d'eau déterminé par le fabricant doit être respecté, en deçà, les valeurs perdent de leur précision.

Sonde électromagnétique

Ces sondes permettent de mesurer la hauteur d'eau ainsi que la vitesse de l'effluent. Pour ces mesures, une hauteur d'eau minimum est nécessaire (3 à 6 cm). La sonde se place au dessus de l'effluent, au milieu de la largeur pour plus de précision.

Sonde radar

La sonde se place au dessus de l'effluent, au milieu de la largeur pour plus de précision.

5.2. En fonction de l'artefact

Déversoir à paroi mince

Dans le cas où un puits de mesure existe, on placera la sonde à sa hauteur sinon elle devra se situer à une distance suffisante en amont du déversoir pour éviter la zone d'abaissement de la surface causée par la formation de la lame déversante. Idéalement, la section de mesurage de la hauteur de charge devra se trouver à une distance égale à 4 ou 5 fois la charge maximale (4 ou 5 h_{max}) en amont du déversoir.

Dans les canaux jaugeurs

Dans le cas où un puits de mesure existe, on placera la sonde à sa hauteur sinon elle devra se situer à une distance suffisante en amont du déversoir pour éviter la zone d'abaissement de la surface causée par la formation de la lame déversante. Idéalement, la section de mesurage de la

ORIGINAL 2014

hauteur de charge devra se trouver à une distance égale à 3 ou 4 fois la charge maximale (3 ou 4 h_{max}) en amont de la gorge.

6. Etalonnage

On considèrera deux types d'étalonnage :

- l'étalonnage « constructeur » effectué régulièrement chez le fournisseur ou le constructeur avec fourniture d'un certificat ad-hoc ;
- l'étalonnage sur site qui consiste à vérifier ou ajuster la hauteur mesurée par le capteur en fonction de la hauteur réelle ; cet étalonnage est effectué au moyen d'un mètre de classe 3 au moins ; il est fait état de cet étalonnage dans le rapport.

7. Rapport

Le rapport de prélèvement reprendra les renseignements suivants :

- le nom de l'entreprise avec le(s) nom(s) de la (des) personne(s) de contact ;
- la période de mesures ;
- le nom de la personne ayant réalisé les mesures ;
- une ou plusieurs photos du (des) point(s) de mesures ;
- les résultats des étalonnages sur site ;
- un résumé du suivi de la bonne maintenance du matériel utilisé.

8. Références

ISO 1438
ISO 4359

ORIGINAL 2014

P-15V1 – MÉTHODE DE MESURE IN SITU DU pH DE L'EAU PAR LA MÉTHODE ELECTROCHIMIQUE

1. Domaine d'application

Cette méthode concerne la mesure du pH dans des solutions aqueuses :

- non salines (conductivité < à 20000 µS/cm à 25 °C) ;
- de température comprise entre 0 et 50 °C ;
- de pH compris entre 2 et 12 upH.

C'est la méthode électrochimique qui est uniquement prise en compte, celle-ci donnant d'excellents résultats dans les gammes citées.

ORIGINAL 2014

2. Introduction

La mesure du pH est une mesure très importante car elle s'invite dans de nombreux domaines souvent comme paramètre indicatif voire comme paramètre décisif ; ainsi, dans les eaux naturelles, les valeurs trop faibles ou trop élevées de pH sont défavorables à la vie et à sa diversité. Dès lors, les autorisations de rejets d'eaux industrielles ou urbaines limitent clairement les valeurs de ce paramètre. De même, la valeur du pH intervient dans des processus comme la floculation en STEP ou dans la biodisponibilité des certaines substances et en particulier les métaux.

3. Principe

Le pH d'une solution représente son caractère acide ou basique ; il est défini comme l'opposé du logarithme en base 10 de l'activité des ions hydrogène en solution soit :

$$pH = -\log a_{H^+}$$

C'est un nombre adimensionnel valable pour des activités en H^+ compris entre 10^0 et 10^{-14} ; il est donc situé dans une fourchette de 0 à 14.

Le pH neutre est défini à pH = 7 ; en deçà, il signe un caractère acide, au-delà un caractère basique.

Dans les eaux, on peut déterminer le pH en mesurant une différence de potentiel entre une électrode de référence et une électrode de mesure en application de la loi de Nernst :

$$E = E_0 + 2.3 * \frac{RT}{nF} * \log a_{H^+}$$

avec :

E : le potentiel de l'électrode mesuré,
E_0 : le potentiel normal de l'électrode qui est réalisé pour une activité en hydrogène égale à 1,
R : la constante des gaz parfaits (8.314 J/mol.°K),
T : la température absolue en °K,
n : la charge ionique,
F : la constante de Faraday (96.485 Coulombs/mol),

On peut simplifier l'équation en écrivant :

$$E = Const. - pente * pH$$

Ou

$$pH = \frac{Const. - E}{pente}$$

La valeur de la constante dépend de la nature de l'électrode et de son vieillissement.

La valeur de la pente dépend de la température et du vieillissement de la sonde. La mesure de la température est donc indispensable.

Un étalonnage en au moins deux points est obligatoire pour déterminer les deux inconnues que sont la constante et la pente.

ORIGINAL 2014

4. Appareillage

L'appareillage est composé d'un boîtier d'acquisition et d'une sonde.

La sonde est constituée d'une électrode de température, d'une électrode de mesure et d'une électrode de référence ou d'un dispositif d'électrodes groupées. Les sondes combinées sont de plus en plus fréquentes et très conseillées pour les mesures in-situ. Il existe différents types de sondes adaptées à des solutions de forces ioniques différentes et plus particulièrement pour des solutions faiblement tamponnées (conductivité électrique < 50 µS/cm).

La différence de potentiel est mesurée et amplifiée par l'acquisiteur qui la traduit en termes de pH en utilisant les paramètres d'étalonnage.

Les appareils récents apportent une correction automatique lors de l'étalonnage ou de l'ajustage dans une solution de référence connue en ramenant la valeur mesurée à une température standard de 20 ou 25 °C. Cette correction automatique est théorique et dépend de la solution étalon utilisée ; pour se prémunir de l'approximation éventuelle de cette correction, il suffit de placer la solution étalon à la température de référence.

5. Etalonnage – Ajustage

5.1. Introduction

On distingue trois types d'actions ayant pour but d'assurer la correction des mesures :

- vérification d'étalonnage : il s'agit de vérifier par une mesure unique s'il n'y a pas de biais ; pour ce faire, il faut utiliser une solution étalon d'une valeur proche de la valeur mesurée (a posteriori) ou attendue (a priori) ;
- étalonnage : il s'agit de déterminer le biais de la droite de mesures entre deux points ; on utilise alors deux solutions étalons encadrant la gamme des mesures ; les écarts entre les valeurs lues et attendues pour les deux solutions déterminent la droite de correction, les corrections étant apportée a posteriori ;
- ajustage : il s'agit de déterminer et de corriger le biais de la droite de mesures entre deux points ; on utilise alors deux solutions étalons encadrant la gamme des mesures ; les écarts entre les valeurs lues et attendues pour les deux solutions sont prises en compte par le boîtier d'acquisition afin d'apporter une correction d'affichage permanente.

Après et avant chaque campagne de mesures, on procède à un étalonnage ; cet étalonnage permet de quantifier l'importance de la dérive éventuelle des mesures depuis l'ajustage ou l'étalonnage précédent. Si l'écart est trop important, on procède à un ajustage.

5.2. Vérification d'étalonnage

Cette vérification n'est utile que si on dispose d'un étalon très proche de la valeur mesurée ou attendue.

5.3. Etalonnage

L'étalonnage nécessite deux solutions étalon encadrant la gamme des mesures.

Les solutions étalons sont placées dans une ambiance thermostatisée (bain, enceinte climatisée) à une température de référence ; cette température de référence est soit 20 ± 1 °C, soit 25 ± 1 °C en fonction des marques d'appareils utilisés et des solutions tampons correspondantes.

Après rinçage à l'eau alimentaire et séchage, la sonde est plongée dans la première solution tampon. Après stabilisation, on note la valeur sur le rapport d'étalonnage. Après rinçage à l'eau alimentaire et séchage de la sonde, on effectue la même opération avec la seconde solution tampon. Noter la seconde valeur sur le rapport d'étalonnage.

5.4. Ajustage

L'ajustage nécessite quatre solutions étalons :

- deux solutions étalons encadrant la gamme des mesures pour l'ajustage ;
- deux solutions étalons de contrôle ayant le même pH que celles utilisées pour l'ajustage mais de marque différente ou d'un lot différent.

ORIGINAL 2014

Toutes les solutions sont placées dans une ambiance thermostatisée (bain, enceinte climatisée) à une température de référence.

Après rinçage à l'eau alimentaire et séchage, la sonde est plongée dans la première solution tampon. Après stabilisation, on procède à l'ajustage. Après rinçage à l'eau alimentaire et séchage de la sonde, on effectue la même opération avec la seconde solution tampon.

Après l'ajustage à la seconde référence, la valeur de la pente est notée.

Après ajustage, le bon fonctionnement de l'appareil est vérifié en réalisant la mesure avec les 2 solutions étalons de contrôle ; les valeurs sont notées sur le rapport d'ajustage. Le laboratoire précise dans le rapport d'ajustage l'écart maximum de tolérance adopté.

5.5. Cartes de contrôle

Afin de maîtriser les dérives dans le temps, il est utile de suivre certaines mesures de manière statistique au moyen d'un système de surveillance validé (idéalement accrédité).

En voici un exemple.

La mesure du pH d'une solution tampon de contrôle de valeur différente des solutions étalon utilisées pour l'ajustage est réalisée et reportée sur une carte de Shewhart (cartes de moyennes). Sur cette carte sont reportés la valeur cible ainsi que les limites d'alerte (2s) et d'action (3s).

Interprétation des cartes de contrôle

Une situation « hors contrôle » est définie par un des critères suivants :

- 1 valeur de contrôle hors limite d'action ;
- 2 valeurs consécutives entre les limites d'alerte et d'action.

Une situation est sous contrôle mais en situation d'alerte, si :

- 1 valeur se situe entre les limites d'alerte et d'action ;
- 7 valeurs consécutives sont croissantes ou décroissantes ;
- 10 valeurs consécutives sont du même côté de la valeur cible.

La pertinence de ces limites sera vérifiée annuellement et adaptée si besoin.

Pour chaque carte, examen des 60 derniers points :

- nombre de dépassement de 2 s (doit être compris entre 1 et 6) ;
- la différence entre la moyenne des 60 points et la valeur cible doit être inférieure à 0.35s.

ORIGINAL 2014

6. Instructions opératoires

6.1. Dans un flux

La sonde est plongée directement dans le flux en l'enfonçant le plus possible dans le liquide sans noyer l'orifice de mise à l'air lorsqu'il y en a un. Le rinçage de la sonde est effectué naturellement dans le flux.

Après la mesure, rincer la sonde avec de l'eau alimentaire ou de l'eau déminéralisée. Remettre la sonde dans son fourreau avec un peu de KCl.

6.2. Sans flux

Un échantillon est prélevé dans un récipient adéquat de mesure. Le récipient et la sonde sont rincés avec l'eau à mesurer.

Placer la sonde dans l'échantillon d'eau et homogénéiser en tournant la sonde dans le liquide sans provoquer d'agitation. Laisser la mesure se stabiliser avec la sonde au repos. Une fois la stabilisation atteinte, mémoriser la valeur affichée et refaire quelques tours avec la sonde. Une fois stabilisée à nouveau, noter la valeur si celle-ci ne diffère pas de 0.02 upH de la valeur mémorisée. Sinon, refaire quelques tours jusqu'à obtention de deux valeurs consécutives telles que décrites.

Après la mesure, rincer la sonde avec de l'eau alimentaire ou de l'eau déminéralisée. Remettre la sonde dans son fourreau avec un peu de KCl.

6.3. Stabilisation

La valeur est considérée comme stable lorsque la valeur affichée varie de moins de 0.02 unités pH par minute.

Dans une solution tamponnée, la stabilisation intervient généralement après moins d'une minute.

Dans une solution faiblement tamponnée (conductivité < 50 µS/cm), la stabilisation est lente ; elle peut intervenir parfois après 15 à 30 minutes.

Certains appareils proposent un verrouillage automatique de la mesure lorsque la mesure est considérée comme stable selon ses critères propres.

7. Expression des résultats

Les mesures sont exprimées en unités pH à la température de l'échantillon avec une seule décimale.

ORIGINAL 2014

8. Maintenance

Afin de garantir une certaine longévité à votre électrode, il est conseillé de :

- dans les eaux « propres », de rincer l'électrode avant usage avec l'eau de mesure ; l'électrode est rincée avec de l'eau alimentaire après chaque journée d'utilisation ;
- dans les eaux « sales », rincer l'électrode à l'eau distillée après chaque mesure ;
- dans tous les cas, conserver l'électrode en verre dans une solution de KCl 3M ou une solution adaptée recommandée par le constructeur (éviter l'eau distillée) ;
- nettoyer l'électrode lorsque cela est nécessaire avec une solution adaptée recommandée par le constructeur

9. Interférences

Les principales sources d'interférences sont :

- mesure dans des solutions alcalines (pH > 9) où la présence de fortes concentrations en Na^+ peut entraîner une erreur de l'ordre de 1 upH ; certains appareils proposent une correction automatique ;
- la présence de courants électriques vagabonds qui viennent s'ajouter à la mesure ;
- le vieillissement par encrassement ;
- le dégazage ou la mise en solution de CO_2 atmosphérique dans des solutions faiblement tamponnées ;
- la présence de matières en suspension peut influencer la valeur ; il faut alors laisser décanter et mesurer sur le décanté ;
- certaines réactions entre l'électrolyte et la solution peuvent entrainer des précipitations dans la sonde et altérer la mesure.

ORIGINAL 2014

10. Références

ISO 10523.

Annexe

Exemple de carte de contrôle.

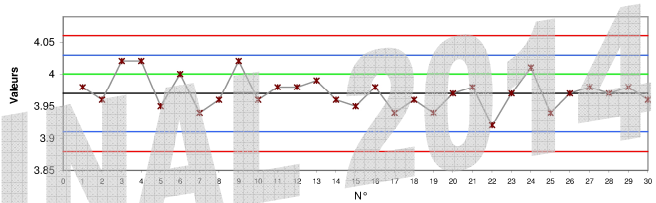
Exemple de carte de contrôle

Carte de contrôle	
Méthode d'essai :	Pm/018
Composé :	pH
Concentration :	4
Unités :	unité pH

Appuyer ici pour lancer la macro

N°	Date d'analyse (jj/mm/aaaa)	Analyste (initiales)	Infos complémentaires (période Pxx-aa, n°de réf. MRC...)	Valeur (x)	RMQ
1	02/07/2010	MVE		3.98	
2	09/07/2010	MVE		3.96	
3	16/07/2010	MVE		4.02	
4	23/07/2010	MVE		4.02	
5	30/07/2010	MVE		3.95	
6	06/08/2010	MVE		4	
7	12/08/2010	ALE		3.94	
8	20/08/2010	MVE		3.96	
9	27/08/2010	MVE		4.02	
10	10/09/2010	MVE		3.96	
11	17/09/2010	MVE		3.98	
12	23/09/2010	ALE		3.98	
13	01/10/2010	MVE		3.99	
14	08/10/2010	CLE		3.96	
15	15/10/2010	MVE		3.95	
16	22/10/2010	MVE		3.98	
17	28/10/2010	ALE		3.94	
18	05/11/2010	MVE		3.96	
19	10/11/2010	MVE		3.94	
20	19/11/2010	MVE		3.97	
21	26/11/2010	MVE		3.98	
22	03/12/2010	MVE		3.92	
23	07/01/2011	MVE		3.97	
24	13/01/2011	ALE		4.01	
25	21/01/2011	MVE		3.94	
26	28/01/2011	MVE		3.97	
27	04/02/2011	MVE		3.98	
28	11/02/2011	MVE		3.97	
29	17/02/2011	ALE		3.98	
30	25/02/2011	MVE		3.96	

Données en dehors des limites d'alerte (+/- 2s) : 0



ORIGINAL 2014

BORNES :		
Limite supérieure d'action	4.06	4.06
Limite supérieure d'alerte	4.03	4.03
Valeur cible	3.97	3.97
Limite inférieure d'alerte	3.91	3.91
Limite inférieure d'action	3.88	3.88
Moyenne	3.97	
Ecart-type	0.03	
Valeur vraie	4	4
+4s	4.09	4.09
-4s	3.85	3.85

Estimation de l'incertitude % (k = 2) : 1.51 %

Paramètres pour construire la carte 2

Moyenne	3.97
Ecart-type	0.03

Mod127V03 Corrigé

P-16V1 – MÉTHODE DE MESURE IN SITU DE LA CONDUCTIVITÉ ÉLECTRIQUE DE L'EAU

1. Domaine d'application

Cette méthode concerne la mesure in situ de la conductivité électrique de tous types d'eaux. La gamme de mesure s'étend de 0.1 à 99999 µS/cm.

2. Introduction

La conductivité électrique est l'image de la minéralisation globale d'une solution aqueuse. Elle dépend de la quantité de sels en solution ; en effet, en se dissolvant, les sels se dissocient en paires d'ions (anions et cations) qui autorisent le passage du courant électrique. Plus la solution est minéralisée, plus il y a d'ions en solution et plus la conductivité électrique sera élevée.

Par exemple, une eau douce, donc peu minéralisée, aura une conductivité faible tandis qu'une eau dure, très minéralisée, aura une conductivité élevée.

La conductivité dépend non seulement de la quantité d'ions mais également de la nature des ions en solution ; en effet, tous les ions n'ont pas la même conductivité ionique molaire.

La conductivité est donc une mesure globale non spécifique.

L'activité ionique d'une solution varie avec la température. La mesure de la conductivité électrique d'une solution doit donc toujours être associée à une mesure de température. Cette variation est de l'ordre de 2%/°C.

Pour pouvoir comparer la conductivité de deux solutions ou d'une solution à des moments différents, il faut ramener la valeur mesurée à une température de référence. En général, la température de référence est 25 °C ; en Wallonie, pour des raisons historiques, cette température de référence est 20 °C.

L'unité d'expression de la conductivité électrique est le S/m (Siemens par mètre) ; en pratique, on utilise le µS/cm.

Exemples de conductivités

Type d'eau	Conductivité à 25 °C
Eau ultra pure	0.055 µS/cm
Rivière « La Helle » à Eupen	50 µS/cm
Fleuve « La Meuse » à Visé	500 µS/cm
Nappe de Hesbaye	650 à 900 µS/cm

ORIGINAL 2014

3. Principe

Mesure directe du courant passant entre deux électrodes immergées dans l'échantillon. Le courant injecté est un courant alternatif de très basse fréquence afin d'éviter la polarisation des électrodes.

4. Appareillage

L'appareillage est composé d'un boîtier d'acquisition et d'une sonde.

La sonde est constituée d'une électrode de température, d'une électrode de mesure constituée de deux ou plusieurs capteurs ou d'un dispositif d'électrodes groupées.

Les appareils modernes permettent la correction automatique des mesures en fonction de la température en ramenant les valeurs à une température de référence. L'opérateur veillera toutefois à contrôler que la température de référence programmée est bien celle demandée, soit 20 °C.

5. Etalonnage – Ajustage

5.1. Introduction

On distingue deux types d'actions ayant pour but d'assurer la correction des mesures :

- étalonnage : il s'agit de déterminer le biais de la droite de mesures ; on utilise alors une solution étalon ; l'écart entre la valeur lue et attendue détermine la pente de la droite de correction, les corrections étant apportée « manuellement » a posteriori ;
- ajustage : il s'agit de déterminer et de corriger le biais de la droite de mesures ; on utilise alors une solution étalon ; l'écart entre la valeur lue et attendue est prise en compte par le boîtier d'acquisition afin d'apporter une correction d'affichage permanente.

Après et avant chaque campagne de mesures, on procède à un étalonnage ; cet étalonnage permet de quantifier l'importance de la dérive éventuelle des mesures depuis l'ajustage ou l'étalonnage précédent. Si l'écart est trop important, on procède à un ajustage.

5.2. Etalonnage

L'étalonnage nécessite une solution étalon qui, avec la valeur zéro, encadrent la gamme des mesures.

La solution étalon est placée dans une ambiance thermostatisée à 20 ± 1 °C ou 25 ± 1 °C.

ORIGINAL 2014

Après rinçage à l'eau distillée et séchage, la sonde de conductivité est plongée dans la solution étalon et la valeur mesurée est reportée sur la carte de contrôle (voir § 5.4.). En cas de situation hors contrôle, l'ajustage est réalisé.

5.3. Ajustage

L'ajustage nécessite deux solutions étalons :

- une solution étalon pour l'ajustage, solution qui, avec la valeur zéro, encadrent la gamme des mesures (le zéro est obtenu automatiquement pas zéro électrique ou mesure dans l'air) ;
- une solution étalon de contrôle ayant la même conductivité que celle utilisée pour l'ajustage mais de marque différente ou d'un lot différent.

Les deux solutions sont placées dans l'ambiance thermostatisée.

Après rinçage à l'eau distillée et séchage, la sonde est plongée dans la solution étalon. Après stabilisation, on procède à l'ajustage.

Après ajustage, le bon fonctionnement de l'appareil est vérifié en réalisant la mesure de la conductivité de la solution étalon de contrôle. Cette valeur est reportée sur la carte de contrôle (voir § 5.4.).

5.4. Cartes de contrôle

Les valeurs de conductivité mesurées lors de l'étalonnage et/ou de l'ajustage sont reportées sur des cartes d'acceptation. Les limites fixes de ces cartes d'acceptation sont déterminées sur base des informations transmises par le ou les fournisseur(s) des étalons.

ORIGINAL 2014

6. Instructions opératoires

6.1. Dans un flux

La sonde est plongée directement dans le flux en l'enfonçant le plus possible dans le liquide. Le rinçage de la sonde est effectué naturellement dans le flux.

Après la mesure, rincer la sonde à l'eau alimentaire ou à l'eau déminéralisée.

6.2. Sans flux

Un échantillon est prélevé dans une cuvette de mesure. La cuvette et la sonde sont rincées avec l'eau à mesurer.

Placer la sonde dans l'échantillon d'eau et homogénéiser en tournant la sonde dans le liquide sans provoquer d'agitation. Laisser la mesure se stabiliser avec la sonde au repos.

Après la mesure, rincer la sonde à l'eau alimentaire ou à l'eau déminéralisée.

6.3. Stabilisation

La valeur est considérée comme stable lorsque la valeur affichée ne varie plus depuis au moins 15 secondes.

Certains appareils proposent un verrouillage automatique de la mesure lorsque la mesure est considérée comme stable selon ses critères propres.

7. Expression des résultats

Les mesures sont exprimées en µS/cm à la température de référence (20 °C) ou à la température de l'échantillon si le boîtier de mesure ne corrige pas automatiquement la mesure ; dans ce cas, noter la température de l'échantillon à 0.1 °C près.

On retiendra

- deux décimales entre 0.10 et 9.99 µS/cm,
- une décimale entre 10.0 et 99.9 µS/cm,
- pas de décimale entre 100 et 999 µS/cm,
- deux décimales entre 1.00 et 9.99 mS/cm,
- une décimale entre 10.0 et 99.9 mS/cm.

8. Maintenance

Afin de garantir une certaine longévité à votre électrode, il est conseillé de :

- dans les eaux « propres », de rincer l'électrode avant usage avec l'eau de mesure ; l'électrode est rincée avec de l'eau alimentaire ou de l'eau déminéralisée après chaque journée d'utilisation ;
- dans les eaux « sales », rincer l'électrode à l'eau déminéralisée après chaque mesure ;
- nettoyer l'électrode lorsque cela est nécessaire avec une solution adaptée recommandée par le constructeur.

Entre deux campagnes de mesures, l'électrode se conserve au sec.

ORIGINAL 2014

9. Interférences

L'encrassement des électrodes constitue la principale source d'interférences.

Pour les mesures de valeurs très faibles (inférieures à 10 µS/cm), il faut utiliser une cellule de mesure fermée pour éviter la contamination de la solution par le CO_2 atmosphérique.

10. Références

ISO 7888.

Annexe

Exemple de carte d'acceptation.

ORIGINAL 2014

Exemple de carte d'acceptation

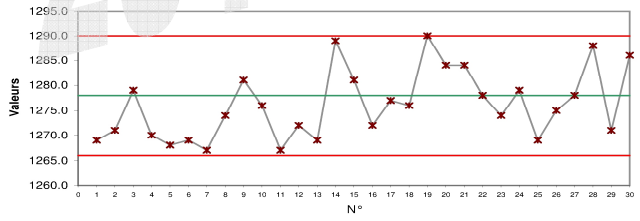
(Exemple pour une solution étalon de KCl 0.01 mol/l – 1278 µS/cm à 20 °C)

Carte d'acceptation	
Méthode d'essai :	Pm/018
Composé :	Conductivité
Unités :	µS/cm

N°	Date d'analyse (jj/mm/aaaa)	Analyste (initiales)	Période (Pxx-aa)	Valeur (x)	RMQ
1	03/10/2010	MVE		1269.00	
2	07/01/2011	MVE		1271.00	
3	13/01/2011	ALE		1279.00	
4	21/01/2011	MVE		1270.00	
5	28/01/2011	MVE		1268.00	
6	04/02/2011	MVE		1269.00	
7	11/02/2011	MVE		1267.00	
8	17/02/2011	ALE		1274.00	
9	25/02/2011	MVE		1281.00	
10	04/03/2011	MVE		1276.00	
11	11/03/2011	MVE		1267.00	25°
12	18/03/2011	MVE		1272.00	
13	25/03/2011	MVE		1269.00	
14	01/04/2011	MVE		1289.00	
15	08/04/2011	MVE		1281.00	
16	21/04/2011	MVE		1272.00	
17	29/04/2011	MVE		1277.00	
18	06/05/2011	MVC		1276.00	
19	13/05/2011	MVE		1290.00	
20	20/05/2011	MVE		1284.00	
21	26/05/2011	ALE		1284.00	
22	03/06/2011	MVE		1278.00	
23	08/06/2011	ALE		1274.00	
24	17/06/2011	MVE		1279.00	
25	24/06/2011	MVE		1269.00	
26	30/06/2011	ALE		1275.00	
27	08/07/2011	MVE		1278.00	
28	15/07/2011	JFL		1288.00	
29	20/07/2011	CEL		1271.00	cal
30	29/07/2011	MVE		1286.00	

!! Le réglage de l'échelle des ordonnées se fait manuellement!!

Données en dehors des limites d'acceptation :



BORNES :	
	Encoder ici :
Limite supérieure d'acceptation	1290
Limite inférieure d'acceptation	1266
valeur vraie	1278

Remarque : s'il s'agit d'une carte d'acceptation de blanc, il est fort possible que la limite inférieure d'acceptation soit de 0 et qu'il n'y ait pas de valeur vraie à encoder

Identification du modèle : DC1/Mod/134/V01

ORIGINAL 2014

P-17V1 – MÉTHODE DE MESURE IN SITU DE L'OXYGÈNE DISSOUS DE L'EAU PAR LA MÉTHODE ELECTROCHIMIQUE

1. Domaine d'application

Cette méthode concerne la mesure in situ de l'oxygène dissous dans les eaux par la méthode électrochimique.

La gamme de valeurs couverte par cette méthode est de 0.1 à 15 mg/l d'O_2 et (ou) de 1 à 150 % de saturation.

ORIGINAL 2014

2. Introduction

L'eau dissout de l'oxygène de manière à équilibrer les pressions partielles de cet élément entre l'air et le liquide.

La solubilité de l'oxygène dans l'eau dépend :

- de la pression atmosphérique (elle augmente avec elle) ;
- de la température (elle augmente avec l'abaissement de la température) ;
- de la minéralisation (elle diminue dans les eaux fortement minéralisées).

La quantité d'oxygène dissous dépend également :

- de l'agitation du milieu ;
- de la présence d'organismes vivants producteurs ou consommateurs d'oxygène ;
- de matière organique ou chimique en cours de dégradation ou d'oxydation.

L'oxygène dissous est un paramètre très utile dans le diagnostic biologique des milieux aquatiques. Il est même déterminant pour la vie aquatique.

3. Principe

La sonde de mesure est constituée d'un couple d'électrodes métalliques plongé dans une solution électrolytique enfermée dans une cellule protégée par une membrane imperméable à l'eau mais perméable aux gaz dissous. L'oxygène passant au travers de la membrane est réduit à la cathode. Le courant mesuré est proportionnel à la pression partielle en oxygène.

La méthode consommant l'oxygène, le milieu doit être renouvelé en permanence.

La membrane est perméable à d'autres gaz et, de ce fait, la mesure peut s'en trouver altérée.

La perméabilité de la membrane varie avec la température ; une correction doit donc être apportée.

4. Appareillage

L'appareillage est composé d'un boîtier d'acquisition et d'une sonde.

La sonde est constituée d'une électrode de température, d'une électrode de mesure telle que précédemment décrite ou d'un dispositif d'électrodes groupées.

En général, les appareils apportent une correction automatique en fonction de la température.

5. Etalonnage – Ajustage

Retirer la sonde de son fourreau de protection afin de renouveler l'air qui s'y trouve puis l'y remettre. Effectuer une mesure dans l'air contenu dans le fourreau de protection de la sonde en tenant celle-ci verticalement. Si la valeur n'est pas comprise entre 98 et 102 %, procéder à un ajustage de l'appareil.

Bien que l'étalonnage soit possible dans l'air saturé, il faut effectuer une fois par an une vérification du zéro et du presque fond d'échelle.

Vérification du zéro

La mesure de contrôle est effectuée dans une solution préparée à partir de 1 litre d'eau de qualité 1 (suivant la norme ISO 3696) additionnée d'environ 1 g de sulfite de sodium anhydre (Na_2SO_3) et de 1 mg de chlorure de cobalt (II) hexahydraté ($CoCl_2.6H_2O$).

Vérification du presque fond d'échelle

La mesure de contrôle est effectuée dans une eau de qualité 1 (suivant la norme ISO 3696) qu'on a faite buller pendant au moins une heure afin de la saturer en oxygène. La teneur en oxygène de cette eau est mesurée en parallèle avec une autre technique (Winkler). L'écart admissible entre les deux techniques est de 10 %.

6. Instructions opératoires

6.1. Vérification avant mesure

Etant donné la nature délicate de la technique, il est conseillé de faire une vérification d'étalonnage avant chaque mesure. Ajuster si nécessaire.

ORIGINAL 2014

6.2. Dans un flux

Après vérification (point 6.1.), la sonde est plongée directement dans le flux en l'enfonçant le plus possible dans le liquide. Le rinçage de la sonde est effectué naturellement dans le flux.

Après la mesure, rincer la sonde avec de l'eau alimentaire ou de l'eau déminéralisée. Remettre la sonde dans son fourreau de protection afin de préserver la souplesse de la membrane.

6.3. Sans flux

Après vérification (point 6.1.), un échantillon est prélevé dans une cuvette de mesure. La cuvette et la sonde sont rincées avec l'eau à mesurer.

Placer la sonde dans l'échantillon d'eau et homogénéiser en tournant la sonde dans le liquide sans provoquer d'agitation. La sonde doit être déplacée en permanence (vitesse d'environ 20 cm/s) pendant tout le temps de la mesure afin d'éviter d'épuiser le milieu.

Après la mesure, rincer la sonde avec de l'eau alimentaire ou de l'eau déminéralisée. Remettre la sonde dans son fourreau de protection afin de préserver la souplesse de la membrane.

6.4. Stabilisation

La valeur est considérée comme stable si celle-ci ne varie pas de plus de 1% absolu en saturation ou de 0.1 mg/l d'O_2 sur un laps de temps de 15 secondes.

ORIGINAL 2014

7. Expression des résultats

Les mesures sont exprimées en mg/l d'O_2 ou (et) en pourcentage de saturation avec une seule décimale maximum.

8. Maintenance

Afin de garantir une certaine longévité à votre électrode, il est conseillé de :

- maintenir la sonde verticalement dans son fourreau ;
- maintenir le fond du fourreau humide pour conserver les propriétés de la membrane ;
- maintenir le niveau d'électrolyte dans la cellule de la sonde ;
- nettoyer régulièrement l'électrode dans un bain recommandé par le fournisseur.

9. Interférences

L'encrassement de la membrane constitue la principale source d'interférences.

La présence de certains gaz dissous dans la solution peut fausser la mesure.

10. Références

ISO 5814.

ORIGINAL 2014

P-18V1 – MÉTHODE DE MESURE IN SITU DE L'OXYGÈNE DISSOUS DE L'EAU PAR LA MÉTHODE OPTIQUE

1. Domaine d'application

Cette méthode concerne la mesure in situ de l'oxygène dissous dans les eaux par la méthode optique.

La gamme de valeurs couverte par cette méthode est de 0.1 à 15 mg/l d'O_2 et (ou) de 1 à 150 % de saturation.

2. Introduction

L'eau dissout de l'oxygène de manière à équilibrer les pressions partielles de cet élément entre l'air et le liquide.

La solubilité de l'oxygène dans l'eau dépend :

- de la pression atmosphérique (elle augmente avec elle) ;
- de la température (elle augmente avec l'abaissement de la température) ;
- de la minéralisation (elle diminue dans les eaux fortement minéralisées).

La quantité d'oxygène dissous dépend également :

- de l'agitation du milieu ;
- de la présence d'organismes vivants producteurs ou consommateurs d'oxygène ;
- de matière organique ou chimique en cours de dégradation ou d'oxydation.

L'oxygène dissous est un paramètre très utile dans le diagnostic biologique des milieux aquatiques. Il est même déterminant pour la vie aquatique.

ORIGINAL 2014

3. Principe

Une lumière bleue est dirigée sur une membrane recouverte d'un matériau luminescent. Les électrons de ce matériau sont immédiatement excités par la lumière et lorsqu'ils redescendent à leur état énergétique initial, ils émettent une lumière rouge détectée par une photodiode. Plus la concentration en oxygène dissous est élevée, plus le rayonnement rouge sera bref.

La méthode ne consommant pas l'oxygène, le milieu ne doit pas être renouvelé en permanence.

La méthode est sensible à la présence de chlore et, de ce fait, la mesure peut s'en trouver altérée.

La température interfère également et une correction doit donc être apportée.

4. Appareillage

L'appareillage est composé d'un boîtier d'acquisition et d'une sonde.

La sonde est constituée d'une électrode de température, d'une électrode de mesure telle que précédemment décrite ou d'un dispositif d'électrodes groupées. La sonde mesure également la pression atmosphérique.

En général, les appareils apportent une correction automatique en fonction de la température.

5. Etalonnage – Ajustage

Après et avant chaque campagne de mesures, on procède à un étalonnage ; cet étalonnage permet de quantifier l'importance de la dérive éventuelle des mesures depuis l'ajustage ou l'étalonnage précédent. Si l'écart est trop important, on procède à un ajustage.

La vérification du fond d'échelle est effectuée dans de l'air saturé en eau.

Pour ce faire, on place deux centimètres d'eau dans un flacon muni d'un bouchon dans lequel il y a un orifice correspondant au diamètre de la sonde ; on sature l'air du flacon en l'agitant vigoureusement pendant 2 minutes. On insère alors la sonde dans le flacon sans que la membrane ne plonge dans l'eau du fond. On effectue une mesure ; si celle-ci sort de la fourchette 97-104 % de saturation, on procède à un ajustage.

Bien que l'étalonnage soit possible dans l'air saturé, on peut effectuer une fois par an une vérification du zéro et du presque fond d'échelle.

Vérification du zéro

La mesure de contrôle est effectuée dans une solution préparée à partir de 1 litre d'eau de qualité 1 (suivant la norme ISO 3696) additionnée d'environ 1 g de sulfite de sodium anhydre (Na_2SO_3) et de 1 mg de chlorure de cobalt (II) hexahydraté ($CoCl_2.6H_2O$).

Vérification du presque fond d'échelle

La mesure de contrôle est effectuée dans une eau de qualité 1 (suivant la norme ISO 3696) qu'on a faite buller pendant au moins une heure afin de la saturer en oxygène. La teneur en oxygène de cette eau est mesurée en parallèle avec une autre technique (Winkler). L'écart admissible entre les deux techniques est de 10 %.

ORIGINAL 2014

6. Instructions opératoires

6.1. Dans un flux

La sonde est plongée directement dans le flux en l'enfonçant le plus possible dans le liquide. Le rinçage de la sonde est effectué naturellement dans le flux.
Après la mesure, rincer la sonde avec de l'eau alimentaire ou de l'eau déminéralisée.

6.2. Sans flux

Un échantillon est prélevé dans une cuvette de mesure. La cuvette et la sonde sont rincées avec l'eau à mesurer.

Placer la sonde dans l'échantillon d'eau et homogénéiser en tournant la sonde dans le liquide sans provoquer d'agitation. La sonde peut rester immobile ou être légèrement déplacée dans la cuvette pour augmenter la vitesse de stabilisation.

Après la mesure, rincer la sonde avec de l'eau alimentaire ou de l'eau déminéralisée.

6.3. Stabilisation

La valeur est considérée comme stable si celle-ci ne varie pas de plus de 1% absolu en saturation ou de 0.1 mg/l d'O_2 sur un laps de temps de 15 secondes.

Certains appareils proposent un verrouillage automatique de la mesure lorsque la mesure est considérée comme stable selon ses critères propres.

7. Expression des résultats

Les mesures sont exprimées en mg/l d'O_2 ou (et) en pourcentage de saturation avec une seule décimale maximum.

8. Maintenance

Aucune précaution particulière n'est à prendre.

Une fois par an ou deux ans, il faut changer la membrane (située dans le capuchon du capteur).

ORIGINAL 2014

9. Interférences

L'encrassement de la membrane constitue la principale source d'interférences.
La présence de certains gaz dissous dans la solution peut fausser la mesure.

10. Références

ASTM D888-12
ISO 17289 en cours d'élaboration.

ORIGINAL 2014

P-19V1 – MÉTHODE DE MESURE IN SITU DE LA TURBIDITÉ DE L'EAU PAR LA MÉTHODE OPTIQUE EN LUMIÈRE DIFFUSÉE

1. Domaine d'application

Cette méthode concerne la mesure in situ de la turbidité dans les eaux par la méthode optique en lumière diffusée.

Cette méthode convient pour tout type d'eau sauf pour les eaux grasses ou colorées. Dans ces eaux, la mesure de la teneur en matières en suspension est plus adéquate. Dans le cas d'eaux mousseuses, la mesure est possible si la mousse reste localisée sur le haut de la cellule.

En principe, la gamme de valeurs couverte par cette méthode est de 0.1 à 800 voire 1000 NTU (Nephelometric Turbidity Unit). Cependant, en pratique, on peut raisonnablement compter sur une limite de quantification de 1 NTU.

Turbidité : réduction de la transparence d'un liquide par la présence de matières non dissoutes en suspension.

NTU : Nephelometric Turbidity Unit

ORIGINAL 2014

2. Introduction

Cette mesure donne une image de la teneur en matières en suspensions (matières non dissoutes telles que les argiles, le limon, la matière organique, les micro-organismes, les colloïdes,…).

En matière d'environnement et de santé publique, seules les valeurs faibles présentent un intérêt quant à la précision de leur mesure. C'est pourquoi la seule technique abordée est celle qui consiste à mesurer l'énergie diffusée à 90 °.

3. Principe

Une lumière d'une largeur spectrale bien définie est envoyée au travers d'une éprouvette contenant l'échantillon à caractériser ; une partie de l'énergie est diffusée par les particules contenues dans l'échantillon. L'énergie ainsi diffusée est mesurée à 90 °. La turbidité est proportionnelle à l'énergie diffusée. Cette énergie est comparée à celle diffusée par des suspensions standards de référence.

4. Appareillage

L'appareillage est composé d'un boîtier d'acquisition et d'une cuvette de mesure.

5. Etalonnage – Ajustage

L'appareillage sera régulièrement étalonné au laboratoire ; ce dernier devra pouvoir fournir la preuve de ces étalonnages et de la maitrise des dérives éventuelles dans les mesures.

5.1 Nettoyage des cuvettes

Le nettoyage des cuvettes est effectué de manière hebdomadaire. Pour ce faire :

- tremper chaque cuvette dans de l'acide chlorhydrique 1N pendant 5 minutes au moins ;
- rincer chaque cuvette trois fois à l'eau de distribution ;
- laisser les cuvettes égoutter sur du papier absorbant ;
- sécher délicatement l'extérieur avec un chiffon doux ;
- enduire l'extérieur des cuvettes d'huile de silicone pour atténuer les petites griffes;
- lustrer par un passage au chiffon à lunettes.

5.2. Etalonnage (vérification)

La vérification de l'appareillage est réalisée une fois par semaine avec des étalons secondaires ; ces étalons se présentent soit sous forme de gel, soit sous une forme diluée de formazine. Les mesures des étalons sont reportées sur une fiche d'étalonnage et sur une carte de contrôle.

Les limites d'acceptation à respecter lors des étalonnages sont définies par le fabricant des étalons secondaires.

Si les mesures sont hors limites, l'appareil est ajusté.

5.3. Ajustage

L'appareil est ajusté avec des solutions étalons primaires de formazine. Après l'ajustage, l'appareil est vérifié avec les étalons secondaires et les mesures des étalons sont reportées sur une fiche d'étalonnage et sur une carte de contrôle.

5.4. Fixation des valeurs de référence des étalons secondaires (si besoin)

Si les valeurs de référence des étalons secondaires ne sont pas données par le fournisseur, leur fixation se fait annuellement.

ORIGINAL 2014

Après ajustage du turbidimètre à l'aide d'étalons primaires de formazine, réaliser 10 mesures des étalons secondaires ; pour chaque étalon secondaire, calculer la moyenne des 10 mesures. C'est cette moyenne qui est retenue comme valeur de référence.

6. Instructions opératoires

- rincer la cuvette de mesure avec l'eau à mesurer,
- remplir délicatement la cuvette jusqu'au trait avec l'eau à mesurer en évitant la formation de bulles,
- fermer au moyen du bouchon,
- sécher l'extérieur de la cuvette au moyen d'un papier absorbant doux en évitant d'y laisser des empreintes de doigts,
- vérifier la propreté de la cuvette après essuyage,
- placer la cuvette dans le puits de mesure en orientant la cuvette si besoin,
- fermer la cellule de mesure avec le clapet ou l'obturateur.

Procéder rapidement à la mesure afin d'éviter une sédimentation dans la cuvette.

Certains appareils effectuent automatiquement une série de mesures et n'affichent que la moyenne. Dans ce cas, on se contente de la moyenne affichée. Sinon, procéder à une série d'au moins 3 mesures successives et en faire la moyenne.

7. Expression des résultats

Les mesures sont exprimées en NTU.

On retiendra :

- deux décimales entre 0.01 et 0.99 NTU,
- une décimale entre 1.0 et 9.9 NTU,
- pas de décimale à partir de 10 NTU.

Remarque : la limite de quantification étant raisonnablement estimée à 1 NTU, les mesures sous cette valeur seront données à titre indicatif {ex : < 1 NTU (0.47)}

8. Maintenance

Les cuvettes doivent être propres et en bon état. Pour ce faire, on se reportera au §5.1.

Les cuvettes sont éliminées si elles présentent des griffes visibles à l'œil nu et/ou si on obtient des valeurs supérieures à 1 NTU pour des mesures effectuées sur de l'eau distillée.

ORIGINAL 2014

9. Interférences

Les principales sources d'interférences sont :

- la présence de lumière parasite (bien fermer le couvercle de la cellule de mesure) ;
- l'utilisation de cuvettes détériorées ou sales qui augmente la dispersion de la lumière ;
- la présence de bulles d'air.

10. Références

ISO 7027.

ORIGINAL 2014

P-20V1 – MÉTHODE POUR LE PRÉLÈVEMENT DE SEDIMENTS DANS LES COURS D'EAU NON NAVIGABLES

1. Objet

Cette méthode a pour objet de définir les lignes directrices régissant les prélèvements de sédiments dans les cours d'eau non navigables dans le but de leur caractérisation préalable à leur curage.

2. Sécurité

Sont recommandés :

- si nécessaire et dans la mesure du possible, en fonction du contexte local, le port d'un harnais muni d'une longe arrimée à la berge ou à un autre préleveur situé sur la berge ;
- lorsque la profondeur de l'eau nécessite l'utilisation d'une embarcation, le port d'un gilet de sauvetage ; les modèles gonflables à déclenchement avec bombonne de gaz laissent une liberté de mouvements maximale ;
- dans tous les cas, le port de cuissardes à semelles de sécurité et de gants en latex ou en nitrile suffisamment longs.

3. Dénomination des échantillons

La dénomination est laissée à l'appréciation du maître d'œuvre qui veillera toutefois à garantir l'unicité pour assurer la traçabilité.

4. Définitions

Lot : tronçon de rivière constituant une unité et ayant des caractéristiques présumées uniformes.
Prélèvement élémentaire : quantité prélevée en un point du lot et en une seule fois.
Echantillon individuel : ensemble de prélèvements élémentaires effectués sur même site constitué par un tronçon court de quelques mètres ou d'une aire de quelques mètres carrés.
Echantillon global : ensemble homogénéisé des échantillons individuels constituant l'échantillon du lot.

ORIGINAL 2014

5. Méthodologie

5.1 Généralités

Les cours d'eau ou parties de cours d'eau à curer sont divisés en lots ou tronçons de quelques centaines de mètres à plusieurs kilomètres. Chaque lot est représenté par un échantillon global constitué d'au moins 4 échantillons individuels. Ces échantillons individuels sont prélevés dans des sites ou zones généralement espacés de 50 à 100 m voire davantage si nécessaire (en général pas plus d'un km). Toutefois, un site n'empiètera pas sur le site voisin.

5.2. Echantillonnage

Les analyses doivent être effectuées sur la fraction granulométrique inférieure à 2 mm ; les sédiments les plus fins seront donc systématiquement recherchés. L'idéal est de prélever de la vase argileuse, du limon ou du sable fin en évitant les chutes de berge récentes et les graviers grossiers.

On trouve généralement les sédiments les plus fins dans les zones situées en amont d'un obstacle important (barrage), et dans les zones de ralentissement de la vitesse du courant par augmentation de la profondeur ou derrière un obstacle ou encore à l'intérieur des méandres accentués.

Il faut de préférence prélever les sédiments demeurant en permanence sous eau et sur toute leur épaisseur jusqu'au refus ou jusqu'au lit naturel du cours d'eau.

ORIGINAL 2014

6. Prélèvement

6.1. Matériel de prélèvement

Pelle à sable : il s'agit d'une pelle obligatoirement en inox ou en acier ordinaire non peint dite également de maçon. Les bords peuvent être éventuellement rehaussés. C'est le moyen de prélèvement le plus simple et le plus couramment utilisé jusqu'à une épaisseur de 30 cm maximum.

Pelle à tiroir : système télescopique avec pelle parallélépipédique de 50 cm de long munie d'un couvercle coulissant et d'un clapet de retenue à la base. Il porte également le nom commercial de « Vrijwit ». Il permet des prélèvements dans des épaisseurs de sédiments plus importantes ou depuis les berges ou depuis un pont. Ne fonctionne pas correctement lorsqu'il y a des branches ou des cailloux.

Echantillonneur à tourbe (Peat Sampler) : système télescopique à gouge en demi-lune de 50 cm de long, munie d'un clapet tournant permettant de récupérer à une profondeur déterminée des carottes d'échantillons dont la siccité est faible. Convient bien pour les sédiments les plus fins et en épaisseurs importantes pouvant atteindre plusieurs mètres.

Autres moyens : il existe notamment des systèmes de dragues ou de grappins (bennes de type Van Veen ou Ekman) mais ceux-ci ne permettent de prélever que les sédiments superficiels.

FINAL 2014

6.2. Prélèvement et conditionnement

Les prélèvements sont effectués dans le lit à même le cours d'eau, ou depuis une embarcation légère ou encore depuis les berges ou un pont avec les systèmes télescopiques.

Les cailloux, branchages, racines et autres galets sont éliminés d'emblée.

Pour des raisons de représentativité et pour éviter les effets pépites dus à l'hétérogénéité de la sédimentation, le volume d'un échantillon individuel ne devrait pas être inférieur à 8-10 litres. Le volume de l'échantillon individuel étant connu, on pratique un nombre suffisant de prélèvements élémentaires dans la zone délimitée. Chaque échantillon élémentaire est placé dans le récipient prévu (seau de 10 à 11 litres en PEHD) afin de constituer petit-à-petit l'échantillon individuel ; celui-ci sera constitué de 70 à 80 % en volume de sédiments complété d'eau de la rivière. Cette eau permet de maintenir les sédiments à l'abri de l'air pour éviter toute oxydation et limiter la perte en substances volatiles ; elle est également indispensable au tamisage au laboratoire. Afin d'éviter au maximum la perte des éléments les plus volatils, chaque seau sera rempli avec l'eau du point dans les meilleurs délais en évitant tout espace de tête.

Les seaux sont munis d'un couvercle ; ils sont clairement identifiés puis placés à l'abri du rayonnement direct du soleil.

7. Géoréférencement des points de prélèvement

On se référera à la méthode P-8 décrivant les prescriptions en la matière.

8. Flaconnage, transport et conservation

On se référera à la méthode P-1 décrivant les prescriptions en la matière.

9. Références

ISO 5667-12

ORIGINAL 2014

P-21V1 – DÉFINITION D'UNE MÉTHODOLOGIE D'ÉCHANTILLONNAGE DES DÉCHETS

1. Objet

Cette méthode a pour objet de définir les lignes directrices d'une méthodologie d'échantillonnage des déchets. Tous les types de déchets sont concernés à l'exception de matières spécifiques traitées dans des méthodes spécifiques.

L'objectif visé est de caractériser physiquement et chimiquement la matière afin de la diriger vers une filière de valorisation, de traitement ou d'élimination.

Pour l'échantillonnage des matières organiques susceptibles d'être utilisées sur ou dans les sols, on se référera à la méthode P-12 décrivant les prescriptions en la matière. Par matières organiques, on entend les engrais de ferme en général, les composts, les boues d'épuration (urbaines et industrielles), les boues de dragage et les digestats de biométhanisation.

2. Dénomination des échantillons

La dénomination est laissée à l'appréciation du maître d'œuvre qui veillera toutefois à garantir l'unicité pour assurer la traçabilité.

3. Définitions

Lot : quantité de produit identifiée comme ayant des caractéristiques présumées uniformes.
Prélèvement ou échantillon élémentaire : quantité prélevée en un point du lot et en une seule fois.
Echantillon global : ensemble homogénéisé des échantillons élémentaires constituant l'échantillon représentant le lot.
Siccité : pourcentage massique de matière sèche sur échantillon brut.

4. Méthodologie

4.1 Généralités

Les déchets se présentent sous des aspects parfois très différents suivant leur granulométrie, leur dureté, hétérogénéité, teneur en eau et en matières organiques... Suivant les cas, ils sont stockés en tas, en andains, dans des conteneurs ou dans des citernes. Avant leur stockage, ils sont transportés par tuyau, par convoyeur ou par camion conteneur également en fonction de leur siccité. Sur base de ce critère, on peut proposer les catégories de consistances suivantes :

- déchets liquides : siccité comprise entre 0 et 10 %,
- déchets pâteux : siccité comprise entre 10 et 25 %,
- déchets solides : siccité comprise entre 25 et 85 %,
- déchets secs : siccité > 85 %.

ORIGINAL 2014

Pour caractériser ces déchets de manière fidèle, on ne peut envisager de se contenter d'un échantillon ponctuel. Il faut multiplier les prises d'échantillons élémentaires afin de se mettre à l'abri autant que possible des effets ponctuels (effets de pépites).

4.2. Délimitation des lots

Comme défini au point 3, un lot est une quantité de produit identifiée comme ayant des caractéristiques présumées uniformes.

Cette délimitation par lot se fait sur base d'un examen de l'historique de la production du déchet ; en effet, pour avoir une quantité de matière qui possède des caractéristiques uniformes, il faut une certaine constance dans :

- la nature des matériaux qui entrent dans la composition ;
- le procédé de production ;
- le type et la durée du stockage particulièrement pour les produits fermentescibles.

Si on ne dispose pas d'informations suffisantes sur la production, on doit alors procéder à un examen macroscopique minutieux de la matière et délimiter les lots sur base de l'homogénéité de leur aspect. Les critères macroscopiques pouvant occasionner la délimitation d'un lot particulier sont :

- les changements de couleur,
- la présence d'odeurs,
- les changements de granulométrie,
- les changements de siccité,
- la présence d'irisations,
- les changements de composition apparente.

Pour les liquides, on échantillonnera chaque phase séparément.

Remarque : on peut constater qu'une partie d'une masse a un aspect différent (présence d'irisations, d'une granulométrie, d'une coloration ou encore d'une densité différente par exemple) ; la masse sera alors décomposée en un lot spécifique à la zone en question et en un autre lot pour le solde.

4.3. Nombre d'échantillons élémentaires par lot

Le volume **V** de chaque lot est évalué en m³ à 10 % près. On définit un nombre **N** d'échantillons élémentaires par lot par la règle suivante :

$$N = \sqrt{V}$$

avec

$N_{min} = 4$,
$N_{max} = 42$,
en arrondissant à l'unité supérieure.

ORIGINAL 2014

A titre indicatif, on obtient le tableau suivant :

Volume du lot (m³)	Nombre d'échantillons élémentaires
10	4
20	5
50	8
200	15
1000	32
5000	42

4.4. Répartition des échantillons élémentaires dans un lot

Matières non en mouvement

Sous ce paragraphe sont reprises les matières entreposées en tas, andains et conteneurs ; les citernes s'y rattachent également dans la mesure où le produit n'est pas en cours de déplacement.

Les échantillons élémentaires sont répartis de manière homogène dans l'ensemble du lot. Aucun endroit du lot ne sera privilégié ni ignoré.

Les prélèvements traversent tout le lot de manière à ce que l'entièreté du lot soit représentée dans sa juste proportion.

On se référera à la méthode P-9 décrivant les prescriptions en la matière.

Matières en mouvement

Sont concernées les matières qui sont en transit vers un lieu de stockage ou vers un moyen de transport ou d'élimination.

Le lot étant en mouvement, on répartit les échantillons élémentaires pendant tout le temps de transfert.

On se référera à la méthode P-9 décrivant les prescriptions en la matière.

4.5. Taille des échantillons élémentaires liquides

Le volume de chaque échantillon élémentaire liquide est fixé à 100 ml. Chaque phase est échantillonnée individuellement.

Le volume de chaque échantillon élémentaire conditionne également le volume global prélevé qui doit correspondre à un volume suffisant pour réaliser la préparation et les analyses demandées (volume analytique). Le volume élémentaire sera donc adapté à la hausse en conséquence suivant la formule suivante :

$$V_{me} = \frac{V_a}{N}$$

avec V_{me} : le volume minimum élémentaire exprimé en litres,
V_a : le volume analytique nécessaire exprimé en litres.

ORIGINAL 2014

C'est encore plus vrai si on ne s'intéresse qu'à la phase solide ; dans ce cas, il faut estimer le taux d'humidité et adapter le volume minimum élémentaire à la hausse en conséquence suivant la formule :

$$V_{me} = \frac{V_a}{N * MS}$$

avec MS : la proportion de matières sèches (comprise entre 0 et 1).

4.6. Taille des échantillons élémentaires solides

Les échantillons élémentaires doivent être constitués d'un nombre suffisant de particules de manière à statistiquement ne pas privilégier un composant. On part du principe qu'un échantillon élémentaire d'un volume équivalent à 100 fois la taille de la plus grosse particule présente suffisamment de garanties.

Pour l'estimation de la taille particulaire maximum, il faut toutefois faire abstraction des blocs erratiques qui représentent moins de 5 % du volume global.

Par contre, ces blocs erratiques ne doivent pas être écartés de l'échantillonnage en lui-même ; la taille de ceux-ci est, soit réduite par le forage mécanique, soit au moyen d'une masse. Si certains blocs ont une taille exceptionnellement grande, ceux-ci sont ignoré mais clairement signalés et illustrés (photo) dans le rapport de prélèvement.

Pour la simplicité du calcul, on supposera qu'en moyenne les particules sont sphériques.

Le volume minimum d'un échantillon élémentaire ainsi calculé est :

$$V_{me} = 100 * \frac{4\pi}{3} * \left(\frac{D}{2}\right)^3 * \frac{1}{1-v} * 10^{-3} \quad (1)$$

avec V_{me} : le volume minimum élémentaire exprimé en litres,
D : le diamètre maximum des particules exprimé en cm,
v : la proportion de vide.

La granulométrie du produit n'étant que rarement homogène, les fines particules viennent se placer entre les plus grandes ; le nombre de particules présentes est donc bien supérieur à 100 et la proportion de vide devient négligeable (v=0). On obtient alors la formule simplifiée suivante :

$$V_{me} = 0.052 * D^3 \qquad (2)$$

On constatera que, pour des tailles particulaires maximum très petites, le volume théorique minimum de l'échantillon élémentaire est très faible. On considérera donc un volume minimum effectif de 0.25 litres.

ORIGINAL 2014

Le tableau suivant donne le volume minimum de l'échantillon élémentaire pour quelques tailles particulaires maximum (v=0).

Taille particulaire maximum (cm)	Volume minimum théorique (litres)	Volume minimum effectif (litres)
0.1	0.000052	0.25
< 1.7	0.25	0.25
2	0.416	0.416
3	1.4	1.4
5	6.5	6.5
10	52	52
20	416	416

Si le volume des vides ne peut être considéré comme négligeable, on en revient à la formule (1).

Le volume de chaque échantillon élémentaire conditionne également le volume global prélevé qui doit correspondre à un poids sec suffisant pour réaliser la préparation et les analyses demandées (poids analytique sec). Il faut donc estimer le taux d'humidité et adapter le volume élémentaire à la hausse en conséquence suivant la formule :

$$V_{me} = \frac{P_a}{ds * N * MS}$$

avec P_a : le poids analytique exprimé en kg,
ds : la densité du produit exprimée en kg/dm³,
MS : la proportion de matières sèches (comprise entre 0 et 1).

4.7. Constitution de l'échantillon global représentant le lot

Tous les échantillons élémentaires ont le même volume à 10 % près ; on entend par là que l'étendue de la population des volumes des échantillons élémentaires est de 10 % par rapport à la moyenne.

A chaque ajout d'un échantillon élémentaire, le volume global est mélangé afin d'homogénéiser l'ensemble. Au final, le volume ou le poids de l'échantillon global correspondra au moins au volume ou au poids analytique demandé par le laboratoire.

5. Réduction de la taille de l'échantillon global

Lorsque la taille de l'échantillon global ainsi constitué est trop importante pour le ramener tel quel au laboratoire, il est conseillé de réduire sa taille en effectuant un sous échantillonnage sur le terrain. La taille finale après réduction ne pourra être inférieure à la taille minimum d'un échantillon élémentaire.

5.1. Réduction d'un échantillon liquide ou pâteux

L'échantillon est homogénéisé vigoureusement ; on ne conserve que le volume nécessaire soit par sur verse, soit par pompage.

ORIGINAL 2014

5.2. Réduction d'un échantillon solide par quartage

L'échantillon global est placé sur une surface propre et neutre vis-à-vis des paramètres à analyser. On constitue un cône régulier au moyen d'une pelle composée d'un matériau neutre également. Ce cône est retourné trois fois afin d'homogénéiser le tas. Le nouveau cône ainsi constitué est divisé en quatre secteurs identiques. Deux secteurs opposés sont éliminés, les deux secteurs conservés sont alors mélangés à nouveau pour reconstituer un cône régulier. On procède ainsi de suite jusqu'à obtention d'un échantillon de taille souhaitée.

5.3. Réduction d'un échantillon solide au moyen d'une échantillonneuse diviseuse

Une échantillonneuse diviseuse est constituée de deux bacs récoltants alimentés par des trémies croisées ; l'ouverture des trémies doit être supérieure à trois fois la taille particulaire maximum. L'échantillon est passé sur les trémies de façon à obtenir deux échantillons d'un volume équivalent. On ne conserve que le produit d'un seul bac. On procède ainsi de suite jusqu'à obtention d'un échantillon de taille souhaitée.

6. Prélèvements

On se référera aux méthodes spécifiques décrivant les prescriptions en la matière ;

- pour les prélèvements de sols : méthode P-6 ;
- pour les prélèvements en andains : méthode P-9 ;
- pour les prélèvements en fûts : méthode P-9 ;
- pour les prélèvements en citernes : méthode P-9 ;
- pour les prélèvements en transformateurs électriques : méthode P-9 ;
- pour les prélèvements sur bandes transporteuses : méthode P-9 ;
- pour un effluent industriel : méthode P-13.

7. Géoréférencement des points de prélèvement

On se référera à la méthode P-8 décrivant les prescriptions en la matière.

8. Flaconnage, transport et conservation

On se référera à la méthode P-1 décrivant les prescriptions en la matière.

ORIGINAL 2014

9. Rapport de prélèvement

Le rapport de prélèvement contiendra :

- la stratégie décisionnelle ayant conduit à la définition des lots,

Par lot :

- la description physique,
- les moyens de prélèvement,
- la taille particulaire maximum,
- le nombre N d'échantillons élémentaires,
- le volume des échantillons élémentaires,
- le mode de réduction éventuelle des blocs erratiques,
- le mode de réduction de l'échantillon global,
- le volume de l'échantillon final,
- tout écart par rapport à la présente méthode avec ses éléments justificatifs.

10. Références

ISO 5667-13,
ISO 10381-8.

ORIGINAL 2014

P-22V1 – DÉFINITION D'UNE MÉTHODOLOGIE D'ÉCHANTILLONNAGE DES SOLS À EXCAVER

1. Objet

Cette méthode a pour objet de définir les lignes directrices d'une méthodologie d'échantillonnage des sols en place à excaver, soit dans le but de les remettre sur le site même, soit de les diriger vers une filière de valorisation, de traitement ou d'élimination. Ces sols sont, a priori, réputés non pollués, la preuve devant toutefois en être faite.

2. Dénomination des échantillons

La dénomination est laissée à l'appréciation du maître d'œuvre qui veillera toutefois à garantir l'unicité pour assurer la traçabilité.

3. Définitions

Lot : quantité de produit identifiée comme ayant des caractéristiques présumées uniformes.
Prélèvement ou échantillon élémentaire : quantité prélevée en un point du lot et en une seule fois.
Echantillon global : ensemble homogénéisé des échantillons élémentaires constituant l'échantillon représentant le lot.

4. Méthodologie

4.1 Généralités

Les sols se présentent sous des aspects parfois très différents suivant leur granulométrie, leur dureté, hétérogénéité, teneur en eau et en matières organiques...

Pour caractériser un sol de manière fidèle, on ne peut envisager de se contenter d'un échantillon ponctuel. Il faut multiplier les prises d'échantillons élémentaires afin de se mettre à l'abri autant que possible des effets ponctuels (effets de pépites).

4.2. Délimitation et taille des lots

Comme défini au point 3, un lot est une quantité de produit identifiée comme ayant des caractéristiques présumées uniformes.

Cette délimitation par lot se fait sur base d'un examen macroscopique minutieux du sol avant excavation ou en cours d'excavation. Les critères macroscopiques pouvant occasionner la délimitation d'un lot particulier sont :

- les changements de couleur,
- la présence d'odeurs,

ORIGINAL 2014

- les changements de granulométrie,
- les changements de siccité,
- la présence d'irisations,
- les changements de composition apparente.

Remarque : on peut constater qu'une partie d'une masse a un aspect différent (présence d'irisations, d'une granulométrie, d'une coloration ou encore d'une densité différente par exemple) ; la masse sera alors décomposée en un lot spécifique à la zone en question et en un autre lot pour le solde.

Quoi qu'il en soit, la taille d'un lot ne dépassera pas 500 m³.

4.3. Nombre d'échantillons élémentaires par lot

Le volume **V** de chaque lot est évalué en m³ à 10 % près. Etant donné le caractère réputé propre et relativement homogène de ces sols, on définit un nombre **N** d'échantillons élémentaires par lot par la règle suivante :

$$N = \frac{1}{4}\sqrt{V}$$

avec

$N_{min} = 2$ ~~(ou 3 dans le cas des sols stockés en andains)~~,
$N_{max} = 6$,
en arrondissant à l'unité supérieure.

A titre indicatif, on obtient le tableau suivant :

Volume du lot (m³)	Nombre d'échantillons élémentaires
10	2
50	2
100	3
200	4
400	5
500	6

4.4. Répartition des échantillons élémentaires dans un lot

Les sols sont soit :

- toujours en place,
- excavés et stockés en andains (ou en tas),
- déjà remis en place en remblais.

Les échantillons élémentaires sont répartis de manière homogène dans l'ensemble du lot. Aucun endroit du lot ne sera privilégié ni ignoré.

Les prélèvements traversent tout le lot de manière à ce que l'entièreté du lot soit représentée dans sa juste proportion.

ORIGINAL 2014

Pour les prélèvements en andains, on se référera à la méthode P-9 décrivant les prescriptions en la matière.

4.5. Taille des échantillons élémentaires

Les échantillons élémentaires doivent être constitués d'un nombre suffisant de particules de manière à statistiquement ne pas privilégier un composant. On part du principe qu'un échantillon élémentaire d'un volume équivalent à 100 fois la taille de la plus grosse particule présente suffisamment de garanties.

Pour l'estimation de la taille particulaire maximum, il faut toutefois faire abstraction des blocs erratiques qui représentent moins de 5 % du volume global.

Par contre, ces blocs erratiques ne doivent pas être écartés de l'échantillonnage en lui-même ; la taille de ceux-ci est, soit réduite par le forage mécanique, soit au moyen d'une masse. Si certains blocs ont une taille exceptionnellement grande, ceux-ci sont ignoré mais clairement signalés et illustrés (photo) dans le rapport de prélèvement.

Pour la simplicité du calcul, on supposera qu'en moyenne les particules sont sphériques.

Le volume minimum d'un échantillon élémentaire ainsi calculé est :

$$V_{me} = 100 * \frac{4\pi}{3} * \left(\frac{D}{2}\right)^3 * \frac{1}{1-v} * 10^{-3} \quad (1)$$

avec V_{me} : le volume minimum élémentaire exprimé en litres,
D : le diamètre maximum des particules exprimé en cm,
v : la proportion de vide.

La granulométrie du produit n'étant que rarement homogène, les fines particules viennent se placer entre les plus grandes ; le nombre de particules présentes est donc bien supérieur à 100 et la proportion de vide devient négligeable (v=0). On obtient alors la formule simplifiée suivante :

$$V_{me} = 0.052 * D^3 \quad (2)$$

On constatera que, pour des tailles particulaires maximum très petites, le volume théorique minimum de l'échantillon élémentaire est très faible. On considérera donc un volume minimum effectif de 0.25 litres.

De même, pour des tailles particulaires maximum très élevées, le volume théorique minimum de l'échantillon élémentaire est très élevé. On considérera donc un volume maximum effectif de 10 litres.

ORIGINAL 2014

Le tableau suivant donne le volume minimum de l'échantillon élémentaire pour quelques tailles particulaires maximum (v=0).

Taille particulaire maximum (cm)	Volume minimum théorique (litres)	Volume minimum effectif (litres)
0.1	0.000052	0.25
< 1.7	0.25	0.25
2	0.416	0.416
3	1.4	1.4
5	6.5	6.5
10	52	10
20	416	10

Si le volume des vides ne peut être considéré comme négligeable, on en revient à la formule (1) en conservant les mêmes minimum et maximum.

Le volume de chaque échantillon élémentaire conditionne également le volume global prélevé qui doit correspondre à un poids sec suffisant pour réaliser la préparation et les analyses demandées (poids analytique sec). Il faut donc estimer le taux d'humidité et adapter le volume minimum élémentaire à la hausse en conséquence suivant la formule :

$$V_{me} = \frac{P_a}{ds * N * MS}$$

avec P_a : le poids analytique exprimé en kg,
ds : la densité du produit exprimée en kg/dm³,
MS : la proportion de matières sèches (comprise entre 0 et 1).

4.6. Constitution de l'échantillon global représentant le lot

Tous les échantillons élémentaires ont le même volume à 10 % près ; on entend par là que l'étendue de la population des volumes des échantillons élémentaires est de 10 % par rapport à la moyenne.

A chaque ajout d'un échantillon élémentaire, le volume global est mélangé afin d'homogénéiser l'ensemble. Au final, le volume ou le poids de l'échantillon global correspondra au moins au volume ou au poids analytique demandé par le laboratoire.

5. Réduction de la taille de l'échantillon global

Lorsque la taille de l'échantillon global ainsi constitué est trop importante pour le ramener tel quel au laboratoire, il est conseillé de réduire sa taille en effectuant un sous échantillonnage sur le terrain. La taille finale après réduction ne pourra être inférieure à la taille minimum d'un échantillon élémentaire.

ORIGINAL 2014

5.1. Réduction d'un échantillon par quartage

L'échantillon global est placé sur une surface propre et neutre vis-à-vis des paramètres à analyser. On constitue un cône régulier au moyen d'une pelle composée d'un matériau neutre également. Ce cône est retourné trois fois afin d'homogénéiser le tas. Le nouveau cône ainsi constitué est divisé en quatre secteurs identiques. Deux secteurs opposés sont éliminés, les deux secteurs conservés sont alors mélangés à nouveau pour reconstituer un cône régulier. On procède ainsi de suite jusqu'à obtention d'un échantillon de taille souhaitée.

5.2. Réduction d'un échantillon au moyen d'une échantillonneuse diviseuse

Une échantillonneuse diviseuse est constituée de deux bacs récoltants alimentés par des trémies croisées ; l'ouverture des trémies doit être supérieure à trois fois la taille particulaire maximum. L'échantillon est passé sur les trémies de façon à obtenir deux échantillons d'un volume équivalent. On ne conserve que le produit d'un seul bac. On procède ainsi de suite jusqu'à obtention d'un échantillon de taille souhaitée.

6. Prélèvements

On se référera aux méthodes spécifiques décrivant les prescriptions en la matière ;

- pour les prélèvements de sols : méthode P-6 ;
- pour les prélèvements en andains : méthode P-9 ;

7. Géoréférencement des points de prélèvement

On se référera à la méthode P-8 décrivant les prescriptions en la matière.

8. Flaconnage, transport et conservation

On se référera à la méthode P-1 décrivant les prescriptions en la matière.

ORIGINAL 2014

9. Rapport de prélèvement

Le rapport de prélèvement contiendra :

- la stratégie décisionnelle ayant conduit à la définition des lots,

Par lot :

- la description physique,
- les moyens de prélèvement,
- la taille particulaire maximum,
- le nombre N d'échantillons élémentaires,
- le volume des échantillons élémentaires,
- le mode de réduction éventuelle des blocs erratiques,
- le mode de réduction de l'échantillon global,
- le volume de l'échantillon final,
- tout écart par rapport à la présente méthode avec ses éléments justificatifs.

10. Références

CWBP – Evaluation finale

ORIGINAL 2014

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
P-23	1	20/01/2022
Méthode d'échantillonnage des boues de STEP		

Domaine d'application		
Matrice	Boues de stations d'épuration	
Référence normative	NBN EN ISO 5667-13	2011

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

Cette méthode énonce les lignes directrices pour l'échantillonnage des boues de stations d'épuration urbaines ou industrielles.

L'objectif visé est de produire un échantillon représentatif pour la caractérisation physique et chimique de la matière prélevée dans le cadre de sa valorisation agricole.

2. Procédure

Des lignes directrices pour l'échantillonnage des boues sont décrites dans la norme NBN EN ISO 5667-13 :2011. La présente procédure s'inspire de ces lignes directrices, mais est complétée pour répondre aux exigences du cadre légal wallon, à savoir l'AGW du 12 janvier 1995 portant réglementation de l'utilisation sur ou dans les sols des boues d'épuration ou de boues issues de centres de traitement de gadoues de fosses septiques (ci-après dénommé AGW). En effet, pour la valorisation sur ou dans les sols des boues de STEP, l'obtention d'un certificat d'utilisation (CU) et un suivi sous couverture de ce CU sont requis. Dans le cadre de ce CU, les prescriptions spécifiques suivantes doivent être respectées.

2.1. Définition du lot

Chaque lot de boue destiné à être utilisé dans ou sur les sols est caractérisé par **une** analyse. La définition du lot varie en fonction de la forme sous laquelle la boue est stockée :

- Pour les stations délivrant des boues déshydratées mécaniquement, chaulées, compostées ou séchées : Le lot correspond à une période de travail de la STEP en fonction de la charge entrante. Le lot de boue est constitué d'une quantité définie de boue, dont le calcul est basé sur le risque de dépassement des normes de l'AGW qui fait intervenir 2 critères : la taille de la station et le bruit de fond en Eléments-Traces Métalliques (ETM) indésirables. La taille du lot est imposée par le certificat d'utilisation.

- Pour les autre stations (lits de séchage plantés ou non, silos à boue épaissie, filtres plantés en filière eau ou lagunes) : Le lot correspond à la quantité de boue évacuée lors d'une vidange. La fréquence d'analyse est donc d'une fois par vidange.

2.2. Mode opératoire

L'échantillon à analyser est un échantillon global composite produit à partir d'échantillons élémentaires répartis de manière homogène sur l'ensemble du lot. Le nombre et la répartition des échantillons élémentaires dans le lot dépendent de la forme sous laquelle les boues sont stockées.

ISSeP
Institut scientifique de service public

2.2.1. Nombre d'échantillons élémentaires par lot

- Boues stockées en andain ou en tas :
  Nombre d'échantillons élémentaires déterminé en fonction du volume de l'andain en m^3 suivant la formule :
  $N = (\sqrt{V})/2$, avec minimum 4 et maximum 30 échantillons.
  Le résultat est arrondi au nombre entier supérieur.
  NB : Si plusieurs andains constituent le lot, le nombre d'échantillons élémentaires est calculé par andain et les échantillons élémentaires sont rassemblés pour constituer un échantillon composite pour tout le lot.

- Boues solides et/ou pelletables stockées en conteneurs :
  Nombre de conteneurs à prélever déterminé en fonction de la taille du lot, suivant le Tableau 1.
  4 échantillons élémentaires sont prélevés par conteneur échantillonné, et répartis de manière homogène dans le conteneur. Les conteneurs sont prélevés à intervalle régulier.
  L'échantillon composite analysé par le laboratoire est constitué par le rassemblement des échantillons élémentaires prélevés sur l'ensemble du lot.

Tableau 1 : Fréquence de prélèvement et d'analyse pour les boues solides stockées en conteneurs

Taille du lot (T)	Nombre d'échantillons élémentaires	Nombre de conteneurs prélevés	Nombre d'échantillons composites
6	4	1	1
25	4	1	
50	4	1	
100	8	2	
150	8	2	
200	8	2	
300	8	2	
400	12	3	
500	12	3	

- Boues liquides ou épaissies stockées en cuve :
  En conformité avec l'AGW du 12/01/1995, un minimum de 5 prélèvements élémentaires est requis pour constituer l'échantillon global. Pour les cuves de plus de 1000 m^3, on ajoute un échantillon par tranche de 200 m^3 (cf.

Wallonie

Tableau 2).

Pour les cuves de plus de 6000 m^3, deux échantillons composites réalisés dans les mêmes conditions doivent être analysés.

Tableau 2 : Nombre d'échantillons élémentaires en fonction du volume de la cuve

Volume de cuve (m^3)	Nombre d'échantillons élémentaires	Nombre d'échantillons composites à analyser
≤ 1000	5	1
2000	10	
3000	15	
4000	20	
5000	25	
6000	30	
> 6000	5 par 1000 m^3	1 par 6000 m^3

- Lits de séchages, filtres plantés et lagunes :
  Nombre d'échantillons élémentaires déterminé en fonction du volume du lit en m^3 suivant la formule :
  $N=(\sqrt{V})/2$, avec minimum 4 et maximum 30 échantillons.
  Le résultat est arrondi au nombre entier supérieur.

2.2.2. Matériel de prélèvement

Le choix du matériel dépend de la forme des boues à prélever. Une synthèse des différents types d'équipements et de leur type d'application sont disponibles en Annexe 1 de la norme NBN EN ISO 5667-13 :2011.
Le matériel est sélectionné pour ne pas présenter d'interférence vis-à-vis des paramètres à analyser (plastic, inox,…).
Pour les boues solides, l'utilisation d'une tarière manuelle est recommandée.
Pour les boues liquides, l'utilisation de jauge de type 'sludge judge' est la plus adaptée pour les prélèvements à différentes profondeurs par le haut de la cuve.

2.2.3. Répartition et prélèvement des échantillons élémentaires

Les prélèvements doivent être réalisés au plus près de la sortie du site (c.-à-d. après toutes les étapes de traitement : séchage, chaulage,…). Le prélèvement requiert le respect des consignes de sécurité appropriées à chaque mode de prélèvement.

- Boues stockées en andains :
  Voir procédure P-26 (méthode de prélèvement des matériaux stockés en andains).

- Boues solides et/ou pelletables stockées en containers :
  Une répartition homogène des prélèvements élémentaires dans le conteneur est réalisée en respectant les exigences suivantes :
  - Pas contre les parois ;
  - Répartis sur l'ensemble de la profondeur.

- Boues liquides ou épaissies stockées en cuve :
  Voir procédure P-9 (méthode pour certains prélèvements spécifiques), partie 2.3 (prélèvement en citernes ou cuves).

- Lits de séchages, filtres plantés et lagunes :
  1. Déterminer sur un schéma en vue aérienne l'emplacement des carottages en respectant les exigences suivantes :
     a) Ne pas prélever de boue à moins d'un mètre des points d'alimentation, des éventuels drains et cheminées d'aération, des bords du lit.
     b) En présence de roseaux, si leur densité n'est pas homogène, répartir les prélèvements de manière à ce que chaque zone de densité différente soit représentée.
     c) Assurer une répartition homogène des carottages sur toute la surface suivant un maillage carré.
  2. Lors de la réalisation des carottages :
     a) Identifier visuellement les différents horizons au sein d'un profil vertical
     b) Prélever dans chacun des horizons identifiés en respectant la proportion des épaisseurs de ces derniers pour constituer l'échantillon composite.

2.2.4. Constitution de l'échantillon global et réduction de sa taille

Un échantillon global est obtenu après mélange et homogénéisation des échantillons élémentaires prélevés au sein du lot. L'étape de réduction est réalisée :
- conformément aux recommandations de la P-1 (Méthode concernant la constitution, le flaconnage, le transport et la conservation des échantillons), point 2.1.2.1 (quartage) pour les échantillons solides.
- après homogénéisation dans un récipient pour les échantillons plus liquides.

Après réduction, deux échantillons de masse équivalente sont constitués. Le premier est transmis au laboratoire pour l'analyse et le second conservé auprès de l'exploitant en cas de contre-analyse nécessaire.
Les deux échantillons constitués sont de masse suffisante pour réaliser l'ensemble des analyses. Il revient à l'exploitant de s'informer auprès du laboratoire.

2.3. Flaconnage et conservation des échantillons

Les deux échantillons globaux constitués sont conditionnés dans des récipients dont la qualité est validée par le laboratoire (cf. P-1 pour plus de détails). Les récipients sont étiquetés en reprenant les informations nécessaires à la traçabilité du lot (identifiant, date de prélèvement, id préleveur,…).
L'analyse des échantillons est réalisée après le prélèvement du dernier échantillon élémentaire, dans les délais prescrits par la norme ISO 18 512.
Un échantillon composite est conservé sur le lieu de production à température comprise entre 1 et 5°C et à l'abri de la lumière, jusqu'à validation du lot.
En cas de recontrôle nécessaire au-delà d'une période d'1 mois, les résultats d'analyses ne pourront refléter la composition en sortie de production. Les temps de conservation optimaux sont prescrits par la norme ISO 18 512 et varient de 4 jours à 6 mois en fonction des paramètres.
Les boues séchées peuvent être conservées à température ambiante et pour une durée de 6 mois.

NB : Pour les boues stockées en conteneurs ou en plusieurs andains, un exemplaire de chaque échantillon constitué par conteneur ou par andain peut également être conservé par l'exploitant pour faciliter un recontrôle éventuel des différentes parties du lot.

2.4. Rapport de prélèvement

Le rapport de prélèvement contiendra au minimum :

2.4.1. La date de prélèvement ;

- L'identification du préleveur ;
- L'identification du lot prélevé ;
- Une description visuelle du lot ;
- Le mode de prélèvement ;
- Le volume d'échantillon prélevé ;
- La référence de l'échantillon.

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
P-24	1	20/01/2022
Méthode d'échantillonnage des digestats de biométhanisation		

Domaine d'application		
Matrice	Digestats de biométhanisation	
Référence normative	/	/

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

Cette méthode énonce les lignes directrices pour l'échantillonnage des digestats issus de la biométhanisation.

L'objectif visé est de produire un échantillon représentatif pour la caractérisation physique et chimique de la matière prélevée dans le cadre de sa valorisation agricole.

2. Procédure

Pour être en conformité avec le cadre légal wallon, à savoir l'AGW du 24 avril 2014 déterminant les conditions sectorielles relatives aux installations de biométhanisation visées par la rubrique 90.23.15 [...] (ci-après dénommé AGW), les prescriptions spécifiques suivantes doivent être respectées pour l'échantillonnage des digestats issus de la biométhanisation.

2.1. Stratégie d'échantillonnage

2.1.1. Définition du lot

Chaque lot de digestats destiné à être utilisé dans ou sur les sols est caractérisé par **une** analyse. La définition du lot varie en fonction de la forme sous laquelle le digestat est stocké :

- Pour les digestats liquides : Le lot correspond au contenu d'une cuve de stockage qui ne peut plus être alimentée avant l'évacuation complète du lot.
- Pour les digestats solides : Le lot correspond à une quantité ne pouvant excéder 1000 tonnes ou une année de production si la production annuelle est inférieure à 1000 tonnes.

2.2. Mode opératoire

L'échantillon à analyser est un échantillon global composite produit à partir d'échantillons élémentaires répartis de manière homogène sur l'ensemble du lot. Le nombre et la répartition des échantillons élémentaires dans le lot dépendent de la forme sous laquelle les digestats sont stockés.

2.2.1. Nombre d'échantillons élémentaires par lot

- Digestats solides stockés en tas :
  Nombre d'échantillons élémentaires déterminé en fonction du volume du tas en m^3 suivant la formule :
  $N = (\sqrt{V})/2$, avec minimum 4 échantillons.
  Le résultat est arrondi au nombre entier supérieur.
  A titre d'exemple, on obtient le

Wallonie

Tableau 1 pour une série de volumétries :

Tableau 1 : Nombre d'échantillons à prélever et analyser en fonction de la volumétrie du lot

Volume du lot (m^3)	Nombre d'échantillons élémentaires	Nombre d'échantillons composites à analyser
10	4	1
50	4	
100	5	
200	8	
500	12	
1000	16	
1200	18	

- Digestats liquides stockés en cuve :
  Un minimum de 5 prélèvements élémentaires est requis pour constituer l'échantillon composite à analyser. Pour les cuves de plus de 1000 m^3, on ajoute un échantillon par tranche de 200 m^3 (cf. Tableau 2).
  Pour les cuves de plus de 6000 m^3, deux échantillons composites réalisés dans les mêmes conditions doivent être analysés.

Tableau 2 : Nombre d'échantillons élémentaires en fonction du volume de la cuve

Volume de cuve (m^3)	**Nombre d'échantillons élémentaires**	**Nombre d'échantillons composites à analyser**
≤ 1000	5	1
2000	10	
3000	15	
4000	20	
5000	25	
6000	30	
> 6000	5 par 1000 m^3	2

2.2.2. Matériel de prélèvement

Le choix du matériel dépend de la forme des digestats à prélever. Une synthèse des différents types d'équipements et de leur type d'application sont disponibles en Annexe 1 de la norme NBN EN ISO 5667-13 :2011.
Le matériel est sélectionné pour ne pas présenter d'interférence vis-à-vis des paramètres à analyser (plastic, inox,…).
Pour les digestats solides, l'utilisation d'une tarière manuelle est recommandée. En cas de texture non adaptée, l'utilisation d'une pelle peut être faite.
Pour les digestats liquides, l'utilisation de jauge de type 'sludge judge' est la plus adaptée pour les prélèvements à différentes profondeurs par le haut de la cuve.

ISSeP
Institut scientifique de service public

2.2.3. Répartition et prélèvement des échantillons élémentaires

- Digestats liquides ou pâteux mais pompables :
  Voir procédure P-9 (méthode pour certains prélèvements spécifiques), point 2.3 (prélèvement en citerne ou en cuve).
- Digestats solides ou pelletables :
  Voir procédure P-26 (méthode de prélèvement des matériaux stockés en andain).

2.2.4. Constitution de l'échantillon global et réduction de sa taille

L4échantillon global est obtenu après mélange et homogénéisation des échantillons élémentaires prélevés au sein du lot. L'étape de réduction est réalisée :

- conformément aux recommandations de la P-1 (Méthode concernant la constitution, le flaconnage, le transport et la conservation des échantillons), point 2.1.2.1 (quartage) pour les échantillons solides.
- après homogénéisation dans un récipient pour les échantillons plus liquides.

Après réduction, deux échantillons de masse équivalente sont constitués. Le premier est transmis au laboratoire pour l'analyse et le second conservé auprès de l'exploitant en cas de recontrôle nécessaire.
Les deux échantillons constitués sont de masse suffisante pour réaliser l'ensemble des analyses. Il convient à l'exploitant de s'informer auprès du laboratoire.

2.3. Flaconnage et conservation des échantillons

Les deux échantillons globaux constitués sont conditionnés dans des récipients dont la qualité est validée par le laboratoire (cf. P-1 pour plus de détails). Les récipients sont étiquetés en reprenant les informations nécessaires à la traçabilité du lot (identifiant, date de prélèvement, id préleveur,…).
L'analyse des échantillons est réalisée après le prélèvement du dernier échantillon élémentaire, dans les délais prescrits par la norme ISO 18512.
Un échantillon composite est conservé sur le lieu de production à température comprise entre 1 et 5°C et à l'abri de la lumière, jusqu'à validation du lot.
En cas de recontrôle nécessaire au-delà d'une période d'1 mois, les résultats d'analyses ne pourront refléter la composition en sortie de production. Les temps de conservation optimaux sont prescrits par la norme ISO 18512 et varient de 4 jours à 6 mois en fonction des paramètres.

2.4. Rapport de prélèvement

Le rapport de prélèvement contiendra au minimum :

- La date de prélèvement ;
- L'identification du préleveur ;
- L'identification du lot prélevé ;
- Une description visuelle du lot ;
- Le mode de prélèvement ;
- Le volume d'échantillon prélevé ;
- La référence de l'échantillon.

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
P-25	1	20/01/2022
Méthode d'échantillonnage des composts		

Domaine d'application		
Matrice	Compost	
Référence normative	ISO 18400-104	2018

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

Cette méthode énonce les lignes directrices pour l'échantillonnage des composts.

L'objectif visé est de produire un échantillon représentatif pour la caractérisation physique et chimique de la matière résultant du compostage dans les installations entreposant 500m^3 ou plus de matière.

2. Procédure

Des lignes directrices applicables pour l'échantillonnage de matériaux en tas sont décrites dans la norme internationale ISO 18400-104 :2018 relative aux prélèvements de sols (dépôts en surface). Ces lignes directrices peuvent être appliquées à l'échantillonnage des composts stockés en andains. Cependant, en conformité avec le cadre légal wallon, à savoir l'AGW du 18 juin 2009 déterminant les conditions sectorielles relatives aux installations de compostage lorsque la quantité de matière entreposée est supérieure ou égale à 500m^3[…] (ci-après dénommé AGW), les prescriptions spécifiques suivantes doivent être ajoutées.

2.1. Stratégie d'échantillonnage

2.1.1. Définition du lot

Chaque lot de compost destiné à être utilisé dans ou sur les sols est caractérisé par **une** analyse, après que celui-ci soit arrivé en fin du processus de maturation et avant sa valorisation.
Conformément à l'AGW, un lot représente une quantité de compost qui ne peut être supérieure à 1000 T ou un an de production si la production annuelle est inférieure à 1000 T.
Le compost est réparti en andains sur l'aire d'entreposage pour le processus de compostage et le stockage. Pour l'échantillonnage, chaque andain sera subdivisé pour former des lots de maximum 1000 T.

2.2. Mode opératoire

L'échantillon à analyser est un échantillon global composite produit à partir d'échantillons élémentaires répartis de manière homogène sur l'ensemble du lot.

2.2.1. Nombre d'échantillons élémentaires par lot

Des échantillons élémentaires sont prélevés en différents endroits du lot en vue de constituer un échantillon composite global. Le nombre d'échantillons élémentaires est déterminé en fonction de la volumétrie de l'andain évaluée en m^3, suivant la formule :

$$N = (\sqrt{V})/2$$, avec minimum 4 échantillons.

Le résultat est arrondi au nombre entier supérieur.
A titre d'exemple, on obtient le Tableau 1 pour une série de volumétries (densité approximative du compost : 0,5 T/m^3) :

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

Tableau 1 : Nombre d'échantillons à prélever et analyser en fonction de la volumétrie du lot

Volume du lot (m^3)	Nombre d'échantillons élémentaires	Nombre d'échantillons composites à analyser
10	4	1
20	4	
50	4	
200	8	
500	12	
1000	16	
1500	20	
2000	23	

2.2.2. Matériel de prélèvement

Une synthèse des différents types d'équipements et de leur type d'application est disponible au Tableau 6 de la norme ISO 18400-102 :2017 (Qualité du sol – Echantillonnage – Choix et application des techniques d'échantillonnage).
Pour le prélèvement des composts, l'utilisation d'une tarière manuelle est recommandée. En cas de texture non adaptée, l'utilisation d'une pelle peut être faite.

2.2.3. Répartition et prélèvement des échantillons élémentaires

Voir procédure P-26 (méthode de prélèvement des matériaux stockés en andain).

2.2.4. Constitution de l'échantillon global et réduction de sa taille

L'échantillon global est obtenu après mélange et homogénéisation des échantillons élémentaires prélevés au sein du lot. L'étape de réduction est réalisée conformément aux recommandations de la P-1 (Méthode concernant la constitution, le flaconnage, le transport et la conservation des échantillons), point 2.1.2.1 (quartage).
Après réduction, deux échantillons de masse équivalente sont constitués. Le premier est transmis au laboratoire pour l'analyse et le second conservé auprès de l'exploitant.
Les deux échantillons constitués sont de masse suffisante pour réaliser deux fois l'ensemble des analyses. Il convient à l'exploitant de s'informer auprès du laboratoire.

2.3. Flaconnage et conservation des échantillons

Les deux échantillons globaux constitués sont conditionnés dans des récipients dont la qualité est validée par le laboratoire (cf. P-1 pour plus de détails). Les récipients sont étiquetés en reprenant les informations nécessaires à la traçabilité du lot (identifiant, date de prélèvement, id préleveur,…).
L'analyse des échantillons est réalisée après le prélèvement du dernier échantillon élémentaire, dans les délais prescrits par la norme ISO 18 512.
Un échantillon composite est conservé sur le lieu de production à température comprise entre 1 et 5°C et à l'abri de la lumière, jusqu'à validation du lot.

Wallonie

En cas de recontrôle nécessaire au-delà d'une période d'1 mois, les résultats d'analyses ne pourront refléter la composition en sortie de production. Les temps de conservation optimaux sont prescrits par la norme ISO 18 512 et varient de 4 jours à 6 mois en fonction des paramètres.

2.4. Rapport de prélèvement

Le rapport de prélèvement contiendra au minimum :

- La date de prélèvement ;
- L'identification du préleveur ;
- L'identification du lot prélevé ;
- Une description visuelle du lot ;
- Le mode de prélèvement ;
- Le volume d'échantillon prélevé ;
- La référence de l'échantillon.

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date de validité
P-26	1	01/01/2019
Méthode de prélèvement de matériaux stockés en andains		

Domaine d'application		
Matrice	Sols et Déchets	
Références normatives	ISO 10381-8	2006
	NBN EN ISO 5667-13	2011

Wallonie

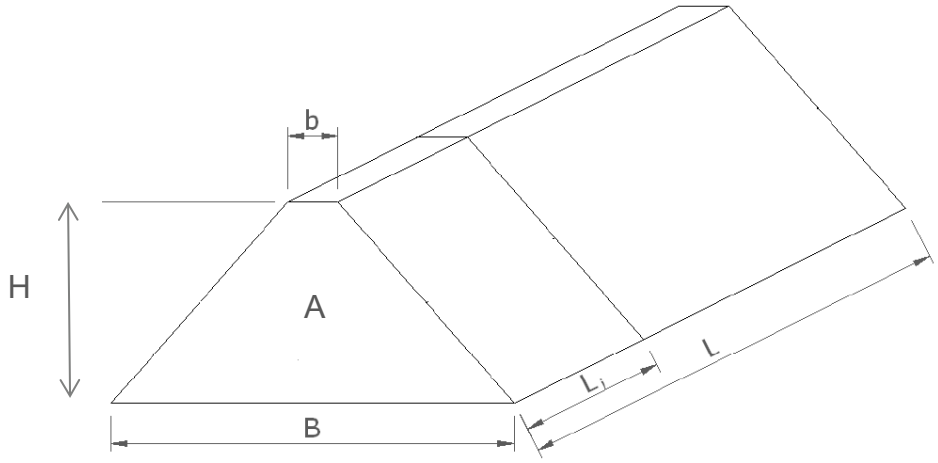
1. Objet

Cette méthode a pour objet de définir les lignes directrices pour la réalisation de prélèvements de matériaux de toutes natures disposés suivant une configuration en andain(s).

2. Procédure

Le prélèvement en tas ou andain exige une bonne évaluation des conditions de sécurité. Le prélèvement ne peut être réalisé que si cette évaluation montre l'absence de risque.

2.1. Représentation schématique de l'andain



B : largeur de la base au sol
b : largeur à la crête
H : hauteur sol-crête
L : longueur de l'andain
Li : longueur d'une section
A : aire d'une section

2.2. Nombre d'échantillons

Si le matériau disposé en andain est homogène, un seul échantillon composite à analyser suffit. En cas de doute sur l'homogénéité, des doublons peuvent être réalisés par sécurité.

L'échantillon composite est élaboré à partir d'une série d'échantillons élémentaires. Le volume de l'andain détermine le nombre d'échantillons élémentaires. L'estimation de la volumétrie est réalisée sur base des dimensions observées.

La formule prescrite par la norme NBN EN ISO 5667-13 est généralement utilisée pour déterminer le nombre d'échantillons élémentaires $N=(\sqrt{V})/2$, sauf spécification particulière due à la nature du matériau prélevé (cf. par exemple P-23, 24 ou 25) ou à la stratégie d'échantillonnage (cf. par exemple GRGT).

2.3. Répartition des échantillons élémentaires

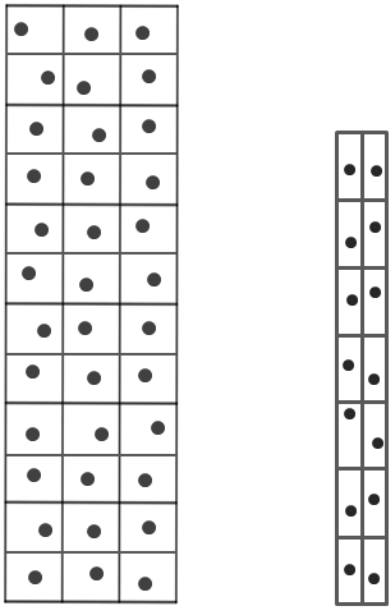
Une répartition suivant une grille systématique des échantillons prélevés est recommandée. Le nombre i de sections de cette grille est déterminé par le nombre d'échantillons élémentaires à prélever.

Deux cas de figure peuvent se présenter :

- L'andain est suffisamment consolidé et stable, il est possible de se déplacer sur la crête. De plus, la largeur de la crête (b) est supérieure à 1m.
  Les carottages sont réalisés depuis la crête et les flancs. La longueur totale (L) de l'andain est divisée en sections de taille équivalente (L_i). Le nombre de sections est de N/3 (si N n'est pas divisible par 3, prendre le multiple de 3 supérieur) et 3 forages équidistants par section sont réalisés.

- L'andain est instable et il n'est pas possible de se déplacer sur sa surface. Et/ou la largeur de la crête (b) est inférieure à 1m.
  Les carottages sont réalisés uniquement depuis les flancs. La longueur totale (L) de l'andain est divisée en sections de taille équivalente (L_i). Le nombre de sections est de N/2 et 2 forages par section sont réalisés (1 dans chaque flanc).

Moyennant le respect de ces prescriptions, la détermination de l'emplacement des forages au sein d'une section se fera à l'appréciation du préleveur de sorte qu'aucune portion de l'andain ne soit ignorée.



Répartition des points de prélèvement suivant une grille systématique
(à gauche : andain stable et accessible – à droite : andain étroit, instable)

2.4. Matériel de prélèvement

La prise d'échantillon est généralement réalisée à l'aide d'une tarière manuelle. D'autres techniques de prélèvement sont présentées dans la P-6 ou à l'annexe I de la procédure ISO 10381-8.

2.5. Mode opératoire

Chaque forage ou saignée réalisé constitue un échantillon élémentaire. L'andain doit être traversé de part en part, donc en pénétrant le plus possible au cœur du tas. Au sein de chaque forage, plusieurs prélèvements répartis systématiquement sur la profondeur du forage sont effectués (compter 1 prélèvement par mètre de profondeur) et rassemblés pour constituer l'échantillon élémentaire.

Les échantillons élémentaires sont rassemblés et homogénéisés au fur et à mesure de leur prélèvement. La taille de l'échantillon global est éventuellement réduite (cf. P-1) pour constituer l'échantillon à destination du laboratoire, mais ne pourra être inférieure à la taille minimum d'un échantillon élémentaire.

Une fiche de prélèvement est remplie par le préleveur, suivant par exemple le modèle présenté à l'Annexe 3 de la P-7.

S-I-0V3 – GENERALITES SUR LE PRÉTRAITEMENT DES ÉCHANTILLONS AU LABORATOIRE

1. Objet

Généralités sur le prétraitement des échantillons reçus au laboratoire.

2. Domaine d'application

Généralités sur le prétraitement nécessaire des échantillons de sol (y compris les sédiments), les matières utilisées sur ou dans les sols et les déchets devant être soumis à des analyses inorganiques et/ou organiques.

Remarque :
Les prétraitements ne doivent pas être utilisés s'ils affectent les résultats des déterminations à réaliser. Dans certains cas, les normes relatives aux méthodes analytiques précisent lorsqu'il est nécessaire d'adopter d'autres façons de procéder.

Ce chapitre contient trois sections :

- S-I-1 : Prétraitement des échantillons au laboratoire pour les analyses chimiques, physiques et physico-chimiques.
- S-I-2 : Prétraitement des échantillons au laboratoire pour les analyses organiques.
- S-I-3 : Détermination de la teneur en matière pondérale en matière sèche et en eau.

Les exigences de base pour les différents essais sont reprises dans ces procédures.

Pour les paramètres organiques, la procédure est basée sur une réalisation immédiate des analyses (composés volatils) ou un séchage chimique (composés semi-volatils).

Pour les paramètres chimiques, physiques et physico-chimiques, la procédure est basée sur la réalisation immédiate (notamment le taux de matière sèche, de matières organiques sur frais, la répartition granulométrique) ou un séchage, tamisage et éventuellement broyage (notamment pour les éléments minéraux). Les instruments et procédés décrits dans cette procédure sont donnés à titre d'exemple. Un laboratoire peut décider d'utiliser des instruments non mentionnés (par exemple la lyophilisation) et développer sa propre procédure de prétraitement pour autant que les exigences suivantes soient respectées **:**

- La procédure a conduit à une amélioration significative de l'homogénéité de l'échantillon réalisé.

ORIGINAL 2014

- Les instruments utilisés n'ont pas conduit à un accroissement des teneurs pour les paramètres analysés (contamination par le matériau dans lequel l'instrument est fait. Exemples : matériau des disques d'un broyeur à disques, matériau des boulets d'un broyeur à boulets).
- La procédure ne peut pas conduire à une perte du paramètre analysé ; les exigences en matière de récupération des standards analytiques ont été respectées.
- La procédure ne peut pas conduire à une perte d'échantillon : au moins 95% de l'échantillon a été retenu durant chaque étape de tamisage, sous échantillonnage et broyage.
- Si la procédure analytique décrit des exigences spécifiques pour le prétraitement, celles-ci ne doivent pas être changées (exemple : la procédure de détermination du pH indique que l'échantillon de sol doit être séché avant la mesure. Une procédure dans laquelle l'échantillon n'est pas séché conduit à des résultats différents et est donc inacceptable).

3. Référence

CEN/BT/TF 151 – Sol, boues et déchets biologiques traités – Guide pour le prétraitement des échantillons.

ORIGINAL 2014

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
S-I-1	4	20/01/2022

Prétraitement des échantillons pour analyses physico-chimiques ou pour analyse des contaminants organiques

Descriptif		
Paramètre	Prétraitement des échantillons	
Référence normative	NBN EN 16179	2012

Domaine d'application	
Matrice	Sols Sédiments Boues Bio-déchets traités

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)	Non applicable	ng/l
Incertitude (relative) de la mesure	Non applicable	%
Gamme de travail	Non applicable	ng/l

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

La présente procédure a pour objet de décrire les différents prétraitements pouvant être appliqués aux échantillons de sols, sédiments, boues et bio-déchets traités en vue d'analyses physico-chimiques ou de la détermination de contaminants organiques.

2. Procédure

L'ensemble des prescriptions de la norme de référence internationale NBN EN 16179:2012 sont d'application, à l'exception des prescriptions spécifiques à la Région wallonne. Ces prescriptions spécifiques s'écartent ou limitent le choix de celles de la norme de référence internationale. Elles sont reprises, en gras, dans le tableau ci-dessous au sein de la colonne « Prescriptions CWEA». Les prescriptions y relatives qui sont reprises dans la norme de référence sont listées, pour information au sein de la colonne « Prescription norme de référence ».

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Principe	
(§5.1 Figure 1 de la norme de référence)	**Lors de la division de l'échantillon brut pour la réalisation d'un sous-échantillon pour analyse de sol brut ou pour les étapes de prétraitement (séchage, concassage,..), la réalisation d'un sous-échantillon de réserve n'est pas indispensable.** **Le solde d'échantillon brut sera conservé et un nouveau sous- échantillon sera préparé en cas de besoin.**
(§5.1 Figure 2 de la norme de référence)	**La réalisation d'un sous-échantillon pour une éventuelle analyse supplémentaire n'est pas indispensable. Le solde d'échantillon brut sera conservé et un nouveau sous- échantillon sera préparé en cas de besoin.**
(§5.1 Figure 2, §5.6 et § 10.3.3.3 de la norme de référence)	**Le broyage cryogénique est recommandé mais non indispensable. Eviter au maximum l'échauffement de l'échantillon pendant le processus de broyage.**

Wallonie

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
(§5.4 de la norme de référence)	**Prétraitement en laboratoire pour la détermination des paramètres inorganique, physico-chimiques et organiques non volatils.**
(§5.5 de la norme de référence)	**Si un flacon n'a pas été prévu dès le prélèvement pour l'analyse des composés volatils, effectuer un prélèvement par carottage si possible et placer le sous-échantillon dans un flaconnage en verre avec un couvercle en PTFE.**
Modes opératoires de prélèvement et de prétraitement *in situ*	
(§8 de la norme de référence)	**Pour le mode opératoire de prélèvement et de prétraitement in situ, se référer aux procédures de prélèvement du CWEA.**
Stockage et conservation	
(§9.1 et 9.2 de la norme de référence)	**Pour les conditions de stockage et de transport avant le dépôt de l'échantillon au laboratoire, se référer aux procédures de prélèvement du CWEA.**
Modes opératoires de prétraitement en laboratoire	
(§ 10.2.6 de la norme de référence)	**Si plusieurs analyses doivent être effectuées, soit une quantité suffisante de matériau doit être broyée jusqu'à la plus faible granulométrie spécifiée, soit un sous-échantillonnage de l'échantillon broyé est réalisé et l'ensemble du sous-échantillon doit être broyé à la granulométrie la plus faible prescrite.**

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
(§ 10.3.3.2 de la norme de référence)	**Pour le séchage chimique, suivez le procédé décrit au point 10.3.3.2 ou suivez le processus décrit ci-après : Pour chaque échantillon, prélever 250g d'échantillon par pesée. Selon la nature exacte de l'échantillon, la quantité d'échantillon peut être adaptée. Ajouter le Na_2SO_4 dans les proportions suivantes : Masse de Na_2SO_4 = masse pesée de l'échantillon si l'échantillon contient de 50% à 100% de matières sèches. Masse de Na_2SO_4 = 2 à 3 fois la masse de l'échantillon si l'échantillon présente de 15 à 50% de matières sèches. Masse de Na_2SO_4 = 4 fois la masse de l'échantillon si l'échantillon présente moins de 15% de matières sèches. Rem : dans la norme de référence, dans la phrase « Pour chaque échantillon, ajouter environ 250g de sol (pesé avec un chiffre significatif) dans le récipient en verre contenant le sulfate de sodium et le sulfure de magnésium » lire silicate et non sulfure.**

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont :

Version précédente	Présente version
Normes de référence : ISO 11464 :2006 ISO 14507 :2003	Norme de référence : NBN EN 16179 :2012.

S-I-2V2 – PRÉTRAITEMENT DES ÉCHANTILLONS POUR LES ANALYSES ORGANIQUES

1. Objet

Prétraitement des échantillons de sol (y compris les sédiments), les matières utilisées sur et dans les sols et les déchets pour la détermination des contaminants organiques. Les micropolluants organiques peuvent présenter des différences importantes au niveau de leur volatilité.

2. Domaine d'application

3 méthodes de prétraitement des échantillons avant détermination des contaminants organiques :

- méthode de prétraitement pour les composés organiques volatils - point d'ébullition inférieur à 200 °C (exemple : hydrocarbures aromatiques monocycliques, solvants halogénés, indice hydrocarbure C5-C11 ….);
- méthode de prétraitement pour les composés organiques semi-volatils - familles dont les constituants les plus légers ont un point d'ébullition situé entre 200 et 300 °C (hydrocarbures aromatiques polycycliques, chlorophénols , indice hydrocarbure C10-C40,…);
- méthode de prétraitement pour les composés organiques semi-volatils - point d'ébullition supérieur à 300 °C (carbone organique total, PCDDs et PCDFs, …).

3. Conditionnement et conservation de l'échantillon

L'échantillon prélevé sera conservé dans un récipient adapté à l'abri de la lumière, à une température de 4 ± 2 °C.

Si l'échantillon contient des composés volatils, il est placé dès retour au laboratoire dans un flacon de 40 ml et est analysé dans la semaine. S'il ne peut être analysé dans ce délai, il est congelé à - 18 °C dans un récipient en polyéthylène.

Les échantillons pour essai peuvent être aussi prélevés et extraits sur le terrain en recouvrant l'échantillon de solvant d'extraction (méthanol - S-III-1), en fermant le flacon hermétiquement et en le transportant au froid jusqu'au laboratoire.

Si l'échantillon contient des composés semi-volatils, il est conseillé, pour les conserver, de le sécher chimiquement avec du sulfate de sodium ou, si les analyses demandées le permettent, le sécher à l'étuve à 40 °C et le broyer, pour éviter les pertes par dégradation biologique.

ORIGINAL 2014

4. Appareillages et matériels utilisés

- Broyeur : moulin, pilon, mortier, maillet à tête en bois ou autres matériaux tendres;
- Tamis à trous carrés de 2 mm;
- Mélangeur mécanique;
- Agitateur mécanique pour le tamis : facultatif;
- Sous-échantillonneur ou appareil pour séparer l'échantillon;
- Tamis à mailles de 250 µm;
- Balance analytique : précision à 0.1 g;
- Balance ou trébuchet : précise à 1 g;
- Etuve, convenant pour travailler à 600 °C;
- Carotteuse ou instrument analogue.

5. Réactifs utilisés

Na_2SO_4 anhydre : traiter le sulfate de sodium pendant 6 heures à 600°C afin de retirer l'eau de cristallisation et les matières organiques, le laisser refroidir dans un dessiccateur et le conserver dans un récipient fermé.

6. Mode opératoire

Composés volatils

Aucun prétraitement n'est effectué sur les échantillons sur lesquels il faut analyser les composés volatils. Prélever les échantillons pour essai dès que possible pour éviter les pertes.

Composés semi - volatils

(familles dont les constituants les plus légers ont un point d'ébullition situé entre 200 et 300 °C)

Verser le contenu sur une feuille à revêtement téflonné ou faire un ou plusieurs carottages dans le pot à l'aide d'un évideur de ± 15 mm de diamètre. Eliminer les pierres et autres matériaux non broyables ayant un diamètre supérieur à 10 mm et prendre ± 50 g d'échantillon représentatif (peser au trébuchet). Ajouter le même poids de sulfate de sodium anhydre si le solide contient 50 à 100 % de matières sèches et ajouter 2 fois le poids de l'échantillon pour les boues contenant moins de 50 % de matières sèches.

Homogénéiser rapidement au pilon de façon à obtenir une poudre fine et sèche.

Composés semi -volatils (point d'ébullition supérieur à 300 °C)

Sécher l'échantillon à l'air ou à 40 °C jusqu'à ce que la perte de masse de l'échantillon ne dépasse pas 5 % (m/m) par 24 heures.
Réduire les mottes.
Retirer les éléments non représentatifs du sol et noter les poids respectifs.
Tamiser l'échantillon au travers d'un tamis à trou carré de 2 mm.

ORIGINAL 2014

Lorsque la quantité d'échantillon séché, broyé et tamisé ne permet pas sa consommation complète, il faut le diviser en portions représentatives par quartage manuel ou à l'aide d'un appareil à diviser les échantillons.
Broyer un sous-échantillon représentatif jusqu'à ce qu'il passe au travers d'un tamis à maille de 250 µm.

7. Calcul

Lorsqu'il y a ajout d'additif tel que le sulfate de sodium anhydre, il faut tenir compte d'un facteur de correction pour la prise d'essai pour analyse.

8. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- une référence à la présente méthode de la Région wallonne;
- l'identification complète de l'échantillon;
- les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis;
- les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

ORIGINAL 2014

9. Références

ISO 14507 : 2003 – Qualité du sol – Prétraitement des échantillons pour la détermination des contaminants organiques.

ISO 11464 : 2006 – Qualité du sol – Prétraitement des échantillons pour analyses physico-chimiques

ISO 16720 : 2005 – Qualité du sol – Prétraitement des échantillons par lyophilisation pour analyse subséquente

ISO 23909 : 2008 – Qualité du sol – Prétraitement des échantillons de laboratoire à partir d'échantillons de grande taille

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
S-I-3	4	20/01/2022

Calcul de la teneur en matière sèche par détermination du résidu sec ou de la teneur en eau

Descriptif		
Paramètre	/	
Référence normative	NBN EN 15934	2012

Domaine d'application	
Matrice	Sols

Critères de performance	
Limite de quantification (LQ)	Non-applicable
Incertitude (relative) de la mesure	Non-applicable
Gamme de travail	Non-applicable

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

Cette procédure permet de déterminer la teneur pondérale en eau et en matière sèche d'un solide dans le cas où il est nécessaire d'exprimer des résultats d'analyses par rapport à la matière sèche.

2. Procédure

Les prescriptions spécifiques à la Région wallonne sont reprises dans la norme de référence internationale NBN EN 15934 :2012.

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont :

Version précédente	Présente version
Norme de référence : ISO 11465 :1993	Norme de référence : NBN EN 15934 :2012.

S-I-4V1 – ESSAI DE LIXIVIATION DE SOLS ET DÉCHETS FRAGMENTÉS, DE SÉDIMENTS ET DE BOUES METHODE EN BATCH

1. Objet

La présente méthode permet de déterminer par un essai de lixiviation des substances solubles contenues dans un échantillon de sols, de déchets fragmentés, de sédiments ou de boues dans les conditions opératoires précises. Cette détermination, d'après la nature de l'échantillon, doit donner des indications sur les préjudices ou les risques potentiels liés à la mise en décharge ou susceptibles d'entrer en contact avec l'eau. Cette procédure peut, en effet, fournir des valeurs qui, dans les conditions réelles de dépôt, ne seront pas atteintes ou ne seront atteintes seulement qu'après des laps de temps très longs.

2. Domaine d'application

La présente procédure spécifie un essai de conformité fournissant des informations sur la lixiviation des déchets fragmentés, des sédiments et des boues dans les conditions expérimentales spécifiées ci-après, et en particulier un rapport liquide-solide de 10 l/kg de matière sèche. Cet essai s'applique aux déchets ayant une granularité inférieure à 4 mm sans ou avec réduction de la granularité.
Elle a principalement été conçue pour étudier les constituants inorganiques des déchets. Elle ne tient pas compte des caractéristiques particulières des constituants organiques non polaires ni des conséquences de l'évolution microbiologique des déchets organiques dégradables.

ORIGINAL 2014

3. Interférence

Sans préjudice des dispositions légales, décrétales et réglementaires en vigueur, les déchets suivant ne sont pas soumis au test de lixiviation :

1° les matériaux réagissant avec le lixiviant, ce qui donnerait, par exemple, une émission gazeuse excessive, un effet de solidification ou un dégagement de chaleur trop élevé.

2° les matières ayant une teneur en eau ou une affinité avec l'eau tel qu'il est impossible de bien mélanger le solide avec la quantité prédéterminée de liquide.

3° les déchets pour lesquels la réglementation interdit l'élimination par mise en décharge.

4. Principe

L'échantillon qui, soit d'origine, soit après prétraitement, a une granularité inférieure à 4 mm est mis en contact avec de l'eau (7.1) dans des conditions définies. La présente procédure repose sur l'hypothèse que l'équilibre ou le quasi-équilibre est atteint entre les phases liquide et solide pendant la durée de l'essai. Le résidu solide est séparé par filtration et/ou centrifugation.

Les propriétés de l'éluat sont mesurées à l'aide de méthodes conçues pour l'analyse des eaux et adaptées aux critères d'analyse des éluats.
Après l'essai, les conditions de lixiviation sont enregistrées en termes de pH et de conductivité imposées par le déchet.
Ces paramètres régissent le comportement à la lixiviation des déchets et sont donc importants pour le contrôle de l'essai de lixiviation.

5. Conditionnement et conservation de l'échantillon

L'échantillon prélevé sur site sera conservé dans un récipient en verre ou en polyéthylène à 4°C et dans l'obscurité.

6. Appareillages et matériels utilisés

6.1. Agitateur à retournement (5 tr/min – 10 tr/min) ou un agitateur à rouleaux tournant à environ 10 tr/min.
6.2. Centrifugeuse opérant à 3000 g – 4000 g.
6.3. Balance ayant une précision d'au moins 0.1 g.
6.4. Appareil de mesure de la conductivité électrique.
6.5. pH-mètre.
6.6. Appareil de filtration, soit un système de filtration sous vide soit un appareil de filtration sous haute pression. Le rinçage est obligatoire.
6.7. Membranes de filtration de 0.45 µm pour la filtration, pré-rincées (par exemple avec HNO_3 à 0.1 mol/l et de l'eau (7.1)).
6.8. Système de mesure de température d'ambiance.
6.9. Eprouvettes graduées pour la détermination du volume avec une précision de 1 %.

N.B. : Avant toute manipulation, il est obligatoire de vérifier le bon état de l'appareillage utilisé.

7. Réactifs utilisés

7.1. Eau déminéralisée : $5 < pH < 7.5$ et conductivité ≤ 5 µS/cm.
7.2. Acide nitrique (HNO_3), 0.1 mol/l (de qualité pour analyse)

8. Préparation de l'échantillon

Afin d'obtenir une granulométrie inférieure à 4 mm, on se référera à la méthode S-I-1 relative au prétraitement des échantillons pour analyse physico-chimiques.
On se référera également à la méthode S-I-3 relative à la détermination de la teneur en matière pondérale en matière sèche et en eau.

ORIGINAL 2014

9. Mode opératoire

9.1. Etape de lixiviation.

L'essai de lixiviation doit être réalisé à température ambiante (20 ± 5) °C.

Une prise d'essai d'une masse totale M_H correspondant à (0.090 ± 0.005) kg de masse sèche M_S est placée dans un flacon rincé en verre ou en polyéthylène haute densité / polypropylène, d'un volume nominal de 1 l.

$$M_H = 100 * \frac{M_S}{TS}$$

où

TS	est le taux de matière sèche (exprimé en %) ;
M_S	est la masse de la prise d'essai séchée (exprimée en kg) ;
M_H	est la masse de la prise d'essai non séchée (exprimée en kg).

Ajouter une quantité de lixiviant (L) permettant d'obtenir un rapport liquide-solide (L/S) = 10l/kg ± 2 % au cours de l'extraction. Veiller à ce que le solide et le liquide se mélangent bien :

$$L = \left(10 - \frac{TH}{100}\right) * M_S$$

où

L	est le volume de lixiviant utilisé (exprimé en litres) ;
M_S	est la masse sèche de la prise d'essai (exprimée en kg) ;
TH	est le taux d'humidité (exprimée en %).

Le flacon est placé ensuite sur l'agitateur réglé sur une vitesse de 10 tours/minute.
La durée de lixiviation est fixée à (24 ± 1/2) h.

Pendant l'extraction, veiller à éviter la décantation de solides dans le flacon et éviter toute abrasion importante pouvant entraîner une réduction significative de la taille des particules.

Remarques :

- Eviter l'utilisation de flacons en PEHD si l'analyse du mercure est demandée.
- Dans le cas où le volume requis pour analyse est supérieur à un litre, adapter la prise d'essai et le volume de lixiviant en conséquence.

9.2 Etape de la séparation liquide-solide.

Les solides en suspension sont laissés décanter pendant (15 ± 5) min. La quasi-totalité de l'éluat est filtré sur un filtre à membrane de 0.45 µm en utilisant un dispositif de filtration sous vide.

ORIGINAL 2014

On peut être amené à utiliser la centrifugation avant la filtration si celle-ci n'est pas possible en moins d'une heure.
Le volume d'éluat filtré VE est mesuré.

La conductivité (en µS/cm), la température et le pH de l'éluat sont mesurés immédiatement.

Note 1 Si des composés volatils doivent être analysés, il convient de ne pas utiliser la filtration sous vide.

Note 2 Un tel mode opératoire de séparation liquide/solide spécifique peut inclure la décantation, la pré-filtration sur un filtre plus grossier, la centrifugation, etc.

9.3 Préparation de l'éluat en vue de l'analyse

Diviser l'éluat en un nombre approprié de sous-échantillons pour les différentes analyses chimiques et les stocker selon leurs exigences y relatives.

Les concentrations des constituants recherchés sont déterminées en utilisant les méthodes d'analyses correspondantes.

9.4 Essai à blanc pour la vérification du mode opératoire de lixiviation

Celui-ci consiste à soumettre un volume de lixiviant de 0.95 l à l'ensemble du mode opératoire en incluant l'étape d'analyse de l'éluat.
La concentration de chaque élément recherché doit être inférieure à 20 % de la concentration déterminée dans l'éluat du déchet ou inférieur à 20 % de la concentration dans l'éluat d'une valeur limite à laquelle le résultat de la mesure doit être comparé. Les éléments devant être pris en compte sont tous les éléments devant être déterminés dans l'éluat du déchet soumis à l'essai.

Si tel n'est pas le cas, c'est qu'il y a eu une contamination et il est nécessaire de prendre les mesures pour réduire celle-ci.

ORIGINAL 2014

10. Calcul

L'analyse de l'éluat produit par l'essai de lixiviation fournit la concentration des constituants dans l'éluat exprimé en mg/l. Les résultats finals sont exprimés en quantité de constituant lixivié rapportée à la masse totale de l'échantillon, en mg/kg de matière sèche.

La quantité d'un constituant lixivié à partir du matériau, sur base de la masse sèche du matériau d'origine, est déterminée à l'aide de la formule suivante :

$$A = C * \left(\frac{L}{M_S} + \frac{TH}{100} \right)$$

où

A	est le relargage d'un constituant pour L/S = 10 (exprimé en mg/kg M_S)
C	est la concentration d'un constituant particulier dans l'éluat (exprimé en mg/l)
L	est le volume de lixiviant utilisé (exprimé en litres)
TH	est le taux d'humidité (exprimé en % de la masse sèche)
MS	est la masse de la prise d'essai sèche (exprimée en kg)

11. Sécurité

Les échantillons contaminés en raison de la présence de contaminants chimiques, spores fongiques ou de pathogènes doivent être manipulés avec toutes les mesures de sécurité qui s'imposent.

12. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- une référence à la présente méthode de la Région wallonne;
- l'identification complète de l'échantillon;
- préparation de l'échantillon : masse et nature des parties non fragmentables
- production de l'éluat :
  - la masse brute *MH* (kg) de la prise d'essai
  - le taux d'humidité *TH* (%) du déchet
  - le volume de lixiviant ajouté pour l'extraction (*L*)
  - la description du mode de séparation liquide/solide
  - les résultats des mesurages immédiats (pH, conductivité)
- les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

Les données ci-dessous ne doivent pas obligatoirement se trouver dans le rapport d'essai mais doivent être traçables :

- préparation de l'échantillon : la date de la préparation de la prise d'essai pour l'essai de lixiviation, les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis;
- production de l'éluat : la date de l'essai de production de l'éluat, le respect de la consigne de température (20 ± 5) °C, le volume de l'éluat filtré VE
- informations sur l'essai à blanc : la date du dernier essai à blanc effectué, les résultats du dernier essai à blanc effectué.

13. Référence

NBN EN12457-2 : 2002 – Caractérisation des déchets-Lixiviation-Essai de conformité pour la lixiviation des déchets fragmentés et des boues-Partie 2 : Essai en bâchée unique avec un rapport liquide-solide de 10 l/kg et une granularité inférieure à 4 mm (sans ou avec réduction de la granularité).

ORIGINAL 2014

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
S-II-1.1	3	20/01/2022

Extraction des éléments métalliques en trace (ETM) solubles dans l'eau régale – Méthode à reflux

Descriptif		
Paramètre	Eléments en trace métalliques (voir §1)	
Référence normative	ISO 11466 NBN EN 16174	1995 2012

Domaine d'application	
Matrice	Sols

Critères de performance	
Limite de quantification (LQ)	Non-applicable
Incertitude (relative) de la mesure	Non-applicable
Gamme de travail	Non-applicable

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

La présente procédure spécifie la méthode de digestion par reflux des boues et des sols avec de l'eau régale comme solution de digestion.
La présente procédure est applicable aux éléments suivants :
Aluminium (Al), antimoine (Sb), arsenic (As), baryum (Ba), béryllium (Be), bismuth (Bi), bore (B), cadmium (Cd), calcium (Ca), cérium (Ce), césium (Cs), chrome (Cr), cobalt (Co), cuivre (Cu), dysprosium (Dy), erbium (Er), europium (Eu), gadolinium (Gd), gallium (Ga), germanium (Ge), or (Au), hafnium (Hf), holmium (Ho), indium (In), iridium (Ir), fer (Fe), lanthane (La), plomb (Pb), lithium (Li), lutétium (Lu), magnésium (Mg), manganèse (Mn), mercure (Hg), molybdène (Mo), néodyme (Nd), nickel (Ni), palladium (Pd), phosphore (P), platine (Pt), potassium (K), praséodyme (Pr), rubidium (Rb), rhénium (Re), rhodium (Rh), ruthénium (Ru), samarium (Sm), scandium (Sc), sélénium (Se), silicium (Si), argent (Ag), sodium (Na), strontium (Sr), soufre (S), tellure (Te), terbium (Tb), thallium (Tl), thorium (Th), thulium (Tm), étain (Sn), titane (Ti), tungstène (W), uranium (U), vanadium (V), ytterbium (Yb), yttrium (Y), zinc (Zn) et zirconium (Zr).

2. Procédure

Les prescriptions spécifiques à la Région wallonne sont reprises dans les normes de référence internationales citées ci-dessous.

Matrice	Norme de référence internationale
Sol agricole	NBN EN 16174 :2012
Sols amendés par des boues	
Sols contenant **plus** de 20 % (m/m) de carbone	
Sols contenant **moins** de 20 % (m/m) de carbone	ISO 11466 :1995 ou NBN EN 16174 :2012

Wallonie

L'ensemble des prescriptions des normes de référence internationale NBN EN 16174:2012 et ISO 11466 :1995 sont d'application, à l'exception des prescriptions spécifiques à la Région wallonne. Ces prescriptions spécifiques s'écartent ou limitent le choix de celles de la norme de référence internationale. Elles sont reprises, en gras, dans le tableau ci-dessous au sein de la colonne « Prescriptions CWEA». Les prescriptions y relatives qui sont reprises dans la norme de référence sont listées, pour information au sein de la colonne « Prescription norme de référence ».

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Domaine d'application	
(§1 de la norme NBN EN 16174)	**La norme NBN EN 16174 peut être appliquée pour des sols dont la teneur en carbone est inférieure ou supérieure à 20% (m/m).**

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont :

Version précédente	Présente version
Numéro de la méthode : S-II-1	La méthode S-II-1 a été séparée en 2 méthodes, cela afin d'en faciliter le suivi. Il s'agit à présent de : - S-II-1.1 méthode reflux - S-II-1.2 méthode µ-ondes
Normes de référence : ISO 11466 :1995 NBN EN 13657 :2002	Normes de référence : ISO 11466 :1995 **NBN EN 16174 :2012**

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
S-II-1.2	1	20/01/2022

Extraction des éléments métalliques en trace (ETM) solubles dans l'eau régale – Méthode assistée par micro-ondes

Descriptif		
Paramètre	Eléments en trace métalliques (voir §1)	
Référence normative	ISO 12914	2012

Domaine d'application	
Matrice	Sols

Critères de performance	
Limite de quantification (LQ)	Non-applicable
Incertitude (relative) de la mesure	Non-applicable
Gamme de travail	Non-applicable

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

La présente procédure spécifie une méthode d'extraction assistée par micro-ondes d'éléments d'échantillons en utilisant l'eau régale comme solution d'extraction pour la détermination des éléments.

2. Procédure

Les prescriptions spécifiques à la Région wallonne sont reprises dans la norme de référence internationale ISO 12914 :2012.

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

Version précédente	Présente version
Numéro de la méthode : S-II-1	La méthode S-II-1 a été séparée en 2 méthodes, cela afin d'en faciliter le suivi. Il s'agit à présent de : - S-II-1.1 méthode reflux - S-II-1.2 méthode µ-ondes

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
S-II-2.1	2	20/01/2022

Dosage des éléments métalliques en trace dans les extraits à l'eau régale : méthode par absorption atomique avec flamme et atomisation électrothermique

Descriptif		
Paramètre	Métaux (voir §2)	
Référence normative	ISO 11047 ISO 20280	1998 2007

Domaine d'application	
Matrice	Sol

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)		
Incertitude (relative) de la mesure		
Gamme de travail		

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

La présente procédure spécifie une méthode de dosage d'éléments métallique en trace, selon le tableau ci-dessous, dans un extrait de sol à l'eau régale obtenu conformément à la méthode **S-II-1.1 ou S-II-1.2**, par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme ou atomisation électrothermique.

Paramètres	Norme de référence internationale
arsenic (As), antimoine (Sb), sélénium (Se)	ISO 20280 :2007 selon la méthode A
(cadmium (Cd), chrome (Cr), cobalt (Co), cuivre (Cu), plomb (Pb), manganèse (Mn), nickel (Ni) et zinc (Zn))	ISO 11047 :1998

2. Procédure

L'ensemble des prescriptions des normes de référence internationales ISO 20280 :2007 et ISO 11047 :1998 sont d'application, à l'exception des prescriptions spécifiques à la Région wallonne. Ces prescriptions spécifiques s'écartent ou limitent le choix de celles des normes de référence internationales. Elles sont reprises, en gras, dans le tableau ci-dessous au sein de la colonne « Prescriptions CWEA». Les prescriptions y relatives qui sont reprises dans la norme de référence sont listées, pour information au sein de la colonne « Prescription norme de référence ».

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Etalonnage	
(§5 de la norme ISO 20280 & §3.5.4 de la norme ISO 11047 – Note 2)	**Vérification de l'étalonnage avec des solutions de contrôle : passer le contrôle avant chaque analyse ainsi que toutes les 10 mesures. Les valeurs de concentration ne doivent pas s'écarter des limites fixées sur les cartes de contrôle. Sinon, identifier le problème, y remédier et recommencer l'étalonnage.**
(§5 de la norme ISO 20280 & §3.5.4 de la norme ISO 11047 – Note 2)	**Analyse du MRC : analyser le MRC comme un échantillon inconnu.**

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
S-II-2.2	2	20/01/2022

Dosage des éléments métalliques en trace dans les extraits à l'eau régale : méthode par spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (ICP-AES)

Descriptif		
Paramètre	Métaux en trace (voir §1)	
Référence normative	ISO 22036	2008

Domaine d'application	
Matrice	Sol

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)		mg/l
Incertitude (relative) de la mesure		%
Gamme de travail		mg/l

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

La présente procédure spécifie une méthode de dosage d'éléments traces dans des solutions de digestion du sol à l'eau régale obtenu conformément à la méthode **S-II-1.1 ou S-II-1.2** par spectrométrie d'émission atomique avec plasma induit par haute fréquence (ICP-AES) pour les éléments suivants :

Aluminium (Al), antimoine (Sb), arsenic (As), baryum (Ba), béryllium (Be), bismuth (Bi), bore (B), cadmium (Cd), calcium (Ca), chrome (Cr), cobalt (Co), cuivre (Cu), fer (Fe), plomb (Pb), lithium (Li), magnésium (Mg), manganèse (Mn), mercure (Hg), molybdène (Mo), nickel (Ni), phosphore (P), potassium (K), rubidium (Rb), sélénium (Se), silicium (Si), argent (Ag), sodium (Na), strontium (Sr), soufre (S), thallium (Tl), étain (Sn), titane (Ti), vanadium (V) et zinc (Zn)

2. Procédure

Les prescriptions spécifiques à la Région wallonne sont reprises dans la norme de référence internationale : ISO 22036 : 2008.

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
S-II-2.3	1	20/01/2022

Dosage des éléments traces solubles dans l'eau régale présents dans les sols par spectrométrie d'émission atomique avec plasma induit par haute fréquence (ICP MS)

Descriptif		
Paramètre	Voir §1	
Référence normative	NBN EN 16171	2016

Domaine d'application	
Matrice	Sol

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)		mg/l
Incertitude (relative) de la mesure		%
Gamme de travail		mg/l

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

La présente procédure spécifie une méthode de dosage d'éléments traces dans des solutions de digestion du sol à l'eau régale obtenu conformément à la méthode **S-II-1.1 ou S-II-1.2** par ICP-MS : La présente procédure est applicable aux éléments suivants :

Aluminium (Al), antimoine (Sb), arsenic (As), baryum (Ba), béryllium (Be), bismuth (Bi), bore (B), cadmium (Cd),calcium (Ca), cérium (Ce), chrome (Cr), cobalt (Co), cuivre (Cu), dysprosium (Dy), erbium (Er), europium (Eu), gadolinium (Gd), gallium (Ga), germanium (Ge), or (Au), hafnium (Hf), holmium (Ho), indium (In), iridium (Ir), fer(Fe), lanthane (La), plomb (Pb), lithium (Li), lutécium (Lu), magnésium (Mg), manganèse (Mn), mercure (Hg),molybdène (Mo), néodyme (Nd), nickel (Ni), palladium (Pd), phosphore (P), platine (Pt), potassium (K),praséodyme (Pr), rhénium (Re), rhodium (Rh), rubidium (Rb), ruthénium (Ru), samarium (Sm), scandium (Sc),sélénium (Se), silicium (Si), argent (Ag), sodium (Na), strontium (Sr), soufre (S), tellure (Te), terbium (Tb),thallium (Tl), thulium (Tm), étain (Sn), titane (Ti), tungstène (W), uranium (U), vanadium (V), ytterbium(Yb),yttrium (Y), zinc (Zn) et zirconium (Zr).

2. Procédure

Les prescriptions spécifiques à la Région wallonne sont reprises dans la norme de référence internationale :

Matrice	Norme de référence internationale
Sols	NBN EN 16171 :2016

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
S-II-3	2	20/01/2022

Dosage du mercure dans les extraits à l'eau régale : Dosage par absorption atomique de vapeur froide

Descriptif		
Paramètre	Mercure (Hg)	
Référence normative	NBN EN 16175-1	2016

Domaine d'application	
Matrice	Sols

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)		µg/l
Incertitude (relative) de la mesure		%
Gamme de travail		µg/l

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

La présente procédure spécifie une méthode de dosage du mercure soluble dans un extrait de sol à l'eau régale obtenu conformément à la méthode **S-II-1.1 ou S-II-1.2**, par spectrométrie d'absorption atomique en vapeur froide (SAA-VP).

2. Procédure

L'ensemble des prescriptions de la norme de référence internationale NBN EN 16175 :2016 sont d'application, à l'exception des prescriptions spécifiques à la Région wallonne. Ces prescriptions spécifiques s'écartent ou limitent le choix de celles de la norme de référence internationale. Elles sont reprises, en gras, dans le tableau ci-dessous au sein de la colonne « Prescriptions CWEA». Les prescriptions y relatives qui sont reprises dans la norme de référence sont listées, pour information au sein de la colonne « Prescription norme de référence ».

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Principe	
(§ 3 de la norme de référence) Le mercure monovalent et bivalent est réduit à l'état élémentaire par du chlorure d'étain(II) ou du borohydrure de sodium dans un milieu acide. Le mercure élémentaire est extrait de la solution dans un système fermé. La vapeur de mercure, sous forme d'un gaz atomique, traverse une cellule placée dans le trajet optique d'un spectromètre d'absorption atomique. Son absorbance à une longueur d'onde de 253,7 nm est mesurée. Le signal d'absorbance est fonction de la concentration en mercure et les concentrations sont calculées à l'aide d'une courbe d'étalonnage.	**Il est recommandé d'utiliser le chlorure d'étain (II) comme substance réductrice.**

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont :

Version précédente	Présente version
Norme de référence : ISO 16772 : 2004	Norme de référence : NBN EN ISO 16175-1 :2016

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
S-II-4	4	20/01/2022

Dosage du chrome (VI) dans les matériaux solides par digestion alcaline et chromatographie ionique

Descriptif		
Paramètre	Chrome (VI) (CrVI)	
Référence normative	ISO 15192	2010

Domaine d'application	
Matrice	Sols

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)		mg/l
Incertitude (relative) de la mesure		%
Gamme de travail		mg/l

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

La présente procédure spécifie un mode opératoire de digestion alcaline pour l'extraction du chrome (VI) (CrVI) à partir de forme solubles, adsorbées et précipitées des composées du chrome dans les sols, suivi par une chromatographie ionique.

2. Procédure

L'ensemble des prescriptions de la norme de référence internationale ISO 15192 :2010 sont d'application, à l'exception des prescriptions spécifiques à la Région wallonne. Ces prescriptions spécifiques s'écartent ou limitent le choix de celles de la norme de référence internationale. Elles sont reprises, en gras, dans le tableau ci-dessous au sein de la colonne « Prescriptions CWEA». Les prescriptions y relatives qui sont reprises dans la norme de référence sont listées, pour information au sein de la colonne « Prescription norme de référence ».

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Réactifs	
(§7 de la norme de référence) 7.13 Solution réactive de diphénylcarbazide : Dissoudre 0,125 g de 1,5-diphénylcarbazide dans 25 ml d'acétone ou de méthanol dans une fiole jaugée de 250 ml.	Préparation du réactif post colonne : Dans un berlin de 250 ml, dissoudre 0,50 g de 1,5-diphénylcarbazide dans **100 ml de méthanol**.
(§7 de la norme de référence) 7.14 solution d'élution : utiliser une solution d'élution appropriée pour la séparation des chromates sur la colonne de chromatographie ionique	**Solution d'élution : Dans un ballon jaugé de 1l, dissoudre 33 g de sulfate d'ammonium dans 500 ml d'eau. Ajouter 6,5 ml d'hydroxyde d'ammonium. Porter à 1 l avec de l'eau.**
Contrôle de la qualité	
(§10.5 de la norme de référence)	**Vérification de l'analyse :** La technique de l'ajout dosé est utilisée sur un échantillon de la série pour confirmer les résultats. Un ajout de dopage par rapport au dosage d'origine doit avoir **un rendement de 75 à 125%**

Wallonie

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
(§10.5 de la norme de référence)	**Vérification des limites de quantification : Contrôler la limite de quantification du Cr(VI) lorsque le résultat de l'analyser est inférieur à cette limite.** **Préparer une solution correspondant à la limite de quantification de l'élément à doser. Procéder à l'analyse de cette solution et reporter la valeur obtenue sur la carte de contrôle.**
(§10.5 de la norme de référence)	**Analyse d'un MRC :** **Réaliser, minimum une fois par mois, une digestion alcaline d'un MRC.** **Utiliser une prise d'essai de 0,5 g. La solution de digestion alcaline obtenue doit être diluée 5 fois avant passage dans l'appareil de mesure du chrome VI. Cette analyse se réalise en double exemplaire. Les valeurs de concentration mesurées ne doivent pas s'écarter des limites fixées sur les cartes de contrôle. Sinon, identifier le problème, y remédier et recommencer l'étalonnage.**
(§10.5 de la norme de référence)	**Echantillon dopé au chrome III :** **Lors de l'analyse du MRC, effectuer une digestion alcaline du MRC dopé en Cr(III). Ajouter à la prise d'essai 0,1 ml de Cr(III) (solution à 1 g/l). Cette analyse se réaliser en double exemplaire. Elle permet d'évaluer l'exactitude de la méthode par rapport aux éventuels processus d'oxydation. Les valeurs de concentration mesurées ne doivent pas s'écarter des limites fixées sur les cartes de contrôle. Sinon, identifier le problème, y remédier et recommencer la mesure.**

ISSeP
Institut scientifique de service public

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont :

Version précédente	Présente version
Norme de référence : NBN EN 15192 : 2006	Norme de référence : ISO 15192 : 2010

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
S-II-5.1	4	20/01/2022
Dosage des cyanures totaux		

Descriptif		
Paramètre	Cyanures totaux (CN)	
Référence normative	ISO 11262	2011

Domaine d'application	
Matrice	Sols

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)		mg/kg
Incertitude (relative) de la mesure		%
Gamme de travail		mg/kg

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

La présente procédure spécifie une méthode de dosage des cyanures totaux (CN).

2. Procédure

Les prescriptions spécifiques à la Région wallonne sont reprises dans la norme de référence internationale ISO 11262 :2011.

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
S-II-5.2	4	20/01/2022
Dosage du des cyanures aisément libérables et totaux – Méthode d'analyse en flux continu		

Descriptif		
Paramètre	Cyanures aisément libérables et totaux (CN)	
Référence normative	NBN EN ISO 17380	2013

Domaine d'application	
Matrice	Sols

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)		mg/kg
Incertitude (relative) de la mesure		%
Gamme de travail		mg/kg

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

La présente procédure spécifie une méthode de dosage des cyanures aisément libérables et totaux (CN).

2. Procédure

L'ensemble des prescriptions de la norme de référence internationale NBN EN ISO 17380 :2013 sont d'application, à l'exception des prescriptions spécifiques à la Région wallonne. Ces prescriptions spécifiques s'écartent ou limitent le choix de celles de la norme de référence internationale. Elles sont reprises, en gras, dans le tableau ci-dessous au sein de la colonne « Prescriptions CWEA». Les prescriptions y relatives qui sont reprises dans la norme de référence sont listées, pour information au sein de la colonne « Prescription norme de référence ».

Mode opératoire	
(§9 de la norme de référence)	**Un dopage est systématiquement utilisé pour confirmer les résultats (1 échantillon par type de matrice). Un ajout de dopage par rapport au dosage d'origine doit avoir un rendement de 80 à 120 %.**

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

Wallonie

S-II-6.1V3 – DÉTERMINATION DU PH (EAU)

1. Objet

Détermination du pH dans les échantillons de sols (y compris les sédiments), les matières utilisées sur ou dans les sols et les déchets prétraités conformément à la procédure S-I-1, c.-à-d. séché, émotté et tamisé à 2 mm.

2. Domaine d'application

Mesurage en routine du pH se faisant à l'aide d'une électrode en verre dans une suspension dilué 1:5 (V/V) d'échantillon dans de l'eau.

3. Principe

Une suspension de matrice solide est préparée dans 5 fois son volume d'eau. Le pH est mesuré à l'aide d'un pH-mètre.

4. Préparation de l'échantillon

Conformément à la procédure S-I-1, les échantillons sont séchés à l'air ou dans une étuve ventilée à une température inférieure à 40 °C. Ils sont alors émottés et tamisés au travers d'un tamis à mailles de 2 mm.

5. Appareillages et matériels utilisés

- pH-mètre équipé d'un système de contrôle et d'ajustement de la température, comportant une électrode en verre et une électrode de référence ou un dispositif d'électrodes groupées ;
- Thermomètre d'une précision de 1 °C ;
- Agitateur ou mélangeur ;
- Bouteille d'échantillonnage en verre borosilicaté ou en polyéthylène fermant hermétiquement d'une capacité d'au moins 50 ml ;
- Cuillère de dosage d'une capacité connue, d'au moins 5.0 ml.

ORIGINAL 2014

6. Réactifs utilisés

- Eau déminéralisée ayant une conductivité ≤ 0,2 mS/m à 25 °C et un pH > 5.6 ;
- Solution tampon commerciale ou préparée au laboratoire :
  - ✓ pH 4.00 à 20 °C : dissoudre 10.21 g d'hydrogénophtalate de potassium ($C_8H_5KO_4$) préalablement séché durant 2 heures à (115 ± 5) °C dans de l'eau et diluer à 1000 ml ;
  - ✓ pH 6.88 à 20 °C : dissoudre 3.39 g de dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4) préalablement séché durant 2 heures à (115 ± 5) °C et 3,53 g d'hydrogénophosphate disodique (Na_2HPO_4) dans de l'eau et diluer à 1000 ml ;
  - ✓ pH 9.22 à 20 °C : dissoudre 3.80 g de tétraborate de sodium décahydraté ($Na_2B_4O_7.10H_2O$) dans de l'eau et diluer à 1000 ml.

  Ces solutions tampons restent stables durant 1 mois si elles sont stockées dans des bouteilles en polyéthylènes.
  Pour les solutions commerciales, on sera attentif à la date de péremption indiquée par le fabricant.

7. Mode opératoire

Préparation de la suspension :

- Prélever à l'aide de la cuillère de capacité connue d'au moins 5 ml, une quantité d'échantillon équivalent à 5 ml et représentative de l'échantillon ;
- Transférer ce volume dans une bouteille d'échantillonnage et ajouter 5 fois son volume d'eau ;
- Agiter ou mélanger à l'aide d'un mélangeur durant (60 ± 10) minutes et attendre au moins 1 heure (pas plus de 3 heures).
- Il convient d'éviter l'entrée d'air pendant le temps de repos après l'agitation.

7.1 Etalonnage du pH-mètre : Etalonner le pH-mètre à l'aide des solutions à disposition à une température de (20 ± 2) °C ; le critère d'acceptation est fixé par la pente effective de la droite qui devra être entre 98.0 et 100.6 %.

7.2 Mesurage du pH : Mesurer la température de la suspension et veiller à ce que ces températures soient identiques à celles des étalons (pas plus de 1 °C de différence). Mesurer le pH de la suspension immédiatement après ou pendant l'agitation. L'agitation doit se faire à une vitesse permettant d'obtenir une suspension suffisamment homogène sans entraîner de l'air. Relever le pH lorsque l'équilibre est atteint (variation maximale de 0.02 unités sur une période de 5 s).

ORIGINAL 2014

8. Interférences

Le temps nécessaire afin d'atteindre l'équilibre est généralement inférieur ou égale à une minute, mais dépend entre autre :

- de la valeur du pH (l'équilibre est plus difficile à obtenir pour des pH plus élevés) ;
- de la qualité de l'électrode en verre ;
- des différences de pH entre les échantillons répartis en séries ;
- dans des échantillons à forte teneur en matériaux organiques, l'effet de la suspension peut jouer un rôle. Avec des sols calcaires, il est possible que le dioxyde de carbone soit absorbé par la suspension, rendant plus difficile l'obtention de l'équilibre ;
- de la manière dont l'agitation est menée avant ou pendant le mesurage.

9. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne ;
- L'identification complète de l'échantillon ;
- Le milieu aqueux utilisé ;
- Les résultats des mesurages à 0,1 unité de pH près ;
- Toute difficulté rencontrée dans la recherche des conditions d'équilibres ;
- Les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

10. Référence

ISO 10390:2005 – Qualité du sol – Détermination du pH.

ORIGINAL 2014

S-II-6.2V2 – DÉTERMINATION DU PH (KCL)

1. Objet

Détermination du pH dans les échantillons de sols (y compris les sédiments), les matières utilisées sur ou dans les sols et les déchets prétraités conformément à la procédure S-I-1, c.-à-d. séché, émotté et tamisé à 2 mm.

2. Domaine d'application

Le mesurage du pH de terres agricoles est réalisé à l'aide d'une électrode en verre dans une suspension dilué 1:5 (V/V) d'échantillon dans une solution de KCl 1M.

3. Principe

Une suspension de matrice solide est préparée dans 5 fois son volume d'une solution 1 M de KCl. Le pH est mesuré à l'aide d'un pH-mètre.

4. Préparation de l'échantillon

Conformément à la procédure S-I-1, les échantillons sont séchés à l'air ou dans une étuve ventilée à une température inférieure à 40 °C. Ils sont alors émottés et tamisés au travers d'un tamis de 2 mm d'ouverture de mailles.

5. Appareillages et matériels utilisés

- pH-mètre équipé d'un système de contrôle et d'ajustement de la température, comportant une électrode en verre et une électrode de référence ou un dispositif d'électrodes groupées. Dans le cas de valeurs de pH > 10, il convient d'utiliser une électrode spécialement adaptée à cette gamme ;
- Thermomètre d'une précision de 1 °C ;
- Agitateur ou mélangeur ;
- Bouteille d'échantillonnage en verre borosilicaté ou en polyéthylène fermant hermétiquement dune capacité d'au moins 50 ml ;
- Cuillère de dosage d'une capacité connue, d'au moins 5.0 ml.

ORIGINAL 2014

6. Réactifs utilisés

- Eau déminéralisée ayant une conductivité ≤ 0,2 mS/m à 25°C et un pH > 5,6, eau de qualité 2 selon la norme ISO 3696;
- Solution de KCl 1 M (dissoudre 74.5 g de KCl dans de l'eau et compléter à 1000 ml) ;
- Solution tampon commerciale ou préparée au laboratoire :
  - ✓ pH 4.00 à 20 °C : dissoudre 10.21 g d'hydrogénophtalate de potassium ($C_8H_5KO_4$) préalablement séché durant 2 heures à (115 ± 5) °C dans de l'eau et diluer à 1000 ml ;
  - ✓ pH 6.88 à 20 °C : dissoudre 3.39 g de dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4) préalablement séché durant 2 heures à (115 ± 5) °C et 3.53 g d'hydrogénophosphate disodique (Na_2HPO_4) dans de l'eau et diluer à 1000 ml ;
  - ✓ pH 9.22 à 20 °C : dissoudre 3.80 g de tétraborate de sodium décahydraté ($Na_2B_4O_7.10H_2O$) dans de l'eau et diluer à 1000 ml.

  Ces solutions tampons restent stables durant 1 mois si elles sont stockées dans des bouteilles en polyéthylènes.
  Pour les solutions commerciales, on sera attentif à la date de péremption indiquée.

7. Mode opératoire

7.1 Préparation de la suspension :

- Prélever à l'aide de la cuillère de capacité connue d'au moins 5 ml, une quantité d'échantillon équivalent à 5 ml et représentative de l'échantillon ;
- Transférer ce volume dans une bouteille d'échantillonnage et ajouter 5 fois son volume de la solution de KCl 1M ;
- Agiter ou mélanger à l'aide d'un mélangeur durant (60 ± 10) minutes et attendre au moins 1 heure (pas plus de 3) en recouvrant l'échantillon afin d'éviter l'entrée d'air.

7.2 Etalonnage du pH-mètre : Etalonner le pH-mètre à l'aide des solutions tampon à disposition à une température de (20 ± 2) °C ou à 25°C via une sonde de température ; le critère d'acceptation est fixé par la pente effective de la droite qui devra être entre 98.0 et 100.6 %.

7.3 Mesurage du pH : Mesurer la température de la suspension et veiller à ce que cette température soit identique à celles des étalons (pas plus de 1 °C de différence). Mesurer le pH dans le surnageant pendant ou immédiatement après une légère agitation de façon à faire la mesure dans une solution homogène. Relever le pH lorsque l'équilibre est atteint et noter les valeurs à la 2e décimale près (variation maximale de 0.02 unités sur une période de 5s).

ORIGINAL 2014

8. Interférences

Le temps nécessaire afin d'atteindre l'équilibre est généralement inférieur ou égale à une minute, mais dépend entre autre :

- de la valeur du pH (l'équilibre est plus difficile à obtenir pour des pH plus élevés) ;
- de la qualité de l'électrode en verre ;
- des différences de pH entre les échantillons répartis en séries ;
- dans des échantillons à forte teneur en matériaux organiques, l'effet de la suspension peut jouer un rôle. Avec des sols calcaires, il est possible que le dioxyde de carbone soit absorbé par la suspension, rendant plus difficile l'obtention de l'équilibre ;
- de la manière dont l'agitation est menée avant ou pendant le mesurage.

9. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne ;
- L'identification complète de l'échantillon ;
- Le milieu aqueux utilisé ;
- Les résultats des mesurages à 0.1 unité de pH près ;
- Toute difficulté rencontrée dans la recherche des conditions d'équilibres ;
- Les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

10. Référence

ISO 10390:2005 – Qualité du sol – Détermination du pH.

NBN EN ISO 3696 :1995 – Eau pour laboratoire à usage analytique – Spécification et méthodes d'essai

ORIGINAL 2014

S-II-7V3 – DÉTERMINATION DE LA CONDUCTIVITE ELECTRIQUE SPECIFIQUE

1. Objet

Détermination de la conductivité électrique d'un extrait aqueux d'un échantillon de sol (y compris les sédiments), de matières utilisées sur ou dans les sols et de déchets.

2. Domaine d'application

Méthode instrumentale pour la détermination de la conductivité électrique spécifique d'un extrait aqueux de sol (y compris les sédiments), de matières utilisées sur ou dans les sols et de déchets. Obtention d'une indication sur la teneur en électrolytes hydrosolubles dans l'échantillon.

3. Principe

L'échantillon de sol est extrait dans un rapport d'extraction de 1:5 (m/V) avec de l'eau à une température de (20 ± 1) °C, afin de dissoudre les électrolytes. La conductivité électrique spécifique de l'extrait filtré est mesurée et le résultat est corrigé à une température de 25 °C.

4. Préparation de l'échantillon

Conformément à la procédure S-I-1, les échantillons sont séchés à l'air ou dans une étuve ventilée à une température inférieure à 40 °C. Ils sont alors émottés et tamisés au travers d'un tamis de 2 mm d'ouverture de mailles.

5. Appareillages et matériels utilisés

- Conductimètre : équipé d'une cellule de mesure de la conductivité, d'un système de réglage de la plage de mesure et d'un dispositif de correction de la température avec une précision de 1 mS/m. Il doit de préférence être équipé d'un système de réglage de la constante de la cellule ;
- Balance analytique : précision d'au moins 0.01 g ;
- Thermomètre : capable de mesurer à 0.1 °C près ;
- Agitateur mécanique à mouvement horizontal : capable de maintenir une suspension 1:5 sol:eau ;
- Papier filtre : à faible teneur en cendre et à haut pouvoir de rétention ;
- Flacon : en verre borosilicaté ou en polyéthylène d'une capacité de 250 ml ;
- Verrerie courante de laboratoire.

ORIGINAL 2014

6. Réactifs utilisés

- Eau déminéralisée ayant une conductivité électrique spécifique ≤ 0,2 mS/m à 25 °C, eau de qualité 2 conformément à la norme ISO 3696 ;
- Solutions étalons :
  - ✓ Solutions de chlorure de potassium :
    - o KCl 0.1 M : Sécher du KCl durant 24 heures à (220 ± 10) °C. Dissoudre 7.456 g de KCl séché dans de l'eau déminéralisée et diluer à 1000 ml à 20 °C. Sa conductivité électrique spécifique est de 1290 mS/m à 25 °C ;
    - o KCl 0.02 M : Transvaser 200 ml de la solution de KCl 0.1 M dans un jaugé de 1000 ml et compléter avec de l'eau. La conductivité électrique spécifique de la solution est de 277 mS/m à 25 °C ;
    - o KCl 0.01 M : Transvaser 100 ml de la solution de KCl 0.1 M dans un jaugé de 1000 ml et compléter avec de l'eau. La conductivité électrique spécifique de la solution est de 141 mS/m à 25 °C.

    La stabilité de ces solutions est de 12 mois.
  - ✓ Matériaux de références traçables : toutes les solutions de KCl ci-dessus peuvent être remplacés par des matériaux de références traçables. Leur stabilité correspond à la date de péremption donnée par le fabricant.

7. Mode opératoire

7.1 Extraction :

- ✓ Transférer 20.00 g de l'échantillon séché dans un flacon (borosilicaté ou en polyéthylène) ;
- ✓ Ajouter 100 ml d'eau à (20 ± 1) °C et fermer le flacon ;
- ✓ Placer le flacon à l'horizontal sur l'agitateur et agiter pendant 30 minutes ;
- ✓ Filtrer directement sur papier filtre ;
- ✓ Effectuer de la même manière, une détermination à blanc. Si la valeur du blanc dépasse 1 mS/m, il faut recommencer l'extraction.

7.2 Vérification de la constante de cellule :

- Mesurer la conductivité (χ_m) des solutions de KCl ;
- Calculer pour chaque solution, une constante de cellule conformément à :

$$K = \frac{\chi_s}{\chi}$$

avec K est la constante de cellule
χ_s est la conductivité électrique spécifique à l'une des solutions de KCl (mS/m) ;
χ est la conductivité électrique mesurée de la même solution de KCl (mS/m).

ORIGINAL 2014

- Prendre la moyenne des valeurs calculées comme constante de cellule de l'instrument, celle-ci ne doit pas différer de plus de 5 % par rapport à la valeur donnée par le constructeur ;
- Régler la constante de cellule sur le conductimètre.

7.3 Mesure de la conductivité des échantillons :

- Mesurer la conductivité électrique des filtrats (χ_m). Effectuer les mesurages avec le dispositif de correction de température réglé à 25 °C ;
- Noter les résultats à une décimale près (mS/m).

8. Interférences

- La contamination des électrodes peut influencer les valeurs mesurées de la conductivité, modifiant de ce fait la constante de cellule. Elle peut être décelée lors de la mesure de la conductivité des solutions de KCl.
- Pour des mesurages inférieurs à 1 mS/m, le CO_2 et le NH_3 peuvent influencer la conductivité. Les mesurages doivent donc être effectués avec une cellule adaptée.

ORIGINAL 2014

9. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne ;
- L'identification complète de l'échantillon ;
- Les résultats de la détermination en nombre entiers de mS/m ; la conductivité électrique peut également être exprimée en µS/cm. (1 mS/m = 10 µS/cm).
- Les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

10. Référence

ISO 11265:1994 – Qualité du sol – Détermination de la conductivité électrique spécifique.
ISO 3696 :1995 – Eau pour laboratoire à usage analytique – Spécification et méthodes d'essai

S-II-8V3 – DÉTERMINATION DE LA TENEUR EN CARBONATE

1. Objet

Détermination de la teneur en carbonate par la méthode volumétrique.

2. Domaine d'application

Méthode de détermination de la teneur en carbonate dans des échantillons de sols (y compris les sédiments), de matières utilisées sur ou dans les sols et de déchets. Cette détermination est systématique sur les matières amendantes mais pas sur les sols.

3. Principe

L'acide chlorhydrique est ajouté à un échantillon pour décomposer tous les carbonates présents :

$MeCO_3 + 2H^+ \rightarrow Me^{2+} + H_2CO_3$

$H_2CO_3 \rightarrow H_2O + CO_{2gazeux}$

Le volume de gaz carbonique dégagé est mesuré à l'aide d'un appareil Scheibler et est comparé au volume de gaz carbonique produit par du carbonate de calcium pur. Afin de ne pas tenir compte de correction, tous les tests sont réalisés dans les mêmes conditions.

ORIGINAL 2014

4. Préparation de l'échantillon

Conformément à la procédure S-I-1, les échantillons sont séchés à l'air ou dans une étuve ventilée à une température inférieure à 40 °C. Ils sont alors émottés et tamisés au travers d'un tamis de 2 mm d'ouverture de mailles. Eventuellement (cf. §5), si la prise d'essai est inférieur à 2 g, une partie de l'échantillon peut être broyé, sans refus, pour passer au travers d'un tamis à 250 µm d'ouverture de mailles. Une partie de l'échantillon à 2 mm servira à la mesure de l'humidité résiduelle conformément à la procédure S-I-3.

5. Analyse préliminaires

Faire un essai préliminaire en ajoutant un peu d'acide chlorhydrique sur une fraction de l'échantillon déposé sur un verre de montre.

L'intensité et le temps de l'effervescence donneront une estimation de la teneur en carbonate. Le tableau donne une idée de la quantité d'échantillon nécessaire :

Intensité de l'effervescence	Teneur en Carbonate (g/kg)	Masse de la prise d'essai (g)
Aucune ou limitée	<20	10
Faible, de courte durée	20 à 80	5
Forte, de longue durée	80 à 160	2.5
Très forte, de longue durée	>160	≤1

Si la masse d'échantillon est inférieure à 2 g, il convient de prélever une portion représentative de l'échantillon et de le broyer, sans refus, pour obtenir des particules < 250 µm, conformément à la procédure S-I-1.

6. Appareillages et matériels utilisés

- Appareil Scheibler : adapté à l'exécution de dosages d'un échantillon seul ;
- Balance analytique : précision minimum de 0.1 mg ;
- Flacons à réaction : capacité de 150 ml et munis d'un col large ;
- Récipients en matière plastique : capacité d'environ 10 ml, pouvant être introduit dans les flacons à réaction ;
- Pinces : résistantes à l'acide ;
- Verre de montre.
- Tamis de 250 µm (éventuellement)

7. Réactifs utilisés

- Eau : conductivité électrique ≤ 0.2 mS/m à 25 °C, eau de qualité 2, conformément à l'ISO 3696 ;
- Acide chlorhydrique 4 M : diluer 340 ml d'acide chlorhydrique concentré à 1000 ml avec de l'eau ;
- Carbonate de calcium ($CaCO_3$) : en poudre.

8. Mode opératoire

L'échantillon après avoir été séché à l'air, est réduit en une fraction < 2 mm.
Dosage : Les dosages des échantillons, des essais à blanc et du carbonate de calcium doivent être réalisés simultanément dans un local où la température et la pression ne varient pas trop durant la durée des dosages. Inclure pour chaque série 2 essais à blanc et 2 étalons de respectivement 0.200 et 0.400 g de carbonate de calcium.

ORIGINAL 2014

- Peser une prise d'essai représentative de l'échantillon et la transférer quantitativement dans un flacon à réaction et y ajouter 20 ml d'eau. Peser également les étalons de 0.200 et 0.400 g de carbonate de calcium et les transférer quantitativement dans des flacons à réaction et y ajouter 20 ml d'eau. Pour la détermination à blanc, utiliser les flacons à réaction contenant 20 ml d'eau ;
- Placer ces flacons en face des appareils Scheibler. Ouvrir les robinets d'arrêt D1 et D2 et régler le niveau de l'eau à 3 ml dans les tubes pour les échantillons et les étalons et respectivement à 20 et 80 ml pour les blancs. Fermer le robinet d'arrêt D2 ;
- Remplir le récipient en matière plastique de 7 ml d'HCl et l'introduire à l'aide de pinces dans le flacon à réaction contenant la prise d'essai. Veiller à ce qu'il n'y ait aucun contact entre l'acide et le sol avant que le flacon ne soit relié à l'appareil Scheibler ;

Humecter les bouchons en caoutchouc de l'appareillage avec de l'eau, puis relier les flacons à réaction. Fermer le robinet d'arrêt D1 et noter à nouveau le niveau de l'eau dans les tubes. Verser doucement l'HCl sur l'échantillon en inclinant doucement le flacon à réaction. Agiter pendant 5 minutes et noter le volume lorsqu'il ne varie plus. Si le volume varie, continuer à agiter le flacon jusqu'à atteindre un volume stable. Veiller à ce que la différence entre les niveaux d'eau dans les 2 tubes ne dépasse pas 3 ml. Ceci peut être ajusté en ouvrant le robinet d'arrêt D2. A la fin de la période d'agitation, équilibrer le niveau de l'eau dans les 2 tubes et mesurer le volume de gaz produit dans le tube d'étalonnage avec une précision de 0.1 ml.

9. Calcul de la teneur en carbonate de l'échantillon

$$w(CaCO_3) = 1000 * \left(\frac{m_2}{m_1} \frac{V_1 - V_3}{V_2 - V_3} \right) * \frac{100 + w_{H_2O}}{100}$$

où $w(CaCO_3)$ est la teneur en carbonate, en g par kg, d'échantillon séché en étuve
m_1 est la masse de la prise d'essai (g) ;
m_2 est la masse moyenne des étalons de carbonate de calcium (g) ;
V_1 est le volume moyen du gaz carbonique produit par la réaction de la prise d'essai (ml) ;
V_2 est le volume moyen du gaz carbonique produit par la réaction de carbonate de calcium (ml) ;
V_3 est la variation en volume des déterminations à blanc (ml), cette valeur peut être négative ;
$w(H_2O)$ est la teneur en eau, exprimée sous forme de pourcentage en masse, sur la base d'une masse séchée, mesurée conformément à la procédure S-I-3.

ORIGINAL 2014

10. Interférences

Les autres gaz produits peuvent conduire à une surestimation de la teneur en carbonate, il convient donc de purifier le gaz produit et de mesurer son volume d'une autre façon. Lorsque des sulfures sont présents, ajouter du chlorure de mercure à la solution d'acide chlorhydrique, afin de former du sulfure de mercure (II) insoluble ;
Pour les échantillons à forte teneur en matières organiques, il convient d'ajouter plus d'eau.

11. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne ;
- L'identification complète de l'échantillon ;
- Les résultats de la détermination en nombres entiers, en g par kg, calculés sur la base d'un échantillon séché en étuve, exprimés sous la forme de carbonate de calcium ou suivant une autre forme spécifiée du carbonate lorsqu'on en connaît la forme principale ;

Les détails opératoires non prévus dans la norme, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

12. Remarque

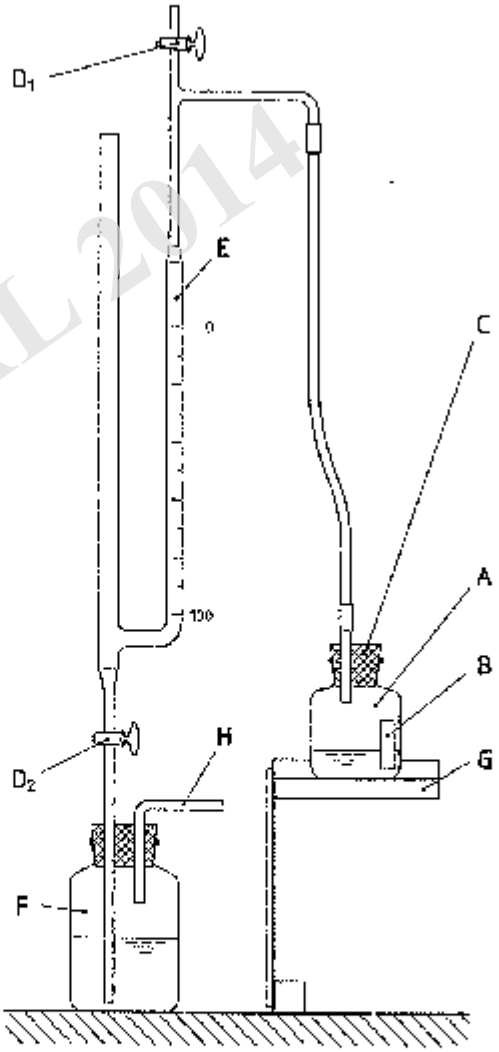
Dans le cadre de la détermination du carbone organique par combustion sèche, la teneur en carbonates peut devoir être déterminée.

13. Référence

NBN EN ISO 10693 : 2014 – Qualité du sol – Détermination de la teneur en carbonate – Méthode volumétrique.
NBN EN ISO 3696 :1995 – Eau pour laboratoire à usage analytique – Spécification et méthodes d'essai

ORIGINAL 2014

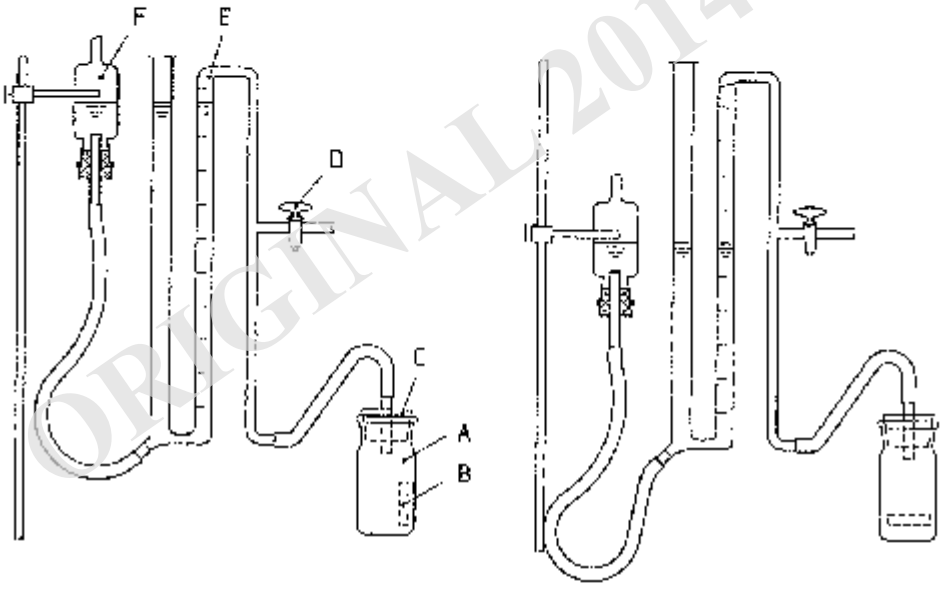
ORIGINAL 2014



Légende

A Flacon à réaction (6.4)
B Récipient en matière plastique (6.4) contenant de l'acide chlorhydrique (4.2)
C Bouchon en caoutchouc
D_1 Robinet d'arrêt
D_2 Robinet d'arrêt
E Tube gradué en U
F Flacon pour réserve d'eau
G Agitateur
H Tuyau d'entrée ou d'air

Figure 1 — Exemple d'appareil Scheibler pour dosage d'un échantillon seul



a) Absorption avant dosage

b) Absorption après dosage

Légende

A Flacon à réaction (6.3)

B Récipient en matière plastique (5.4) contenant de l'acide chlorhydrique (4.2)

C Bouchon en caoutchouc

D Robinet d'arrêt

E Tube gradué en U

F Flacon pour réserve d'eau

Figure 2 — Exemple d'appareil Scheibler à une seule unité

ORIGINAL 2014

S-II-9.1V3 – DÉTERMINATION DE L'AZOTE TOTAL PAR COMBUSTION SECHE

1. Objet

Dosage de l'azote total par combustion sèche.

2. Domaine d'application

Méthode de dosage de l'azote total des sols (y compris les sédiments), les matières utilisées sur ou dans les sols et les déchets après combustion sèche.

3. Principe

L'échantillon est chauffé à une température d'au moins 900 °C dans un flux de gaz contenant de l'O_2. Les composés minéraux et organiques de l'azote sont oxydés et/ou volatilisés. Les produits de combustion sont des oxydes d'azote (NOx) et de l'azote moléculaire (N_2). Après transformation de toutes les formes d'azote en N_2, la teneur totale en azote est mesurée par conductibilité thermique.

4. Préparation de l'échantillon

Conformément à la procédure S-I-1, les échantillons sont séchés à l'air ou à une température inférieure à 40 °C. Ils sont alors émottés et tamisés au travers d'un tamis de 2mm d'ouverture de mailles. Une partie de cet échantillon sera utilisé afin de déterminer la teneur en eau suivant la méthode S.I.3. Si la masse d'échantillon exigée pour l'analyse est inférieure à 2 g, broyer un sous-échantillon représentatif et le passer, sans refus, dans un tamis de 250 µm d'ouverture de mailles afin d'assurer une reproductibilité suffisante de l'essai, conformément à la procédure S-I-1.

5. Analyse préliminaires :

Méthode S-I-3 : Détermination de la teneur en matière pondérale en matière sèche et en eau

ORIGINAL 2014

6. Appareillages et matériels

- Balance analytique : précision d'au moins 0.1 mg ou microbalance de précision d'au moins 0.01 mg;
- Verrerie courante de laboratoire ;
- Appareil de dosage de l'azote total, par combustion de l'échantillon à une T° de minimum 900 °C comportant un détecteur pour la mesure de l'azote gazeux formé.
- Creusets : porcelaine, quartz, argent, étain ou nickel, de différentes tailles (l'étain et le nickel ne résistent pas à l'acide).

7. Réactifs utilisés

- Gaz de combustion : Oxygène. Voir le manuel d'utilisation de l'appareil pour les spécifications particulières
- Produits chimiques et/ou catalyseurs pour la réduction, l'oxydation, le dégagement ou la fixation des gaz de combustion.
- Substance étalon : acétanilide (C_8H_9NO), acide L-aspartique ($C_4H_7NO_4$), les acides aminés de composition connue ou des échantillons de sol dont la teneur en azote est certifiée. EDTA ($C_{10}H_{16}N_2O_8$)

8. Mode opératoire

8.1 Etalonnage de l'appareil : Etalonner l'appareil conformément aux recommandations du fabricant en utilisant une des substances étalon décrite au point 8. Cette substance aura une teneur en azote aussi proche que possible de celle de l'échantillon.

8.2 Dosage de l'azote total :

- Peser m_1 g de l'échantillon séché à l'air et le placer dans le creuset (la masse dépendra de la teneur en azote total prévue et de l'appareil utilisé) ;
- Procéder aux analyses selon le manuel du fabricant de l'appareil.
- Les résultats sont donnés en mg d'azote (X_1) ou en fraction de la masse d'azote (X_2), exprimée en pourcent, en se référant à la masse du sol séché à l'air utilisée (m_1).

9. Interférences

Selon la méthode de détection employée, des réactifs chimiques et/ou des catalyseurs peuvent être nécessaires pour la réduction, l'oxydation, le dégagement ou la fixation des gaz de combustion qui perturbent l'analyse.

ORIGINAL 2014

10. Calculs de la teneur en azote total

a) Pour les résultats bruts donnés en mg d'azote :

$$w_N = X_1/m_1 \times (100 + w_{H2O})/100)$$

b) Pour les résultats bruts donnés en % de la fraction de la masse d'azote;

$$w_N = X_2 \times 10 \times (100 + w_{H2O})/100)$$

avec w_N est la teneur (mg/g ou g/kg) en azote total rapportée à l'échantillon séché ;

X_1 est le résultat brut, en milligrammes d'azote ;

X_2 est le résultat brut, en pourcentage (fraction massique) d'azote ;

m_1 est la masse (g) de l'échantillon de l'échantillon séché à l'air pour l'analyse ;

w_{H2O} est la teneur en eau, exprimée en pourcentage en masse de masse sèche.

11. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région Wallonne;
- Identification complète de l'échantillon ;
- Les valeurs de dosage de l'azote total (g/kg), déterminées sur la base d'un échantillon séché en étuve.
- Les détails opératoires non prévus dans cette méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

12. Référence

ISO 13878-1998 : Qualité du sol – Détermination de la teneur en azote total par combustion sèche (analyse élémentaire).

ORIGINAL 2014

S-II-9.2V2 – DÉTERMINATION DE L'AZOTE TOTAL – METHODE DE KJELDAHL MODIFIEE - DANS LES TERRES AGRICOLES

1. Objet

Détermination de l'azote total Kjeldahl dans des échantillons de terres agricoles.

2. Domaine d'application

La présente méthode décrit une méthode de détermination de la teneur en azote dans les terres agricoles (sous sa forme ammonium, nitrate, nitrite et organique). L'azote dans les liaisons N-N et N-O, et dans certains hétérocycles (telle que la pyridine) n'est que partiellement dosé. La présente procédure est applicable à tous les types de sol et notamment aux terres agricoles.

3. Principe

La présente procédure est fondée sur la minéralisation de type Kjeldahl, mais le catalyseur utilisé est le dioxyde de titane (TiO_2), nettement moins dangereux pour l'environnement que le sélénium.

4. Préparation de l'échantillon

Les échantillons sont préparés conformément à la procédure S-I-1. Une partie de l'échantillon à 2 mm est broyée pour passer, sans refus, au travers d'un tamis à de 250 µm d'ouverture de mailles. Le séchage de l'échantillon favorise les pertes d'ammoniac libre et selon le pH, de celles des sels d'ammonium. Par conséquent, il convient d'éviter tout séchage excessif (105°C). Une partie de l'échantillon à 2 mm servira à la mesure de l'humidité résiduelle conformément à la procédure S-I-3.

ORIGINAL 2014

5. Appareillages et matériels utilisés

5.1 Réacteurs de minéralisation :

Le réacteur de minéralisation doit être approprié à la masse ou au volume de la prise d'essai utilisée. Par exemple :

- Ballons de Kjeldahl (matras) de 50 ml de capacité nominale.
- Ou tubes en verre pour minéralisation, de 50 ml de capacité, destinés à être utilisés avec un dispositif de chauffage thermo régulé.

5.2 Dispositif de minéralisation :

Les ballons de Kjeldahl (matras) peuvent être chauffés isolément ou, plus couramment, sur une rampe supportant plusieurs matras, en utilisant une calotte chauffante électrique. En tout état de cause, il est important que la surface en verre qui se trouve au-dessus du mélange à minéraliser ne soit pas directement exposée à la chaleur.

Il existe, dans le commerce, des dispositifs de chauffage qui permettent de maintenir une température suffisante pour le reflux du mélange à minéraliser. Ces dispositifs peuvent généralement recevoir jusqu'à 24 tubes pour minéralisation, ce qui permet d'obtenir une plus grande capacité analytique pour le laboratoire.

5.3 Appareil à distiller :

Il convient que le réacteur de minéralisation puisse être directement relié à un appareillage de verre comprenant une tête de colonne à distiller anti-retour, un réfrigérant à eau vertical et un tube d'écoulement dont la sortie est immergée dans la solution absorbante.

Un appareil de distillation automatique de Kjeldahl (type Kjeltec®) commercialisé est approprié pour cette détermination.

5.4 Régulateurs d'ébullition :

Granules ou billes de verre pour réguler l'ébullition.

ORIGINAL 2014

6. Réactifs utilisés

Tous les réactifs doivent être de pureté analytique reconnue. Utiliser une eau de qualité 2 conformément à l'ISO 3696.

6.1 Acide sulfurique : H_2SO_4, ρ = 1.84 g/ml ;

6.2 Acide salicylique/acide sulfurique : dissoudre 25 g d'acide salicylique dans 1 litre d'acide sulfurique (6.1) ;

6.3 Catalyseur de minéralisation : Broyer et mélanger jusqu'à homogénéisation complète 200 g de sulfate de potassium, 6 g de sulfate de cuivre pentahydraté et 6 g de dioxyde de titane ayant la structure cristalline de l'anastase ;

6.4 Thiosulfate de sodium pentahydraté ;

6.5 Hydroxyde de sodium, solution 10 M ;

6.6 Acide borique, solution à 20 g/l ;

6.7 Acide sulfurique, solution 0.01 M ;

6.8 Indicateur coloré : Dissoudre 0.1 g de vert de bromocrésol et 0.02 g de rouge de méthyle dans 100 ml d'éthanol.

7. Mode opératoire

Transférer une masse connue d'échantillon séché à l'air (entre 0.2 g et 1 g) dans un réacteur de minéralisation (5.1). Ajouter 4 ml d'acide salycilique/acide sulfurique (6.2) et agiter jusqu'à ce que la solution d'acide soit bien mélangée au sol. Laisser reposer quelques heures (ou pendant la nuit). Ajouter 0.5 g de thiosulfate de sodium pentahydraté (6.4) à l'aide d'un entonnoir dont la tige descend dans la partie bombée du matras. Chauffer le mélange avec précaution sur le dispositif de minéralisation (5.2) jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de mousse.

Refroidir le réacteur, ajouter 1.1 g du catalyseur de minéralisation (6.3) et chauffer le mélange réactionnel jusqu'à ce qu'il devienne clair. Pour cela, porter doucement à ébullition le mélange pendant un maximum de 5 h (en générale, 2 h) de façon que l'acide sulfurique se condense approximativement à 1/3 du col du réacteur. S'assurer que la température de la solution ne dépasse pas 400 °C.

Lorsque la minéralisation est terminée, laisser refroidir le réacteur et ajouter lentement et sous agitation 20 ml d'eau déminéralisée. Agiter le réacteur afin d'amener tout produit insoluble dans l'appareil de distillation (5.3). Rincer trois fois à l'eau pour achever le transfert. Ajouter 5 ml d'acide borique (6.6) dans une fiole de 100 ml et placer celle-ci en sortie du condenseur, de manière à ce que son extrémité plonge dans la solution. Ajouter 20 ml d'hydroxyde de sodium (6.5) dans l'entonnoir de l'appareillage et laisser couler doucement dans le ballon de distillation. Distiller environ 40 ml de distillat, rincer l'extrémité du condenseur, ajouter quelques gouttes d'indicateur coloré (6.8) au distillat et titrer avec l'acide sulfurique (6.7) jusqu'à virage au violet.

Un dosage potentiométrique est aussi possible. Il convient que le point de titrage soit à pH = 5.0.

Si une distillation à la vapeur est utilisée, un rapport de distillation jusqu'à 25 ml/min est applicable. Arrêter la distillation lorsque environ 100 ml de distillat ont été collectés.

Un essai à blanc doit être effectué dans les mêmes conditions, mais sans sol.

ORIGINAL SOP

8. Expression des résultats

La teneur en azote Kjeldahl (N) est exprimée en milligrammes par gramme de matières sèches et est donnée par l'équation (1) :

$$N = \frac{(V_1 - V_0) \times c(H^+) x 14}{m} x(100 + wH_2O)/100$$

où V_1 est le volume, en millilitres, d'acide sulfurique (6.7) utilisé pour le dosage de l'échantillon;

V_o est le volume, en millilitres, d'acide sulfurique (6.7) utilisé dans l'essai à blanc ;

m est la masse, en grammes, de l'échantillon de sol séché à l'air ;

$c(H^+)$ est la concentration en H+ de l'acide sulfurique (6.7) utilisé dans l'essai (si H_2SO_4 0.01 M, $c(H^+)$ = 0.02 M);

14 est la masse molaire de l'azote ;

wH_2O est la teneur en eau, exprimée en pourcentage en masse, de l'échantillon, calculée conformément à la procédure S-I-3.

9. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région Wallonne ;
- L'identification complète de l'échantillon ;
- Les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis ;
- Les résultats du dosage conformément au point 8 ; expression du résultat en mg/g MS ;
- Les détails opératoires non prévus dans la norme, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

10. Référence

ISO 11261 : 1995 – Qualité du sol – Dosage de l'azote total – Méthode de Kjeldahl modifiée.
ISO 3696 :1995 – Eau pour laboratoire à usage analytique – Spécification et méthodes d'essai

ORIGINAL 2014

S-II-9.3V2 – DÉTERMINATION DE L'AZOTE KJELDAHL DANS LES MATIÈRES UTILISEES SUR OU DANS LES SOLS

1. Objet

Détermination de l'azote Kjeldahl dans des échantillons de matières utilisées sur ou dans les sols.

2. Domaine d'application

La présente méthode décrit une méthode de détermination de "*l'azote Kjeldahl*" [1] dans les matières utilisées sur ou dans les sols. La minéralisation catalysée par du sélénium ou du cuivre est réalisée à une température élevée grâce à l'emploi de sulfate de sodium en concentration importante. Bien que les échantillons à analyser soient normalement prélevés à l'état humide, il est d'usage d'exprimer les résultats par rapport à la matière sèche en grammes par kilogramme, d'où la nécessité de déterminer également la teneur en matières sèches de l'échantillon utilisé pour l'analyse après homogénéisation.

3. Principe

La minéralisation de l'échantillon en milieu acide fort et en présence de sélénium ou de cuivre transforme la plupart des composés azotés présents en sulfate d'ammonium. On ajoute du sulfate de sodium pour réaliser la minéralisation à la température appropriée.

La distillation du minéralisat en milieu alcalin dans une solution d'acide sulfurique dilué en excès (ou acide borique en excès) libère l'ammoniac pour former une solution de sulfate d'ammonium (ou borate d'ammonium). La teneur en azote ammoniacal de cette solution peut être analysée en utilisant la méthode appropriée.

La minéralisation ne permet pas de doser l'azote présent sous forme d'azide, azine, azo, hydrazine, nitrate, nitrite, nitroso, oxime, semi-carbazone et nitrile.

La présence de nitrate ou de nitrite peut conduire à des résultats irréguliers ; mais pas aux niveaux de concentrations normalement rencontrées dans les boues.

ORIGINAL 2014

[1] Azote provenant de l'ammoniac libre, des composés minéraux ammoniacaux et des composés organiques azotés transformés en sulfate d'ammonium au cours de la minéralisation décrite (minéralisation catalysée en présence d'acide sulfurique).

4. Préparation de l'échantillon

Le séchage de l'échantillon favorise les pertes d'ammoniac libre et selon le pH, des sels d'ammonium. Pour ces raisons, il est nécessaire de prélever une prise d'essai à partir d'un échantillon humide et homogénéisé.

5. Appareillages et matériels utilisés

5.1 Réacteurs de minéralisation :

Le réacteur de minéralisation doit être approprié à la masse ou au volume de la prise d'essai utilisée. Par exemple :

- Ballons de Kjeldahl (matras) de 300 ml de capacité nominale.
- Ou tubes en verre pour minéralisation, de 250 ml de capacité, destinés à être utilisés avec un dispositif de chauffage thermo régulé.

5.2 Dispositif de chauffage :

Les ballons de Kjeldahl (matras) peuvent être chauffés isolément ou, plus couramment, sur une rampe supportant plusieurs matras, en utilisant un bec Bunsen ou une calotte chauffante électrique. En tout état de cause, il est important que la surface en verre qui se trouve au-dessus du mélange à minéraliser ne soit pas directement exposée à la chaleur.

Il existe, dans le commerce, des dispositifs de chauffage qui permettent de maintenir une température suffisante pour le reflux du mélange à minéraliser. Ces dispositifs peuvent généralement recevoir jusqu'à 24 tubes pour minéralisation, ce qui permet d'obtenir une plus grande capacité analytique pour le laboratoire.

5.3 Appareil à distiller :

Il convient que le réacteur de minéralisation puisse être directement relié à un appareillage de verre comprenant une tête de colonne à distiller anti-retour, un réfrigérant à eau vertical et un tube d'écoulement dont la sortie est immergée dans la solution absorbante.

Un appareil de distillation automatique de Kjeldahl (type Kjeltec®) commercialisé est approprié pour cette détermination.

5.4 Régulateurs d'ébullition :

Granules ou billes de verre pour réguler l'ébullition.

ORIGINAL 2014

6. Réactifs utilisés

6.1 Acide sulfurique : H_2SO_4, ρ = 1.84 g/ml ;

6.2 Catalyseur de minéralisation :

6.2.1 Généralités

Des analyses précédentes ont montré que des résultats équivalents peuvent être obtenus en utilisant un catalyseur au cuivre moins toxique au lieu du catalyseur au sélénium. Toutefois, avant d'utiliser ce catalyseur, il convient à l'utilisateur de démontrer que des résultats équivalents peuvent être obtenus pour les types de boues analysées. Si les résultats doivent être utilisés pour des prescriptions légales ou pour régler des litiges commerciaux alors il convient d'utiliser le catalyseur au sélénium et de considérer cette méthode comme méthode de référence absolue. Pour la plupart des boues, le catalyseur au cuivre s'adapterait pour donner les résultats recherchés.

6.2.2 Sélénium, catalyseur : Mélanger soigneusement (1000 ± 20) g de sulfate de sodium anhydre avec (50 ± 1) g de sélénium en poudre ou de pastilles de sélénium préalablement broyées.

NOTE : Ce catalyseur est disponible dans le commerce sous forme de pastilles.

6.2.3 Cuivre, catalyseur : Mélanger soigneusement (1000 ± 20) g de sulfate de sodium anhydre avec (100 ± 2) g de sulfate de cuivre pentahydraté ($CuSO_4.5H_2O$).

NOTE : Ce catalyseur est disponible dans le commerce sous forme de pastilles.

6.3 Hydroxyde de sodium, solution : Ajouter avec précaution environ 800 ml d'eau aux (500 ± 20) g de pastilles d'hydroxyde de sodium contenues dans un bécher en plastique en agitant, puis dissoudre. Il est fortement recommandé que l'extérieur du bécher soit refroidi par écoulement d'eau froide lors de l'ajout de 800 ml d'eau. Après refroidissement, compléter avec de l'eau jusqu'à 1000 ml dans une éprouvette graduée munie d'un bouchon rodé. Conserver la solution dans un flacon en polyéthylène.

6.4 Réactifs récepteurs de l'ammoniac :

6.4.1 Acide sulfurique solution [H_2SO_4] = 0.05 mol/l (dosage colorimétrique) :

Ajouter (2.8 ± 0.1) ml d'acide sulfurique dans 800 ml d'eau et diluer avec de l'eau jusqu'à (1000 ± 5) ml.

ORIGINAL 2014

6.4.2 Acide borique, solution H_3BO_3, 40 g/l (titrage titrimétrique)

Ajouter (40 ± 1) g d'acide borique dans 800 ml d'eau et dissoudre, ajouter 6 ml de solution indicateur à pH 4.5 et diluer avec de l'eau à (1000 ± 5) ml. Une goutte de solution d'hydroxyde de sodium 0.1 mol/l devrait être suffisante pour changer la couleur de 20 ml de réactif du rouge au vert. Sinon jeter la solution et préparer une autre solution fraîche.

NOTE : Cette solution est disponible dans le commerce.

7. Mode opératoire

Transférer une masse connue d'échantillon frais homogénéisé (équivalent à une quantité de 0.25 g à 0.5 g de matière sèche) dans un réacteur de minéralisation.

Un essai à blanc doit être effectué en remplaçant l'échantillon par 5 ml d'eau pour chaque lot d'échantillons.

NOTE : Pour les boues à l'état de pâtes et les composts, un papier exempt d'azote peut être utilisé pour transférer l'échantillon dans le réacteur de minéralisation

Ajouter (5.0 ± 0.1) g de catalyseur (ou la quantité équivalente de pastilles disponibles dans le commerce) et 2 ou 3 régulateurs d'ébullition.

Ajouter avec précaution (10 ± 0.5) ml d'acide sulfurique et imprimer doucement un mouvement de rotation du réacteur.

Chauffer lentement le réacteur dans une zone ventilée (hotte de laboratoire, par exemple) pour éliminer l'eau présente et jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de mousse.

Augmenter la température de chauffe pour maintenir une ébullition plus vive. Il convient que l'acide sulfurique reflue jusqu'à environ la moitié du col du réacteur et que des fumées blanches (trioxyde de soufre) apparaissent au-dessus du liquide.

NOTE : Si un dispositif de minéralisation du commerce est utilisé, il convient de suivre les instructions du fabricant.

Lorsque le contenu du réacteur devient éventuellement limpide ou de couleur paille, poursuivre la minéralisation pendant au moins 60 minutes supplémentaires.

Laisser refroidir et ajouter avec précaution (40 ± 5) ml d'eau tout en agitant doucement pour éviter que l'échantillon minéralisé ne se cristallise.

Si le réacteur de minéralisation est approprié pour une adaptation directe à l'appareil de distillation, remplir d'eau aux deux tiers environ de son volume. Sinon, transférer quantitativement le minéralisat dans un ballon à distiller adapté à l'appareil à distiller et remplir d'eau aux deux tiers environ de son volume.

ORIGINAL 2014

Monter l'appareil à distiller en ajoutant 50 ml d'acide sulfurique à 0.05 mol/l ou 50 ml d'acide borique dans la fiole de réception et s'assurer que le tube d'écoulement se situe sous la surface de l'acide.

Ajouter avec précaution (30 ± 2) ml de solution d'hydroxyde de sodium en versant le long de la paroi du ballon à distiller pour obtenir deux phases distinctes. Monter l'appareillage et imprimer doucement un mouvement de rotation au ballon pour en mélanger le contenu sans perdre l'ammoniac libéré.

NOTE : Pour les appareils de distillation automatiques du commerce, cette étape peut ne pas être nécessaire ; il convient de suivre les instructions du fabricant.

Chauffer le ballon de façon à ce que la distillation s'effectue à environ 10 ml/min.

NOTE : Pour les systèmes commercialisés, il convient de suivre les instructions du fabricant.

Recueillir environ 120 ml de distillat, puis abaisser la fiole de réception pour amener le tube d'écoulement au-dessus de la surface de l'acide et recueillir une quantité supplémentaire de 30 ml de distillat.

NOTE : Pour les systèmes commercialisés, il convient de suivre les instructions du fabricant.

Interrompre la distillation et laver le tube d'écoulement avec environ 5 ml d'eau, en récupérant l'eau de rinçage dans la fiole de réception.

Si nécessaire, compléter le volume du distillat avec de l'eau jusqu'à un volume connu et bien mélanger.

NOTE : Pour le point de fin de titrage, la totalité du distillat peut être titré avec l'acide.

Utiliser cette solution pour déterminer la teneur en azote ammoniacal du distillat ajusté en volume.

NOTE : Le tryptophane ($C_{11}H_{12}N_2O_2$) ou la glycine ($C_2H_5N0_2$) peuvent être utilisés pour contrôler le rendement de la méthode. Le sulfate d'ammonium ($(NH_4)_2SO_4$) peut être utilisé pour contrôler le rendement de la distillation. Il convient de sécher à 105 °C ces trois substances durant au moins 2 heures avant utilisation.

ORIGINAL 2014

8. Expression des résultats

8.1 Détermination colorimétrique :

La teneur en azote Kjeldahl (N) est exprimée en grammes par kilogramme de matières sèches et est donnée par l'équation (1) :

$$N = \frac{(C - B) \times V}{m \times 10 \times W_{DR}}$$

où C est la teneur en azote ammoniacal du distillat ajouté au volume, en milligrammes par litre ;

m est la masse de l'échantillon humide prélevé pour la minéralisation, en grammes ;

V est le volume final du distillat, en millilitres ;

W_{DR} est la teneur en matière sèche de l'échantillon exprimée en pourcent ;

B est le résultat de l'essai à blanc du distillat ajusté au volume, en milligrammes par litre.

8.2 Détermination titrimétrique :

$$N = \frac{(V_1 - V_2) \times c \times 14{,}01}{m \times W_{DR}} \times 100$$

La teneur en azote Kjeldahl (N) est exprimée en grammes par kilogramme de matières sèches et est donnée pour le titrage de la totalité du distillat par l'équation (2) :

où c est la concentration de l'acide chlorhydrique en moles par litre ;

V_1 est le volume de titrage en millilitres ;

V_2 est le volume de titrage de l'essai à blanc, en millilitres ;

m est la masse de l'échantillon humide prélevé pour la minéralisation, en grammes ;

W_{DR} est la teneur en matière sèche de l'échantillon exprimée en pour cent ;

14,01 est la masse atomique de l'azote.

9. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région Wallonne ;
- L'identification complète de l'échantillon ;
- Les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis ;
- Les résultats du dosage conformément au point 8 ; expression du résultat en g/100g MS ou % MS ;
- Les détails opératoires non prévus dans la norme, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

ORIGINAL 2014

10. Référence :

NBN EN 13342:2000, Caractérisation des boues – Détermination de l'azote Kjeldahl, 1e éd., octobre 2000.

EN 12880, Caractérisation des boues – Détermination de la matière sèche et de la teneur en eau.

EN 25663, Qualité de l'eau – Dosage de l'azote Kjeldahl – Méthode après minéralisation au sélénium (ISO 5663 :1984).

ISO 5664, Qualité de l'eau – Dosage de l'ammonium – Méthode par distillation et titrimétrie.

ORIGINAL 2014

S-II-10V2 – DÉTERMINATION DE L'AZOTE NITRIQUE, NITREUX ET AMMONIACAL DANS LES EXTRAITS AU KCL DE SOLS

1. Objet

Détermination de l'azote nitrique, l'azote ammoniacal dans des extraits au chlorure de potassium (KCl) de sols.

2. Domaine d'application

La présente méthode décrit une méthode de détermination de l'azote nitrique et ammoniacal, dans les extraits au KCl de sols.

3. Principe

Une aliquote d'échantillon est extraite au moyen d'une solution de KCl 1M. Les concentrations des composés minéraux de l'azote sont déterminées dans les extraits par des méthodes spectrophotométriques.

4. Conditionnement et conservation de l'échantillon

Les échantillons doivent être protégés contre tout réchauffement au cours de l'échantillonnage et lors du transport. Les échantillons maintenus à 4 °C sont analysés dans les trois jours.

5. Préparation de l'échantillon

L'échantillon pour analyse est obtenu par homogénéisation de l'échantillon de sol initial. Cette homogénéisation peut être effectuée manuellement ou mécaniquement de manière à ce que les agrégats de sol soient divisés en particules de moins de 8 mm de diamètre. Cette étape sera effectuée avant la congélation éventuelle. Une partie de l'échantillon pour analyse sera utilisée pour déterminer sa teneur en eau selon la procédure S-I-3.

ORIGINAL 2014

6. Appareillages et matériels utilisés

- Balances d'une exactitude de 0.1 g et de 0.001 g ;
- Spectrophotomètre
- Agitateur rotatif avec retournement (fréquence : 40 retournements/min) ;
- Centrifugeuse et tubes à centrifuger en PE de 100 ml ;
- Petits matériels de laboratoires n'absorbant et ne relarguant pas de composés minéraux de l'azote.

7. Réactifs utilisés

- Eau d'une conductivité spécifique < 0.2 mS/m à 25 °C ;
- Solution de KCl 1 M ;

8. Mode opératoire

Élaboration de l'extrait KCl :

40 g d'échantillon sont pesés dans un flacon en polyéthylène (PE) de 500 ml. Ajouter 200 ml de solution de KCl à une température de 20 °C. Agiter mécaniquement pendant 1 heure à 20 °C à l'aide d'un agitateur rotatif. Transvaser environ 60 ml de la suspension d'extrait dans les tubes à centrifuger et centrifuger pendant 10 min à environ 3000 g. Transvaser la solution surnageante dans des fioles d'une capacité nominale de 100 ml. Effectuer également un essai à blanc en ajoutant uniquement la solution de KCl 1 M dans un flacon en polyéthylène.

Il convient de procéder immédiatement au mesurage des fractions d'azote correspondantes, mais au plus tard un jour après l'extraction. Si cela n'est pas possible, il est recommandé de stocker les extraits au réfrigérateur à une température ne dépassant pas 4 °C, pendant une semaine au plus.

Détermination des composés :

L'azote nitrique, l'azote nitreux et l'azote ammoniacal sont dosés suivant la procédure adéquate.

ORIGINAL 2014

9. Expression des résultats

Les teneurs en azote nitrique, nitreux et ammoniacal sont exprimées en milligrammes d'azote par kilogramme de sol déshydraté.

10. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence au milieu extractif utilisé ;
- L'identification complète de l'échantillon ;
- Les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis ;
- Les résultats du dosage conformément au point 9 ;
- Les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

11. Référence

ISO 14256-1 : 2003 – Qualité du sol – Dosage des nitrates, des nitrites et de l'ammonium dans les sols bruts par extraction au moyen d'une solution de chlorure de potassium – Partie 1 : Méthode manuelle.

ISO 14256-2 : 2005 – Qualité du sol – Dosage des nitrates, des nitrites et de l'ammonium dans les sols bruts par extraction au moyen d'une solution de chlorure de potassium – Partie 2 : Méthode automatisée avec analyse en flux segmenté.

ORIGINAL 2014

S-II-11V3 – DÉTERMINATION DE L'AZOTE NITRIQUE ET DE L'AZOTE AMMONIACAL DANS LES MATIERES UTILISEES SUR OU DANS LES SOLS

1. Objet

Détermination de l'azote nitrique et de l'azote ammoniacal dans les matières utilisées sur ou dans les sols.

2. Domaine d'application

La présente méthode décrit la détermination de l'azote nitrique et ammoniacal dans les matières utilisées sur ou dans les sols.

ORIGINAL 2014

3. Principe

Déplacement de l'ammoniac au moyen d'un excès d'oxyde de magnésium. Par entraînement à la vapeur, l'azote ammoniacal libéré est fixé dans une solution d'acide borique et titré par de l'acide chlorhydrique en présence d'un indicateur.

A l'extrait aqueux, issu de la détermination de l'azote ammoniacal, on ajoute l'alliage réducteur (alliage de Devarda). Les nitrates sont réduits en ammonium. Après entraînement à la vapeur, l'ammoniac est fixé par de l'acide borique et titré par l'acide chlorhydrique en présence d'un indicateur.

Un appareil automatique (type « Kjeltech ») peut-être utilisé pour ce type de dosage en respectant les directives du fabricant.

Une détermination spectrophotomètrique manuel ou avec un analyseur en flux continu peut également être utilisée.

4. Conditionnement et conservation de l'échantillon

On se référera aux procédures relatives au stockage, à la conservation et au prétraitement de l'échantillon.

5. Préparation de l'échantillon

Les échantillons sont analysés sur frais pour éviter les pertes en azote ammoniacal et les transformations de l'azote nitrique. Pour ces raisons, il est nécessaire de prélever une prise d'essai à partir d'un échantillon humide et homogénéisé.

5.1 Echantillon ayant une teneur en matière sèche estimée à moins de 15 % :

Après prétraitement les échantillons sont homogénéisé à l'aide d'un mélangeur avec vitesse de rotation réglable d'au moins 10000 tours (différents systèmes peuvent être utilisés). L'objectif est d'obtenir un échantillon parfaitement homogène avant prélèvement de la partie aliquote à analyser.

5.2 Echantillon ayant une teneur en matière sèche estimée à plus de 15 % :

Après prétraitement les échantillons seront dilués pour faciliter l'homogénéisation.

Peser une bouteille (m0) en plastique de ± 500 ml, transférer quantitativement une prise de l'échantillon dans la bouteille, ajouter une quantité d'eau pesée (m1) dans la bouteille, peser la bouteille avec l'échantillon et l'eau (m2).

5.3 Calcul du facteur de dilution

Les échantillons ayant une teneur en matière sèche estimée à moins de 15 %, le facteur de dilution F = 1.

Les échantillons ayant une teneur en matière sèche estimée à plus de 15 %, le facteur de dilution $F = (m2 – m0) / (m2-m1-mo)$.

Où :

F est le facteur de dilution.

m0 est la masse de la bouteille en plastique vide en g.

m1 est la masse de la quantité d'eau ajoutée en g.

m2 est la masse de la bouteille en plastique avec l'échantillon et l'eau en g.

ORIGINAL 2014

6. Appareillages et matériels utilisés

- Ballons Kjeldahl adaptés
- Système d'entraînement à la vapeur
- Ou analyseur en flux continu

7. Réactifs utilisés

- MgO en poudre (pour la détermination de l'azote ammoniacal) ;
- Alliage de Devarda : 45 % Al, 5 % Zn, 50 % Cu (pour la détermination de l'azote nitrique) ;
- Solution de rouge de méthyle, dissoudre 0.5 g de rouge de méthyle dans 1 litre de solution d'éthanol à 60 % d'éthanol dans l'eau déminéralisée (v/v).
- Solution de bleue de méthylène, dissoudre 1.5 g de bleue de méthylène dans 1 litre d'eau déminéralisée.
- Solution indicateur d'acide borique ; dissoudre dans un ballon jaugé d'un litre 20 g d'acide borique (H_3BO_3), laisser refroidir, ajouter 10 ml de solution de rouge de méthyle et 2 ml de bleue de méthylène. Ajuster le pH à 4.6 (couleur rouge méthyl). Diluer à 1 litre et mélanger.
- Acide chlorhydrique 0.01 N ;
- NH_4NO_3 p.a.

8. Mode opératoire

8.1 Détermination de l'azote ammoniacal :

Peser une quantité de l'échantillon (± 5 g) homogénéisé (voir §5 : préparation de l'échantillon) dans un ballon Kjedahl de 250 ml ou tube Kjedahl. On ajoute 0.5 g de MgO et on entraîne à la vapeur jusqu'à distillation complète (vérifier à l'aide de papier tournesol).

Le distillat est récupéré dans un erlenmeyer contenant 10 ml d'acide borique. On opère la titration par de l'acide chlorhydrique 0.01 N. Le blanc se compose de 50 ml d'eau. Le contrôle du rendement d'extraction est effectué à l'aide de 50 ml d'une solution de 200 mg d'NH_4NO_3 par litre.

NOTE : Les dosages d'azote ammoniacal doivent se faire le plus rapidement possible après réception des échantillons.

8.2 Détermination de l'azote nitrique :

50 ml d'eau distillée et 0.5 g de l'alliage de Devarda sont ajoutés au culot de distillation de l'ammoniac, après refroidissement. On entraîne à la vapeur jusqu'à distillation complète (vérifier à l'aide de papier tournesol). Le distillat est récupéré dans un erlenmeyer contenant 10 ml d'acide borique. On opère la titration par de l'acide chlorhydrique 0.01 N. Le blanc se compose de 50 ml d'eau. Le contrôle du rendement d'extraction est effectué à l'aide de 50 ml d'une solution de 200 mg d'NH_4NO_3 par litre.

50 ml d'eau distillée et 0.5 g de l'alliage de Devarda sont ajoutés au culot de distillation de l'ammoniac, après refroidissement. On entraîne à la vapeur jusqu'à distillation complète (vérifier à l'aide de papier tournesol).

Le distillat est récupéré dans un erlenmeyer contenant 10 ml d'acide borique. On opère la titration par de l'acide chlorhydrique 0.01 N. Le blanc se compose de 50 ml d'eau. Le contrôle du rendement d'extraction est effectué à l'aide de 50 ml d'une solution de 200 mg d'NH_4NO_3 par litre.

ORIGINAL 2014

8.3 Détermination par spectrophotométrie classique ou avec un analyseur à flux continu :

Les échantillons sont préalablement dilué dans un rapport de 1/100 (m/v) dans de l'eau déminéralisée, mélangés filtrés ou centrifugés pour être ensuite analysés.

Le rapport peu être modifié en fonction de la concentration des échantillons.

9. Expression des résultats

Les teneurs en azote nitrique et ammoniacal sont exprimées en milligrammes d'azote par kilogramme (ou par litre) de matières brutes.

10. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence au milieu extractif utilisé ;
- L'identification complète de l'échantillon ;
- Les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis ;
- Les résultats du dosage conformément au point 9 ;
- Les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

ORIGINAL 2014

11. Références

CMA/2/IV/7:2013 – Ammonium-en nitraatstikstof

Ministère de l'Agriculture, Méthodes de convention pour l'analyse des engrais et des amendements du sol, partie I, Engrais, 120 pages.

S-II-12V2 – EXTRACTION DES ELEMENTS MINERAUX DISPONIBLES DANS LES TERRES AGRICOLES

1. Objet

Extraction des éléments majeurs et mineurs disponibles dans les terres agricoles.

2. Domaine d'application

Méthode d'extraction des éléments majeurs (P, K, Ca, Mg et Na) et mineurs (notamment Al, Cu, Fe, Mn, Zn) disponibles dans les terres agricoles.

3. Principe

Une aliquote d'échantillon de sol est extraite à température ambiante par le tampon acide acétique, acétate ammonique, acide éthylène diamine tétracétique (EDTA) tamponné à pH 4.65.

Cet extrait sert à la détermination des éléments majeurs (Phosphore, Potassium, Calcium, Magnésium et Sodium) et mineurs (notamment : Aluminium, Cuivre, Fer, Manganèse et Zinc) disponibles dans les terres agricoles.

4. Préparation de l'échantillon

Conformément à la procédure S-I-I, les échantillons sont séchés à l'air ou dans une étuve ventilée à une température inférieure à 40 °C. Ils sont alors émottés et tamisés au travers d'un tamis de 2 mm d'ouverture de mailles.

5. Appareillages et matériels utilisés

- Flacon de 250 ml avec bouchon ;
- Balance analytique : précision 10 mg ;
- pHmètre et matériel nécessaire à la mesure du pH ;
- Agitateur basculant.
- Filtre 595 ½

ORIGINAL 2014

6. Réactifs utilisés

Milieu extractif, NH_4OAc 0.5 N, HOAc 0.5 N, EDTA 0.02 M à pH 4.65 :

38.54 g Acétate ammonique sont mis en solution dans 500 ml d'eau distillée. 25 ml d'acide acétique glacial (99-100 %) (ou éventuellement d'acide acétique 96 %, densité 1.05) sont ajoutés ainsi que 5.845 g d'EDTA. Le pH est ajusté, si nécessaire, à 4.65 à l'aide d'acide acétique concentré ou d'ammoniaque. La solution est transvasée dans un ballon jaugé de 1 litre puis portée au trait.

7. Mode opératoire

7.1 Élaboration de l'extrait acétate ammonique :

Peser précisément 20 g d'échantillon avec une précision de 0.01 g dans un flacon de 250 ml. Ajouter 100 ml du tampon acide acétique acétate ammonique EDTA et bouchonner et extraire pendant 30 minutes à l'aide d'un agitateur basculant. Les extraits sont filtrés sur filtre plissé en éliminant les premières gouttes. Au cas où la filtration serait trop lente, une filtration sous vide, une centrifugation ou une décantation peuvent être appliquées. Les extraits sont conservés dans un flacon en plastique.

7.2 Détermination des composés :

7.2.1 Détermination du Phosphore :

Le phosphore est dosé par spectrophotométrie d'absorption moléculaire (méthode au bleu de molybdène) ou par ICP.

Les solutions de référence (standards) sont préparées dans le tampon NH_4Ac-EDTA.

7.2.2 Détermination du Potassium, Calcium, Magnésium et Sodium :

Le Potassium, le Calcium, le Magnésium et le Sodium sont dosés par spectrophotométrie d'absorption atomique ou par ICP conformément aux procédures S-II-2.1 et S-II-2.2.

7.2.3 Détermination d'autres éléments disponibles :

Les éléments disponibles tels que l'Aluminium, le Cuivre, le Fer, le Manganèse et le Zinc notamment sont dosés par spectrophotométrie d'absorption atomique ou par ICP conformément aux procédures S-II-2.1 et S-II-2.2.

Les solutions de référence (standards) sont préparées dans le tampon NH_4Ac-EDTA.

ORIGINAL 2014

8. Expression des résultats

Les teneurs en éléments majeurs sont exprimées en grammes d'oxyde (P_2O_5, CaO, MgO, Na_2O et K_2O) par 100 grammes de matière sèche.

Les autres éléments sont exprimés en milligrammes par kilogrammes de matière sèche.

9. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence au milieu extractif utilisé ;
- L'identification complète de l'échantillon de sol ;
- Les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis ;
- Les résultats du dosage conformément au point 8 ;
- Les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

ORIGINAL 2014

10. Référence

VITO (2013), *Bereiding van extracten en analyseoplossingen*, anorganishe analysemethoden/compost, CMA/2/IV/6, 5 pages.

BEAGx (1993), *Examen critique des méthodes d'analyse existantes (77/535/CEE & 89/519/CEE) pour leur application aux nouveaux engrais CEE*, Rapport, Faculté des Sciences agronomiques de Gembloux.

COMMISSION DES SOLS DE WALLONIE (1988). Rapport d'activité pour la période 1987-1988. Faculté des Sciences agronomiques de Gembloux.

Commission des Communautés européennes (1991), *Proposition de Directive du Conseil relative aux engrais*, SEC(91)1858 final,

Ministère de l'Agriculture, *Méthodes de convention pour l'analyse des engrais et des amendements du sol, partie II, Amendements du sol*, 219 pages.

Cottenie, A., Verloo, M., Kiekens, L. et Velghe, G. (1976), *Analysemethodes voor planten en gronden*, Rijksuniversiteit, Gent.

Lakanen E. & Ervio R. (1971). A comparison of eight extractants for the determination of plant available micronutrients in soil. *Acta Agralia Fennica*, **123**, 223-232

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
S-III-1.1	4	20/01/2022

Détermination par chromatographie gazeuse/spectrométrie de masse des hydrocarbures aromatiques, du naphtalène et des hydrocarbures halogénés volatils – Méthode par purge et piégeage avec désorption thermique

Descriptif		
Paramètre	Hydrocarbures aromatiques volatils Naphtalène MTBE (Methyl-tert-butylether) Hydrocarbure halogénés volatils	
Référence normative	ISO 15009	2016

Domaine d'application	
Matrice	Tous types de sols

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ) (rapportage ISSeP)	0.05 (0.1 pour dichlorométhane et chloroforme)	mg/kg mat. brute

Wallonie

Limite de quantification (LQ) (normative)	• Hydrocarbures aromatiques volatils : 0.1mg/kg par couplage GC-FID • Hydrocarbures halogénés volatils : 0.01mg/kg par couplage GC-ECD • Des limites de quantifications plus faibles peuvent être atteintes si l'on utilise la spectrométrie de masse	mg/kg mat. brute
Incertitude (relative) de la mesure à la LQ	cf. Annexe 1 (b) ou (c)	%
Gamme de travail	0.05 mg/kg à 10 mg/kg (0.1 mg/kg à 10 mg/kg pour dichlorométhane et chloroforme)	mg/kg mat. brute

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

1. Objet

La présente procédure a pour objet de décrire une méthode de détermination quantitative par chromatographie en phase gazeuse des hydrocarbures aromatiques volatils, du naphtalène et des hydrocarbures halogénés volatils contenus dans les sols.

2. Procédure

L'ensemble des prescriptions de la norme de référence internationale sont d'application ISO 15009 :2016, à l'exception des prescriptions spécifiques à la Région wallonne. Ces prescriptions spécifiques s'écartent ou limitent le choix de celles de la norme de référence internationale. Elles sont reprises, en gras, dans le tableau ci-dessous au sein de la colonne « Prescriptions CWEA». Les prescriptions y relatives qui sont reprises dans la norme de référence sont listées, pour information au sein de la colonne « Prescription norme de référence ».

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Réactifs	
(§4.1 de la norme de référence)	**Une eau de boisson en bouteille peut être utilisée à condition de vérifier avant utilisation l'absence de composés interférents.**
(§4.2 de la norme de référence)	**Il est admis que d'autres étalons internes soient utilisés. Adapter le nombre d'étalons internes en fonction des composés à analyser.**
(§4.9 de la norme de référence)	**Les différentes solutions étalons sont préparées dans des flacons à septum fermé ou, mieux, dans des flacons à ouverture capillaire (type certan).**
Echantillonnage, conservation et traitement préliminaire des échantillons	
(§6.1 de la norme de référence)	**Les échantillons doivent être analysés le plus vite possible après leur réception au laboratoire. Si nécessaire, les échantillons peuvent être stockés :** - **1 à 5°C à l'obscurité et à l'abri de l'air, durée : 4 jours** - **Extrait avec du méthanol et stocké à 1 à 5°C, à l'obscurité et à l'abri de l'air, durée : 1 mois** - **Extrait avec du méthanol et stocké à < -18°C, à l'obscurité et à l'abri de l'air, durée : 6 mois**
Mode opératoire	
(§7.1 de la norme de référence)	**Pour chaque série d'échantillon, réaliser un blanc comprenant l'étape d'extraction. Pour ce faire, utiliser une quantité définie de sable (par exemple sable de mer purifié à l'acide et calciné) et le traiter de manière identique aux échantillons.**

ISSeP
Institut scientifique de service public

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

Annexe 1 (informative)

Nom du composé	*Masse 1 (m/z)*	*Masse 2 (m/z)*	*Masse 3 (m/z)*	*Etalon Interne*	*Incertitude élargie(%)*
Chlorométhane	50,0	52,0		1,2-dichloroethane-D4	
Chlorure de vinyle	62,0	64,0		Chlorure de vinyle-D3	14
Chlorure de vinyle-D3	**65,0**	**67,0**		**N/A**	**N/A**
Trichlorofluorométhane	101,0	103,0		1,2-dichloroethane-D4	
1,1-dichloroéthylène	96,0	98,0		1,2-dichloroethane-D4	28
Dichlorométhane	84,0	86,0		1,2-dichloroethane-D4	68
MTBE	73,0	57,0		1,2-dichloroethane-D4	13
trans-1,2,-dichloréthylène	61,0	96,0	98,0	1,2-dichloroethane-D4	19
1,1-dichloroéthane	63,0	65,0		1,2-dichloroethane-D4	
2,2-dichloropropane	77,0	79,0		1,2-dichloroethane-D4	
cis-1,2-dichloroéthylène	96,0	61,0	98,0	1,2-dichloroethane-D4	37
Bromochlorométhane	130,0	128,0	51,0	1,2-dichloroethane-D4	
Chloroforme	83,0	85,0		1,2-dichloroethane-D4	17
1,1,1-trichloroéthane	97,0	99,0		1,2-dichloroethane-D4	26
1,1-dichloropropène	75,0	110,0	112,0	1,2-dichloroethane-D4	
Tétrachlorométhane	117,0	119,0		1,2-dichloroethane-D4	36
Benzène-D6	**84,0**			**N/A**	**N/A**
1,2-dichloroéthane-D4	**65,0**	**67,0**		**N/A**	**N/A**
Benzène	78,0			Benzène-D6	33
1,2-dichloroéthane	62,0	64,0		1,2-dichloroethane-D4	26
Trichloroéthylène	130,0	132,0	95,0	1,2-dichloroethane-D4	43
1,2-dichloropropane	63,0	62,0	65,0	1,2-dichloroethane-D4	
Dibromométhane	93,0	95,0	174,0	1,2-dichloroethane-D4	
Bromodichlorométhane	83,0	85,0		1,2-dichloroethane-D4	
cis-1,3-dichloropropène	75,0	77,0	110,0	1,2-dichloroethane-D4	
Toluène-D8	**98,0**	**100,0**		**N/A**	**N/A**
Toluène	91,0	92,0		Toluène-D8	27
trans-1,3-dichloropropène	75,0	77,0	110,0	Chlorobenzène-D5	
1,1,2-trichloroéthane	83,0	97,0	99,0	Chlorobenzène-D5	32
Tétrachloréthylène	166,0	131,0	129,0	Chlorobenzène-D5	31
1,3-dichloropropane	76,0	78,0		Chlorobenzène-D5	
Dibromochlorométhane	129,0	127,0	131,0	Chlorobenzène-D5	27
1,2-dibromoéthane	109,0	107,0		Chlorobenzène-D5	
Chlorobenzène-D5	**117,0**	**82,0**	**119,0**	**N/A**	**N/A**
Chlorobenzène	112,0	77,0	114,0	Chlorobenzène-D5	
Ethylbenzène	91,0	106,0		p-xylène-D10	22

Wallonie

1,1,1,2-tétrachloroéthane	131,0	133,0		Chlorobenzène-D5	
p-xylène-D10	**116,0**	**98,0**		**N/A**	**N/A**
mp-xylène	91,0	106,0		p-xylène-D10	29
Styrène-D8	**112,0**			**N/A**	**N/A**
o-xylène	91,0	106,0		p-xylène-D10	24
Styrène	104,0	103,0	78,0	Styrène-D8	23
Bromoforme	173,0	171,0	175,0	1,2-dichloroethane-D4	
Isopropylbenzène	105,0	120,0		p-xylène-D10	
1,1,2,2-tétrachloroéthane	83,0	85,0		Chlorobenzène-D5	
Bromobenzène	158,0	156,0	77,0	Chlorobenzène-D5	
1,2,3-trichloropropane	75,0	77,0		1,2-dichloroethane-D4	
n-propylbenzène	91,0	120,0		p-xylène-D10	
2-chlorotoluène	91,0	126,0		Chlorobenzène-D5	
1,3,5-triméthylbenzène	105,0	120,0		p-xylène-D10	
4-chlorotoluène	91,0	126,0		Chlorobenzène-D5	
tert-butylbenzène	119,0	91,0	134,0	p-xylène-D10	
1,2,4-triméthylbenzène	105,0	120,0		p-xylène-D10	
sec-butylbenzène	105,0	134,0		p-xylène-D10	
p-isopropyltoluène	119,0	91,0	134,0	p-xylène-D10	
1,3-dichlorobenzène	146,0	148,0	111,0	Chlorobenzène-D5	
1,4-dichlorobenzène	146,0	148,0		Chlorobenzène-D5	
n-butylbenzène	91,0	92,0	134,0	p-xylène-D10	
1,2-dichlorobenzène	146,0	148,0	111,0	Chlorobenzène-D5	
1,2,4-trichlorobenzène	180,0	182,0		Chlorobenzène-D5	
Naphtalène-D8	**136,0**			**N/A**	**N/A**
Naphtalène	128,0			Naphtalène-D8	
1,2,3-trichlorobenzène	180,0	182,0		Chlorobenzène-D5	34

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
S-III-1.2	2	20/01/2022

Détermination par chromatographie gazeuse / spectrométrie de masse des hydrocarbures aromatiques et halogénés volatils et de certains éthers dans le sol – Méthode par espace de tête statique

Descriptif		
Paramètre	HAM (hydrocarbures aromatiques monocycliques) COVX (Composés organiques volatils halogénés) Naphtalène Ethers aliphatiques (MTBE et TAME)	
Référence normative	ISO 22155	2016

Domaine d'application	
Matrice	Tous types de sols

Wallonie

Critères de performance		
Limite inférieure de quantification (LQ) (normative)	• Hydrocarbures aromatiques volatils : 0.2mg/kg par couplage GC-FID • Ethers aliphatiques (MTBE et TAME) : 0.5mg/kg par couplage GC-FID • Hydrocarbures halogénés volatils : 0.01mg/kg à 0.2mg/kg par couplage GC-ECD • Des limites de quantifications plus faibles peuvent être atteintes si l'on utilise la spectrométrie de masse	$mg/kg_{mat.\ sec.}$
Incertitude (relative) de la mesure à la LQ	cf. Annexe 1 (a)	%
Gamme de travail (normative)		$mg/kg_{mat.\ sec.}$

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

1. Objet

La présente procédure a pour objet de décrire une méthode de détermination quantitative par chromatographie en phase gazeuse des hydrocarbures aromatiques volatils, des hydrocarbures halogénés volatils et de certains éthers contenus dans les sols.

2. Procédure

Les prescriptions relatives à la méthode concernée sont décrites dans la norme ISO 22155 : 2016.

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

Institut scientifique de service public

Annexe 1 (informative)

Caractéristiques de performances BTEX dans le sol, à l'état de traces

Paramètre	l	n_a	x_{ref}	x	R	σ_r	VC_r	σ_R	VC_R
Benzène	20	1	0,043	0,043	100,00	0,004	9,47	0,009	20,85
Toluène	20	1	0,063	0,066	104,76	0,005	7,96	0,014	20,51
Éthylbenzène	21	0	0,072	0,067	93,06	0,005	7,57	0,012	18,35
m-Xylène/p-Xylène	20	1	0,057	0,055	96,49	0,005	9,72	0,011	19,64
o-Xylène	21	0	0,068	0,062	91,18	0,005	7,73	0,012	19,00

Explication des symboles:

l est le nombre de laboratoires participants;

n_a est le nombre de valeurs aberrantes; Type B, Type C;

x_{ref} est la valeur de référence, c'est-à-dire la concentration gravimétrique dopée, en milligrammes par kilogramme, mg/kg;

x est la valeur moyenne, en milligrammes par kilogramme, mg/kg;

R est le taux de récupération, en pourcentage, %;

σ_r est l'écart-type de répétabilité, en milligrammes par kilogramme, mg/kg;

VC_r est l'écart-type de répétabilité relatif, en pourcentage, %;

σ_R est l'écart-type de reproductibilité, en milligrammes par kilogramme, mg/kg;

VC_R est l'écart-type de reproductibilité relatif, en pourcentage, %.

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
S-III-2.1	3	20/01/2022
Détermination de l'indice phénol dans les sols		

Descriptif		
Paramètre	Indice phénol	
Référence normative	AFNOR FD X 31-144	1997

Domaine d'application	
Matrice	Sols Matières utilisées sur ou dans les sols

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)	0.5	mg/kg MS
Incertitude à la LQ		%
Gamme de travail	0.5 à 5	mg/kg MS

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

Cette méthode a pour objet la détermination de l'indice phénol dans des sols (y compris les sédiments) et les matières utilisées sur ou dans les sols. Cette méthode ne donne qu'une information obtenue dans des conditions conventionnelles sur la teneur globale en certains dérivés du phénol. Seule une analyse par chromatographie sera en mesure de quantifier individuellement le phénol (S-III-2.2).

2. Procédure

L'ensemble des prescriptions de la norme de référence internationale AFNOR FD X 31-144 :1997 sont d'application, à l'exception des prescriptions spécifiques à la Région wallonne. Ces prescriptions spécifiques s'écartent ou limitent le choix de celles de la norme de référence internationale. Elles sont reprises, en gras, dans le tableau ci-dessous au sein de la colonne « Prescriptions CWEA». Les prescriptions y relatives qui sont reprises dans la norme de référence sont listées, pour information au sein de la colonne « Prescription norme de référence ».

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Référence normative	
§ 2 de la norme de référence	**Les références normatives suivantes ont également été utilisées :** **ISO 14154 : 2005 : Qualité du sol – Dosage de certains chlorophénols – Méthode de chromatographie en phase gazeuse avec détection par capture d'électrons** **ISO 6439 : 1990 : Qualité de l'eau – Détermination de l'indice phénol – Méthode spectrométrique à l'amino-4 antipyrine après distillation.** **NBN T91-501 : 1975 : Méthode d'analyse de l'eau – Détermination des phénols – Méthode photométrique.** **NBN EN ISO 14402 : 2000 : Qualité de l'eau – Détermination de l'indice phénol par analyse en flux (FIA et CFA)**

ISSeP
Institut scientifique de service public

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Principe	
§ 4 de la norme de référence	**L'acidification peut se faire également avec de l'acide sulfurique 1 N.** **L'emploi de sulfate de cuivre n'est pas nécessaire.** **La réaction avec l'amino-4 antipyrine à lieu à un pH de 10.**
Réactifs	
§ 6.6 de la norme de référence	**La solution tampon de pH 10 est préparée comme suit :** **Dissoudre 28 g de chlorure d'ammonium (NH_4Cl) dans l'eau désionisée.** **Ajouter 150 ml d'ammoniaque concentré (ammoniaque à 25%, pour analyse, d = 0,90 g/ml)**
§ 6.7 de la norme de référence	**La solution d'hexacyanoferrate (III) de potassium à 20 g/l est stable 1 mois.**
En supplément de la norme	**Acide sulfurique 1 N**
Mode opératoire	
§ 7.2 de la norme de référence	**L'acidification peut se faire également avec de l'acide sulfurique 1 N**
§ 7.3 de la norme de référence	**Si l'analyse n'est pas réalisée le jour même, fixer l'échantillon en ajoutant de l'acide phosphorique jusqu'à un pH de 4 mesuré à l'aide de papier indicateur de pH.**
§ 7.4 de la norme de référence	**Pour chaque série d'essais, effectuer un essai à blanc. Ce blanc permet notamment de vérifier la propreté de l'appareillage.**

Wallonie

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
§ 7.5.1 de la norme de référence	**Après l'ajout de 10 ml de solution tampon, ajuster le pH à 10 avec NaOH, si nécessaire.** **Après l'ajout de la solution d'hexacyanoferrate (III) de potassium, mélanger pendant 1 min le tout en retournant l'ampoule décantée de façon à obtenir une solution homogène.**
Contrôle	
En supplément de la norme	**Pour chaque série d'essais, une vérification du bon fonctionnement de l'appareillage est réalisée en distillant la solution fille, de telles manières à être au milieu de la droite de calibration. Le rendement obtenu doit être supérieur à 85 %.**

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
S-III-2.2	3	20/07/2022
Dosage du phénol par chromatographie en phase gazeuse avec détection par spectrométrie de masse		

Descriptif		
Paramètre	Phénols Chlorophénols	
Référence normative	ISO/TS 17182	2014

Domaine d'application	
Matrice	Sols Sédiments Déchets solides

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)	0,01 à 0,1 selon la sensibilité des composants et la quantité d'échantillon utilisée	$mg/kg_{mat.\ sec.}$
Incertitude (relative) de la mesure	/	%
Gamme de travail	/	$mg/kg_{mat.\ sec.}$

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

La présente procédure a pour objet de décrire une méthode de détermination quantitative par chromatographie en phase gazeuse des phénols, méthylphénols, diméthylphénols, triméthylphénols et chlorophénols contenus dans les sols.

2. Procédure

L'ensemble des prescriptions de la norme de référence internationale ISO/TS 17182 :2014 sont d'application, à l'exception des prescriptions spécifiques à la Région wallonne. Ces prescriptions spécifiques s'écartent ou limitent le choix de celles de la norme de référence internationale. Elles sont reprises, en gras, dans le tableau ci-dessous au sein de la colonne « Prescriptions CWEA». Les prescriptions y relatives qui sont reprises dans la norme de référence sont listées, pour information au sein de la colonne « Prescription norme de référence ».

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Réactifs	
(§7 de la norme de référence)	**Les échantillons bruts prélevés sur le terrain doivent être conservés dans des récipients appropriés, à l'abri de la lumière, à une température de 4°C pendant une durée maximale de 4 jours. Il est recommandé de congeler les échantillons s'ils sont conservés pendant plus de 4 jours.** **La norme ISO 18512 est à la base de ces critères de conservation.**

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont :

Version précédente	Présente version
Norme de référence : ISO 11709 :2011	Norme de référence : ISO/TS 17182:2014.

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

Technique : HPLC	Technique : GC-MS

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
S-III-3.1	3	20/01/2022
Dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) par HPLC		

Descriptif		
Paramètre	16 HAP : naphtalène, acénaphtène, fluorène, phénanthrène, anthracène, fluoranthène, pyrène, benzo(a)anthracène, chrysène, benzo(b)fluoranthène, benzo(k)fluoranthène, benzo(a)pyrène, dibenzo(a,h)anthracène, benzo(g,h,i)périylène et indéno(1,2,3-cd)pyrène, acénaphtylène	
Référence normative	ISO 13859	2014

Domaine d'application	
Matrice	Sols

Critères de performance		
Limite inférieure de quantification (LQ) (normative)	0,01	$mg/kg_{mat.\ brute.}$
Incertitude (relative) de la mesure à la LQ	cf. Annexe 1 (a)	%
Gamme de travail	0,01 à 1	$mg/kg_{mat.\ sec.}$

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

La présente procédure a pour objet de décrire une méthode de détermination quantitative par chromatographie liquide à haute performance des hydrocarbures aromatiques polycycliques contenus dans les sols.

2. Procédure

L'ensemble des prescriptions de la norme de référence internationale ISO 13859 : 2014 sont d'application, à l'exception des prescriptions spécifiques à la Région wallonne. Ces prescriptions spécifiques s'écartent ou limitent le choix de celles de la norme de référence internationale. Elles sont reprises, en gras, dans le tableau ci-dessous au sein de la colonne « Prescriptions CWEA». Les prescriptions y relatives qui sont reprises dans la norme de référence sont listées, pour information au sein de la colonne « Prescription norme de référence ».

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Echantillonnage, conservation et prétraitement	
(§9.1 de la norme de référence)	**Les échantillons bruts prélevés sur le terrain doivent être conservés dans des récipients appropriés, à l'abri de la lumière, à une température de 4°C et pendant une durée maximale de 7 jours. Cependant la conservation des échantillons bruts peut être augmentée à 2 semaines à 4°C pour l'analyse des HAP excepté le naphtalène et à 6 mois à -18°C pour l'ensemble des HAP.** **La norme ISO 18512 est à la base de ces critères de conservation.**
(§10.2.3 de la norme de référence)	**L'extraction par liquide pressurisé peut-être réalisée avec d'autres solvants ou mélanges de solvants. Dans ce cas, s'assurer que l'efficacité du mode opératoire d'extraction soit équivalente.**

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont :

Version précédente	Présente version
Norme de référence : ISO 13877 :1998	Norme de référence : ISO 13859 : 2014

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

Annexe 1 (informative)

Results of the interlaboratory comparison studies of the determination of PAH by GC-MC and HPLC in sludge and treated biowaste.

Matrix	l	n	n_0	x µg/kg	S_R µg/kg	$C_{V,R}$ %	S_r µg/kg	$C_{V,r}$ %	BD
Acenaphthene									
Sludge 1	14	44	2	87,2	55,9	64,1	13,0	14,9	4
Compost 1	7	17	2	5,5	2,0	36,8	0,5	9,6	16
Acenaphthylene									
Sludge 1	9	26	2	29,6	20,3	68,4	10,3	34,7	8
Compost 1	7	17	2	5,5	2,0	36,8	0,5	9,6	13
Anthracene									
Sludge 1	18	67	0	228	101,3	44,5	20,7	9,1	0
Compost 1	16	56	1	31,8	12,5	39,3	4,3	13,6	0
Benz(a)anthracene									
Sludge 1	16	60	0	977	297,2	30,4	141,6	14,5	1
Compost 1	15	60	0	369,0	131,8	35,7	58,6	15,9	0
Benzo(a)pyrene									
Sludge 1	17	58	1	820,0	304,0	37,1	64,3	7,8	0
Compost 1	15	53	1	381,1	83,1	21,8	54,0	14,2	0
Benzo(b)fluoranthene									
Sludge 1	16	57	1	1274	455,2	35,7	112,1	8,8	0
Compost 1	14	55	0	544	163,1	30,0	65,3	12,0	0
Benzo(g,h,i)perylene									
Sludge 1	17	54	2	694	218,7	31,5	52,8	7,6	0
Compost 1	16	56	1	314	157,7	50,3	36,0	11,5	0
Benzo(k)fluoranthene									
Sludge 1	16	61	0	590	156,6	26,5	52,0	8,8	0
Compost 1	15	56	1	236	44,5	18,8	33,4	14,1	0
Chrysene									
Sludge 1	16	53	2	1077	326,6	30,3	68,0	6,3	0
Compost 1	13	52	0	425	157,7	37,1	47,5	11,2	0
Dibenz(a,h)anthracene									
Sludge 1	16	53	2	194	80,2	41,4	14,7	7,6	0

Wallonie

Compost 1	14	43	0	74,3	28,2	38,0	10,6	14,2	1
Fluoranthene									
Sludge 1	17	60	1	2397	417,7	17,4	135,6	5,7	0
Compost 1	14	42	0	536	154,9	28,9	56,4	10,5	0
Fluorene									
Sludge 1	17	59	1	179	50,2	28,1	11,2	6,3	0
Compost 1	11	26	1	16,8	16,8	99,6	4,5	26,5	9
Indeno(1,2,3-cd)pyrene									
Sludge 1	16	61	0	768	277,4	36,1	73,8	9,6	2
Compost 1	14	42	0	304	89,3	29,4	27,1	8,9	1
Naphthalene									
Sludge 1	15	42	3	75,6	27,0	35,7	7,7	10,1	0
Compost 1	9	15	3	7,9	2,0	25,7	0,4	5,5	10
Phenanthrene									
Sludge 1	18	58	2	1200	357,0	29,7	60,4	5,0	0
Compost 1	16	60	0	107	35,9	33,6	10,9	10,2	0
Pyrene									
Sludge 1	17	58	1	1579	472,2	29,9	90,0	5,7	0
Compost 1	16	60	0	448	134,5	30,0	57,5	12,8	0
Total									
Sludge 1	16	59	1	12312	3598	29,2	782	6,4	0
Compost 1	16	61	0	3318	1021	30,8	712	21,5	0

l number of laboratories

n number of analytical results

n_o number of rejected laboratories

x total mean of analytical results (without outliers)

s_R reproducibility standard deviation

$C_{V,R}$ coefficient of variation of reproducibility

s_r repeatability standard deviation

$C_{V,r}$ coefficient of variation of repeatability

BD number of measurements below detection limit

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
S-III-3.2	2	20/01/2022
Dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) par GC/MS		

Descriptif		
Paramètre	16 HAP : naphtalène, acénaphtène, fluorène, phénanthrène, anthracène, fluoranthène, pyrène, benzo(a)anthracène, chrysène, benzo(b)fluoranthène, benzo(k)fluoranthène, benzo(a)pyrène, dibenzo(a,h)anthracène, benzo(g,h,i)périylène et indéno(1,2,3-cd)pyrène, acénaphtylène	
Référence normative	NBN EN 16181	2018

Domaine d'application	
Matrice	Sols

Critères de performance		
Limite inférieure de détection (LD) (normative)	0,01	$mg/kg_{mat.\ sec.}$
Incertitude (relative) de la mesure à la LQ	cf. Annexe 1 (a)	%
Gamme de travail (normative)		$mg/kg_{mat.\ sec.}$

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

La présente procédure a pour objet de décrire une méthode de détermination quantitative par chromatographie en phase gazeuse des hydrocarbures aromatiques polycycliques contenus dans les sols.

2. Procédure

L'ensemble des prescriptions de la norme de référence internationale NBN EN 16181 : 2018 sont d'application, à l'exception des prescriptions spécifiques à la Région wallonne. Ces prescriptions spécifiques s'écartent ou limitent le choix de celles de la norme de référence internationale. Elles sont reprises, en gras, dans le tableau ci-dessous au sein de la colonne « Prescriptions CWEA». Les prescriptions y relatives qui sont reprises dans la norme de référence sont listées, pour information au sein de la colonne « Prescription norme de référence ».

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Echantillonnage, conservation et prétraitement	
(§9.1 de la norme de référence)	**Les échantillons bruts prélevés sur le terrain doivent être conservés dans des récipients appropriés, à l'abri de la lumière, à une température de 4°C et pendant une durée maximale de 7 jours. Cependant la conservation des échantillons bruts peut être augmentée à 2 semaines à 4°C pour l'analyse des HAP excepté le Naphtalène et à 6 mois à -18°C pour l'ensemble des HAP.** **La norme ISO 18512 est à la base de ces critères de conservation.**

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

Annexe 1 (informative)

La norme NBN EN 16181 reprend des critères de reproductibilité et de répétabilité CV_R et CV_r.

Résultats des études comparatives interlaboratoires du dosage des HAP par CG-MS et HPLC dans les boues, les biodéchets traités et les sols

Paramètre	**Matrice**	l_0	l	n_0	n	x	S_R	CV_R	S_r	CV_r
						mg/kg	*mg/kg*	*%*	*mg/kg*	*%*
Naphtalène	Sol	29	27	87	81	0,079	0,031	39,25	0,009	11,85
	Compost	29	25	81	75	0,045	0,017	36,82	0,004	9,30
	Boue	29	26	84	78	0,048	0,021	44,53	0,008	17,06
Acénaphtylène	Sol	25	18	59	53	0,009	0,005	59,28	0,001	15,84
	Compost	25	17	59	50	0,020	0,008	41,77	0,003	13,46
	Boue	25	19	56	56	0,030	0,015	50,10	0,004	13,66
Acénaphtène	Sol	29	28	87	84	0,095	0,030	31,68	0,008	8,74
	Compost	29	25	81	74	0,025	0,010	41,26	0,002	9,65
	Boue	29	21	72	63	0,028	0,021	73,65	0,004	13,32
Fluorène	Sol	29	27	87	81	0,153	0,054	35,16	0,015	9,76
	Compost	29	23	81	69	0,051	0,020	38,56	0,004	7,04
	Boue	29	24	78	72	0,066	0,023	35,23	0,006	9,35
Phénanthrène	Sol	29	24	87	72	0,521	0,075	14,30	0,032	6,10
	Compost	29	28	87	84	0,282	0,095	33,61	0,018	6,25
	Boue	29	27	87	81	0,368	0,139	37,80	0,025	6,90
Anthracène	Sol	29	27	87	81	0,294	0,086	29,11	0,047	16,11
	Compost	29	26	84	78	0,046	0,019	41,53	0,005	0,48
	Boue	29	26	84	78	0,071	0,031	43,14	0,006	8,54
Fluoranthène	Sol	28	22	84	66	0,483	0,059	12,28	0,032	6,69

Wallonie

	Compost	29	28	87	84	0,525	0,121	22,96	0,028	5,24
	Boue	29	28	87	84	0,449	0,152	33,89	0,037	8,18
Pyrène	Sol	29	25	87	75	0,272	0,047	17,17	0,025	9,19
	Compost	29	28	87	83	0,377	0,106	28,17	0,026	6,98
	Boue	29	28	87	84	0,349	0,124	35,49	0,030	8,53
Benzo[a] anthracène	Sol	29	28	84	83	0,060	0,018	29,69	0,007	11,96
	Compost	29	24	84	72	0,223	0,059	26,47	0,013	5,66
	Boue	29	28	84	84	0,191	0,071	37,30	0,018	9,52
Chrysène	Sol	29	28	84	84	0,062	0,020	32,19	0,007	11,62
	Compost	29	26	84	78	0,246	0,076	30,65	0,017	6,83
	Boue	29	28	84	84	0,228	0,103	45,26	0,019	8,38
Benzo[b] fluoranthène	Sol	28	26	81	77	0,046	0,015	32,24	0,005	11,57
	Compost	28	27	84	81	0,281	0,120	42,61	0,020	7,12
	Boue	28	27	84	81	0,219	0,091	41,56	0,021	9,80
Benzo[k] fluoranthène	Sol	28	23	74	68	0,018	0,006	34,31	0,002	11,28
	Compost	28	25	84	75	0,115	0,037	31,96	0,012	10,29
	Boue	28	26	81	78	0,096	0,041	42,89	0,010	9,97
Somme du benzo[b+k] fluoranthène	Sol	29	25	84	75	0,062	0,016	25,47	0,006	9,74
	Compost	29	27	87	81	0,392	0,124	31,73	0,027	6,78
	Boue	29	28	87	84	0,313	0,116	37,15	0,028	8,83
Benzo[a]pyrène	Sol	29	26	80	77	0,02	0,005	26,26	0,003	14,69
	Compost	29	27	87	81	0,192	0,069	36,06	0,011	5,53
	Boue	29	29	87	87	0,149	0,06	39,97	0,012	8,02
Benzo[g,h,i]pérylène	Sol	28	23	77	68	0,015	0,004	29,01	0,002	10,71
	Compost	29	25	80	75	0,154	0,05	32,43	0,012	7,68

	Boue	28	26	81	78	0,116	0,056	47,81	0,010	8,92
Dibenzo[a,h] anthracène	Sol	27	16	50	47	0,005	0,004	86,02	0,001	14,57
	Compost	29	24	78	72	0,044	0,028	63,08	0,004	10,21
	Boue	27	22	68	65	0,034	0,023	68,18	0,005	13,43
Indéno[1,2,3-cd] pyrène	Sol	28	24	77	71	0,017	0,004	26,17	0,003	16,10
	Compost	29	25	84	75	0,150	0,044	29,22	0,013	8,77
	Boue	28	24	70	69	0,204	0,250	122,55	0,015	7,43
Somme des 16 HAP de l'EPA	Sol	29	27	87	81	2,251	0,673	29,91	0,162	7,21
	Compost	29	27	87	81	2,807	0,738	26,29	0,140	4,98
	Boue	29	28	87	84	2,745	0,95	34,60	0,164	5,97
Somme des 15 HAP de l'EPA (à l'exclusion de l'acénatphtylène)	Sol	29	27	87	81	2,242	0,672	29,99	0,160	7,16
	Compost	29	27	87	81	2,782	0,723	25,98	0,138	4,96
	Boue	29	28	87	84	2,726	0,95	34,84	0,163	5,98

l_o est le nombre de laboratoires participants.

l est le nombre de laboratoires après élimination des valeurs aberrantes.

n_O est le nombre de valeurs de mesures individuelles.

n est le nombre de valeurs de mesures individuelles sans les valeurs aberrantes.

x est la moyenne totale (sans les valeurs aberrantes).

S_R est l'écart-type de reproductibilité.

CV_R est le coefficient de variation de la reproductibilité.

S_r est l'écart-type de répétabilité.

CV_r est le coefficient de variation de la répétabilité.

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
S-III-4	3	20/01/2022

Détermination de l'indice hydrocarbure C_5-C_{11} et fractionnement aromatique/aliphatique, par chromatographie en phase gazeuse

Descriptif	
Paramètre	Indice hydrocarbure C_5-C_{11}
Référence normative	§ 12 de la présente procédure

Domaine d'application	
Matrice	tous les types de sols de granulométrie inférieure à 0,5 cm

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)	4	mg/kg sec
Incertitude à la LQ	-	%
Gamme de travail	4 à 100	mg/kg sec

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

La présente méthode de référence spécifie une procédure pour la détermination quantitative de l'indice hydrocarbure volatil C_5-C_{11} dans les sols (y compris les sédiments), les matières utilisées sur ou dans les sols et les déchets par chromatographie en phase gazeuse (GC) espace de tête statique (HS), couplée à un spectromètre de masse (MS). Elle spécifie également la méthode pour le fractionnement des hydrocarbures aromatiques et aliphatiques volatils.

2. Domaine d'application

La méthode est applicable à tous les types de sols de granulométrie inférieure à 0,5 cm. Dans les conditions spécifiées, la limite de quantification est de 4 mg/kg sec.

La limite de détermination dépend du matériel utilisé et de la qualité du méthanol utilisé pour l'extraction de l'échantillon de sol.

3. Définitions et abréviations

- **GC-MS :** Chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse.
- **HS :** Espace de tête statique
- **Indice hydrocarbure volatil :** Somme des concentrations des composés extractibles par le méthanol et dont les temps de rétention, en chromatographie gazeuse, sont compris entre ceux du n-pentane (C5) et du n-undécane (C11).
- **EC :** Le nombre d'équivalent carbone est défini comme le nombre relié au point d'ébullition d'un constituant, normalisé sur le point d'ébullition des n- alcanes et par conséquent sur leur temps de rétention sur une colonne apolaire en chromatographie gazeuse isotherme.

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

4. Principe

Extraction méthanolique activée par ultra-sons d'une prise d'essai représentative de l'échantillon, ajout d'une quantité connue de la solution méthanolique de bornage et dilution d'une part aliquote de l'extrait dans l'eau. Analyse par espace de tête statique et chromatographie gazeuse sur colonne capillaire, couplée à un spectromètre de masse. La mesure se fait en mode fullscan. La quantification des composés est réalisée par comparaison de l'aire du profil chromatographique (TIC), normalisée par la somme des aires des composés de bornage, avec la somme des aires des pics chromatographiques d'étalons externes, normalisée par la somme des aires des composés de bornage.

Remarque : Un détecteur FID peut également convenir. Cependant, dans une optique de détermination quantitative séparée des fractions aliphatiques et aromatiques, le spectromètre de masse est la solution préconisée.

Le fractionnement consiste en un retraitement du signal obtenu par le spectromètre de masse, en sélectionnant les ions spécifiques des hydrocarbures aliphatiques d'une part, et des hydrocarbures aromatiques d'autre part.

5. Conditionnement et conservation de l'échantillon

Les échantillons sont prélevés (éventuellement en double) dans des flacons hermétiques en verre avec un espace de tête minimum et conservés au frais (à 4 ± 2°C) à l'abri de la lumière maximum 4 jours.

Au-delà d'une semaine de conservation, les échantillons seront de préférence noyés sous un volume connu de méthanol (7.1) et conservés à 4 °C, maximum 1 mois. Possibilité d'immersion in situ de l'échantillon sous un volume connu de méthanol (7.1) sous réserve d'obtention d'un blanc de terrain.
Si des échantillons composites sont nécessaires, des extraits d'échantillons individuels seront mélangés.

6. Appareillages et matériels utilisés

- Cuillères, spatules et petit matériel de laboratoire ;
- Pipettes automatiques ;
- Flaconnages en verre de type EPA 40 ml, bouchons couronnes PE et septa silicone-teflon ;
- Balance analytique de précision 1mg ;
- Seringues ;
- Bain à ultrasons ;

- Flaconnages en verre de type 'Headspace' de 20 ml à bouchons couronnes en acier et septa silicone-teflon ;
- Four équipé d'un thermostat ;
- Système automatisé pour l'espace de tête statique, pouvant maintenir une température constante (entre 50 et 80 °C) ;
- Chromatographe en phase gazeuse ;
- Colonne de chromatographie capillaire en silice fondue, phase non polaire à semi-polaire (par exemple 6 % cyanopropyl phényl / 94 % diméthyl polysiloxane) avec une épaisseur de film supérieure à 1 µm, et une longueur d'au moins 30 m ;
- Spectromètre de masse capable de balayer la gamme de masse d'intérêt (35-265 uma), énergie des électrons d'impact à -70 eV ;
- Station informatisée d'acquisition et traitement du signal chromatographique.

7. Réactifs utilisés

7.1. méthanol(CH3OH)

La qualité utilisée doit être telle que le critère du blanc (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**) soit atteint.

7.2. Substances étalons de haute qualité

- n-hexane (C6H14)
- 2,2,4-triméthylpentane (C8H18) (encore appelé iso-octane ou i-octane)
- toluène (C7H8)
- 1,2,4-triméthylbenzène (C9H12)
- n-décane (C10H22)
- n-pentane (C5H12)
- n-undécane (C11H24)

7.3. eau ultrapure

7.4. Hélium He 6.0

7.5. NaCl pour analyse

7.6. Sable de mer

Purifié à l'acide et calciné

ISSeP
Institut scientifique de service public

8. Préparation des réactifs

8.1. Préparation des solutions d'étalonnage

8.1.1. Solution mère d'étalons à 5g/l dans le méthanol

Diluer dans 10 ml de méthanol (7.1) en contrôlant précisément par pesée, les constituants (7.2) suivants :

- 13,8 µl de n-décane
- 11,4 µl de 1,2,4-triméthylbenzène
- 11,5 µl de toluène
- 14, 5 µl de i-octane
- 15,1 µl de n-hexane

La concentration individuelle finale des constituants est d'environ 1 g/l.
Cette solution est conservée à -18 °C, dans l'obscurité. Elle reste stable 6 mois.

8.1.2. Solutions d'étalonnage

Diluer dans 15 ml de méthanol (7.1), en contrôlant précisément par pesée, par exemple 0, 10, 50, 100, 150 et 200 µl de solution mère d'étalons (8.1.1). Ajouter 30 µl de solution mère de bornage (8.2). Diluer 300 µl de cette solution méthanolique, dans 15 ml d'eau (7.3). La concentration totale dans l'eau est respectivement d'environ 0, 67, 333, 665, 998, 1331 µg/l.

8.2. Préparation de la solution mère de bornage (C5-C11)

Diluer dans 10 ml de méthanol (7.1), en contrôlant précisément par pesée, 100 µl de n-pentane (7.2) et 100 µl de n-undécane (7.2). La concentration est de 6,14 g/l en n-pentane et 7,26 g/l en n-undécane.
La solution est conservée au réfrigérateur (4 ± 2 °C). Elle reste stable 1 mois.

9. Mode opératoire

9.1. Extraction

Prélever environ 10 g d'échantillon dans un flacon de type EPA de 40 ml préalablement taré. Peser pour déterminer précisément la masse d'échantillon. Remplir alors le flacon avec 15 ml de méthanol (7.1). Doper la solution méthanolique avec 30 µl de la solution mère de bornage (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). Chaque ajout est contrôlé par pesée.
Agiter le flacon 1 minute puis le placer dans un bain à ultrason pendant 30 minutes. Laisser décanter au réfrigérateur durant une nuit (la sédimentation peut être accélérée par centrifugation).

Wallonie

Verser 15 ml d'eau ultrapure (7.3) dans un flacon HS préalablement taré avec 4,5 g d'NaCl (7.5) et peser ensuite. Ajouter 300 µl de l'extrait méthanolique, et refermer hermétiquement.

Remarque : La concentration en méthanol dans l'eau, ne peut excéder 2% (V/V) afin d'éviter les interférences avec l'équilibre de répartition.

9.2. Essai à blanc

Pour chaque série d'essais, effectuer dans les mêmes conditions que la détermination, un essai à blanc où l'échantillon est remplacé par 10 g de sable (7.6). Si nécessaire, la valeur des échantillons peut être corrigée par le blanc. Si les valeurs de blanc sont exceptionnellement élevées (supérieures à la limite de quantification validée), chaque étape de la procédure doit être vérifiée pour en trouver la raison, et la limite de quantification doit être adaptée.

9.3. Essai de contrôle

Pour chaque série d'essais, préparer un point de contrôle avec une concentration au centre de la gamme de mesurage. La préparation est indépendante de celle des solutions étalons (8.1.2).

9.4. Thermostatisation

Conditionner le flacon HS à une température entre 70 et 80 °C pendant au moins 30 minutes.

9.5. Analyse par chromatographie en phase gazeuse (GC-MS)

9.5.1. Réglage de l'appareillage

9.5.1.1. Système pour l'espace de tête

Un exemple de conditions HS est donné ci-dessous :
- Température de la seringue : 80 °C ;
- Température du four d'incubation : 70 °C ;
- Temps d'incubation : 35 minutes ;
- Agitation : faible.

Le paramétrage va dépendre du type d'appareillage utilisé.

9.5.1.2. Chromatographe en phase gazeuse

Un exemple de conditions GC est donné ci-dessous :
- Colonne : Rtx®-624 30 m x 0,25 mm x 1,4 µm ;
- Technique d'injection : split (ratio 1/100) ;
- Température d'injection : 220 °C ;
- Volume d'injection : 2 ml ;
- Gaz vecteur : hélium (7.4) ;
- Programme de température du four : 35 °C (0:00 min) 15 °C/min / 182 °C (0:00 min) 120 °C/min / 220 °C (1:00 min).

9.5.1.3. Spectromètre de masse

Un exemple de conditions MS est donné ci-dessous :
- Température ligne de transfert : 220 °C ;
- Mode d'ionisation: impact électronique ;
- Courant d'émission : 50 µA ;
- Énergie des électrons : 70 eV ;
- Température de la source : 280 °C ;
- Masses mesurées : balayage de 35 à 265 uma ;
- Etalonnage en masse : sur le PFTBA (CAS : 311-89-7).

9.5.2. Etalonnage

9.5.2.1. Test de linéarité initial

Lorsque la méthode est utilisée pour la première fois, effectuer un test de linéarité (cf. ISO 8466-1) dans le domaine de travail choisi en analysant au moins les cinq dilutions du mélange étalon (8.1.2).

9.5.2.2. Etalonnage de routine

Analyser un minimum de cinq dilutions du mélange étalon comme repris en 8.1.2.
Calculer la fonction d'étalonnage par une analyse de régression linéaire des aires de pic.

9.5.3. Mesurage

Injecter, dans l'ordre croissant, les solutions du mélange d'étalonnage (8.1.2), l'essai de contrôle (9.2), l'essai à blanc (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**), les échantillons, et un contrôle (9.2) tous les 10 échantillons.

ISSeP
Institut scientifique de service public

9.5.4. Intégration

Si nécessaire, corriger chaque chromatogramme en soustrayant le « bleeding » de la colonne enregistré.
Intégrer le chromatogramme entre le n-pentane et le n-undécane. Démarrer l'intégration juste après le pic du n-pentane au niveau du signal pris avant le pic du solvant ou juste après le pic du n-pentane au niveau du signal de ce pic suivant l'efficacité de la soustraction du « bleeding ». Mettre un terme à l'intégration juste avant le début du pic du n-undécane sur le même niveau de signal. Vérifier tous les chromatogrammes visuellement pour garantir une interprétation correcte.

10. Calcul

Les intégrations des chromatogrammes sont vérifiées manuellement et ajustées si nécessaire.

L'aire (TIC) entre C_5 et C_{11} est rapportée sur la somme des aires des bornes :

$$A_{corr}(x) = \frac{A(x)}{A(C_5) + A(C_{11})}$$

Si l'échantillon contient du C_5 et/ou du C_{11}, il peut être nécessaire de travailler sans correction.

La concentration dans l'extrait aqueux (µg/l) est déterminée par la régression linéaire.
L'indice hydrocarbure volatil peut alors se calculer comme suit :

$$\text{Indice hydrocarbure volatil } C_5\text{-}C_{11} \text{ (mg/kg sec)} = \frac{C}{1000} \times \frac{m_1 \times m_3}{m_2 \times m_4} \times \frac{100}{MS}$$

C = concentration dans l'extrait (en µg/l)
m_1 = masse totale dans le flacon HS (eau + solution méthanolique ; en g)
m_2 = masse de la solution méthanolique ajoutée à l'eau (en g)
m_3 = masse totale de méthanol lors de l'extraction (en g)
m_4 = masse de l'échantillon brut (en g)
MS = matières sèches (en %)

Wallonie

Dans le cadre du Décret relatif à la gestion des sols du 5 décembre 2008, le fractionnement suivant est réalisé :

- EC5-EC8
- EC8-EC10
- (EC10-EC11)

Les bornes d'intégration sont placées aux temps de rétention correspondants des n-alcanes (C_8 et C_{10}), les aires de chaque fraction sont mesurées et le calcul de proportion relative est effectué sur base de l'aire totale C_5-C_{11}.

Le calcul pour le fractionnement aliphatique-aromatique est réalisé de la même façon. Les masses spécifiques des aliphatiques (41+43+55+56+57+69+70+71+84+85) et des aromatiques (78+91+104+105+117+118+119+120+134) sont utilisé au lieu du signal TIC.

Le tableau ci-dessous détaille les divisions et les composés servant de bornes pour ces fractions.

Fraction aliphatique (F1)	
Fraction en EC	**Composés servant de borne**
EC_5 – EC_6	n-pentane – n-hexane
EC_6 – EC_8	n-hexane – n-octane
EC_8 – EC_{10}	n-octane – n-décane

Fraction aromatique (F2)	
Fraction en EC	**Composés servant de borne**
EC_5 – EC_7	benzène *
EC_7 – EC_8	toluène *
EC_8 – EC_{10}	éthylbenzène – 1,2,4-triméthylbenzène

* : seul constituant se trouvant la fraction

11. Sécurité

Il convient de toujours garder à l'esprit que de nombreuses substances volatiles sont toxiques (par absorption cutanée, inhalation, ingestion). Port de gants, de lunettes, de vêtements de protection et travail sous hotte sont recommandés.

La pratique de la chromatographie en phase gazeuse présente des risques de brûlures ainsi que de blessures oculaires. Port de gants et de lunettes de protection sont recommandés. Les résidus d'extraits méthanoliques doivent être éliminés dans le respect de la réglementation.

12. Références

- **ISO 16558-1 : 2015** Qualité du sol – Hydrocarbures de pétrole à risque – Partie 1 : Détermination des fractions aliphatiques et aromatiques des hydrocarbures de pétrole volatils par chromatographie en phase gazeuse (méthode par espace de tête statique)

- **VITO CMA/3/R.3 :2014** Petroleum Koolwaterstoffen

- **ISO 11504 :2017** Qualité du sol – Evaluation de l'impact du sol contaminé avec des hydrocarbures pétroliers

- **ISO 14507 :2003** Qualité du sol – Prétraitement des échantillons pour la détermination des contaminants organiques.

- **ISO 18512 : 2007** Qualité du sol – Lignes directrices relatives au stockage des échantillons de sol à long et à court termes.

- **ISO 11465 :1993** Qualité du sol – Détermination de la teneur pondérale en matière sèche et en eau – Méthode gravimétrique.

- **ISO 22155 :2016** Qualité du sol – Dosage des hydrocarbures aromatiques et halogénés volatils et de certains éthers par chromatographie en phase gazeuse – Méthode par espace de tête statique.

- **ISO 8466-1 : 1990** Qualité de l'eau – Étalonnage et évaluation des méthodes d'analyse et estimation des caractères de performance – Partie 1 : Évaluation statistique de la fonction linéaire d'étalonnage.

- **XP T 90-124 :2009** Qualité de l'eau – Détermination de l'indice hydrocarbure volatil – Méthode par chromatographie en phase gazeuse de l'espace de tête statique avec détection par ionisation de flamme

- **EPA METHOD 5021 :2014** Volatil organic compounds in soils and other solid matrices using equilibrium headspace analysis

13. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
S-III-5	5	20/01/2022

Détermination de l'indice hydrocarbure C_{10}-C_{40} par chromatographie en phase gazeuse

Descriptif		
Paramètre	Indice hydrocarbure C_{10}-C_{40}	
Référence normative	NBN EN 14039 ISO 16703	2004 2004

Domaine d'application	
Matrice	Sols Sédiments Matières utilisées sur ou dans les sols

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)	50	mg/kg
Incertitude	47 (b)	%
Gamme de travail	50 à 10000	mg/kg

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

Cette procédure a pour objet de décrire une méthode de détermination de l'indice hydrocarbure C10-C40 par chromatographie en phase gazeuse (GC) et détection par ionisation de flamme (FID) dans les sols (y compris les sédiments), les matières utilisées sur ou dans les sols et les déchets.

2. Procédure

L'ensemble des prescriptions des normes de référence internationales NBN EN 14039 :2004 / ISO 16703:2004sont d'application, à l'exception des prescriptions spécifiques à la Région wallonne. Ces prescriptions spécifiques s'écartent ou limitent le choix de celles des normes de référence internationales. Elles sont reprises, en gras, dans le tableau ci-dessous au sein de la colonne « Prescriptions CWEA». Les prescriptions y relatives qui sont reprises dans les normes de référence sont listées, pour information au sein de la colonne « Prescription norme de référence ».

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Termes et définitions	
§3.1 de la norme de référence	**L'hexane peut être utilisé à la place de l'heptane.**
Réactifs	
§6.3 de la norme de référence	**L'hexane, l'isohexane ou le n-heptane peuvent également être utilisés. La qualité utilisée doit être telle que le critère du blanc soit atteint.**
§6.4 de la norme de référence	**Le silicate de magnésium est activé à 600 °C pendant 16 heures.** **Ou colonne de purification commerciale : 5 g de Florisil®, capacité 25 ml.**
§6.5 de la norme de référence	**Le sulfate de sodium anhydre est traité à 600 °C pendant 16 heures, puis stocké dans un dessicateur.**

Wallonie

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
§6.6 de la norme de référence	**Peser 200 mg de stéarate de stéaryle.** **Ajuster au trait le jaugé de 100 ml avec la solution étalon RTW.** **La solution doit être hermétiquement fermée et conservée au frigo.**
§6.9 de la norme de référence	**Préparer une solution de contrôle indépendante (autre origine que la courbe d'étalonnage) avec une concentration en hydrocarbure au centre de la gamme de mesurage.** **Des concentrations plus élevées peuvent être recommandées pour d'autres applications.**
§6.11 de la norme de référence	**Utiliser au moins 3 g de Florisil® pour 5 g d'échantillon brut.**
§6 de la norme de référence	**sulfate de magnésium heptahydraté ($MgSO_4.7H_2O$)**
Appareillage	
§8.4 de la norme de référence	Colonne pour chromatographie en phase gazeuse : **colonne capillaire avec une phase apolaire (95 % diméthyl/5 % diphénylpolysiloxane de 5 à 25 m de long avec un diamètre interne de 0.10 à 0.32 mm et une épaisseur de film de 0.1 à 0.25 µm).**
Conservation et prétraitement des échantillons	
§9 de la norme de référence	**Prélever les échantillons dans des pots en verre brun.** **Les échantillons sont conservés hermétiquement à l'abri de la lumière à une température de** **4 ± 2 °C et extraits dans la semaine. Si les échantillons sont séchés avec du Na2SO4, ils peuvent être conservés un mois au réfrigérateur.**

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Mode opératoire	
§10.1 de la norme de référence	**L'échantillon est remplacé par 10 ou 20 g de sulfate de sodium anhydre.**
en plus de la norme	**Préparation de l'échantillon :** Verser le contenu sur une feuille à revêtement téflonné ou faire un ou plusieurs carottages dans le pot à l'aide d'un évideur de ± 15 mm de diamètre. Eliminer les pierres et autres matériaux non broyables ayant un diamètre supérieur à 10 mm et prendre ± 50 g d'échantillon représentatif (peser au trébuchet). Ajouter le même poids de sulfate de sodium anhydre si le solide contient de 50 à 100 % de matières sèches, ajouter 2 à 3 fois le poids de l'échantillon pour les boues contenant 10 à 50 % de matières sèches et ajouter 4 fois le poids de l'échantillon pour les matières contenant moins de 10 % de matières sèches (par exemple les digestats de biométhanisation) Homogénéiser rapidement au pilon de façon à obtenir une poudre fine et sèche. Dans le cas particulier de déchets de type shredder qui contient des matières plastiques, un séchage à l'étuve à 40 °C suivi d'un broyage cryogénique est nécessaire de façon à obtenir un échantillon représentatif de granulométrie de 4 mm.

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
§10.3 de la norme de référence	Avant utilisation, rincer la verrerie au solvant (6.3). **Extraction :** Méthode par extraction à chaud et sous pression : Les échantillons mélangés avec du sulfate de sodium anhydre (6.5) sont extraits à chaud et sous pression. Peser les cellules non remplies. Remplir la cellule avec 10 à 20 g d'échantillons additionnés du sulfate de sodium anhydre (6.5). Placer les cellules sur le carrousel de l'appareil. Equiper celui-ci des fioles adéquates de 40 ou 60 ml suivant la capacité de la cellule choisie. Extraire au mélange n-hexane/acétone 50/50 v/v. Exemple de paramètres d'extraction : Chauffage : 5 minutes Extraction statique : 5 minutes Pression d'extraction : 2000 psi Température d'extraction : 100 °C Volume de purge : 60 % Temps de purge : 150 secondes Nombre de cycle : 1 Nombre d'extraction par cellule : 1 Solvant : n-hexane/acétone : 50/50 v/v Transvaser l'extrait dans une ampoule à décanter de 500 ml. Rincer le flacon avec 2x10 ml de la solution fille du solvant d'extraction (6.7). Pour enlever l'acétone, laver l'extrait avec 250 ml d'une solution aqueuse saturée en sulfate de magnésium heptahydraté (80 g/l) **en agitant l'ampoule pendant 3 minutes**. Evacuer la phase aqueuse. Répéter l'opération de lavage avec 250 ml de la solution aqueuse saturée en sulfate de magnésium heptahydraté (80 g/l) en agitant l'ampoule pendant 3 minutes.

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
	Evacuer la phase aqueuse. Filtrer la phase organique sur du sulfate de sodium anhydre (6.5) et récupérer dans un erlenmeyer de 100 ml. Rincer l'ampoule et le sulfate du filtre avec la solution fille du solvant d'extraction (6.7). Remarque : il est très important que l'extrait soit exempt d'acétone (< 0,1 % vol), sinon la purification sera incomplète et les résultats pourront être surestimés. Méthode soxhlet : Les échantillons mélangés avec du sulfate de sodium anhydre sont extraits au soxhlet. pendant 16 h moyennant un lavage préliminaire de la cartouche et du tampon de laine de verre à l'hexane. Dans le cas particulier de déchets de type shredder qui contient des matières plastiques, extraire l'échantillon à l'hexane et non avec le mélange hexane/acétone et uniquement en soxhlet pendant 2 heures pour éviter la co-extraction de certains polymères. Procéder ensuite au lavage et au séchage de l'extrait comme défini ci-dessus. **Purification :** **Utiliser au moins 3 g de Florisil® pour 5 g d'échantillon brut** Colonne commerciale (5 g –capacité 25 ml) : Placer environ 1 g (± 1 cm) de sulfate de sodium anhydre sur la colonne de purification. Conditionner la colonne de Florisil® (6.4) avec un

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
	volume au moins égal à la hauteur du Florisil® de solution fille du solvant d'extraction (jusqu'au-dessus de la colonne). Eluer l'échantillon. Rincer l'échantillon avec 3x 10 ml de la solution fille du solvant d'extraction. Colonne à remplir : Remplir la colonne de purification avec un morceau de laine de verre, 5 g de Florisil® en tapotant légèrement et avec environ 1cm de sulfate de sodium anhydre. Conditionner la colonne avec un volume au moins égal à la hauteur du Florisil® de solution fille du solvant d'extraction. Eluer l'échantillon. Rincer l'échantillon avec 3x 10 ml avec la solution fille du solvant d'extraction. Remarque : Une saturation de la colonne de purification peut avoir lieu à cause des graisses (esters d'acides gras) présentes dans les échantillons de type boues de station d'épuration. Cette saturation se remarque visuellement et un second passage sur une nouvelle colonne est alors nécessaire pour ne pas surestimer la teneur en hydrocarbures. **Concentration :** Concentrer l'extrait purifié sous flux d'azote jusqu'à 1 ml. Transvaser l'extrait à la pipette pasteur dans une fiole préalablement pesée. Rincer les parois du tube avec la solution fille du solvant d'extraction. Peser la fiole contenant l'extrait avec la balance analytique de précision 1 mg. Déterminer le volume exact grâce à la pesée (volume final : 1 à 2 ml).

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
	Cette concentration doit se faire en douceur pour éviter la perte des volatils éventuels. Cette concentration peut ne pas être nécessaire si les échantillons présentent un taux élevé d'hydrocarbures ou si l'injection large volume est utilisée.
§10.4.3 de la norme de référence	**Analyser un minimum de cinq dilutions du mélange étalon.** **Calculer la fonction d'étalonnage par une analyse de régression linéaire, pondérée ou non, des aires de pic. Cet étalonnage est effectué toutes les 6 semaines ou lorsque le contrôle montre une dérive de plus de 10 %.**
§10.5 de la norme de référence	**Dans le cadre du Décret relatif à la gestion des sols du 5 décembre 2008, le fractionnement suivant est réalisé :** **>EC_{10}-EC_{12}** **>EC_{12}-EC_{16}** **>EC_{16}-EC_{21}** **>EC_{21}-EC_{35}** **(>EC_{35}-EC_{40}<)** **Les bornes d'intégration sont placées juste après les temps de rétention correspondants des n-alcanes (C_{12}, C_{16}, C_{21} et C_{35}), les aires de chaque fraction sont mesurées et le calcul se fait sur base de l'aire totale C_{10}-C_{40}.**
§10.6.1 et §10.6.2 de la norme de référence	**Vérifier l'aptitude du Florisil® à chaque nouveau lot et au moins une fois tous les deux mois.**
§10 de la norme de référence	**Deux fois par an, effectuer six essais avec un matériau de référence certifié.** **Les résultats de ces essais doivent se situer dans l'intervalle de confiance donné dans le certificat.**

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

S-III-7V3 – FRACTIONNEMENT DES HYDROCARBURES AROMATIQUES ET ALIPHATIQUES SEMI-VOLATILS ET QUANTIFICATION PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE

1. Objet

Cette procédure a pour objet de décrire une méthode de fractionnement des hydrocarbures aromatiques et aliphatiques semi-volatils des sols (y compris les sédiments), des matières utilisées sur ou dans les sols et des déchets ainsi que leur quantification par chromatographie en phase gazeuse (GC) et détection par ionisation de flamme (FID).

2. Domaine d'application

La méthode est applicable aux échantillons de sols (y compris les sédiments), de matières utilisées sur ou dans les sols et de déchets et permet la détermination des hydrocarbures aliphatiques et aromatiques semi-volatils pour des concentrations supérieures à 50 mg/kg.

3. Définitions et abréviations

GC-FID : Chromatographe en phase gazeuse - Détecteur à ionisation de flamme.

Indice hydrocarbure fractionné C_{10}-C_{40} : somme des concentrations des composés extractibles par un mélange d'heptane (ou d'hexane) et d'acétone, non adsorbés par la silice et dont les temps de rétention, en chromatographie gazeuse, sont compris entre ceux du n-décane et du n-tétracontane pour la fraction aliphatique et ceux du 1,2,4-triméthylbenzène et du benzo(g,h,i)pérylène pour la fraction aromatique.

Dans cet indice, sont repris les n-alcanes compris entre le $C_{10}H_{22}$ et le $C_{40}H_{82}$, les iso-alcanes, les cycloalcanes pour la fraction aliphatique; et les alkylbenzènes, les alkylnaphtalènes et les composés aromatiques polycycliques non retenus sur la silice, dans la fraction aromatique.

EC : Le nombre d'équivalent carbone est défini comme le nombre relié au point d'ébullition d'un constituant, normalisé sur le point d'ébullition des n- alcanes et par conséquent sur leur temps de rétention sur une colonne apolaire en chromatographie gazeuse isotherme.

ORIGINAL 2014

4. Principe

Extraction des hydrocarbures d'une quantité connue d'échantillon à analyser par un mélange hexane/acétone (50/50 v/v).

Séparation de la phase organique et lavage de celle-ci deux fois avec de l'eau saturée en sulfate de magnésium heptahydraté.

Purification et séparation sur colonne de silice.

Analyse par GC-FID. Mesurage de l'aire totale de pics entre le n-décane (C_{10}) et le n-tétracontane (C_{40}) pour la fraction aliphatique; et entre le 1,2,4-triméthylbenzène (EC_{10}) et le benzo(g,h,i)pérylène (EC_{35}) pour la fraction aromatique.

Quantification de ces fractions par rapport à un étalon externe composé de diesel et d'huile moteur.

5. Conditionnement et conservation de l'échantillon

Prélever les échantillons dans des pots en verre brun.

Les échantillons sont conservés hermétiquement à l'abri de la lumière à une température de (4 ± 2) °C et extraits dans la semaine. Si les échantillons sont séchés avec du Na_2SO_4, ils peuvent être conservés un mois au réfrigérateur.

6. Appareillages et matériels utilisés

- Chromatographe en phase gazeuse et détecteur à ionisation de flamme.
- Colonne capillaire avec une phase apolaire (95 % diméthyl/5 % diphénylpolysiloxane de 5 à 25 m de long avec un diamètre interne de 0,10 à 0,32 mm et une épaisseur de film de 0,1 à 0,25 µm).
- Suivant la méthode choisie :
  - extracteur à chaud et sous pression, cellules d'extraction de 11 ou 22 ml,
  - soxhlet d'une capacité de 100 ml, un ballon de 250 ml, un condenseur à reflux, un manteau chauffant et cartouche en fibres de verre,
- Concentrateur sous azote et tubes.
- Trébuchet de précision 0,1 g.
- Balance analytique de précision 1 mg.
- Erlenmeyer de 2 l et 100 ml.
- Fioles jaugées de 5 ml, 10 ml et 20 ml.
- Ampoules à décanter de 500 ml munies d'un robinet en Téflon.
- Pipettes Pasteur.
- Entonnoirs en verre.
- Pipettes automatiques.
- Colonnes de chromatographie de 1,5 cm de diamètre et ± 25 cm de long. long ou colonne en polypropylène type SPE (8 cm x 2 cm de diamètre : volume 25 ml). Ces colonnes ne peuvent être utilisées que lorsque l'on traite des échantillons contaminés ou ayant une

ORIGINAL 2014

teneur en matière sèche supérieur à 20 %. En effet, les blancs de ces cartouches peuvent donner des blancs plus élevés.
- Filtres en papier, ø 110 mm.
- Mortier et pilon en porcelaine.

7. Réactifs utilisés

7.1. Eau ultrapure milliQ

7.2. n-hexane (C_6H_{14})
L'isohexane ou le n-heptane peuvent également être utilisés. La qualité utilisée doit être telle que le critère du blanc (10.4) soit atteint.

7.3. Sulfate de magnésium heptahydraté ($MgSO_4.7H_2O$)

7.4. Sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4)
Traité à 600 °C pendant 16 heures, puis stocké dans un dessiccateur.

7.5. Gel de silice 60 (SiO_2, 0,06–0,200 mm)
Traitée à 130 °C pendant 16 heures, puis stocké dans un dessiccateur.

7.6. Mélange Mazout-Huile (1/1)
Mélange contenant 50 % de diesel sans additifs et 50 % d'huile lubrifiante sans additifs.

7.7. Mélange Mazout-Huile pour la solution de contrôle indépendante
Autre fournisseur que le mélange précédent.

7.8. Mélange étalon de n-alcanes
Mélange des n-alcanes pairs du C_{10} au C_{40} à 500 µg/ml/alcane.

7.9. Acétone (CH_3COCH_3)
La qualité utilisée doit être tel que le critère du blanc (10.4) soit atteint.

7.10. Hélium 6.0

7.11. Hydrogène

7.12. Air sec

7.13. Azote 4.8

7.14. Dichlorométhane (CH_2Cl_2)
La qualité utilisée doit être tel que le critère du blanc (10.4) soit atteint.

7.15. Mélange étalon de PAH (hydrocarbures aromatiques polycycliques)
Mélange de 16 PAH (naphtalène, acénaphtylène, acénaphtène, fluorène, phenanthrène, anthracène, fluoranthène, pyrène, benzo(a)anthracène, chrysène, benzo(b)fluoranthène, benzo(k)fluoranthène, benzo(a)pyrène, dibenz(a,h)anthracène, indeno(1,2,3,c,d)pyrène et benzo(g,h,i)périylène) avec une concentration de 100 ng/µl.

ORIGINAL 2014

7.16. 1,2,4-triméthylbenzène (C_9H_{12})

7.17. n-heneicosane ($C_{21}H_{44}$)

7.18. n-pentatriacontane ($C_{35}H_{72}$)

7.19. limonène ($C_{10}H_{16}$)

8. Préparation de l'échantillon

Verser le contenu sur une feuille à revêtement téflonné ou faire un ou plusieurs carottage dans le pot à l'aide d'un évideur de ± 15 mm de diamètre . Eliminer les pierres et autres matériaux non broyables ayant un diamètre supérieur à 10 mm et prendre ± 50 g d'échantillon représentatif (peser au trébuchet). Ajouter le même poids de sulfate de sodium anhydre (7.4) si le solide contient 50 à 100 % de matières sèches et ajouter 2 fois le poids de l'échantillon pour les boues contenant moins de 50 % de matières sèches .
Homogénéiser rapidement au pilon de façon à obtenir une poudre fine et sèche.

9. Préparation des réactifs

9.1. Mélanges d'huiles minérales

9.1.1. Mélange étalon

Peser 200 mg d'un mélange Mazout-Huile (1/1) (7.6).
Ajuster au trait le jaugé de 20 ml avec du n-hexane (7.2).
La solution obtenue a une concentration en hydrocarbure totale d'environ 10 mg/ml.
La solution est stable 6 mois.

9.1.2. Mélanges d'étalonnage

Les concentrations suivantes peuvent être appropriées : 0,1 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,5 ; 0,8 ; 1,0 ; 2,0 ; 4,0 et 5,0 mg/ml.

Pipeter : - 100 µl du mélange étalon (9.1.1) dans un jaugé de 10 ml;
- 100, 200, 250, 400, 500 et 1000 µl du mélange étalon (9.1.1) dans 6 jaugés de 5 ml ;
- 800, 1000 µl du mélange étalon (9.1.1) dans 2 jaugés de 2 ml.

Ajuster au trait avec du n-hexane (7.2).
Les solutions sont conservées à 4 °C dans des récipients hermétiquement fermés.
Les solutions sont stables 6 semaines.

ORIGINAL 2014

9.1.3. Solution de contrôle

Préparer une solution de contrôle indépendante (7.7) (autre origine que la courbe d'étalonnage), avec une concentration en hydrocarbure au centre de la gamme de mesurage.

Des concentrations plus élevées peuvent être recommandées pour d'autres applications.

En cas d'injection large volume, adapter les concentrations des étalons.

9.2. Mélange étalon de n-alcanes

Diluer 10x le mélange étalon de n-alcanes (7.8) avec de l'hexane (7.2).
La solution obtenue a une concentration d'environ 50 µg/ml des composés individuels.

9.3. Solution-test de fractionnement

Dans un jaugé de 10 ml, ajouter : 700 µl du mélange des n-alcanes (7.8),
1700 µl du mélange des 16 PAH (7.15),
190 µl 1,2,4-triméthylbenzène (7.16) dilué 1000x,
40 µl d'une solution à 10 g/l de n-heneicosane (7.17),
40 µl d'une solution à 10 g/l de n-pentatriacontane (7.18),
500 µl limonène (7.19).

Ajuster au trait avec de l'hexane (7.2).
La solution est conservée à 4 °C dans un récipient hermétiquement fermé.
Concentrations par composé : 35 µg n-alcane /ml
17 µg PAH /ml
16,8 µg 1,2,4-triméthylbenzène /ml
42 µg n-heneicosane /ml
42 µg n- pentatriacontane /ml
42 µg limonène /ml

ORIGINAL 2014

10. Mode opératoire

Avant utilisation, rincer la verrerie à l'hexane (7.2).

10.1. Extraction

Méthode par extraction à chaud et sous pression :

Les échantillons mélangés avec du sulfate de sodium anhydre (7.4) sont extraits à chaud et sous pression.
Peser les cellules non remplies.
Remplir la cellule avec 10 à 20 g d'échantillons additionnés du sulfate de sodium (7.4)
Placer les cellules sur le carrousel de l'appareil.
Equiper celui-ci des fioles adéquates de 40 ou 60 ml suivant la capacité de la cellule choisie
Extraire au mélange n-hexane(7.2) /acétone(7.9) 50/50 v/v.

Paramètres d'extraction : Chauffage : 5 minutes
Extraction statique : 5 minutes
Pression d'extraction : 2000 psi
Température d'extraction : 100 °C
Volume de purge : 60 %
Temps de purge : 150 secondes
Nombre de cycle : 1
Nombre d'extraction par cellule : 1
Solvant : hexane/acétone : 50/50 v/v

Transvaser l'extrait dans une ampoule à décanter de 500 ml.
Rincer le flacon avec 2x10 ml avec du n-hexane (7.2).
Pour enlever l'acétone, laver l'extrait avec 250 ml d'une solution aqueuse saturée en sulfate de magnésium heptahydraté (80 g/l) (7.3) **en agitant l'ampoule pendant 3 minutes.**
Evacuer la phase aqueuse.

Répéter l'opération de lavage avec 250 ml de la solution aqueuse (0) saturée en sulfate de magnésium heptahydraté (80 g/l) (7.3) en agitant l'ampoule pendant 3 minutes.
Evacuer la phase aqueuse.
Filtrer la phase organique sur du sulfate de sodium anhydre (7.4) et récupérer dans un erlenmeyer de 100 ml.
Rincer l'ampoule et le sulfate du filtre avec du n-hexane (7.2).

Remarque : il est très important que l'extrait soit exempt d'acétone (< 0,1 % vol), sinon la purification sera incomplète.

Méthode soxhlet :

Les échantillons mélangés avec du sulfate de sodium anhydre sont extraits au soxhlet pendant 16 h, moyennant un lavage préliminaire de la cartouche et du tampon de laine de verre à l'hexane

Procéder ensuite au lavage et au séchage de l'extrait comme défini ci-dessus.

ORIGINAL 2014

10.2. Concentration

Concentrer l'extrait sous flux d'azote jusqu'à 1 ml.
Transvaser l'extrait à la pipette pasteur dans une fiole.
Rincer les parois du tube avec du n-hexane (7.2).
Cette concentration doit se faire en douceur pour éviter la perte des volatils éventuels.

10.3. Fractionnement

Une colonne est préparée avec successivement 3 g de silice (7.5), et 1 g de sulfate de sodium anhydre (7.4). La colonne est alors lavée avec 15 ml d'hexane (7.2).

L'extrait est déposé intégralement sur celle-ci. La fiole est rincée 3 fois avec 1 ml d'hexane (7.2), et on élue avec 17 ml d'hexane (7.2). Cette première fraction, appelée « F1 », ne contient que les aliphatiques apolaires.
On continue l'élution avec cette fois 15 ml d'un mélange 70/30 en volume d'hexane (7.2) et de dichlorométhane (7.14). Cette deuxième fraction, appelée « F2 », contient les aromatiques apolaires.
Ces fractions sont alors de nouveau concentrées (10.2), et leur poids, déterminé.

Remarque : adapter la concentration suivant le type d'injection (large volume, ou pas).

10.4. Essai à blanc

Pour chaque série d'essais, effectuer parallèlement à la détermination un essai à blanc dans les mêmes conditions, où l'échantillon est remplacé par 10 ou 20 g de sulfate de sodium anhydre (7.4). Le blanc doit être inférieur à 10 % des valeurs pour les échantillons.

10.5. Essai « rendement »

Pour chaque série d'essais, effectuer parallèlement à la détermination, un essai « rendement » dans les mêmes conditions, où l'échantillon est remplacé par 10 ou 20 g de sulfate de sodium anhydre (7.4), dopé avec 1 ml de solution-test (9.3). Un exemple de chromatogramme est donné en annexe (14).

10.6. Analyse par chromatographie en phase gazeuse (GC-FID)

10.6.1. Essai de performance du système

Injecter le mélange étalon de n-alcanes (7.8), les pics du chromatogramme doivent être séparés à la ligne de base. Il convient que la réponse relative (aire de pic) du n-tétracontane ($C_{40}H_{82}$), comparée avec le n-eicosane ($C_{20}H_{42}$), soit au moins égale à 0,8. Dans le cas contraire, la discrimination du système d'injection est trop élevée et le système d'injection doit être optimisé ou remplacé.

ORIGINAL 2014

10.6.2. Réglage du chromatographe en phase gazeuse

Un exemple de conditions GC est donné ci-dessous :

Colonne : VF-5ht 15 m x 0,25 mm x 0,10 µm.
Technique d'injection : « splitless » (30 sec).
Température d'injection : 300 °C.
Volume d'injection : 2 µl.
Gaz vecteur : hélium (7.10).
Programme de température du four : 40 °C pendant min, 20 °C/min jusqu'à 300 °C, 300 °C pendant 7 min.
Détecteur : détecteur à ionisation de flamme.
Température du détecteur : 330 °C.

Un injecteur large volume peut également être utilisé.

10.6.3. Etalonnage

10.6.3.1. Etalonnage initial

Lorsque la méthode est utilisée pour la première fois, effectuer un test de linéarité (cf. ISO 8466-1) dans le domaine de travail choisi en analysant au moins cinq dilutions du mélange d'étalon (9.1.1).

10.6.3.2. Etalonnage de routine

Analyser un minimum de cinq dilutions du mélange étalon (9.1.1).
Calculer la fonction d'étalonnage par une analyse de régression linéaire, pondérée ou non, des aires de pic. Cet étalonnage est effectué toutes les 6 semaines ou lorsque le contrôle (10.6.3.3) montre une dérive de plus de 10 %.

10.6.3.3. Vérification de la validité de la fonction d'étalonnage de routine

Placer une solution de contrôle indépendante (9.1.3) en début d'analyse.

Vérifier que les résultats ne diffèrent pas plus de 10 % de la droite d'étalonnage de travail.
Dans le cas contraire, effectuer un nouvel étalonnage avec les solutions du mélange d'étalonnage (9.1.2) conservées.

10.6.4. Mesurage

Compléter la table d'échantillonnage.
Remplir le flacon de rinçage de la seringue avec de l'hexane (7.2).
Rincer la seringue.
Injecter x µl d'hexane (7.2) pour vérifier l'état de propreté de l'appareil.
Injecter, dans l'ordre croissant, les solutions du mélange d'étalonnage (9.1.2) ou la solution de contrôle indépendante (9.1.3), l'essai à blanc (10.4), l'essai « rendement » (10.5), les échantillons et un étalon de milieu de gamme tous les dix échantillons et en fin de série. Cet étalon est reporté sur une carte de contrôle.

Réaliser à chaque série d'analyse, sur la solution de contrôle indépendante (9.1.3), le rapport de surface C_{20}-C_{40}/C_{10}-C_{20}. Il convient que la réponse obtenue corresponde à la proportion dans le certificat.

ORIGINAL 2014

10.6.5. Intégration

Les fractions aliphatiques et aromatiques ont été divisées en 4 (ou 5) fractions suivant le nombre de carbone équivalent. Les fractions et les composés servant de bornes pour celles-ci sont :

Fraction aliphatique (F1)	
Fraction en EC	Composés servant de borne
$EC_{10} - EC_{12}$	n-décane – n-dodécane
$EC_{12} - EC_{16}$	n-dodécane – n-hexadécane
$EC_{16} - EC_{21}$	n-hexadécane – n-heneicosane
$EC_{21} - EC_{35}$	n-heneicosane – n-pentatriacontane

Fraction aromatique (F2)	
Fraction en EC	Composés servant de borne
$EC_{10} - EC_{12}$	1,2,4-triméthylbenzène – naphtalène
$EC_{12} - EC_{16}$	naphtalène – acénaphtène
$EC_{16} - EC_{21}$	acénaphtène – pyrène
$EC_{21} - EC_{35}$	pyrène – benzo(g,h,i)pérylène

Remarques: - une 5ème fraction ($EC_{35} - EC_{40}$) peut éventuellement être déterminée.
- les bornes de la fraction aromatique ne correspondent pas toujours exactement avec celles de la fraction aliphatique.

Le chromatogramme est intégré suivant les temps de rétention des bornes des différentes fractions. L'essai « rendement » (10.5) sert notamment à déterminer ces différents temps de rétention. Les intégrations commencent et se terminent aux temps de rétention des composés servant de borne.

ORIGINAL 2014

11. Calcul

Les intégrations des chromatogrammes sont vérifiées manuellement. Les différentes bornes d'intégration sont ajustées si nécessaire.

La concentration dans la fraction aliphatique (mg/ml) est donnée par le logiciel en fonction de la droite d'étalonnage.

Indice hydrocarbure EC_{10}-EC_{40} pour la fraction aliphatique F1 (mg/kg sec) = $\frac{C_{F1} \cdot V_{F1}}{m_3} \cdot \frac{100}{MS}$

C_{F1} = concentration dans la fraction F1 (en mg/ml)
V_{F1} = volume de l'extrait de la fraction F1 (en ml)
m_3 = la masse de l'échantillon brut (en kg)
MS = mat. sèches (en %)

avec $m_3 = m_2 \cdot \frac{m_0}{m_1}$

m_0 = masse de l'échantillon brut prise pour le séchage avec le sulfate (en kg)
m_1 = la masse du mélange échantillon/Na_2SO_4 (en kg)
m_2 = prise d'essai du mélange dans la cellule (en kg)

Pour la fraction aromatique F2, l'indice est calculé de façon analogue.

La part d'une des 4 (ou 5) sous-fractions par rapport au total de la fraction aliphatique F1, est donné par le rapport des aires : $\%\ de\ la\ sous-fraction = \frac{A_{sous-fraction}}{A_{total\ de\ F1}} \cdot 100$

La concentration de cette sous-fraction est alors donné par : $\%\ de\ la\ sous-fraction \cdot C_{F1}$
Le calcul est similaire pour la fraction aromatique F2.

Remarque : Il y a une bonne corrélation entre la somme F1+F2 et l'indice hydrocarbure C_{10}-C_{40}, à l'exception des sites de cokerie.

12. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- une référence à la présente méthode de la Région wallonne;
- l'identification complète de l'échantillon;
- les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis.
- les résultats du dosage conformément au point 11.
- les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

ORIGINAL 2014

Les renseignements qualitatifs suivants peuvent également être fournis dans le rapport :

- la plage d'ébullition de substances telles que le kérosène, le diesel, les huiles minérales… détectées sur la base du temps de rétention relatif par rapport au point d'ébullition du mélange des n-alcanes.
- toute présence d'hydrocarbures volatils (< EC_{10}).
- toute présence d'hydrocarbures ayant un point d'ébullition élevé (> EC_{40}).

13. Références

ISO/DIS 16558-2 : 2013 Qualité du sol – Hydrocarbures de pétrole à risque – Partie 2 : Détermination des fractions aliphatiques et aromatiques des hydrocarbures de pétrole semi-volatils par chromatographie en phase gazeuse avec détection d'ionisation de flamme.

ISO 11504 : 2012 Qualité du sol – Evaluation de l'impact du sol contaminé avec des hydrocarbures pétroliers

TPHCWG Series (*Total Petroleum Hydrocarbure Criteria Working Group*) Mars 1998 : Volume 1 : Analysis of petroleum hydrocarbons in environmental media (→ EPA 3630C).

VITO : CMA/3/R.3 (janvier 2005) : Petroleum Koolwaterstoffen

ISO 18512 :2007 Qualité du sol – Lignes directrices relatives au stockage des échantillons de sol à long et à court termes.

ISO 14507 :2003 Qualité du sol – Prétraitement des échantillons pour la détermination des contaminants organiques.

ISO 16703 :2004 Qualité du sol- Dosage des hydrocarbures de C_{10} à C_{40} par chromatographie en phase gazeuse.

NBN EN 14039 :2004 Caractérisation des déchets – Détermination de la teneur en hydrocarbures par chromatographie en phase gazeuse dans la plage C_{10} à C_{40}.

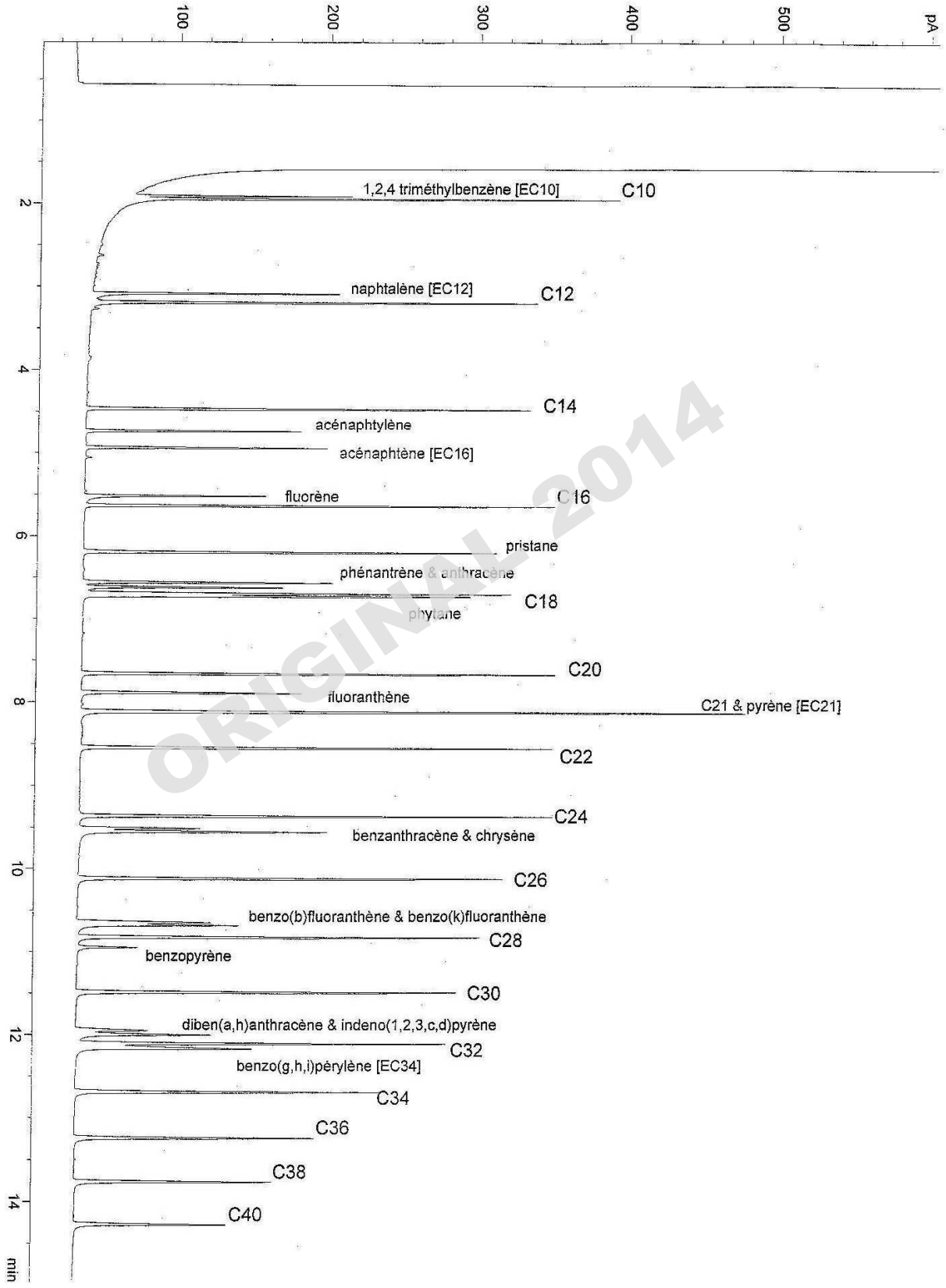
ISO 9377-2 : 2000 Qualité de l'eau – Détermination de l'indice hydrocarbure- partie 2 : Méthode par extraction au solvant et chromatographie en phase gazeuse.

ISO 8466-1 :1990 Qualité de l'eau – Étalonnage et évaluation des méthodes d'analyse et estimation des caractères de performance – Partie 1 : Évaluation statistique de la fonction linéaire d'étalonnage.

ISO 11465 :1993 Qualité du sol – Détermination de la teneur pondérale en matière sèche et en eau Méthode gravimétrique.

ORIGINAL 2014

14. Annexe : Chromatogramme d'un essai « rendement »



ORIGINAL 2014

S-III-8.1V2 – DÉTERMINATION DU CARBONE ORGANIQUE ET DU CARBONE TOTAL PAR COMBUSTION SÈCHE

1. Objet

Dosage du carbone organique et du carbone total après combustion sèche.

2. Domaine d'application

Méthode de dosage du carbone organique et du carbone total d'échantillon de sol (y compris les sédiments), les matières utilisées sur ou dans les sols et les déchets après combustion sèche. La teneur en carbone organique est déterminée à partir de cette dernière valeur après correction en raison des carbonates présents dans l'échantillon. Si ceux-ci sont éliminés préalablement, on dose directement le carbone organique.

3. Principe

L'échantillon est chauffé à une température d'au moins 900 °C dans un flux de gaz contenant de l'O_2, et exempt de gaz carbonique. Le carbone présent dans l'échantillon est alors oxydé et désorbé sous forme de CO_2. La quantité de CO_2 dégagée est mesurée par titrimétrie, gravimétrie, conductométrie, chromatographie en phase gazeuse ou grâce à une méthode de détection dans l'infrarouge. A 900 °C, les carbonates sont entièrement décomposés. Le dosage du carbone organique consiste à éliminer préalablement les carbonates en traitant l'échantillon à l'HCl ou en soustrayant la teneur de carbonates du carbone total (la teneur en carbonates devant être préalablement connues par dosage selon la procédure S-II-8).

4. Préparation de l'échantillon

Conformément à la procédure S-I-1, les échantillons sont séchés à l'air ou dans une étuve ventilée à une température inférieure à 40 °C. Ils sont alors émottés et tamisés au travers d'un tamis à mailles de 2 mm d'ouverture. Une partie de l'échantillon sera broyé pour passer, sans refus, au travers d'un tamis de 250 µm d'ouverture de mailles, conformément à la procédure S-I-1. Une partie de l'échantillon tamisé à 2 mm sera utilisé afin de déterminer la teneur en eau suivant la procédure S-I-3 et si nécessaire la teneur en carbonate selon la procédure S-II-8.

5. Appareillages et matériels utilisés

- Balance analytique : précision d'au moins 0.1 mg ou microbalance de précision d'au moins 0.01 mg ;
- Verrerie courante de laboratoire ;
- Tamis à mailles de 250 µm ;

ORIGINAL 2014

- Appareil de dosage du carbone total, par combustion de l'échantillon à une température de minimum 900 °C comportant un détecteur pour la mesure du CO_2 formé ;
- Creusets : porcelaine, quartz, argent, étain ou nickel, de différentes tailles (l'étain et le nickel ne résistent pas à l'acide).

6. Réactifs utilisés

- Eau déminéralisée ayant une conductivité électrique spécifique ≤ 0.2 mS/m à 25 °C (eau de qualité 2 selon la norme ISO 3696);
- Substance étalon : acétanilide (C_8H_9NO), atropine ($C_{17}H_{23}NO_3$), carbonate de calcium ($CaCO_3$), poudre graphite spectrographique (C), et hydrogénophtalate de potassium ($C_8H_5KO_4$), EDTA ($C_{10}H_{16}N_2O_8$) ;
- Acide chlorhydrique 4 M : diluer 340 ml d'HCl_{conc} dans un jaugé de 1000 ml et compléter avec de l'eau.

7. Mode opératoire

7.1 Etalonnage de l'appareil : Etalonner l'appareil conformément aux recommandations du fabricant. La droite d'étalonnage est obtenue à partir de l'une des substances étalons décrites au point 6.

7.2 Dosage du carbone total :

- Peser m_1 g de l'échantillon séché à l'air et le placer dans le creuset (la masse dépendra de la teneur en carbone total prévue et de l'appareil utilisé) ;
- Procéder aux analyses selon le manuel du fabricant de l'appareil.

7.3 Dosage du carbone organique :

- Peser m_1 g de l'échantillon séché à l'air et le placer dans le creuset (la masse dépendra de la teneur en carbone total prévue et de l'appareil utilisé) ;
- Ajouter un excès d'HCl 4 M et mélanger (supposer que la quantité d'échantillon à analyser contient 100 % de carbonates) ;
- Attendre 4 heures et sécher le creuset durant 16 heures à une température de 60 °C à 70 °C ;
- Procéder aux analyses selon le manuel du fabricant de l'appareil.

ORIGINAL 2014

8. Calcul

8.1 Teneur en carbone total :

$$w_{C,t} = 1000 * \left(\frac{m_2}{m_1} \right) * 0{,}2727 * \frac{100 + w_{H_2O}}{100}$$

avec $w_{C,t}$ est la teneur (g/kg) en carbone total rapportée à l'échantillon séché en étuve ;
m_1 est la masse (g) de la prise d'essai ;
m_2 est la masse (g) du gaz carbonique produit par l'échantillon ;
0,2727 est le facteur de conversion du CO_2 en C ;
w_{H2O} est la teneur en eau, exprimée en pourcentage en masse de masse sèche.

8.2 Teneur en carbone organique :

8.2.1 Détermination indirecte :

$$w_{C,o} = w_{C,t} - 0{,}12 * w_{CaCO_3}$$

avec $w_{C,o}$ est la teneur (g/kg) en carbone organique rapportée à l'échantillon séché en étuve ;
$w_{C,t}$ est la teneur (g/kg) en carbone total rapportée à l'échantillon séché en étuve ;
0,12 est le facteur de conversion ;
w_{CaCO3} est la teneur (g/kg) en carbonate de l'échantillon, exprimée en quantité équivalente de carbonate de calcium, sur la base d'un échantillon séché à l'étuve.

8.2.2 Détermination directe :

en suivant la méthode 8.3, on détermine la teneur en carbone organique selon l'équation 9.1

8.3 Teneur en matière organique :

$$w_{om} = f * w_{C,o}$$

avec w_{om} est la teneur (g/kg) en matière organique de l'échantillon sur la base d'un échantillon séché en étuve ;
$w_{C,o}$ est la teneur (g/kg) en carbone organique de l'échantillon sur la base d'un échantillon séché en étuve ;
f est un facteur de conversion (dépend du type de matière organique et peut varier d'un échantillon à l'autre (pour les sols agricoles, il peut varier entre 1,7 et 2,0).

ORIGINAL 2014

9. Interférences

Selon la méthode de détection employée, des réactifs chimiques et/ou des catalyseurs peuvent être nécessaires pour la réduction, l'oxydation, l'élimination et/ou la fixation des gaz de combustion qui perturbent l'analyse.

10. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne ;
- L'identification complète de l'échantillon ;
- Les valeurs de dosage du carbone total et/ou du carbone organique (g/kg), déterminées sur la base d'un échantillon séché en étuve. Lorsque le carbone organique est déterminé, il y a lieu de mentionner si l'on a déterminé la teneur en carbonates ou si ces derniers ont été éliminés avant dosage ;
- Le facteur de conversion f utilisé ;
- Les détails opératoires non prévus dans la norme, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

11. Référence

ISO 10694:1995 – Qualité du sol – Dosage du carbone organique et du carbone total après combustion sèche (analyse élémentaire).
ISO 3696 :1995 – Eau pour laboratoire à usage analytique – Spécification et méthodes d'essai

ORIGINAL 2014

S-III-8.2V3 – DÉTERMINATION DU CARBONE ORGANIQUE PAR OXYDATION SULFOCHROMIQUE

1. Objet

Dosage du carbone organique par oxydation sulfochromique.

2. Domaine d'application

La présente méthode décrit la détermination par spectrométrie de la teneur en carbone organique, après oxydation dans un milieu sulfochromique. La présente méthode est applicable à tous les types d'échantillons de sol (y compris les sédiments), de matières utilisées sur ou dans les sols et de déchets séchés à l'air.
La présente méthode n'est pas applicable aux échantillons contenant des composés minéraux réducteurs, tels que Cl^- ou Fe^{2+}. Par convention, la teneur en chlorure dans la prise d'essai ne doit pas être supérieure à 2 mg.

3. Principe

Le carbone organique présent dans l'échantillon est oxydé dans un mélange d'une solution de bichromate de potassium (en excès) et d'acide sulfurique à une température contrôlée de 135 °C. Les ions bichromates, qui colorent la solution en rouge, sont réduits en ions Cr^{3+} qui colorent la solution en vert. L'intensité de ce vert est mesurée par spectrocolorimétrie. Partant de l'hypothèse que l'oxydation d'un atome de carbone de matière organique produit quatre électrons, il existe une relation entre le Cr^{3+} formé et la quantité de carbone organique. La méthode est calibrée en utilisant le glucose comme source de carbone oxydable.

NOTE : Une quantité de 2 mg de chlorure présente dans l'échantillon pour essai correspond à une teneur apparente de carbone d'environ 0.7 mg

4. Préparation de l'échantillon

Conformément à la procédure S-I-1, les échantillons sont séchés à l'air ou dans une étuve ventilée à une température inférieure à 40 °C. Ils sont alors émottés et tamisés au travers d'un tamis de 2 mm d'ouverture de mailles. Une partie de l'échantillon est broyé pour passer, sans refus, au travers d'un tamis à 250 µm d'ouverture de mailles. Une partie de l'échantillon à 2 mm sera utilisé afin de déterminer la teneur en eau suivant la procédure S-I-3.

ORIGINAL 2014

5. Appareillages et matériels utilisés

Verrerie courante de laboratoire ;

- Balance analytique, permettent de peser avec une précision de 0.1 mg ;
- Ballons à col rodé, d'une capacité de 250 ml ou 100 ml, surmonté d'un réfrigérant ; Tubes de verre adaptés au bloc chauffant
- Manteaux chauffant : permettant de porter à ébullition le milieu d'oxydation ; Blocs chauffants à alvéoles permettant de maintenir une température uniforme de (135±2) °C
- Tamis à mailles de 250 µm ;
- Filtres en fibre de verre ;
- Fiole jaugée à col rodé de 100 ml munie de bouchons ;
- Spectrocolorimètre, équipé d'une cuve de 10 mm et réglé à une longueur d'onde de 585 nm ;
- Bain d'eau ;
- Centrifugeuse.

6. Réactifs utilisés

Utiliser exclusivement des réactifs de qualité analytique reconnue.

6.1 Eau : type eau Milli-Q, eau de qualité 2 conformément à l'ISO 3696 ;

6.2 Acide sulfurique, H_2SO_4 concentré (p = 1.84 g/cm^3) ;

6.3 Solution de bichromate de potassium, c($K_2Cr_2O_7$) = 0.27 mol/l :
Dissoudre 80 g de bichromate de potassium, $K_2Cr_2O_7$, dans environ 800 ml d'eau dans une fiole jaugée de 1000 ml, et compléter avec de l'eau (7.1) jusqu'au trait.

6.4 Glucose, anhydre, $C_6H_{12}O_6$.

7. Echantillon pour essai

Utiliser la fraction de particules < 2 mm des échantillons séchés à l'air et prétraités conformément à la procédure S-I-1. Utiliser une partie de l'échantillon pour déterminer la teneur en eau, conformément à la procédure S-I-3. Pour la détermination du carbone, broyer un sous-échantillon représentatif de l'échantillon pour essai, jusqu'à ce qu'il passe dans un tamis à mailles de 250 µm.

ORIGINAL 2014

8. Mode opératoire

8.1 Généralités : L'efficacité de l'oxydation dépend de la masse de la prise d'essai et de sa teneur en carbone, même s'il reste un excès de bichromate de potassium. L'expérience a montré que, dans les conditions décrites dans la présente méthode, la masse de carbone dans la prise d'essai ne doit pas excéder 20 mg. La masse de la prise d'essai utilisée doit être conforme au tableau 1.

Tableau 1 – Masse de la prise d'essai en fonction de la teneur estimée en carbone

Teneur estimée en carbone g/Kg	10	20	30	40	50	100	200
Masse de la prise d'essai en g	2.000	1.000	0.650	0.500	0.400	0.200	0.100

8.2 Oxydation :

- Transférer la prise d'essai dans un ballon de 250 ml ou 100 ml ou tube de 75 ml. A l'aide d'une pipette, ajouter d'abord 5 ml de la solution de bichromate, puis 7,5 ml d'acide sulfurique. Homogénéiser soigneusement ;
  - Porter à ébullition en moins de 3 minutes. En comptant le temps à partir de la première goutte de condensat qui tombe du réfrigérant, régler le chauffage de manière à maintenir une ébullition franche et douce pendant 5 minutes exactement. Retirer les échantillons et les refroidir rapidement à température ambiante en utilisant un bain d'eau. Transvaser quantitativement le contenu de chaque ballon dans un jaugé de 100 ml en filtrant sur filtre en fibre de verre et ajouter lentement 60 ml d'eau dans chaque jaugé en refroidissant à nouveau rapidement dans le bain d'eau jusqu' à un température de 20 ± 1 °C ;
  - OU : placer les tubes dans le bloc chauffant, préchauffé à une température de 135°C ± 2°C pendant 30 minutes, puis les retirer et les refroidir à température ambiante en utilisant un bain d'eau. Ajouter lentement 50 ml d'eau dans chaque tube et refroidir rapidement dans le bain d'eau. Transférer quantitativement le contenu du tube dans la fiole jaugée de 100 ml.
- Ajuster au trait avec de l'eau (6.1) et bien mélanger ;
- Laisser reposer la suspension pendant 1 heure.
- Transvaser une partie du surnageant dans des tubes à centrifuger et centrifuger pendant 10 minutes à 2000 g. S'il reste des particules solides dans la solution après centrifugation, filtrer le surnageant.

Si la solution d'attaque est « vert franc », recommencer avec une prise d'essai plus faible.

ORIGINAL 2014

8.3 Préparation des solutions étalons :

- Préparer une gamme de solutions étalons conformément au tableau 2 en dissolvant la masse indiquée de glucose dans la solution de bichromate, dans une série de fioles jaugées de 100 ml, et mélanger jusqu'à dissolution complète ;
- Prélever 5 ml des solutions 1 à 5, les introduire dans un tube en verre (ou éventuellement un ballon) de 250 ml ou 100 ml, ajouter 7,5 ml d'acide sulfurique et poursuivre les étapes de digestion. Il convient que la solution résultante soit complètement claire et ne nécessite pas de filtration. Dans le cas contraire la digestion n'a pas été correcte et doit être refaite.

Tableau 2 – Solutions étalons de glucose dans une solution de bichromate

Numéro	Masse de glucose g	Teneur en carbone dans 5 ml de solution mg
1	0.00	
2	0.25	5
3	0.50	10
4	0.75	15
5	1.00	20

8.4 Mesure :

- A l'aide d'un spectrocolorimètre, mesurer l'absorbance des solutions à 585 nm, dans l'ordre suivant : solutions étalons, blanc et échantillons. S'assurer de l'absence de contamination croisée entre les différents échantillons mesurés ;
- Tracer la courbe d'étalonnage et déterminer la masse de carbone organique présente dans le blanc et dans les échantillons.

9 Calcul

Le calcul de la teneur en carbone organique sur la base d'un échantillon sec se fait à l'aide de l'équation suivante :

$$W_{oc} = \frac{a}{M} * \frac{(100 + w)}{100}$$

où W_{oc} est la teneur en carbone organique, sur la base d'un échantillon sec, en g/kg
a est la masse de carbone organique dans la prise d'essai, en mg
M est la masse de l'échantillon pour essai, en g
w est la teneur en eau de l'échantillon pour essai (sec à l'air), en % (fraction massique)

ORIGINAL 2014

La teneur en matière organique de l'échantillon peut se calculer à partir de la teneur en carbone organique à l'aide de la formule :

$$W_{om} = f * W_{oc}$$

où W_{om} est la teneur en matière organique, sur la base d'un échantillon séché en étuve, en g/kg
W_{oc} est la teneur en carbone organique, sur la base d'un échantillon séché en étuve, en g/kg
f est un facteur de conversion dont l'importance dépend du type de matière organique présente et peut varier de 1,7 à 2,5 pour les sols agricoles

10 Avertissement

L'ajout d'eau dans une solution d'acide sulfurique peut être dangereux, comme l'est l'utilisation de solutions de bichromate. Des protections adéquates, par exemple gants de protection, masque ou lunettes de sécurité et blouse de laboratoire sont indispensables.

11 Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne ;
- L'identification complète de l'échantillon ;
- Le facteur de conversion f utilisé ;
- Les détails opératoires non prévus dans la norme, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

12 Référence

ISO 14235:1998 – Qualité du sol – Dosage du carbone organique par oxydation sulfochromique

ISO 3696 :1995 – Eau pour laboratoire à usage analytique – Spécification et méthodes d'essai

ORIGINAL 2014

S-III-9V1 : DÉTERMINATION PAR CHROMATOGRAPHIE GAZEUSE ET DÉTECTION PAR CAPTURE D'ÉLECTRONS DES PCB N°28, 52, 101, 118, 138, 153 ET 180 DANS LES SOLS Y COMPRIS LES SÉDIMENTS

1. Objet

La présente méthode de référence spécifie une procédure pour la détermination quantitative par chromatographie gazeuse à détection par capture d'électrons des PCB n° 28, 52, 101, 118, 138, 153 et 180 (selon la numérotation de Ballschmiter) dans les sols (y compris les sédiments) .

2. Domaine d'application

Cette procédure est applicable aux sols (y compris les sédiments).

La gamme de mesure applicable est de 1 à 500 µg environ par congénère de PCB/kg de matière brute.

3. Définitions et abréviations

GC-ECD : Chromatographie gazeuse – détection par capture électronique

PCB : Polychlorobiphényles ou biphényles polychlorés.

4. Interférences

Les interférences potentielles sont dues aux : acides gras, détergents, phtalates, silicones (siloxanes), pesticides chlorés, composés nitro semi-volatiles, polysulfures (S6, S8, …), …

5. Principe

L'échantillon séché à 40 °C et broyé à 250 µ est extrait au solvant chaud avec de l'hexane, un étalon interne est alors ajouté à l'extrait. Celui-ci est séché sur sulfate et concentré sous flux d'azote. Il est ensuite purifié sur une colonne de Florisil, désulfuré par macération au cuivre et reconcentré sous flux d'azote.

L'analyse est réalisée par GC-ECD sur colonne capillaire. L'étalonnage interne corrige les rendements de purification et les fluctuations à l'injection. Les calculs sont basés sur la détermination préalable de facteurs de réponse. Il n'est pas tenu compte du rendement d'extraction.

ORIGINAL 2014

6. Conditionnement et conservation de l'échantillon

Les échantillons sont prélevés dans des conteneurs en verre (fumé de préférence) munis de bouchons à revêtement PTFE ou à défaut dans des récipients en polyéthylène et conservés au frais à l'abri de la lumière directe. Les échantillons sont extraits au plus vite et dans un délai de dix jours (voir ISO 14507). Les extraits peuvent être conservés au réfrigérateur un mois en flacon hermétique et protégé de la lumière. Néanmoins, les échantillons séchés à 40 °C et broyés à 250 µm peuvent être conservés un mois.

7. Appareillages et matériels utilisés

- Chromatographe en phase gazeuse, muni d'un détecteur à capture d'électrons.
- Extracteur à solvant pressurisé
- Cellules d'échantillonnage pour dito
- Trébuchet (pesée à 0,1 g près)
- Balance analytique de laboratoire de résolution 0,1 mg
- Seringue de précision (volume de 10 µl, réservée au dopage des étalons internes) ou propipette
- Pipettes Pasteur
- Flacons type EPA de 40 à 60 ml hermétiques avec bouchons à face téflonée
- Colonnes de purification, diamètre 1 cm environ, type colonne SPE chargée de 2 g de silicate de magnésium (par exemple : 2 g Florisil /15 ml,)
- Concentrateur sous flux d'azote
- Fioles pour passeur d'échantillon, en verre ambré
- Colonne capillaire WCOT, phase apolaire de type DB5, de dimensions 60 m x 0,25 mm d.i. et d'une épaisseur de film de 0,2 µm (les dimensions sont facultatives dès lors que le pouvoir séparateur de la colonne est suffisant et vérifié dans les conditions d'utilisation).
- Filtres Whatman 40 (diamètre 110 mm)
- Petit matériel divers de laboratoires

Le matériel en verre utilisé est autant que possible à usage unique ou réservé. Dans le cas de matériel réutilisable, les meilleures procédures de nettoyage disponibles sont utilisées (trempage en bain détergent, rinçage au solvant). Des matériaux comme le caoutchouc butylique et le latex sont susceptibles de produire des interférences importantes et sont donc à éviter. Pour éviter tout risque de contamination croisée, utiliser de la vaisselle réservée à l'analyse des traces et traiter ces verreries spécifiquement.

ORIGINAL 2014

8. Réactifs utilisés

8.1. Solvants pour analyse de résidus de pesticides : n-hexane, cyclohexane, isooctane, acétone…

8.2. Sulfate de sodium anhydre p.a. : séché à 600 °C pendant 6 h minimum. Conservation à l'abri de l'humidité

8.3. Colonnes de purification de Florisil commerciale **:** diamètre de 1cm environ, type colonne SPE (0,5g/6ml ou 2g/15ml)
ou colonne remplie manuellement avec du Florisil (silicate de magnésium $MgSiO_3$), actif anhydre, de granulométrie comprise entre 60 et 100 Mesh - Activé à 140°C pendant au moins 16 heures.

8.4. Polychlorobiphényles de puretés individuelles supérieures à 95 %: solution(s) mère(s) à 10 µg/ml dans le cyclohexane ou l'isooctane.

a) Mix PCB n° 3 de Dr. Ehrenstorfer, Gmbh (mélange des sept PCB). Solutions dans le n-hexane : stockage à 4 °C, à l'abri de la lumière. Les solutions dans l'isooctane peuvent être conservées à température ambiante (à 4 °C l'isooctane congèle, entraînant la précipitation des congénères de PCB à haut taux de chloration et des risques de mauvaise remise en solution). Durée de conservation : voir dates de validité du fournisseur reprises sur les certificats pour les flacons non entamés (en général : un an pour les solutions entamées dans les conditions optimales de conservation).
b) Solution de PCB n° 30 à 10 µg/ml (Dr. Ehrenstorfer, gmbh)
c) Solution de PCB n° 209 à 10 µg/ml (Dr. Ehrenstorfer, gmbh)

8.5. Solutions diluées de concentrations adaptées à la gamme de mesure : 5 points minimum. Ajouts (de 50 µl à 1 ml par ex.) de solution mère (8.5a) à un volume fixe de solvant (cyclohexane). Les dilutions sont mesurées par pesée. Conservation : 6 mois maximum.

8.6. Solution d'étalon interne pour mesure du facteur de réponse moyen : congénère n° 30/209 à 5 ng/µl dans le cyclohexane. Cette solution est utilisée pour doper les échantillons inconnus et réaliser un ajout de 10 µl dans une fraction aliquote de 1 ml de solution diluée d'étalon (8.6). Ce dernier est réalisé directement dans les fioles du passeur d'échantillon.

8.7. Cuivre en granules

9. Préparation de l'échantillon

L'échantillon est séché en étuve à 40°C jusqu'à ce que la perte de masse de l'échantillon ne dépasse par 5 % (m/m) par 24 h. Les mottes sont réduites et tout élément non représentatif du sol est retiré. Les poids respectifs sont notés. L'échantillon est tamisé au travers d'un tamis à trous carrés de 2 mm.
Pour la détermination des PCB, un sous-échantillon représentatif (environ 20g) de l'échantillon pour essai est broyé jusqu'à ce qu'il passe dans un tamis à mailles de 250 µm.

10. Mode opératoire

L'humidité résiduelle est déterminée sur une fraction du passant à 250µm (humidité sur l'échantillon pour analyse).

10.1 Extraction

Extraction à chaud sous pression :
Une cellule d'extraction préalablement munie d'un filtre en cellulose et tarée est remplie d'échantillon préparé. La prise d'essai est pesée au trébuchet (5 à 10 g environ). L'extraction est réalisée au n-hexane.
Paramètres d'extraction :
- extraction statique : 5 minutes
- pression d'extraction : 2000 psi
- température d'extraction : 100 °C
- volume de purge : 100 %
- temps de purge : 60 sec
- nombre de cycles : 2
- rinçage entre chaque extraction

ORIGINAL 2014

Extraction soxhlet :
Les échantillons sont extraits au soxhlet pendant 16 h moyennant un lavage préliminaire de la cartouche et du tampon de laine de verre à l'hexane.

Après extraction, 10 µl de la solution à 5 ng/µl de PCB 30/209 sont additionnés à chaque fiole d'extraction. L'extrait est concentré sous flux d'azote jusqu'à un volume approximatif de 2 à 5 ml.

10.2 Purification :

Colonne de Florisil
Environ 1 cm de sulfate anhydre est ajouté à une colonne de florisil. L'extrait est transféré sur la colonne. La fiole d'extraction est rincée avec deux fois 2 ml de n-hexane et les rinçages sont transférés sur la colonne. La colonne est éluée avec deux fois 10 ml de n-hexane dans une fiole de type EPA 40 ml. L'extrait purifié est concentré sous flux d'azote jusqu'à un volume de 10 ml environ.

Désulfuration :
Une cuillère à café de cuivre est ajoutée à la fiole contenant l'extrait. Le mélange est agité pendant 4 heures. L'extrait est filtré dans une autre fiole de 40 ml. La fiole initiale et le filtre sont rincés à l'hexane.

L'extrait est concentré sous flux d'azote jusque 0,5 ml et transféré quantitativement dans une fiole de passeur d'échantillon préalablement tarée. Le flacon intermédiaire est rincé et le rinçage est additionné à l'extrait. La fiole du passeur d'échantillon est ensuite pesée (pour vérification ultérieure du volume reconcentré).

10.3 Essai à blanc :

Un essai à blanc est effectué parallèlement à la détermination. Celui-ci est obtenu en extrayant, une prise d'essai de sulfate de sodium anhydre. L'extrait est traité dans les mêmes conditions que les échantillons.

Si la valeur de l'essai à blanc est excessivement élevée, c'est-à-dire si elle est supérieure à 10 % de la valeur d'intérêt la plus basse, il est opportun d'en trouver la cause en examinant l'ensemble de la procédure, étape par étape.

10.4 Contrôle de la méthode

Deux fois par an, effectuer six essais avec un matériau de référence certifié (sol certifié).
Les résultats doivent se situer dans les limites d'acceptation du certificat.

ORIGINAL 2014

10.5 Analyse par chromatographie en phase gazeuse (GC-ECD)

10.5.1 Préparation du système d'analyse :

A. DETECTEUR ECD : Contrôle et réglage du bruit de fond détecteur et des conditions initiales selon la procédure d'utilisation

Paramètre	Valeurs
Pulse amplitude	50 V
Current	1 nA
Pulse Width	1 µsec (azote) – 0,1 µsec (argon/méthane)
Température	310 °C

B. CHROMATOGRAPHE :

1. Identification de la colonne installée et contrôle des connexions
2. Recherche des fuites au septum de l'injecteur et vérification des débits :
   - pression d'entrée : fonction de la colonne
   - débit de split : fonction de la dilution voulue
   - balayage du septum : 2,5 ml/min env.
   - pression de gaz make-up : 170 kPa (en fonction du détecteur)
3. Vérification des programmations de température :
   - four (pour une colonne de 60m): 60 °C (2:00 min) 20 °C/min // 160 °C (0:00 min) 1,2 °C/min // 280 °C (5:00 min).
   - Injecteur : 230 °C à 260 °C
   - Embase détecteur : 270 à 290 °C
4. Contrôle logiciel :
   - compléter la table d'échantillonnage avec noms de fichier, identification des solutions d'étalonnage et d'échantillons, les volumes d'échantillon et les dopages d'étalon interne et concentrations des solutions étalons.

C. PASSEUR D'ECHANTILLONS :

1. Remplissage du (des) flacon(s) de rinçage de seringue
2. Contrôle visuel de l'état de la seringue d'injection
3. Rinçage (abondant) de la seringue
4. Contrôle de la propreté du système par une injection à blanc de solvant

10.5.2 Etalonnage et analyse :

Un étalonnage est réalisé conjointement à chaque série de mesure.
Il faut injecter dans l'ordre: le blanc, les cinq solutions étalons (par ordre croissant de concentration ; habituellement dans la gamme de 5 à 500 ng/ml) et les échantillons en se référant à la procédure d'utilisation du chromatographe en phase gazeuse.

ORIGINAL 2014

11. Calcul et expression des résultats

Les intégrations des chromatogrammes sont vérifiées manuellement et les temps de rétention définis par l'analyse des solutions étalons sont utilisés pour la reconnaissance automatique des pics lors du retraitement des résultats des inconnus. Dans tous les cas, l'attribution correcte des pics est soumise à vérification (par comparaison des temps de rétention des inconnus avec ceux des étalons ou calcul des temps de rétention relatifs au PCB 209). L'identification d'un profil ou de plus de trois pics n'est pas suivie de confirmation. Dans les cas ou moins de trois pics et/ou lorsqu'un doute surgit quant à l'authenticité de la contamination, une confirmation peut être menée par analyse des échantillons litigieux sur une colonne de polarité différente ou par analyse par GC-MS.

Le calcul des concentrations finales est réalisé selon un modèle de régression linéaire (sans pondération) calculé sur la hauteur des pics relativement à un étalon interne. Le PCB 30 est utilisé comme étalon interne. En fonction des interférents présents, le PCB 209 peut également être utilisé.

Les résultats sont exprimés en µg/kg (blanc décompté). La somme des 7 congénères et l'expression des résultats individuels en PCB sur sec sont présentées conjointement. La concentration en PCB sur brut est divisée par la fraction massique de matière sèche pour obtenir la quantité de PCB sur sec. La limite inférieure indiquée est de 1 µg/kg (sur brut) par pic pour les congénères 101, 118, 138, 153 et 180 ; 2 µg/kg pour le congénère 28 et 3 µg/kg pour le congénère 52. La limite supérieure de 500 µg/kg (sur brut).

12. Sécurité

- Le n-hexane présente une neurotoxicité particulière (inhalation). Travailler sous hotte.
- Les PCB sont des substances organochlorées persistantes et bio-accumulatives présentant une toxicité aigüe par contact (chloracné) et une toxicité chronique importante. Il convient de s'en prémunir en portant les équipements de protection adéquats (blouse de laboratoire, gants, …) et en ne consommant ni boissons ni nourriture.
- Le détecteur ECD contient une source radioactive dont la manipulation est réglementée.

13. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne;
- L'identification complète de l'échantillon;
- Les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis;
- Les références de date de prélèvement et de début de traitement de l'échantillon
- Les résultats du dosage conformément au point 11;
- Les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

ORIGINAL 2014

14. Références

ISO 10382 :2002 : Qualité du sol – Détermination de la teneur en biphényles polychlorés (PCB) et pesticides organochlorés (OCP) par chromatographie gazeuse

XP X 33-012 : 2000 : Caractérisation des boues - Dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et des polychlorobiphényles (PCB).

ISO 14507 :2003 : Qualité du sol – Prétraitement des échantillons pour la détermination des contaminants organiques

ISO 11464 :2006 : Qualité du sol – Prétraitement des échantillons de sol avant analyses physico-chimiques

ISO 11465 :1993 : Procédure particulière relative à la détermination de la teneur pondérale en eau et en matière sèche de matériaux solides (déchets, sols, …)

ORIGINAL 2014

S-III-10V1 : DÉTERMINATION PAR CHROMATOGRAPHIE GAZEUSE ET DÉTECTION PAR CAPTURE D'ÉLECTRONS DES PCB N°28, 52, 101, 138, 153 ET 180 DANS LES HUILES USAGÉES

1. Objet

La présente méthode de référence spécifie une procédure pour la détermination quantitative par chromatographie gazeuse à détection par capture d'électrons des PCB n° 28, 52, 101, 138, 153 et 180 (selon la numérotation de Ballschmiter) dans les huiles usagées et pour réaliser la conversion de leur somme en l'expression des PCB « totaux » telle que décrite dans la méthode B de calcul de la norme EN12766-2 :2001.

2. Domaine d'application

La présente méthode de référence est applicable aux produits pétroliers et huiles usagées.

La gamme de mesure applicable est de 1 à 5000 mg de PCB « totaux »/kg d'huile.

3. Définitions et abréviations

GC-ECD : Chromatographie gazeuse – détection par capture électronique

PCB : Polychlorobiphényles ou biphényles polychlorés.

4. Interférences

Les interférences potentielles sont dues aux : acides gras, détergents, phtalates, silicones (siloxanes), pesticides chlorés, composés nitro semi-volatiles, polysulfures (S6, S8, …), …

5. Principe

Après dilution d'une part aliquote de l'huile dans de l'hexane et dopage par l'étalon interne, les PCB sont purifiés sur deux colonnes, une colonne de silice acide / acide benzène sulfonique et une de silice. L'extrait est concentré sous flux d'azote.

L'analyse est réalisée par GC-ECD sur colonne capillaire. L'étalonnage interne corrige les fluctuations à l'injection. L'analyse d'huile dopée corrige les rendements à la purification. Les calculs sont basés sur la détermination préalable de facteurs de réponse.

ORIGINAL 2014

6. Conditionnement et conservation de l'échantillon

Les échantillons sont prélevés dans des conteneurs en verre (fumé de préférence), munis de bouchons à revêtement PTFE ou à défaut dans des récipients en polyéthylène et stockés à température ambiante à l'abri de la lumière directe. Les échantillons sont extraits au plus vite et dans un délai d'un mois au plus. Les extraits finis peuvent être conservés au réfrigérateur un mois en flacons hermétiques et protégés de la lumière.

7. Appareillages et matériels utilisés

- Chromatographe en phase gazeuse, muni d'un détecteur à capture d'électrons.
- Trébuchet (pesée à 0.1 g près)
- Balance analytique de laboratoire de résolution 0,1 mg
- Seringues de précision (différents volumes de 1 à 250 µl) ou propipettes (volumes variables de 100 à 1000 µl et 1 à 5 ml)
- Pipettes Pasteur
- Flacons jaugés
- Colonnes de chromatographie, diamètre 1 cm environ
- Entonnoirs en verre
- Filtres en fibre de verre type GF/C, rincés au solvant d'extraction
- Concentrateur sous flux d'azote
- Flaconnages en verre, hermétiques avec bouchons à face téflonée
- Colonne capillaire WCOT, phase apolaire de type DB5, de dimensions 60 m x 0,25 mm d.i. et d'une épaisseur de film de 0.2 µm (les dimensions sont facultatives dès lors que le pouvoir séparateur de la colonne est suffisant et vérifié dans les conditions d'utilisation).
- Petit matériel divers de laboratoires

Le matériel en verre utilisé est autant que possible à usage unique ou réservé. Dans le cas de matériel réutilisable, les meilleures procédures de nettoyage disponibles sont utilisées (trempage en bain détergent, rinçage au solvant). Des matériaux comme le caoutchouc butylique et le latex sont susceptibles de produire des interférences importantes et sont donc à éviter. Pour éviter tout risque de contamination rémanente, ne pas utiliser de vaisselle par ailleurs utilisée dans l'analyse de traces et éviter de traiter ces verreries dans les mêmes bains.

ORIGINAL 2014

8. Réactifs utilisés

8.1. Gel de silice : pour la chromatographie sur colonnes, 0.063-0.200 mm (les colonnes de silice activée préparées manuellement peuvent être remplacées par des colonnes obtenues commercialement, p.ex. Silice 500 mg, tube en verre de 6 ml)

8.2. Acide sulfurique, p.a., 95-98 % (m/m)

8.3. Acide benzène sulfonique, adsorbant à base siliceuse fonctionnalisée, échangeuse de cation type SCX ou colonnes de 500 mg équivalentes préparées commercialement

8.4. Solvants pour analyse de résidus de pesticides : n-hexane, cyclohexane, isooctane, acétone, …

8.5. Sulfate de sodium anhydre p.a. : séché à 600 °C pendant 6 h au minimum. Conservation à l'abri de l'humidité.

8.6. Polychlorobiphényles de puretés individuelles supérieures à 95 %: solution(s) mère(s) à 10 µg/ml dans le cyclohexane ou l'isooctane. Par exemple :

a) Mix PCB n° 3 de Dr. Ehrenstorfer, Gmbh (mélange des sept PCB). Stockage à 4 °C, à l'abri de la lumière. Les solutions dans l'isooctane peuvent être conservées à température ambiante (à 4 °C l'isooctane congèle, entraînant la précipitation des congénères de PCB à haut taux de chloration et des risques de mauvaise remise en solution). Durée de conservation : voir dates de validité fournisseur reprises sur les certificats pour les flacons non entamés (pour les solutions entamées conservées dans des conditions optimales, une durée de conservation de 1 an est adoptée sans dépasser la date de péremption du fournisseur).
b) Solution de PCB n° 30 à 10 µg/ml (Dr. Ehrenstorfer, gmbh)
c) Solution de PCB n° 209 à 10 µg/ml (Dr. Ehrenstorfer, gmbh)
d) Solutions de PCB commerciaux type Aroclor 1242, 1254, 1260 (Monsanto), à 100 µg/ml (Dr. Ehrenstorfer, gmbh).

8.7. Solutions diluées de concentrations adaptées à la gamme de mesure : 5 points minimum. Ajouts (de 50 µl à 1 ml par ex.) de solution mère (8.6a) à un volume fixe de solvant (cyclohexane). Les dilutions sont mesurées par pesée. Conservation : 6 mois maximum

8.8. Solution d'étalon interne pour mesure du facteur de réponse moyen : congénère n° 30/209 à 5 ng/µl dans le cyclohexane. Cette solution est utilisée pour réaliser un ajout de 10 µl dans une fraction aliquote de 1 ml de solution diluée d'étalon (8.7). Cet ajout est réalisé directement dans les fioles de passeur d'échantillon. Cette solution est également utilisée pour le dopage des échantillons inconnus.

8.9. Huile de transformateur sans PCB utilisée pour la préparation des blancs.

9. Préparation de l'échantillon

Les échantillons qui contiennent une phase aqueuse doivent faire l'objet d'une séparation des phases par décantation, centrifugation ou ajout de petites portions successives de sulfate de sodium anhydre.
Les échantillons sont homogénéisés (par agitation manuelle, par sonication ou agitation mécanique) et peuvent éventuellement être légèrement réchauffés pour en diminuer la viscosité. La densité de l'huile est testée par ajout d'une goutte d'huile dans un ml d'eau. Si la densité est supérieure à 1, la dilution est adaptée (l'échantillon est prédilué 1000x). L'échantillon est marqué comme dangereux et le préparateur prévient l'analyste.

ORIGINAL 2014

10. Mode opératoire

10.1 Dilution

Une part aliquote de 3 g environ est diluée dans 7 ml de n-hexane. La dilution est réalisée par pesée.
Un millilitre de cette dilution est prélevé (à la propipette) dans une fiole jetable de 4,5 ml et dopé avec 80 µl de solution d'étalon interne (PCB 30/209 à 5 ng/µl).

10.2 Préparation de la purification

Préparation de la silice activée :
Le gel de silice est activé à 180 °C pendant 3 h avant utilisation

Préparation de la silice acide :
Un mélange à 56 % (en poids) de gel de silice activé et 44 % d'acide sulfurique concentré est préparé en ajoutant progressivement l'acide au gel de silice ; le tout est agité dans un système d'agitation mécanique type Turbula jusqu'à obtention d'un mélange homogène. Le mélange est conservé dans un récipient fermé à l'abri de l'humidité.

Préparation des colonnes d'extraction :
Colonne supérieure : deux filtres en fibre de verre découpés à l'emporte-pièce au diamètre adéquat sont déposés au fond de la colonne. La colonne est remplie successivement par 500 mg d'acide benzène sulfonique, deux filtres en fibre de verre et 500 mg du mélange silice/acide sulfurique. Un petit tampon en laine de verre termine le remplissage.

Colonne inférieure : deux filtres en fibre de verre découpés à l'emporte-pièce au diamètre adéquat sont déposés au fond de la colonne. La colonne est remplie avec 500 mg de silice activée. Un petit tampon en laine de verre termine le remplissage.

10.3 Purification

- Monter les deux colonnes l'une au-dessus de l'autre.
- Rincer les deux colonnes par 6 x 2 ml d'hexane.
- Déposer, à la propipette, 250 µl de la solution d'échantillon (dilué et dopé) en tête de la première colonne et laisser pénétrer.
- Eluer avec 500 µl d'hexane et laisser la silice acide réagir avec l'échantillon pendant quelques minutes.
- Eluer avec 2 x 2 ml d'hexane et forcer le restant du solvant à travers la phase en appliquant (au moyen d'une seringue) une légère surpression en tête de colonne.
- Enlever la colonne supérieure et éluer la colonne inférieure avec 3 x 1 ml d'hexane.
- Forcer le restant du solvant à travers la phase en appliquant au moyen d'une seringue, une légère surpression en tête de colonne.
- Les fractions combinées sont concentrées sous un flux d'azote.
- L'extrait est transféré par pipetage en fioles de 2 ml tarées. Les flacons de concentration sont rincés avec un peu de solvant qui est combiné à l'extrait final. Peser précisément les extraits.
- Le volume final idéal se situe entre 500 µl et 1,5 ml. Il conditionne la limite de détection pratique de l'analyse au même titre que le volume de la prise d'essai.

10.4 Essai à blanc

Effectuer l'extraction dans les mêmes conditions avec une prise d'essai d'huile sans PCB.

ORIGINAL 2014

10.5 Essai de rendement

Effectuer l'extraction dans les mêmes conditions avec une huile minérale dopée avec les 6 PCB à un niveau d'environ 500 ng/g par congénère. Les rendements à l'analyse estimés dans cette huile sont utilisés pour la correction des résultats des échantillons inconnus.

10.6 Essai de contrôle

Une fois par an, effectuer 3 essais avec une huile de référence certifiée.
Les résultats doivent se situer dans les limites d'acceptation du certificat.

10.7 Analyse par chromatographie en phase gazeuse (GC-ECD)

10.7.1 Préparation du système d'analyse :

A. DETECTEUR ECD : Contrôle et réglage du bruit de fond détecteur et des conditions initiales selon la procédure d'utilisation

Paramètre	Valeurs
Pulse amplitude	50 V
Current	1 nA
Pulse Width	1 µsec (azote), 0,1 µsec (argon/méthane)
Température	310 °C

B. CHROMATOGRAPHE :

1. Identification de la colonne installée et contrôle des connexions
2. Recherche des fuites au septum de l'injecteur et vérification des débits :
   - pression d'entrée : fonction de la colonne
   - débit de split : fonction de la dilution voulue
   - balayage du septum : 2,5 ml/min env.
   - pression de gaz make-up : 170 kPa (fonction du détecteur)
3. Vérification des programmations de température :
   - four : 60 °C (2:00 min) 20 °C/min // 160 °C (0:00 min) 1,2 °C/min // 280 °C (5:00 min).
   - Injecteur : 230 °C à 260 °C
   - Embase détecteur : 270 à 290 °C
4. Contrôle logiciel :
   - compléter la table d'échantillonnage avec noms de fichier, identification des solutions d'étalonnage et d'échantillons, les volumes d'échantillon et les dopages d'étalon interne et concentrations des solutions étalons.

C. PASSEUR D'ECHANTILLONS :

1. Remplissage du (des) flacon(s) de rinçage de seringue
2. Contrôle visuel de l'était de la seringue d'injection
3. Rinçage (abondant) de la seringue
4. Contrôle de la propreté du système par une injection à blanc de solvant

ORIGINAL 2014

10.7.2 Etalonnage et analyse :

Un étalonnage est réalisé conjointement à chaque série de mesure.
Injecter dans l'ordre les blancs, les solutions étalons (par ordre croissant de concentration ; habituellement dans la gamme de 5 à 500 ng/ml), les échantillons et le(s) rendement(s) en se référant à la procédure d'utilisation du chromatographe en phase gazeuse utilisée.

11. Calcul et expression des résultats

Les intégrations des chromatogrammes sont vérifiées manuellement et les temps de rétention définis par l'analyse des solutions étalons sont utilisés pour la reconnaissance automatique des pics lors du retraitement des résultats des inconnus. Dans tous les cas, l'attribution correcte des pics est soumise à vérification (par comparaison des temps de rétention des inconnus avec ceux des étalons ou calcul des temps de rétention relatifs au PCB 209). L'identification d'un profil ou de plus de trois pics simultanément n'est pas suivie de confirmation. Dans les cas ou moins de trois pics et/ou lorsqu'un doute surgit quant à l'authenticité de la contamination, une confirmation peut être menée par analyse des échantillons litigieux sur une colonne de polarité différente ou par analyse par GC-MS.

Le calcul des concentrations finales est réalisé selon un modèle de régression linéaire (sans pondération) calculé sur la hauteur des pics relativement à un étalon interne. En fonction des profils d'Aroclor présents, l'un ou l'autre des étalons internes PCB30 ou PCB209 peut être utilisé.

Dans le cas où la droite d'étalonnage s'écarte trop de la mesure des points « hauts » (écart sur le recalcul des points supérieur à 20 % de la concentration nominale) et afin d'évaluer la concentration en PCB dans des échantillons concentrés, une droite de régression peut être calculée sans tenir compte des points bas.

Les résultats (corrigés pour les rendements) sont exprimés en mg/kg. La somme des 6 congénères et l'expression des résultats en PCB totaux sont réalisées conjointement à la présentation des résultats individuels. La somme des 6 PCB est multipliée par 5 pour obtenir la quantité de PCB « totaux ». Le facteur de conversion utilisé est celui de la méthode de calcul « B » de la norme EN12766-2. La limite inférieure indiquée est de 1 mg/kg et la limite supérieure de 5000 mg/kg.

12. Sécurité

Le n-hexane présente une neurotoxicité particulière (inhalation). Travailler sous hotte.

L'acide sulfurique concentré présente une corrosivité extrême. La silice imprégnée d'acide également.

L'anhydre sulfurique dégagé présente une toxicité importante. Porter les équipements de protection adéquats pour en éviter le contact. Eviter l'inhalation des fumées et des fines particules. Travailler sous hotte. Eliminer les résidus de colonnes de préparations dans des conteneurs adéquats. Faire enlever les résidus par une société spécialisée.

ORIGINAL 2014

Les PCB sont des substances organochlorées persistantes et bio-accumulatives présentant une toxicité aigüe par contact (chloracné) et une toxicité chronique importante. Il convient de s'en prémunir en portant les équipements de protection adéquats (blouse de laboratoire, gants, lunettes de protection) et en ne consommant ni boissons ni nourriture sur le lieu de travail. Les échantillons d'huile de transformateur peuvent contenir plusieurs dizaines de pourcent de PCB et toute identification positive doit donner lieu à un marquage visible et univoque du conteneur.
L'élimination des résidus d'échantillons doit être effectuée par une société spécialisée agréée.

13. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne et à la norme EN 12766;
- L'identification complète de l'échantillon;
- Les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis;
- Les références de date de prélèvement et de début de traitement de l'échantillon
- Les résultats du dosage conformément au point 11;
- Les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

ORIGINAL 2014

14. Références

EN 12766-1 :2000 : Produits pétroliers et huiles usagées – Détermination des PCB et produits connexes – Partie 1 : Séparation et dosage d'une sélection de congénères de PCB par chromatographie en phase gazeuse (CG) avec utilisation d'un détecteur à capture d'électron (ECD).

EN 12766-2 :2001 : Produits pétroliers et huiles usagées – Détermination des PCB et produits connexes – Partie 2 : Calcul de la teneur en polychlorobiphényles (PCB)

NBN EN 61619 :1997 : Isolants liquides – Contamination par les polychlorobiphényles (PCB) – Méthode de détermination par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire.

S-IV-1V1 – GRANULOMETRIE, TENEURS EN PIERRES ET IMPURETES DES COMPOSTS

1. Objet

Détermination de la teneur en pierres, verre, métaux et plastique dans des composts.
Expression du résultat : en % de la matière brute.

2. Domaine d'application

La présente méthode décrit la détermination de la teneur en impuretés présentes dans les composts.

ORIGINAL 2014

3. Principe

Les échantillons frais séchés en étuve ventilée sont tamisés successivement à 40, 5 et 2 mm.
Les refus au tamis sont conservés et pesés.
Les pierres sont recherchées dans la fraction supérieure à 5 mm.
Les verres, métaux et plastiques (impuretés) sont recherchés dans la fraction supérieure à 2 mm.

4. Conditionnement et conservation de l'échantillon

On se référera aux procédures relatives au stockage, à la conservation et au prétraitement de l'échantillon.

5. Préparation de l'échantillon

Sans objet

6. Appareillages et matériels utilisés

- Tamis de 40 mm, 5 mm et 2 mm ;
- Pince type "Brucelle".

7. Réactifs utilisés

Sans objet.

8. Mode opératoire

1000 g d'échantillon frais sont séchés en étuve ventilée à 40 °C jusqu'à poids constant. La matière sèche est tamisée successivement à l'aide de tamis de maille de 40 mm, 5 mm et 2 mm. Les refus au tamis sont récoltés et pesés.

Dans le refus du tamis de 5 mm, on isole les pierres à l'aide d'une pince type "brucelle". La fraction pierreuse est pesée.

Dans le refus du tamis à 2 mm, on isole les matières plastiques, les verres à l'aide d'une pince type "brucelle" et la fraction métallique à l'aide d'un aimant. Les fractions sont pesées. S'il y a présence d'impuretés (plastiques, métaux, verres) dans la fraction supérieure à 5 mm, elles sont remélangées à celles isolées dans le refus à 2 mm.

9. Expression des résultats

%Passage au tamis de 40 mm = $(1000-P_0)/1000 \times 100$

%Refus en Pierres à 5 mm = $(P_1/1000) \times 100$

%Impuretés à 2 mm = $((P_2 + P_3 + P_4)/1000) \times 100$

où P_0 = poids du refus au tamis de 40 mm

P_1 = poids de pierres, fraction supérieure à 5 mm

P_2 = poids de la fraction métallique, supérieure à 2 mm

P_3 = poids des matières plastiques, fraction supérieure à 2 mm

P_4 = poids des verres, supérieure à 2 mm.

ORIGINAL 2014

10. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne ;

- L'identification complète de l' échantillon ;
- Les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis ;
- Les résultats du dosage conformément au point 9 ;
- Les détails opératoires non prévus dans présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

11. Référence

VITO (2013), *Gehalte aan steentjes en gehalte aan onzuiverheden*, anorganische analysemethoden/compost, CMA/2/IV/11.

ORIGINAL 2014

S-IV-2V1 – POUVOIR GERMINATIF

1. Objet

Détermination du pouvoir germinatif dans des composts.

2. Domaine d'application

La présente méthode décrit la détermination du pouvoir germinatif dans des composts (A) ou des digestats (ayant un taux de matières sèches entre 6 et 20 %) (B).

3. Principe

Le pouvoir germinatif est contrôlé durant 2 semaines, lorsque l'échantillon est placé dans les conditions de l'essai.

4. Conditionnement et conservation de l'échantillon

On se référera aux procédures relatives au stockage, à la conservation et au prétraitement de l'échantillon.

5. Préparation de l'échantillon

Sans objet

6. Appareillages et matériels utilisés

- Plateau ;
- Local à humidité et température contrôlée.

7. Réactifs utilisés

Sans objet

ORIGINAL 2014

8. Mode opératoire

A : 500 ml de matériau frais pour analyse sont mélangés avec 2000 ml de tourbe blanche, humidifiés et étalés en une couche de 2 à 3 cm dans un bac en plastique (idéalement pourvu d'un couvercle approprié).

Ce bac est placé dans un local où l'humidité relative est de 100 % et la température de 21 °C sous une lumière naturelle.

Durant 2 semaines, l'apparition d'un éventuel pouvoir germinatif est contrôlé.

La tourbe blanche est utilisée seule comme contrôle dans ce test.

B : Si on désire analyser le pouvoir germinatif d'un digestat, on utilisera des bacs en plastique d'environ 20 sur 50 cm (idéalement pourvu d'un couvercle approprié).

Sur le fond du bac, on étend un papier de manière à empêcher l'évacuation de l'eau.

On étend ensuite une couche d'environ 5 cm de sable grossier et sur celle-ci 500 ml de digestat à analyser.

Ces bacs sont placés dans un local avec un climat relativement constant, à une température de 21 °C et sous une lumière naturelle.

Durant l'essai, il peut être nécessaire d'humidifier.

Durant 2 semaines, l'apparition d'un éventuel pouvoir germinatif est contrôlé.

Pour chaque série d'échantillons, un blanc est réalisé où aucun échantillon n'est étalé sur le sable.

ORIGINAL 2014

9. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne ;
- L'identification complète de l'échantillon ;
- Les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis ;
- L'apparition d'un éventuel pouvoir germinatif dans les conditions de l'essai ;
- Les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

10. Référence

VITO (2013), *Kiemkrachtige Zaden*, anorganische analysemethoden/compost, CMA/2/IV/10.

Praktijkonderzoek naar de landbouwkundige meerwaarde van vergiste mest boven onvergiste mest, M. Melai, T. Verstaeten en P. van de Weijer, s'-Hertogenbosch, april 2004 (www.novem.nl).

S-IV-3V1 – MATURITE : DEGRE D'AUTO ECHAUFFEMENT

1. Objet

Détermination du degré d'auto échauffement d'un compost.

2. Domaine d'application

La présente méthode décrit la détermination du degré d'auto échauffement d'un compost.

3. Principe

Le test met en œuvre un vase Dewar dans lequel l'échantillon de compost est mis incubé dans des conditions d'humidité optimales et standardisées. En fonction de l'échantillon, moins la maturation est élevée (activité microbienne élevée et/ou plus de matière alimentaire disponible) plus la température dans le vase Dewar sera élevée. La maturité est déduite de la température maximale durant l'incubation. L'important dans ce test est l'ajustement de l'humidité. Des échantillons trop humides ou trop secs limitent l'auto échauffement, ce qui a pour conséquence une surestimation de la maturation (maturité trop élevée). Il est donc nécessaire d'optimaliser le taux d'humidité de l'échantillon avant de procéder au test.

ORIGINAL 2014

4. Conditionnement et conservation de l'échantillon

On se référera aux procédures relatives au stockage, à la conservation et au prétraitement de l'échantillon.

5. Préparation de l'échantillon

Le test est exécuté le plus rapidement possible après la réception de l'échantillon. Si pour des raisons pratiques, le test ne peut être réalisé, l'échantillon sera conservé dans une chambre froide. L'important est que, lorsqu'on effectuera le test, on laisse revenir l'échantillon à la température ambiante.

Remarque importante :

L'échantillon tamisé doit, avant réalisation du test d'auto échauffement, être ajusté pour l'activité microbienne à un taux d'humidité optimal.

Ce taux d'humidité optimal est plus élevé dans le cas d'échantillon riche en matière organique que dans le cas d'échantillon pauvre en matière organique.

6. Appareillages et matériels utilisés

- Tamis avec largeur de maille de 10 mm
- Vase Dewar (volume de 2 litres, diamètre intérieur 100 mm)
- Thermomètre avec lecture maximum ou enregistrement continu
- Etuve ventilée, dessicateur avec récipient taré pour la détermination de l'humidité
- Balance (précision de 0.1 g)
- Armoire thermostatisée à 20 °C

7. Réactifs utilisés

Sans objet.

8. Mode opératoire

8.1. Préparation de l'échantillon

L'échantillon frais (minimum 3 litres) est tamisé au travers d'un tamis de maille de 10 mm.

La fraction inférieure à 10 mm est utilisée pour réaliser le test « qualité du taux d'humidité » (8.2.) et le test d'auto échauffement (8.3.).

Après le tamisage, il faut au minimum 1.5 kg ou 2 l d'échantillon pour effectuer la détermination de la maturité et pour la détermination de la teneur en humidité après la réalisation du test de l'humidité optimale

8.2. Humidité optimale :

8.2.1. : « test de la poignée » (méthode rapide).

La teneur optimale en humidité est ajustée au moyen du « test de la poignée ». Un aliquote frais d'échantillon tamisé est prélevé à la main et écrasé dans le poing. Si de toute évidence l'eau sort entre les doigts, alors l'échantillon est trop mouillé. Si lorsqu'on ouvre le poing, l'échantillon tombe en morceaux, alors celui-ci est trop sec. Un échantillon est par conséquent considéré comme ayant une teneur en humidité optimale si après écrasement d'un échantillon en une boule compacte, il n'y a pas d'eau qui apparaît entre les doigts. Si une quelconque déformation apparaît, c'est que la teneur en humidité est néanmoins trop élevée. Cette teneur en humidité optimale est représentée par l'expression « aussi humide qu'une éponge pressée ». Les échantillons qui sont trop secs sont homogénéisés par ajout d'eau. Les échantillons trop mouillés sont soigneusement séchés à température ambiante ou dans une étuve à maximum 35 °C.

ORIGINAL 2014

8.2.2. : **méthode classique (méthode plus longue).**

La méthode de la poignée est simple et rapide mais elle est imprécise (reproductibilité) et sous-estime peut-être le taux d'humidité optimal lors de l'ajustement d'échantillons trop secs. En effet, lors de la réhydratation on ne laisse pas le temps à l'eau de bien réimbiber la matière surtout si la matière a subi un séchage partiel. L'intérieur des agrégats de matières pourrait rester trop sec ce qui pourrait peut être affecter le résultat du test d'auto-échauffement. L'échantillon est réhydraté à 50 % de la capacité de rétention en eau, celle-ci étant déterminée après un temps de macération dans l'eau assez long. La quantité d'eau à ajouter est calculée en fonction de la teneur initiale en eau de l'échantillon et de sa capacité de rétention en eau. Cela nécessite une période de 48 heures avant la mise en route du test et deux mesures de teneur en eau, mais cela est moins sujet à discussion (taille de l'échantillon, force de serrage, …).

Le « test de la poignée » est généralement suffisant et son imprécision affecte sans doute peu le résultat final.

8.3. **Détermination de la maturité – test d'auto échauffement.**

Lorsque la teneur optimale en humidité est ajustée, le vase Dewar est rempli jusqu'au bord avec l'échantillon. Ensuite, l'échantillon est légèrement pressé en tapant un certain nombre de fois le vase Dewar légèrement sur la table et en le secouant un certain nombre de fois. Ensuite, le bout du thermomètre (senseur) est maintenu dans le tiers inférieur du vase. Les vases Dewar sont mis à incuber dans une armoire thermostatisée à une température de (20 ± 2) °C. Pendant la période d'incubation, la température est mesurée. Si la mesure en continu ou l'enregistrement ne sont pas possibles, 2 mesures sont effectuées toutes les 24 heures au moins à intervalle de 8 heures. Le test est considéré comme terminé lorsque la température redescend nettement, toutefois au plus tard après 10 jours. En règle générale, le maximum de température est atteint après 2 à 5 jours.

8.4. **Détermination de la teneur en humidité après réalisation du test du taux d'humidité optimal.**

La teneur en humidité de l'échantillon est déterminée comme précédemment après réalisation du test du taux d'humidité optimal (% d'humidité).

Pour la description de la détermination de la teneur en humidité, on se référera à la méthode S.I.3. Toutefois, la méthode décrite permet quelques déviations. D'abord, elle peut être effectuée à part du traitement (séchage, tamisage, mouillage). La détermination de l'humidité s'effectue à (100 ± 3) °C directement sur le matériau issu du test du taux d'humidité optimal. De ce matériau est prélevé 25 g pour la détermination de la teneur en humidité. La suite est effectuée comme décrit dans la méthode S.I.3.

9. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne ;

ORIGINAL 2014

- L'identification complète de l'échantillon ;
- Les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis ;
- Au moyen du tableau ci-dessous, on peut, à l'aide de la température maximum enregistrée (Tmax) déterminer la maturité.

Tableau : Détermination de la maturité en fonction de la température maximum dans le test d'auto échauffement (Tmax) (pour une température d'incubation de 20 °C).

Maturité	Tmax (°C)
I	> 60
II	50.1 – 60.0
III	40.1 – 50.0
IV	30.1 – 40.0
V	≤ 30

Pour le rapport, trois données sont communiquées : la maturité, la température maximum (Tmax en °C) et la teneur en humidité optimale (% d'humidité) de l'échantillon après exécution du test de la poignée (8.2.1) ou de la méthode classique (8.2.2).

- Les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

Remarque : les cinq catégories sur l'échelle d'interprétation sont souvent regroupées par les praticiens et les agences européennes en trois classes, où le grade le plus bas est appelé « compost frais », le moyen est rapporté comme « compost actif » et le plus haut grade comme « compost fini ». (Weimer, 1995).

10. Référence

VITO (2013), *Rijpheidsgraad (zelfverhittingstest)*, anorganische analysemethoden/compost, CMA/2/IV/22.

Bestimmung des Rottegrades im Selfsterhitzungsversuch, Methodenbuch zur Analyse von Kompost, Bundesgütegemeinschaft Kompost e.V., Schönhauser Straße 3, D-50968 Köln, 4.Auflage Juli 1998.

A standardized Dewar test for evaluation of compost self-heating : William F. Brinton Jr, Eric Evans, Mary L.Droffner, Richard B. Brinton; Woods End Research Laboratory.

ORIGINAL 2014

S-IV-4V1 – TEST DE PHYTOTOXICITÉ POUR LES COMPOSTS

1. Objet

Détermination de la phytotoxicité ou retard de germination pour les composts.

2. Domaine d'application

La présente méthode décrit la détermination de la phytotoxicité d'un compost.

3. Principe

La phytotoxicité ou un retard de germination dans du matériel frais est appréciée par un essai de germination. Le pouvoir germinatif du cresson (*Lepidium sativum* L.) est testé dans des conditions standardisées à l'aide d'un substrat, mélange du matériel frais à analyser et de sable. La composition du substrat est définie en fonction de la conductivité (concentration saline) afin de minimiser l'effet de sel. Le pouvoir germinatif est comparé à celui obtenu sur substrat de référence soit du sable pur. La phytotoxicité est exprimée sous forme du pourcentage d'inhibition de la germination de graines de cresson après 10 jours de croissance à environ 20°C.

ORIGINAL 2014

4. Conditionnement et conservation de l'échantillon

On se référera aux procédures relatives au stockage, à la conservation et au prétraitement de l'échantillon.

5. Préparation de l'échantillon

Les échantillons sont séchés à l'air ou dans une étuve ventilée à une température inférieure à 40°C. Ils sont alors tamisés au travers d'un tamis à trous carrés de 2 mm.

6. Analyse préliminaires

Conductivité électrique (µS.cm-1 à 20 °C).

7. Appareillages et matériels utilisés

- Bacs en plastique de 5 litres (pour le mélange) ;
- Boîtes en plastique (longueur 20 cm x largeur 10 cm x hauteur 6 cm) pourvues d'un couvercle en plastique transparent (4 boîtes par essai).

8. Réactifs utilisés

- Sable blanc séché avec les caractéristiques suivantes :
  - séchage à l'air ambiant
  - pH eau entre 6 et 7,5
  - minimum 99 % entre 0.08 et 0.8 mm
  - minimum 95 % entre 0.08 et 0.5 mm
- Cresson (*Lepidium sativum* L.) avec pouvoir germinatif minimum de 90 %.

9. Mode opératoire

9.1 Préparation du substrat

Le matériel à analyser est mélangé avec du sable et de l'eau dans les proportions reprises dans le tableau suivant :

Conductivité électrique spécifique (µS.cm^{-1})	Volumes (en ml) matériel à tester : sable : eau	Proportions (1:s) Matériel à analyser : sable
< 375	1600 : 0 : 160	1 : 0
375 – 750	1100 : 550 : 275	1 : 0.5
750 – 1500	550 : 1100 : 385	1 : 2
1500 – 2000	400 : 1200 : 400	1 : 3
> 2000	350 : 1400 : 455	1 : 4

Ce mélange est étalé sur une épaisseur de quelques centimètres, divisé en quatre boîtes en plastique (répétitions).

9.2 Préparation du substrat de référence

600 g de sable séché sont mélangés avec 100 ml d'eau et étalés sur une hauteur de quelques centimètres dans quatre boîtes en plastique.

ORIGINAL 2014

9.3 Mode opératoire proprement dit

100 graines, comptées précisément, sont semées dans chaque boîte en plastique. Les boîtes sont couvertes et laissées à température ambiante sous éclairage jour/nuit naturel (un éclairage artificiel peut être utilisé).

Après 4 jours, les plantules à développement normal (racine, tige et feuille) sont comptabilisées et enlevées.

Après 10 jours les nouvelles plantules sont comptabilisées.

Le pouvoir germinatif est la somme des plantules comptabilisées après 4 et 10 jours. Pour le substrat (mélange matériel à analyser et sable), le pouvoir germinatif moyen est calculé à partir des quatre bacs de culture.

10. Expression des résultats

La phytotoxicité du matériel à analyser se calcule suivant la formule :

$$P\% = \frac{(K_r - K_s)}{K_r} \cdot 100$$

P% = Phytotoxicité pour une proportion 1:s (en %).

Kr = pouvoir germinatif du cresson dans le substrat de référence

Ks = pouvoir germinatif du cresson dans le substrat à analyser

s = proportion de sable / substrat à analyser (V/V).

11. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne ;
- Identification complète de l'échantillon ;
- Les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis ;
- Les résultats des pourcentages d'inhibition de la germination (phytotoxicité) conformément au point 10 ;
- Les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

12. Référence

VITO (2012), *Fytotoxiciteit, anorganishe analysemethoden/compost*, CMA/2/IV/12.

ORIGINAL 2014

S-IV-5V2 – DÉTERMINATION DE LA VALEUR NEUTRALISANTE DANS LES MATIÈRES UTILISEES SUR OU DANS LES SOLS

1. Objet

Détermination de la valeur neutralisante dans les matières utilisées sur ou dans les sols.

2. Domaine d'application

La présente méthode décrit la détermination de la valeur neutralisante dans les matières utilisées sur ou dans les sols.

ORIGINAL 2014

3. Principe

Une suspension aqueuse de l'échantillon préalablement calciné à 550 °C est portée à ébullition avec un volume connu et en excès d'acide titré.

L'excès d'acide est titré par une solution alcaline de titre connu.

La valeur neutralisante d'un amendement basique correspond au nombre d'équivalents de CaO qui ont, sur le sol, le même impact que 100 kg de l'amendement considéré.

4. Conditionnement et conservation de l'échantillon

On se référera aux procédures relatives au stockage, à la conservation et au prétraitement de l'échantillon.

5. Préparation de l'échantillon

L'échantillon est séché et ensuite calciné dans un four à 550 °C afin d'éliminer la matière organique. L'échantillon est ensuite broyé et tamisé au travers d'un tamis à trous carrés de 250 µm.

6. Appareillages et matériels utilisés

- Capsules résistant à 550 °C.
- Four à calciner.
- Appareil pour chauffage à reflux avec réfrigérant et fiole conique à col rodé.

- Verrerie de laboratoire.

7. Réactifs utilisés

- NaOH ou KOH 0.1 N ;
- HCl 1 N ou 0.8 N ;
- Solution d'indicateur

8. Mode opératoire

Introduire environ 1g d'échantillon préalablement calciné à 550 °C, pesé à 1 mg près, avec 50 ml d'eau distillée dans une fiole conique de ± 250 ml.

Ajouter 50 ml d'HCl 0.8 N ou 40 ml d'HCl 1 N et porter à ébullition.

Chauffer à douce ébullition pendant 1/2 h à reflux sous réfrigérant.

Laisser refroidir, transvaser quantitativement dans un ballon jaugé de 200 ml, porter au volume, homogénéiser et filtrer.

Prélever 50 ml du filtrat, ajouter quelques gouttes d'indicateur et titrer l'excès d'acide avec NaOH 0.1 N ou KOH 0.1 N.

9. Expression des résultats

La valeur neutralisante sur produit calciné est donnée par la formule :

$$VNs/calciné = \frac{1.1216 * (100 - V)}{m}$$

Où :

V est le volume en ml de NaOH ou KOH utilisé pour le titrage.

m est le poids en g de la prise d'essai calciné.

La valeur neutralisante sur produit brut est calculée par la formule :

$$VNs/brut = VNs/calciné * \frac{100 - (humidité(\%s/brut) + MO(\%s/brut))}{100}$$

10. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- L'identification complète de l'échantillon ;
- Les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis ;

ORIGINAL 2014

- Les résultats du dosage conformément au point 9 ;
- Les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

11. Référence

Ministère de l'Agriculture, *Méthodes de convention pour l'analyse des engrais et des amendements du sol, partie I, Engrais*, 120 pages.

ORIGINAL 2014

S-IV-6V1 – METHODE OXITOP : DETERMINATION DE LA STABILITÉ D'UN COMPOST AU MOYEN D'UN RESPIROMÈTRE FERMÉ

1. Objet

Cette procédure décrit une méthode pour déterminer la stabilité des composts et des digestats par la mesure de la consommation en oxygène dans des conditions définies, à l'aide d'un respiromètre fermé. Cette méthode dite OxiTop® est utilisée dans le cadre de l'évaluation de la maturité des composts et des digestats.

2. Domaine d'application

Cette méthode s'applique aussi bien aux composts qu'aux digestats.

3. Principe

Le principe de la méthode Oxitop repose sur le fait que le compost en fin de maturation possède une faible consommation en oxygène et une faible production de gaz carbonique. La stabilité d'un compost est une mesure de l'activité microbienne de celui-ci par une mesure de l'oxygène consommé.
Le principe général de cette méthode est le suivant : dans un récipient hermétiquement fermé à l'aide d'un capteur de pression, un mélange compost/milieu minéral ou digestat/milieu minéral est agité en permanence pendant cinq jours. Le CO_2 produit étant capté par un absorbant alcalin, la consommation en oxygène, qui se traduit par une chute de pression dans le récipient, est mesurée. La chute de pression est en corrélation avec le taux d'activité microbienne.

4. Conditionnement et conservation de l'échantillon

L'échantillon doit être conservé jusqu'au moment de l'analyse dans un flacon complètement rempli, bouché hermétiquement, au frigo. L'analyse doit être commencée le plus tôt possible et au plus tard dans les 24 h qui suivent le prélèvement.

5. Appareillages et matériels utilisés

5.1. Incubateur à 20 ± 2 °C
5.2. Un système composé d'un agitateur et de barreaux magnétiques ou un agitateur à mouvement circulaire.
5.3. Un respiromètre fermé composé d'une bouteille d'un litre muni d'un adaptateur et d'une sonde de pression (minimum 2 systèmes complets pour l'échantillon à analyser et pour la mesure du blanc)
5.4. pH-mètre
5.5. Balance analytique
5.6. Tamis de 10 mm
5.7. Entonnoir

ORIGINAL 2014

6. Réactifs utilisés

Tous les réactifs sont de qualité « pour analyse »

6.1. Eau déminéralisée
6.2. Dihydrogénophosphate de potassium déshydraté (KH_2PO_4)
6.3. Hydrogénophosphate de potassium déshydraté (K_2HPO_4)
6.4. Hydrogénophosphate de sodium dihydraté ($Na_2HPO_4.2H_2O$)
6.5. Chlorure d'ammonium (NH_4Cl)
6.6. Sulfate de magnésium heptahydraté ($MgSO_4.4H_2O$)
6.7. Chlorure de calcium dihydraté ($CaCl_2.2H_2O$)
6.8. Chlorure ferrique hexahydraté ($FeCl_3.6H_2O$)
6.9. Inhibiteur de nitrification N-allylthiourée
6.10. Acide chlorhydrique concentré
6.11. Oxygène pur (pureté de plus de 99 %)
6.12. Absorbants de gaz carbonique type chaux sodée avec indicateur

7. Mode opératoire

7.1. Préparation des solutions

7.1.1. Solution minérale A : 8.2 g KH_2PO_4, 21.75 g K_2HPO_4, 50.30 g $Na_2HPO_4.7H_2O$ et 2.0 NH_4Cl dans un litre d'eau déminéralisée
7.1.2. Solution minérale B : 22.50 g $MgSO_4.7H_2O$ dans un litre d'eau déminéralisée
7.1.3. Solution minérale C : 36.40 g $CaCl_2.2H_2O$ dans un litre d'eau déminéralisée
7.1.4. Solution minérale D : 0.25 g $FeCl_3.6H_2O$ dans un litre d'eau déminéralisée
7.1.5. Milieu minérale : remplir un jaugé de 1000 ml avec la moitié d'eau déminéralisée. Ajouter ensuite 10 ml de la solution minérale A, 1 ml des solutions minérales B, C et D. Si nécessaire ajuster le pH avec HCl jusqu'à un pH de 6.5 ± 0.2. Compléter avec de l'eau déminéralisée jusqu'au trait.
7.1.6. Solution HCl diluée 1 : 10
7.1.7. Solution d'allylthiourée 5 g/l : 0.5 allylthiourée dans 100 ml d'eau déminéralisée

7.2. Préparation de l'échantillon

L'échantillon (minimum 1 litre) est tamisé au travers d'un tamis de maille de 10 mm. La fraction inférieure à 10 mm est utilisée pour l'essai.

7.3. Détermination du volume du réacteur

Déterminer au moment de la mise en service du réacteur par gravimétrie le volume réel du flacon à réaction. Le volume moyen de différents flacons (V réacteur) est utilisé pour les calculs ultérieurs.

ORIGINAL 2014

7.3.1. Remplir complètement le flacon avec de l'eau.
7.3.2. Monter l'adaptateur et la sonde de pression.
7.3.3. Peser la quantité d'eau contenue dans le flacon de réacteur. La masse d'eau en g divisé par sa masse volumique à la température de mesure est équivalente au volume du flacon en ml.

7.4. Procédure analytique

7.4.1. Remplir le réacteur au moyen d'un entonnoir avec 15 à 20 g de compost.
7.4.2. Ajouter 200 ml de milieu minérale (7.1.5)
7.4.3. Ajouter 1.25 ml de la solution d'allylthiourée (7.1.7)
7.4.4. Ajouter un barreau magnétique pour assurer l'agitation continue. Pour certaines matières, on peut utiliser un agitateur à mouvement circulaire.
7.4.5. Purger l'espace de tête avec de l'oxygène pur durant environ 15 secondes. Le tuyau est placé juste au dessus de la surface du liquide (il ne peut pas y avoir de contacte avec le liquide).
7.4.6. Immédiatement après la purge, placer l'ensemble du dispositif composé d'une capsule contenant 2.5 g de pastilles de chaux sodée (6.12), d'un caoutchouc et de la sonde de pression. Vérifier que l'ensemble est fermé hermétiquement.
7.4.7. Placer le respiromètre complet dans l'incubateur sur un agitateur et agiter pendant 15 minutes pour réduire la phase de latence.
7.4.8. Arrêter l'agitation et dévisser légèrement la tête du respiromètre ensuite fermer à nouveau (mise en équilibre).
7.4.9. Démarrer le réacteur avec le contrôleur du respiromètre. Pour le bon fonctionnement du respiromètre, se référer aux instructions du fabricant. Sélectionner le mode « Pression » et une durée d'incubation de 5 jours. Durant cette période, 360 mesures sont enregistrées à intervalle régulier sur les 5 jours.
7.4.10. Agiter (120tpm) durant 5 jours.
7.4.11. A la fin de l'essai, vérifier qu'il y a encore des grains blancs (non colorés) dans la capsule du dispositif.
7.4.12. A la fin de l'essai, le pH doit également être vérifié. Pour un déroulement optimal de l'expérience, la valeur du pH après 5 jours sera située entre pH 5.8-8.2.
7.4.13. A la fin de l'essai, transférer les données de la chute de pression (cumulatives) du respiromètre par rapport au temps selon les directives du fabricant.
7.4.14. Pour chaque série, réaliser un blanc. La mesure du blanc suit la même séquence qu'un échantillon, sauf qu'aucun échantillon de compost n'est ajouté au réacteur.

8. Traitement des données

8.1. Transférer les valeurs mesurées de réduction avec la valeur correspondante du blanc

ORIGINAL 2014

8.2. Mettre en graphique la fonction cumulative de la chute de pression (axe Y de 0 à -300 hPa) en fonction du temps (axe X de 0 à 5 jours).
8.3. Calcul de la consommation d'oxygène

La quantité d'oxygène consommée (nO_2) en mmol/kg MO/heure est donnée par la formule :

$$nO_2 = \frac{\frac{(P_{j0} - P_{j5}) * V}{R(273.15 + T)}}{(m_{compost} * \%MO)(N * 24)} * 10^4$$

P_{j0} : pression après correction du blanc au temps zéro en hPa, au démarrage de la réaction **après la phase de latente**
P_{j5} : pression après correction du blanc après 5 jours d'essai, en hPa
R : 8.31 J/mol K (constante de Boltzmann)
T : température incubateur en °C
V = volume de l'espace de tête en ml
$= V_{réacteur} - V_{milieu\ minéral} - V_{compost} - V_{chaux\ sodée\ +\ inhibiteur}$
$V_{réacteur}$: volume effectif du flacon de réaction en ml
$V_{milieu\ minéral}$: volume ajouté de milieu minéral en ml
$V_{compost}$: volume du compost utilisé pour l'essai, équivalent à la masse de compost ($m_{compost}$) en ml.
$V_{chaux\ sodée\ +\ inhibiteur} = 2$ ml
$m_{compost}$: masse du compost frais utilisé pour l'essai, en g.
% humidité : pourcentage d'humidité déterminée par la méthode S.I.3 sur la fraction <10 mm
% MO : pourcentage de matière organique déterminée par la perte de masse de l'échantillon à 550 °C déduite du % humidité
N : nombre de jours : pour cela il faut déduire des 5 jours la phase latente (3.5 jours pour une phase latente de 1.5 jour en générale)

j0 est le moment où la réaction démarre et où une chute significative de pression est enregistrée.
Pour saisir le temps j0, on peut déduire le début de la réaction à partir du graphique de pression.
Le temps j0 est situé entre 0 et 1.5 jours. Si la réaction n'a pas démarré après 1.5 jours, il faut recommencer le test avec une plus grande quantité de matière.

ORIGINAL 2014

9. Proposition d'interprétation des résultats OXITOP

Une proposition provisoire de classification sur base des résultats OXITOP a été formulée et est donnée dans le tableau 1.

Tableau 1 : Proposition de classement des résultats OXITOP

Consommation d'oxygène	Type
< 5 mmol O2/kgMO/h	Très stable, très peu actif
5 – 10 mmol O2/kgMO/h	Stable, activité limitée
10 - 15 mmol O2/kgMO/h	Modérément stable, actif
15 - 25 mmol O2/kgMO/h	Relativement jeune, vraiment très actif
> 25 mmol O2/kgMO/h	Jeune, très actif, instable

La valeur de 10 mmol O2/kgMO/h est considérée comme un objectif de qualité et la valeur de 15 mmol O2/kgMO/h comme valeur normative.

10. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- une référence à la présente méthode de la Région wallonne;
- l'identification complète de l' échantillon;
- les résultats de l' essai
- les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis;
- les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

11. Références

CMA/2/IV/25 : 2012 : Bepaling van de compoststabiliteit met een gesloten respirometer

ISO 16072 :2002 : Qualité du sol – Méthode de laboratoire pour la détermination de la respiration microbienne du sol.

ORIGINAL 2014

E-I-4V1 : DÉTERMINATION DES MATIERES EN SUSPENSION – METHODE PAR FILTRATION SUR FILTRE EN FIBRES DE VERRE ET GRAVIMETRIE

1. Objet

La présente méthode de référence spécifie une méthode de détermination gravimétrique des matières en suspension par filtration sur filtre en fibres de verre.

2. Domaine d'application

Analyse des matières en suspension dans les eaux brutes, les eaux usées et les effluents.
La limite inférieure de dosage est de 2 mg/l.

3. Définitions et abréviations

Matières en suspension : matières éliminées par filtration ou centrifugation dans des conditions définies (ISO 6107-2 : 1997, terme 4.25.3).

Eaux brutes : eaux souterraines – eaux de surfaces.

Eau de surface; eau superficielle : eau qui coule, ou qui stagne, à la surface du sol (ISO 6107-1 :2004, terme 74).

Eau souterraine : eau qui est retenue et qui peut généralement être récupérée au sein ou à travers d'une formation souterraine (ISO 6107-1 : 2004, terme 41).

Effluent : eau ou eau résiduaire provenant d'une enceinte fermée telle qu'une station de traitement, un complexe industriel ou un étang d'épuration (ISO 6107-1 : 2004, terme 31).

Eau résiduaire industrielle : eau rejetée après son utilisation dans un procédé industriel, ou après sa production au cours de ce procédé, et qui n'a aucune valeur immédiate en ce qui concerne ce procédé (ISO 6107-1 : 2004, terme 44).

Eau usée - eau résiduaire domestique: eau provenant des rejets d'une collectivité (ISO 6107-1: 2004, terme 65).

ORIGINAL 2014

4. Interférence

L'huile et les liquides organiques non miscibles peuvent être retenus sur le filtre et être partiellement volatilisés lors du séchage à (105 ± 2) °C. Cependant, dans le cas où une importante quantité d'huile est présente dans l'échantillon et qu'elle devrait être dosée séparément, il convient que le résidu filtré et lavé avec de l'eau ne contienne plus d'huile. Pour ce faire, il peut être lavé dans l'éthanol puis dans l'hexane avant d'être séché à (105 ± 2) °C. Si cette méthode est appliquée, il convient de le mentionner avec les résultats de l'essai car certains matériaux – autres que huileux – ont pu être également extraits.

5. Principe

A l'aide d'un équipement de filtration sous vide ou sous pression, l'échantillon est filtré sur un filtre en fibres de verre. Le filtre est ensuite séché à 105 °C et la masse du résidu retenu sur le filtre est déterminée par pesée.

6. Conditionnement et conservation de l'échantillon

Les échantillons doivent être de préférence placés dans des flacons d'un matériau transparent. Eviter de remplir complètement les flacons afin de permettre un mélange efficace lors de l'agitation du flacon.
La mesure doit être effectuée dans les plus brefs délais, si possible dans les 4 heures suivant le prélèvement. Conserver les échantillons qui ne peuvent analysés dans les 4 heures à l'abri de la lumière, à une température comprise entre 1 et 5 °C, mais ne pas congeler l'échantillon. Il est recommandé d'interpréter avec réserve les résultats obtenus à partir d'échantillons analysés après plus de 2 jours de conservation. N'ajouter aucun adjuvant pour la conservation des échantillons.
Si la durée entre l'échantillonnage et l'analyse dépasse 2 jours, l'indiquer dans le rapport, ainsi que les conditions de conservation.

ORIGINAL 2014

7. Appareillages et matériels utilisés

7.1 Equipement de filtration sous vide ou sous pression adapté aux filtres choisis :

L'équipement de filtration sur membrane peut, dans la plupart des cas, être utilisé pour d'autres types de filtres. La perméance du plateau support du filtre doit être suffisante pour permettre à l'eau de circuler librement.

7.2 Filtres en fibres de verre borosilicaté devant remplir les critères suivants :

- ne contenir aucun liant,
- être de forme circulaire et avoir un diamètre adapté à l'équipement de filtration,
- avoir une masse surfacique comprise entre 50 et 100 g/m²,
- la perte de masse dans un essai blanc doit être inférieure ou égale à 0.017 mg/cm² (pour le diamètre le plus courant : 47 mm), ce qui correspond à une perte de masse inférieure ou égale à 0.3 mg.

Essai à blanc

La vérification de la perte de masse s'effectue en appliquant les instructions opératoires mais en utilisant à la place de l'échantillon, 150 ml d'eau désionisée. Vérifier séparément chaque boîte ou lot. Utiliser 3 disques filtrants préalablement séchés à l'étuve pendant 1 h à 105 °C, choisis au hasard, de façon à accroître la sensibilité de l'essai.
La perte de masse doit être inférieure à 0.3 mg/filtre.

Le résultat du dosage dépend dans une certaine mesure du type de filtre utilisé, il est donc recommandé que le type de filtre soit spécifié.

7.3 Etuve dont la température peut être maintenue à (105 ± 2) °C

7.4 Balance analytique d'une précision d'au moins 0.1 mg

7.5 Support de séchage ayant un matériau de surface approprié pour supporter les filtres dans l'étuve

7.6 Matériel courant de laboratoire

8. Réactifs utilisés

8.1 Suspension de référence :

cellulose microcristalline, 500 mg/l (solution mère).
Peser 0.500 g de cellulose microcristalline $(C_6H_{10}O_5)_n$, préalablement séchée à l'étuve pendant 1 heure à 105 °C, qualité pour chromatographie sur couche mince (CCM) ou équivalent, et la transférer quantitativement dans une fiole jaugée de 1000 ml, compléter au trait avec de l'eau désionisée. Bien agiter la suspension avant utilisation.
La suspension peut être conservée au moins trois mois.

8.2 Suspension de référence de travail :

50 mg/l (solution fille).
Agiter la suspension de référence (voir 8.1) jusqu'à ce qu'elle soit complètement homogène. Verser sans attendre 100 ± 1 ml dans une burette graduée de 100 ml. Transférer quantitativement ce volume dans une fiole jaugée de 1000 ml, et compléter au trait avec de l'eau désionisée. Bien agiter la suspension avant utilisation.
Préparer ce réactif le jour de l'essai.

ORIGINAL 2014

9. Mode opératoire

- Laisser les échantillons s'équilibrer à la température ambiante.
- Sécher préalablement les filtres à l'étuve pendant 1 h à 105 °C.
- S'assurer que les filtres satisfont à l'exigence voulant que la perte de masse ne dépasse pas 0.3 mg par filtre (7.2).
- Laisser le filtre s'équilibrer à température ambiante à proximité de la balance.
- Peser le filtre à 0.1 mg près, éviter soigneusement de contaminer le filtre par des poussières, par exemple en utilisant un dessicateur.
- Placer le filtre (partie lisse en bas) dans l'entonnoir du système de filtration (7.1) et connecter à un dispositif d'aspiration sous vide (ou sous pression).
- Agiter vigoureusement le flacon et transférer immédiatement et d'un seul trait un volume convenable d'échantillon dans une éprouvette graduée. Lire le volume avec une précision d'au moins 2 %.
- Choisir un volume d'échantillon de sorte que la masse du résidu sec déposé sur le filtre soit comprise dans la gamme optimale de dosage, soit entre 5 et 50 mg, par exemple 100 ml d'échantillon. Cependant, éviter d'utiliser des échantillons de plus de 1 L. Le résultat doit, pour être correct être obtenu à partir d'un résidu sec d'au moins 2 mg.
  Lorsque l'échantillon à analyser est fortement chargé, la prise d'essai sera plus petite que 100ml. Les volumes < 25 ml doivent être déterminés par pesée.
- Filtrer l'échantillon
  Remarque : La filtration s'effectue normalement en moins d'1 minute. Cependant, certains types d'eau contiennent des particules qui bouchent les pores du filtre ou réduisent leur diamètre d'ouverture. Ceci ralentit la filtration, et les résultats peuvent être fonction du volume de l'échantillon. Si l'on constate que le filtre a été bouché, il convient de répéter le dosage avec de plus petits volumes d'échantillon. Dans de tels cas, il est recommandé d'interpréter les résultats avec précaution.
- Rincer l'éprouvette avec de l'eau désionisée (minimum 20 ml), et utiliser cette portion pour laver le filtre et le système de filtration. Si l'eau est très chargée, laver de nouveau le filtre avec trois volumes de 50 ml d'eau désionisée.
- Libérer le dispositif sous vide (ou sous pression) lorsque le filtre est pratiquement sec. Retirer avec précaution le filtre de l'entonnoir à l'aide de pinces à extrémités plates. Si nécessaire, le filtre peut être plié.
- Placer le filtre sur le support de séchage (verre de montre) et le sécher dans l'étuve à (105 ± 2) °C pendant au moins 1 h et au plus 14 h à 16 h.
- Retirer le filtre de l'étuve et le laisser s'équilibrer à température ambiante à proximité de la balance et le peser.
- Peser le filtre chargé à 0.1 mg près
- Effectuer l'essai en double

ORIGINAL 2014

10. Essai de contrôle

Répéter le mode opératoire (9) en utilisant 200 ml de suspension de référence de travail (8.2) comme échantillon. Le rendement doit être compris entre 90 et 110 %.

11. Calcul

La teneur en matières en suspension est obtenue par la formule suivante:

$$x = \frac{(m - m') * 1000}{V}$$

dans laquelle:
x représente la teneur en mg/l des matières en suspension
m représente la masse du filtre après filtration, en mg
m' représente la masse du filtre avant filtration, en mg
V représente le volume en ml d'échantillon filtré. Si l'échantillon a été pesé, 1 g est considéré comme équivalent à 1 ml.

Reporter les résultats inférieurs à 2 mg/l, comme étant "inférieurs à 2 mg/l" et les autres résultats en mg/l avec 2 chiffres significatifs.

12. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne ;
- La date et le lieu de l'essai ;
- L'identification complète de l'échantillon ;
- Le fabricant et le type de filtre utilisé (7.2) ;
- Les résultats du dosage conformément au point 11 ;
- Les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

13. Références

NBN EN 872 : 2005 – Qualité de l'eau – Dosage des matières en suspension – Méthode par filtration sur filtre en fibres de verre

ISO 6107-1 : 2004 – Qualité de l'eau – Vocabulaire – Partie 1

ISO 6107-2 : 1997 – Qualité de l'eau – Vocabulaire – Partie 2

ORIGINAL 2014

E-I-7v1 : DÉTERMINATION DE LA DEMANDE CHIMIQUE EN OXYGENE (DCO)

1. Objet

La présente méthode de référence a pour objet de décrire le mode opératoire permettant de déterminer la demande chimique en oxygène (DCO).

2. Domaine d'application

Méthode applicable aux échantillons d'eau dont la DCO est comprise entre 30 et 700 mg/l et dont la concentration en chlorures, exprimée en ion chlorure, est inférieure à 1000 mg/l.
Si la valeur de la DCO dépasse 700 mg/l, l'échantillon d'eau est dilué.

ORIGINAL 2014

3. Définitions et abréviations

DCO : **D**emande **C**himique en **O**xygène : concentration en masse d'oxygène équivalente à la quantité de dichromate consommée par les matières dissoutes et en suspension lorsqu'on traite l'échantillon d'eau avec cet oxydant dans des conditions définies.

4. Interférence

La méthode est sensible à certaines interférences notamment aux chlorures. Des agents réducteurs inorganiques, tels que les nitrites, sulfures et fer (II) contribuent à accroître le résultat. Une pratique acceptable consiste à inclure la demande en oxygène de tels agents comme partie de la valeur de la DCO globale de l'échantillon.
L'interférence des chlorures est réduite, mais pas totalement éliminée, par l'ajout de sulfate de mercure (II) à la prise d'essai, ce qui conduit à la formation du chloromercurate (II) soluble.
Les hydrocarbures aromatiques et la pyridine ne sont pas oxydés de façon complète. Certaines substances organiques très volatiles peuvent échapper à l'oxydation par évaporation.

5. Principe

Ebullition à reflux, en présence de sulfate de mercure (II), d'une prise d'essai en présence d'une quantité connue de dichromate de potassium et d'un catalyseur à l'argent en milieu fortement acidifié par l'acide sulfurique, pendant une période de temps donnée durant laquelle une partie du dichromate est réduite par les matières oxydables présentes.
Titrage de l'excès de dichromate avec une solution titrée de sulfate de fer(II) et d'ammonium hexahydraté (sel de Mohr).

Calcul de la DCO à partir de la quantité de dichromate réduite. La DCO est la concentration, exprimée en milligramme par litre, d'oxygène équivalente à la quantité de dichromate de potassium consommée par les matières dissoutes et en suspension.
Note : 1 mole de dichromate ($Cr_2O_7^{2-}$) est équivalente à 1,5 mole d'oxygène.

6. Conditionnement et conservation de l'échantillon

Les échantillons pour laboratoire doivent être prélevés de préférence dans des bouteilles en verre, des bouteilles en polyéthylène pouvant également convenir. Analyser les échantillons dès que possible après le prélèvement.
Si l'échantillon doit être conservé avant l'analyse, ajouter 2 ml d'acide sulfurique concentré (8.1) par litre d'échantillon et stocker à l'obscurité entre 2 et 8 °C. Agiter les bouteilles utilisées pour la conservation et s'assurer que leurs contenus sont bien homogénéisés avant de prélever une prise d'essai pour l'analyse.

L'analyse doit s'effectuer dans les 5 jours.

7. Appareillages et matériels utilisés

7.1. Appareillage à reflux constitué d'une fiole ou d'un tube avec col de verre fritté connecté à un réfrigérant de façon à éviter toute perte importante de matériau volatil. Le réfrigérant peut être refroidi avec de l'eau froide ou un courant d'air froid.
Nettoyer l'appareil par ébullition à reflux en faisant un essai à blanc (10.2). Nettoyer l'appareil utilisé pour la détermination de la DCO en rinçant avec de l'eau distillée après chaque titrage. Ne pas utiliser de détergents.
Il est conseillé de réserver cet appareillage à la seule détermination de la DCO.

7.2 Manchon chauffant, plaque chauffante ou **tout équipement chauffant** permettant de porter l'échantillon à ébullition en moins de 10 minutes. S'assurer que le dispositif utilisé ne provoque pas de surchauffe locale

7.3 Système de titrage

7.4. Régulateurs d'ébullition : billes de verre rugueuses, de 2 à 3 mm de diamètre, ou autres régulateurs d'ébullition, nettoyés comme indiqué en 7.1.

7.5. Burette pour le titrage manuel : 10 ml avec une précision de 0.02 ml et conforme aux spécifications de la norme ISO 385.

7.6. Matériel courant de laboratoire

Remarque : Avant toute utilisation, il est obligatoire de vérifier le bon état de l'appareillage utilisé.

ORIGINAL 2014

La verrerie utilisée doit être d'une propreté absolue et doit être conservée à l'abri de la poussière. Ceci est réservé uniquement pour l'emploi pour les essais DCO.

8. Réactifs utilisés

Au cours de l'analyse, sauf indications différentes, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau désionisée de pureté équivalente. Contrôler la qualité de l'eau et des réactifs en effectuant des essais à blanc (voir 10.2.) et des essais témoins (voir 10.3.)

8.1. Acide sulfurique concentré (d = 1.84 g/ml).

8.2. Dichromate de potassium : solution étalon de référence (0.02 mol/l), contenant un sel de mercure(II) : Dissoudre 80 g de sulfate de mercure ($HgSO_4$) dans 800 ml d'eau. Ajouter avec précaution, 100 ml d'acide sulfurique (8.1). Laisser refroidir et dissoudre 5.88 g de dichromate de potassium pesé précisément, préalablement séché à 105 °C pendant deux heures, dans la solution. Transvaser la solution quantitativement dans une fiole jaugée et diluer à 1000 ml. La solution est stable pendant au moins un mois.
Cette solution est disponible dans le commerce.
Remarque : Si demandé, la solution peut être préparée sans sel de mercure. Dans ce cas, ajouter 0,4 g de sulfate de mercure(II) à la prise d'essai **avant** l'addition de la solution de dichromate (8.2) en 10.1 et agiter soigneusement.

8.3. Sulfate de fer (II) et d'ammonium hexahydraté : (sel de Mohr), solution titrée $[(NH_4)_2Fe(SO_4)_2.6H_2O] \approx 0.12$ mol/l :
Préparation : Dissoudre 47 g de sulfate de fer (II) et d'ammonium hexahydraté dans de l'eau. Ajouter 20 ml d'acide sulfurique (8.1.), refroidir et diluer à 1000 ml.
Etalonnage : Cette solution doit être étalonnée journellement de la manière suivante : prélever 10 ml de la solution étalon de dichromate de potassium (8.2), ajouter 15 ml de la solution acide sulfurique-sulfate d'argent (8.4) et amener à environ 100 ml avec de l'eau désionisée. Faire refroidir et titrer en présence de 2 à 3 gouttes de la solution d'indicateur ferroïne (8.7) ou par potentiométrie (10.3) avec la solution de sulfate de fer(II) et d'ammonium hexahydraté (8.3).
La concentration, C, exprimée en moles par litre de la solution de sulfate de fer (II) et d'ammonium hexahydraté est donnée par la formule suivante :

C = 10 * 0,02 * 6 / V
C = 1,2 / V

V est le volume, en millilitres, de solution de sulfate de fer(II) et d'ammonium consommé.
10 est le volume de la solution de dichromate de potassium en ml
0,02 est la concentration de la solution de dichromate de potassium en mol/l
6 est le facteur : 1 mole de dichromate est équivalente à 6 moles de sulfate de fer(II) et d'ammonium hexahydraté.

8.4. Acide sulfurique-sulfate d'argent : ajouter 10 g de sulfate d'argent à 35 ml d'eau. Ajouter, par portion, 965 ml d'acide sulfurique (d = 1.84 g/l) et laisser reposer 1 ou 2 jours pour dissolution. La dissolution est favorisée par agitation.
Cette solution est disponible dans le commerce.

ORIGINAL 2014

8.5. Hydrogénophtalate de potassium, solution étalon de référence [$KC_8H_5O_4$] ≈ 1.044 mmol/l : Dissoudre 0.213 g d'hydrogénophtalate de potassium préalablement séché à 105 °C pendant 2 h dans de l'eau désionisée et diluer à 1000 ml dans un ballon jaugé. Cette solution à préparer journellement a une valeur théorique de DCO de 250 mgO_2/l.

8.6. Solution de sulfate de mercure : Dissoudre 200 g de sulfate de mercure ($HgSO_4$) dans 800 ml d'eau. Ajouter avec précaution, 100 ml d'acide sulfurique (8.1). Laisser refroidir et diluer à 1000 ml.
Cette solution est disponible dans le commerce.

8.7. Solution d'indicateur à la ferroïne : Dissoudre 0.7 g de sulfate de fer(II) $FeSO_4.7H_2O$ ou 1 g de sulfate de fer(II) et d'ammonium hexahydraté $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2.6H_2O$ dans de l'eau. Ajouter 1.50 g de phénanthroline-1,10 monohydraté $C_{12}H_8N_8.H_2O$ et agiter jusque dissolution. Diluer à 100 ml. Cette solution reste stable pendant quelques mois si elle est conservée à l'obscurité.
Cette solution est disponible dans le commerce.

8.8. Solution de contrôle : Matériau de référence certifié

9. Préparation de l'échantillon

Agiter les flacons et s'assurer que leur contenu est bien homogénéisé avant de prélever la prise d'essai ou d'effectuer les dilutions éventuelles.
Pour la détermination de ce paramètre dans le cadre du calcul de la taxe sur les eaux de rejet en région wallonne, l'analyse se réalise sur l'échantillon décanté 2 heures.

10. Mode opératoire

10.1. Détermination

- Transvaser 10 ml de l'échantillon pour l'analyse (dilué, si nécessaire) dans la fiole de l'appareil à reflux (7.1).
- Ajouter 10 ml de solution de dichromate de potassium (8.2) et quelques régulateurs d'ébullition (7.4) à la prise d'essai et homogénéiser soigneusement.
- Ajouter lentement et avec précaution 15 ml d'acide sulfurique-sulfate d'argent (8.4) en agitant prudemment le tube.
- Si le mélange vire immédiatement du jaune au vert clair, il faut recommencer en diluant l'échantillon.
- S'il apparaît un précipité blanc, l'échantillon contient beaucoup de chlorures et il faut recommencer l'échantillon en ajoutant avant la solution acide sulfurique-sulfate d'argent (8.4), une quantité suffisante de sulfate de mercure (8.6) jusqu'à disparition du précipité (pas plus de 5 ml). On ajoute la même quantité de la solution de sulfate de mercure dans le blanc (10.2).
- Placer le tube dans le bloc chauffant, relier le réfrigérant au tube et porter à (148 ± 3) °C pendant 110 min.

ORIGINAL 2014

- Si le mélange a viré au vert clair après l'étape de chauffage, il faudra également recommencer et effectuer une dilution de l'échantillon.
- Laisser refroidir et laver la paroi interne du réfrigérant avec de l'eau désionisée en recueillant les eaux de lavage dans le tube.
- Débrancher le réfrigérant du tube, compléter à environ 100 ml avec de l'eau désionisée et refroidir à température ambiante.
- Titrer l'excès de dichromate avec la solution de sulfate de fer(II) et d'ammonium (8.3) en présence d'une ou deux gouttes de solution d'indicateur à la ferroïne (8.7) ou par potentiométrie (10.3).
- Remarque : Bien que la quantité de ferroïne ne soit pas critique, elle doit demeurer aussi constante que possible. Noter comme point de virage le changement brusque de couleur du bleu-vert au brun-rouge, même si le bleu-vert réapparaît au bout de quelques minutes.

Attention. : Le mélange réactionnel doit bouillir doucement, sans soubresauts. Des soubresauts indiquent une surchauffe locale, ce qui peut conduire à des résultats erronés. Ils peuvent être dus à un chauffage trop intense ou à des granules régulateurs d'ébullition inefficaces.

Effectuer deux essais par échantillon et réaliser un 3ème essai si le biais est supérieur à 5 %

10.2. Essai à blanc

Effectuer deux essais à blanc parallèlement à la détermination, en suivant le même mode opératoire que pour l'essai, mais en remplaçant la prise d'essai par 10 ml d'eau désionisée.

Contrôler la qualité de l'eau en effectuant des essais à blanc et des essais parallèles identiques sans aucune ébullition et, par ailleurs, exactement comme spécifié. Relever la consommation en sulfate de fer(II) et d'ammonium (8.3) dans les deux cas. La différence de volume consommé ne doit pas être de plus de 0.5 ml en général et 0.2 ml pour la détermination de DCO inférieur à 100 mg/l.

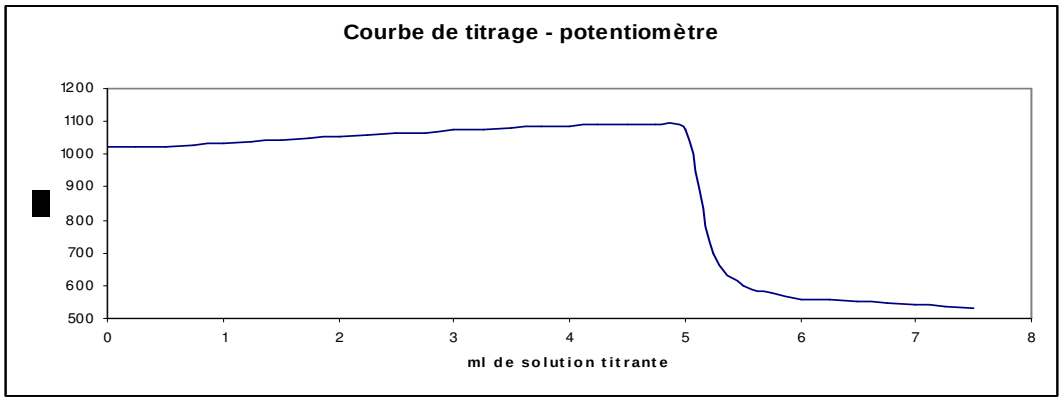
10.3 Titrage potentiométrique

10.3.1. Remarque sur les courbes de titrage

Lors du titrage potentiométrique de l'excès de dichromate dans l'échantillon, la consommation en réactif titrant (8.3) doit se situer entre 1 et 9 ml (10 à 90 % de la quantité de dichromate utilisé pour la détermination).

Les courbes de titrage correspondant aux titrages potentiométriques doivent présenter l'allure suivante :

ORIGINAL 2014



Le point d'équivalence se situe aux alentours de 800 mV.
S'il y a un doute sur le point d'équivalence, il faudra recourir au titrage manuel :

- Préparer, en plus de l'échantillon à analyser, 2 standards (8.5) et 2 essais à blanc (10.2) en suivant les mêmes instructions opératoires que précédemment.
- Remplir une burette graduée de 10 ml avec la solution de sulfate de fer(II) et d'ammonium (8.3).
- Ajouter quelques gouttes de la solution d'indicateur (8.7) et titrer l'excès de dichromate jusqu'au virage du rouge-brun au bleu-vert.

10.3.2. Stockage de l'électrode

Après analyse, l'électrode sera placée dans un tube contenant de l'eau désionisée. Si l'électrode doit rester inutilisée pendant un long moment, on la placera dans un tube rempli d'une solution de KCl 3 M.

10.4 Essai de contrôle

Lors de chaque détermination de la DCO, un essai de contrôle est effectué avec une solution traçable (8.8) ou avec la solution de référence (8.5) pour vérifier la technique ou la pureté des réactifs.
Pour ce faire, suivre les mêmes instructions opératoires (10.1).

La valeur de la concentration est satisfaisante si on obtient au moins 96 % de la valeur théorique attendue. Sinon, identifier le problème éventuel et recommencer l'étalonnage.

Dans ce cas également, un essai à blanc doit être effectué en parallèle comme indiqué en 10.2.

11. Calcul

La demande chimique en oxygène DCO, exprimée en mgO_2/l est donnée par la formule suivante :

$$DCO = \frac{8000 \times C \times (V_1 - V_2)}{V_0}$$

ORIGINAL 2014

C est la concentration exprimée en moles par litre de la solution de sulfate de fer(II) et d'ammonium calculée selon 8.3.
V_0 est le volume, en ml, de la prise d'essai avant dilution éventuelle
V_1 est le volume, en ml, de la solution de sulfate de fer(II) et d'ammonium (8.3) pour l'essai à blanc
V_2 est le volume, en ml, de la solution de sulfate de fer(II) et d'ammonium (8.3), utilisé pour la détermination
8000 est la masse molaire, en milligrammes par litre, de 1/2 O_2.

Exprimer le résultat au mg/l le plus proche. Les valeurs inférieures à 30 mg/l doivent être notées « < 30 mg/l »

12. Avertissement

- La méthode implique la manipulation et l'ébullition de solutions fortes d'acide sulfurique et de dichromate. Des vêtements de protection, des gants et une protection de la face sont nécessaires. Dans les cas d'éclaboussures, un lavage abondant immédiat avec de l'eau claire constitue le remède le plus simple et le plus efficace.
- L'ajout d'acide sulfurique concentré à l'eau doit toujours être effectué avec précaution et en agitant doucement le contenu des flacons.
- Des précautions sont nécessaires pour la préparation et la manipulation de solutions contenant du sulfate d'argent et du sulfate de mercure(II) car ils sont toxiques.
- Les réactifs utilisés contiennent des sels de mercure, d'argent et de chrome. Les réactifs utilisés doivent être manipulés ou traités avant leur rejet, conformément aux réglementations nationales ou locales (voir également la norme ISO 5790 Annexe B).

13. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne ;
- L'identification complète de l'échantillon ;
- Les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis ;
- Les résultats du dosage conformément au point 11 ;
- Les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

ORIGINAL 2014

14. Références

ISO 6060 :1989 – Qualité de l'eau – Détermination de la demande chimique en oxygène

NBN T 91-052 – Echantillonnage des eaux – Recommandations générales pour la conservation et la manipulation des échantillons

ISO 385 :2005 – Verrerie de laboratoire – Burettes

ISO 5790 – Produits chimiques inorganiques à usage industriel – méthodes générale de dosage des chlorures – Méthode mercurimétrique

ORIGINAL 2014

E-I-8v1 : DETERMINATION DE L'INDICE DE DEMANDE CHIMIQUE EN OXYGENE (ST-DCO) METHODE A PETITE ECHELLE EN TUBE FERME

1. Objet

Cette procédure a pour objet de décrire la méthode pour la détermination de la demande chimique en oxygène (ST-DCO) au moyen de la méthode en tube fermé. Cette valeur de ST-DCO telle que déterminée par la présente méthode, peut être considérée comme une estimation de la demande théorique en oxygène, qui est la quantité d'oxygène consommé par l'oxydation chimique totale des constituants organiques présents dans l'eau.

2. Domaine d'application

Méthode applicable à tous les types d'eau, pour des échantillons non dilués ayant une ST-DCO comprise entre 5 et 1000 mg/l et une concentration en chlorures ne dépassant pas 1000 mg/l. Les échantillons présentant des valeurs de ST-DCO supérieures requièrent d'être préalablement dilués. Les échantillons dont la concentration en chlorures est élevée auront besoin d'être préalablement dilués pour donner une concentration en chlorures d'environ 1000 mg/l ou moins, avant d'être analysés.

ORIGINAL 2014

3. Définitions et abréviations

Demande Chimique en Oxygène ST-DCO : concentration en masse d'oxygène équivalente à la quantité de dichromate consommée par les matières dissoutes et en suspension lorsqu'on traite l'échantillon d'eau avec cet oxydant dans des conditions définies dans la présente méthode.

4. Interférence

Des concentrations élevées en chlorure entraînent un écart positif dû à l'oxydation du chlorure en chlore. L'interférence des chlorures est réduite, mais pas totalement éliminée, par l'ajout de sulfate de mercure(II), ce qui conduit à la formation du chloromercurate(II) soluble.
Le manganèse peut entraîner un biais positif avec une détection photométrique à 600 nm (pour la gamme d'essai de 0 à 1000 mg/l). L'effet est moins important pour la gamme faible (de 0 à 150 mg/l) à 440 nm. A cette longueur d'onde, l'interférence est exprimée par un biais négatif.
Un grand nombre d'hydrocarbures aromatiques ainsi que la pyridine ne sont pas oxydés de façon significative. Certaines substances volatiles peuvent échapper à l'oxydation par évaporation.
Les ions ammonium ne sont pas oxydés (l'azote organique est normalement converti en ions ammonium).

5. Principe

Les échantillons sont oxydés de manière standard par digestion avec l'acide sulfurique et le dichromate de potassium en présence de sulfate d'argent et de sulfate de mercure (II). L'argent fait office de catalyseur pour oxyder les matières organiques les plus réfractaires. Le mercure réduit l'interférence causée par la présence d'ions chlorure. La quantité de dichromate utilisée lors de l'oxydation de l'échantillon est déterminée par mesurage de l'absorbance de Cr (III) formé à une longueur d'onde de 600 ± 20 nm pour une gamme allant jusqu'à 1000 mg/L. Les mesures d'absorbance sont réalisées dans un tube de digestion qui fait office de cuve, et sont converties en valeur ST-DCO.
Pour la gamme d'étalonnage réduite allant jusqu'à 150 mg/l, une longueur d'onde alternative de 440 ± 20 nm est utilisée. Pour une gamme d'étalonnage encore plus réduite, allant jusqu'à 40 mg/l, une longueur d'onde alternative de 348 ± 15 nm est utilisée. A 348 et 440 nm, l'absorbance de l'excès de chrome (VI) est mesurée.
Pour les échantillons turbides ou présentant une couleur atypique après digestion, un titrage avec une solution de sulfate de fer (II) et d'ammonium est utilisé (voir 10.4 ou la procédure « Détermination de la demande chimique en oxygène (DCO) »).
Note : 1 mole de dichromate ($Cr_2O_7^{2-}$) est équivalente à 3 moles d'oxygène.

6. Conditionnement et conservation de l'échantillon

Les échantillons pour laboratoire doivent être prélevés de préférence dans des bouteilles en verre, des bouteilles en polyéthylène pouvant également convenir. Stocker à l'obscurité entre 2 et 8 °C. Analyser les échantillons dès que possible après le prélèvement.
Si l'échantillon doit être conservé avant l'analyse, ajouter 10 ± 0.1 ml d'acide sulfurique dilué (8.4) par litre d'échantillon pour que le pH soit inférieur à 2.
L'échantillon est stable pendant 5 jours.
Après congélation à -20 °C, les échantillons sont stables pendant 1 mois.

7. Appareillages et matériels utilisés

Avant toute utilisation, il est obligatoire de vérifier le bon état de l'appareillage utilisé.
La verrerie utilisée doit être d'une propreté absolue et doit être conservée à l'abri de la poussière.
Ceci est réservé uniquement pour l'emploi pour les essais DCO.

7.1. Matériel courant de laboratoire

Phase de digestion

7.2. Bloc chauffant, capable de maintenir une température de 150 ± 5 °C sans provoquer de surchauffe locale du contenu des tubes soumis à l'essai. Le contenu des tubes doit atteindre l'ébullition dans les 10 minutes qui suivent l'ajout des tubes au bloc préchauffé.
Il convient que le bloc chauffant contienne au moins 10 tubes. Il convient que les orifices du bloc chauffant aient un diamètre tel que la paroi du tube de verre soit en contact étroit avec le bloc métallique et que la profondeur des orifices soit telle qu'il se produise un chauffage adéquat du contenu.

ORIGINAL 2014

7.3. Tubes de digestion, composés de verre résistant aux acides et capables de résister à une pression de 600 kPa à 150 °C (par exemple, longueur de 185 mm, diamètre externe de 14 mm, épaisseur de paroi 1 mm).
Les tubes de verre doivent s'emboîter dans le bloc chauffant de telle sorte que la paroi soit en contact étroit avec le bloc métallique. Avant leur utilisation, il est recommandé de contrôler qu'ils ne sont pas endommagés ou fissurés et de les jeter s'ils présentent un léger défaut. Les tubes de verre sont fournis avec les bouchons correspondants.
Si les tubes fermés doivent être utilisés comme cuves pour mesurer l'absorbance, il est alors essentiel que la partie extérieure des tubes soit scrupuleusement nettoyée avant leur introduction dans le photomètre.

Détection photométrique

7.4. Spectrophotomètre UV-Visible, capable de mesure à 600 ± 20 nm.
Il est fortement recommandé que le photomètre soit capable de mesurer l'absorbance de l'échantillon digéré directement dans le tube fermé, ce qui permet ainsi d'éviter de transvaser la solution dans une cuve séparée.

7.5. Centrifugeuse, adaptée pour contenir les tubes de digestion (7.3).

7.6. Dispositifs de stockage appropriés, pour les tubes de digestions fermés utilisés. Les tubes de digestion fermés utilisés ainsi que leur contenu doivent être éliminés en conformité avec les spécifications nationales.

Détection titrimétrique

7.7. Système de titrage : burette, par exemple de 10 ml de capacité avec des graduations de 0,02 ml ou titrateur numérique, par exemple avec une résolution de 0,02 ml ou mieux.

8. Réactifs utilisés

Au cours de l'analyse, sauf indications différentes, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue.

8.1. Eau déminéralisée, conforme à la qualité 3 de la norme ISO 3696 : 1987.

Phase de digestion

8.2. Tubes fermés de ST-DCO : Des tubes de ST-DCO achetés prêts à l'emploi sont utilisés. Ceci minimise la manipulation de substances chimiques toxiques.
La gamme de concentration en ST-DCO des tubes commerciaux est spécifiée par le fabricant et ne doit pas être dépassée (gamme allant de 0 jusqu'à 50 mg/l, 160 mg/l, 1000 mg/l). Si cela se produit, il convient de diluer l'échantillon dans la gamme de concentrations spécifiées.

ORIGINAL 2014

Il est important de s'assurer que les tubes fermés achetés contiennent du sulfate de mercure(II) pour éliminer l'interférence des chlorures.
Si les tubes ne peuvent être achetés prêts à l'emploi, les préparer dans le laboratoire comme décrit au point 8.9 pour une gamme analytique allant jusqu'à 1000 mg/l. Dans ce cas, s'assurer de la reproductibilité de la transmission optique des tubes ou transvaser le contenu après digestion dans une cuve de verre de 10 mm de trajet optique.

8.3. **Acide sulfurique concentré** (d = 1.84 g/ml)

8.4. Acide sulfurique dilué [H_2SO_4] = 4 mol/l : Ajouter à environ 500 ml d'eau dans un bécher, 220 ml ± 10 ml d'acide sulfurique concentré (8.3) tout en agitant soigneusement. Laisser refroidir et diluer à 1000 ml dans une éprouvette graduée. Transvaser dans une bouteille en verre. Cette solution est stable pendant 12 mois.

8.5. Acide sulfurique dilué [H_2SO_4] = 1.8 mol/l : Ajouter avec précaution, tout en agitant, 20 ml ± 1 ml d'acide sulfurique concentré (8.3) à 180 ± 2 ml d'eau. Cette solution est stable pendant 12 mois.

8.6. Solution étalon de référence de dichromate de potassium [$K_2Cr_2O_7$] = 0.1 mol/l (gamme allant jusqu'à environ 1000 mg/l de ST-DCO) : Dissoudre 29.418 ± 0.005 g) de dichromate de potassium, préalablement séché à 105 °C pendant 120 ± 10 minutes, dans 600 ml d'eau. Ajouter avec précaution 160 ml d'acide sulfurique (8.3) en agitant. Laisser refroidir, transvaser la solution quantitativement dans une fiole jaugée et diluer à 1000 ml. La solution est stable pendant 6 mois.
Pour une gamme allant jusqu'à 150 mg/l de ST-DCO, utiliser plutôt une solution de [$K_2Cr_2O_7$] = 0.015 mol/l pour rendre la méthode plus sensible : Dans environ 500 ml d'eau, ajouter 4.413 g de dichromate de potassium, séché à 105 °C pendant 2 ± 10 min pesé précisément, et 160 ml d'acide sulfurique concentré (8.3). Dissoudre, laisser refroidir à température ambiante et compléter à 1000 ml dans une fiole jaugée.

8.7. Solution de sulfate de mercure(II) [$HgSO_4$] = 1.35 mg/l : Dissoudre 80 ± 1 g de sulfate de mercure de qualité pour laboratoire ($HgSO_4$) pesé précisément dans 200 ± 2 ml d'acide sulfurique (8.5). La solution est stable pendant 12 mois.

8.8. Sulfate d'argent dans l'acide sulfurique [$AgSO_4$] = 0.0385 mol/l : ajouter 24 g de sulfate d'argent pesé précisément à 2 l d'acide sulfurique (8.3). Agiter puis laisser reposer 1 nuit et agiter de nouveau pour la dissolution de tout le sulfate d'argent. Conserver dans une bouteille en verre brun foncé à l'abri de la lumière directe. Cette solution est stable pendant 12 mois.

8.9. Réactif prémélangé transvasé (gamme ST-DCO allant jusqu'à 1000 mg/l) : Transvaser 0.5 ± 0,01 ml de solution étalon de dichromate de potassium (8.6) (tenir compte de la gamme de concentrations dans laquelle on travaille) dans des tubes individuelles de digestion (Références). Ajouter avec précaution 0,2 ± 0,01 ml de solution de sulfate de mercure(II) (8.7) puis 2,5 ± 0,01 ml de sulfate d'argent dans l'acide sulfurique (8.8). Agiter avec précaution pour mélanger, placer un bouchon sur les tubes. Laisser refroidir une nuit. Agiter de nouveau avant utilisation.
Ce réactif est stable pendant 1 an s'il est conservé à l'obscurité à température ambiante.

ORIGINAL 2014

Détection photométrique

8.10. Solution mère d'étalonnage d'hydrogénophtalate de potassium $KC_8H_5O_4$ (KHP), ST-DCO = 10 000 mg/l : Dissoudre 4.251 ± 0.002 g d'hydrogénophtalate de potassium, préalablement séché à 105 °C pendant 2 h ± 10 minutes, dans environ 350 ml d'eau et diluer à 500 ml dans une fiole jaugée. Conserver la solution dans un réfrigérateur entre 2 et 8 °C et la préparer une fois par mois.
Une solution alternative à la réfrigération consiste à ajouter 2 ml d'acide sulfurique dilué (8.4) avant la dilution à 500 ml, afin d'inhiber la dégradation microbiologique.

8.11. Solutions d'étalonnage des instruments, ST-DCO de 200 mg/l, 400 mg/l, 600 mg/l, 800 mg/l et 1000 mg/l : Diluer séparément 20 ml, 40 ml, 60 ml, 80 ml et 100 ml de la solution mère d'étalonnage de 10 000 mg/l (8.10) avec 4 ml d'acide sulfurique dilué (8.4). Compléter avec de l'eau à 1000 ml. Conserver ces solutions entre 2 et 8 °C et les préparer une fois par mois.
Pour une gamme de concentrations plus faibles, adapter la concentration des étalons (par exemple pour une gamme allant jusqu'à une ST-DCO de 150 mg/l, diluer séparément 3, 6, 9, 12 et 15 ml, avec 4 ml d'acide sulfurique dilué (8.4), à 1000 ml pour obtenir des étalons de ST-DCO de 30 mg/l, 60 mg/l, 90 mg/l, 120 mg et 150 mg/l).

8.12. Solution de contrôle : Matériau de référence certifié

Détection titrimétrique

8.13. Solution d'indicateur à la ferroïne : Dissoudre 3.5 g de sulfate de fer(II) $FeSO_4.7H_2O$ dans 500 ml d'eau et ajouter 7.4 g de phénanthroline-1,10 monohydraté $C_{12}H_8N_8.H_2O$ et agiter jusque dissolution. Cette solution est stable pendant au moins 1 mois.

8.14. Sulfate de fer (II) et d'ammonium hexahydraté FAS (sel de Mohr), solution titrée $[(NH_4)_2Fe(SO_4)_2.6H_2O] \approx 0.075$ mol/l :
Préparation : Dissoudre 30 ± 0,5 g de sulfate de fer (II) et d'ammonium hexahydraté dans environ 200 ml d'eau. Ajouter 20 ± 0,5 ml d'acide sulfurique (8.3.), refroidir et diluer à 1000 ml dans une fiole jaugée. A préparer chaque semaine.
Etalonnage : Cette solution doit être étalonnée le jour de l'utilsation de la manière suivante : diluer 0.5 ml ± 0,01 ml de la solution étalon de dichromate de potassium (8.6) à 5 ml avec de l'acide sulfurique dilué (8.4). Titrer en présence d'une goutte de la solution d'indicateur ferroïne (8.13) avec la solution de sulfate de fer (II) et d'ammonium hexahydraté (8.14).
La concentration, C, exprimée en moles par litre de la solution de sulfate de fer (II) et d'ammonium hexahydraté est donnée par la formule suivante :

$C = (0.5 * 0.1 * 6)/ V$
$C = 0.3 / V$

V est le volume, en millilitres, de solution de sulfate de fer (II) et d'ammonium consommé.
0.5 est le volume de la solution de dichromate de potassium en ml
0.1 est la concentration de la solution de dichromate de potassium en mol/l
6 est le facteur : 1 mole de dichromate est équivalente à 6 moles de sulfate de fer(II) et d'ammonium hexahydraté.

ORIGINAL 2014

Pour une gamme allant jusqu'à 150 mg/l de ST-DCO, utiliser plutôt une solution de $[(NH_4)_2Fe(SO_4)_2.6H_2O] \approx 0.012$ mol/l pour rendre la méthode plus sensible :
Préparation : Dissoudre 4.8 ± 0,1 g de sulfate de fer (II) et d'ammonium hexahydraté dans environ 200 ml d'eau. Ajouter 20 ± 0,5 ml d'acide sulfurique (8.3.), refroidir et diluer à 1000 ml dans une fiole jaugée. A préparer chaque semaine.
Etalonnage : Cette solution doit être étalonnée le jour de l'utilisation de la manière suivante : diluer 0.5 ± 0,01 ml de la solution étalon de dichromate de potassium à 0.015 mol/l (8.6) à 5 ml avec de l'acide sulfurique dilué (8.4). Titrer en présence d'une goutte de la solution d'indicateur ferroïne (8.13) avec la solution de sulfate de fer (II) et d'ammonium hexahydraté (8.14).
La concentration, C, exprimée en moles par litre de la solution de sulfate de fer (II) et d'ammonium hexahydraté est donnée par la formule suivante :

C = (0.5 * 0.015 * 6)/ V
C = 0.045 / V

V est le volume, en millilitres, de solution de sulfate de fer (II) et d'ammonium consommé.
0.5 est le volume de la solution de dichromate de potassium en ml
0.015 est la concentration de la solution de dichromate de potassium en mol/l
6 est le facteur : 1 mole de dichromate est équivalente à 6 moles de sulfate de fer(II) et d'ammonium hexahydraté.

8.15. Solution de nitrate d'argent $[AgNO_3]$ = 0.1 mol/l : Dissoudre 17 ± 0,1 g de nitrate d'argent dans 1000 ml d'eau. Conserver dans une bouteille en verre brun. Cette solution est stable pendant 6 mois.

8.16. Solution de chromate de potassium $[K_2CrO_4]$ = 5 % (en masse volumique) : Dissoudre 5 ± 0.1 g de chromate de potassium dans 100 ml d'eau. Ajouter le nitrate d'argent (8.15) goutte à goutte pour produire un précipité légèrement rouge de chromate d'argent. Filtrer cette solution. Cette solution est stable pendant un an.

9. Préparation de l'échantillon

Agiter les flacons et s'assurer que leur contenu est bien homogénéisé avant de prélever la prise d'essai ou d'effectuer les dilutions éventuelles.
Pour la détermination de ce paramètre dans le cadre du calcul de la taxe sur les eaux de rejet en région wallonne, l'analyse se réalise sur l'échantillon décanté 2 heures.

ORIGINAL 2014

10. Mode opératoire

10.1. Analyses préliminaires

Détermination de la concentration en ions chlorure

Pour déterminer si la concentration en ions chlorure dans l' échantillon ne dépasse pas 1000 mg/l, effectuer l' essai de criblage décrit ci-dessous. Il est également possible d' effectuer le dosage des ions chlorure à l' aide de bandelettes analytiques, ce qui donnera une idée plus précise du facteur de dilution à appliquer si la concentration en ions chlorure est supérieure à 1000 mg/l.
Il est conseillé de vérifier la concentration maximale en chlorure acceptable pour votre système, par exemple en dopant une solution étalon de ST-DCO de 20 mg/l (8.11) avec
Du chlorure de sodium NaCl.

Essai de criblage :

- Ajouter deux gouttes de chromate de potassium (8.16) à 2 ± 0.1 ml d' échantillon dans un récipient fermé.
- Enlever le bouchon, ajouter 0.5 ± 0.01 ml de nitrate d' argent 0.1 mol/l (8.15), puis mélanger soigneusement.

Si la solution vire au rouge, la concentration en chlorure est inférieure à 1000 mg/l.
Si la solution reste jaune, la concentration en chlorure est supérieure à 1000 mg/l, l' échantillon doit être dilué avant analyse.

10.2 Etape et digestion

- Contrôler soigneusement tous les tubes de digestion pour s'assurer qu'ils n'ont pas de défaut. Vérifier si la solution dans le tube est devenue verte, si c'est le cas, rejeter le tube.
- La méthode est applicable aux concentrations en chlorures allant jusqu'à 1000 mg/l.
- Mettre sous tension le bloc chauffant et préchauffer à 150 °C.
- Enlever le bouchon d' un tube de digestion (7.3).
- Agiter le contenu avec précaution, homogénéiser l'échantillon (sauf dans le cas spécifié au point 9), puis introduire immédiatement à l'aide d'une pipette 2 ml ± 0,02 ml de l'échantillon dans le tube de digestion. Pour tout échantillon dont la valeur de ST-DCO est présumée supérieure à 1000 mg/l, introduire à l'aide d'une pipette dans le tube digesteur 2 ml d'une prise d'essai de l'échantillon dilué de façon appropriée.
- Effectuer un essai à blanc avec de l'eau (8.1) pour chaque série d'analyses.
- Replacer fermement le bouchon sur le tube et mélanger bien le contenu en renversant doucement le tube à plusieurs reprises.
- Essuyer l' extérieur du tube à l' aide d' un papier absorbant et placer le tube dans le bloc chauffant. Porter le contenu à ébullition sous reflux à 150 °C pendant 2h ± 10 min.
- Enlever les tubes du bloc chauffant et laisser refroidir à 60°C ou moins. Mélanger le contenu en renversant avec précaution chaque tube encore chaud, à plusieurs reprises. Puis laisser refroidir les tubes à température ambiante et essuyer l'extérieur de ceux-ci avec du papier absorbant avant de mesurer l'absorbance.

ORIGINAL 2014

10.3. Détection photométrique

10.3.1. Mode opératoire

- Si les échantillons digérés refroidis se révèlent clairs (c'est à dire absence de toute turbidité visible), mesurer l'absorbance à 600 nm, 440 nm ou 348 nm selon la gamme choisie à l'aide du photomètre. Les résultats sont obtenus directement par la lecture de l'instrument ou par comparaison avec une courbe d' étalonnage (10.5.2).
- Si les échantillons digérés refroidis se révèlent turbides, centrifuger les tubes de digestion pendant 5,0 min ± 0,5 min. Si la solution n'est plus turbide, mesurer l'absorbance à l'aide du photomètre.
- Si après la phase de digestion et le traitement par centrifugation, la solution est encore turbide ou présente une couleur atypique, la DCO sera déterminée par titrage (voir 10.4 ou voir la procédure « Détermination de la demande chimique en oxygène (DCO) »)).

Remarque : Vérifier à nouveau l'état des tubes après l'étape de digestion car un tube abîmé ne peut en aucun cas être introduit dans le spectrophotomètre.

10.3.2. Essai de contrôle

Lors de chaque détermination de la DCO, un essai de contrôle est effectué avec une solution traçable (8.12). Pour ce faire, suivre les mêmes instructions opératoires qu'en 10.3.1.

Les valeurs mesurées ne doivent pas s'écarter de plus de 10 % de la valeur théorique. Sinon, identifier le problème éventuel et recommencer l'analyse.

10.3.3. Vérification de l' analyse

Réaliser un dopage sur un échantillon de chaque matrice pour détecter un éventuel effet de matrice sur les résultats obtenus.
Un ajout de dopage par rapport au dosage d'origine doit avoir un rendement de 80 à 120%.

10.4 Détection titrimétrique

- Enlever avec précaution le bouchon d' un tube contenant l' échantillon digéré. Rincer les parois internes avec moins d' 1 ml d' eau ou, en alternative, transvaser quantitativement dans un autre récipient approprié.
- Tout en agitant, ajouter une goutte de solution d' indicateur ferroïne (8.13). Si la couleur de la solution vire brusquement du bleu-vert à l' orange-marron, la valeur de ST-DCO de l' échantillon d' origine est supérieure à la gamme de la méthode. L' échantillon doit alors être dilué et la digestion doit être répétée.
- Si la couleur reste vert citron, titrer tout en agitant avec la solution de sulfate de fer(II) et d' ammonium (8.14) jusqu' à ce que la couleur de l' échantillon vire brusquement du bleu verdâtre au orange-marron. Noter le volume nécessaire (V_2 ml) de la solution de sulfate de fer(II) et d' ammonium.
- Titrer également un essai à blanc digéré, utilisant de l' eau à la place de l' échantillon d' essai et noter le volume de solution de sulfate de fer(II) et d' ammonium requis (V_1 ml).
- Transvaser l' échantillon dans le tube de digestion. Replacer le bouchon et éliminer conformément aux règlements nationaux ou locaux.

ORIGINAL 2014

10.5. Contrôle des tubes et des instruments

10.5.1. Contrôle de la performance optique des tubes (lorsque l'absorbance est mesurée directement dans le tube de digestion)

- Prélever au hasard un échantillon de tubes vides (5 à 10) d'un lot avant préparation. Ajouter 5 ml d'eau dans chaque tube.
- Remettre les bouchons et s'assurer qu'aucune bulles d'air n'est visible (taper doucement pour éliminer les bulles d'air).
- Mesurer les valeurs d'absorbance à 600 nm en utilisant le photomètre. Ces valeurs ne doivent pas être différentes entre elles de plus de ± 0.005 unités d'absorbance.

10.5.2. Contrôle d'étalonnage/ Sensibilité des instruments

Pour vérifier la sensibilité de l'instrument, préparer les solutions d'étalonnage comme indiqué en 8.11.

Procéder à la digestion et au mesurage comme pour les échantillons selon 10.2 et 10.3.

Enregistrer ces résultats et vérifier qu'il n'y a pas de détérioration de la sensibilité de l'instrument et qu'une réponse linéaire de l'absorbance par rapport à la concentration de ST-DCO est obtenue en traçant une courbe d'étalonnage manuelle à l'aide de la valeur mesurée *Y*, en unités du système (absorbance), des solutions d'étalonnage d'hydrogénophtalate de potassium par rapport à *X*, demande chimique nominale en oxygène (ST-DCO).

Si l'étalonnage de l'instrument est en dehors des tolérances définies par le laboratoire, effectuer des mesures d'absorbances manuelles des solutions d'étalonnage et appliquer un nouveau facteur d'étalonnage conformément aux instructions du fabricant.

ORIGINAL 2014

11. Calcul

Détection photométrique

Les résultats sont obtenus directement par la lecture de l'instrument en milligrammes d'oxygène par litre ou par comparaison avec une courbe d'étalonnage (Références).

Si des résultats se situent en dehors du domaine de mesure, répéter l'analyse par dilution de l'échantillon d'origine.
Reporter les valeurs de ST-DCO, exprimée en mg O_2/l, avec un maximum de 3 chiffres significatifs, en fonction de la concentration trouvée.

Détection titrimétrique

La demande chimique en oxygène ST-DCO, exprimée en mgO_2/l est donnée par la formule suivante :

$$DCO = \frac{8000 \times C \times (V_1 - V_2)}{V_0}$$

C est la concentration exprimée en moles par litre de la solution de sulfate de fer (II) et d'ammonium calculée selon 8.14.
$\mathbf{V_0}$ est le volume, en ml, de la prise d'essai avant dilution éventuelle
$\mathbf{V_1}$ est le volume, en ml, de la solution de sulfate de fer (II) et d'ammonium (8.14) pour l'essai à blanc
$\mathbf{V_2}$ est le volume, en ml, de la solution de sulfate de fer (II) et d'ammonium (8.14), utilisé pour la détermination
8000 est la masse molaire, en milligrammes par litre, de 1/2 O_2.

Exprimer le résultat avec un maximum de trois chiffres significatifs.

La méthode s'applique aux échantillons d'eau dont la concentration en mercure total est comprise entre 0,2 µg/l et 20 µg/l. Un dosage à de plus forte concentration est possible par dilution de l'échantillon

12. Avertissement

- La méthode implique la manipulation et l'ébullition de solutions fortes d'acide sulfurique et de dichromate. Des vêtements de protection, des gants et une protection de la face sont nécessaires. Dans les cas d'éclaboussures, un lavage abondant immédiat avec de l'eau claire constitue le remède le plus simple et le plus efficace. Il est nécessaire que le personnel soit bien formé en ce qui concerne l'ensemble des risques associés à cette méthode.
- Les tubes de digestion sont sous pression pendant et immédiatement après la phase de chauffage. Il convient que les tubes soient soigneusement contrôlés avant utilisation. Il convient que tout tube présentant des fissures, des défauts ou des signes de contamination soit rejeté. Il convient que les tubes fermés utilisés ne soient pas ouverts. Il convient que les tubes soient rejetés conformément aux exigences internationales.
- Attention : Des gaz toxiques peuvent être émis par les échantillons lors de l'acidification (10.2), par conséquent, il est recommandé que les échantillons non connus soient acidifiés sous une hotte de laboratoire en raison de l'éventuelle émission de gaz toxiques tels que HCN et H2S.
- L'ajout d'acide sulfurique concentré à l'eau doit toujours être effectué avec précaution et en agitant doucement le contenu des flacons.
- Des précautions sont nécessaires pour la préparation et la manipulation de solutions contenant du sulfate d'argent et du sulfate de mercure(II) car ils sont toxiques.
- Les réactifs utilisés contiennent des sels de mercure, d'argent et de chrome. Les réactifs utilisés doivent être manipulés ou traités avant leur rejet, conformément aux réglementations nationales ou locales (voir également la norme ISO 5790 Annexe B).

ORIGINAL 2014

13. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne ;
- L'identification complète de l'échantillon ;
- Les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis ;
- Les résultats du dosage conformément au point 11 ;
- Les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

14. Référence

ISO 15705 : 2002 – Qualité de l'eau – Détermination de l'indice de demande chimique en oxygène (ST-DCO) – Méthode à petite échelle en tube fermé

ISO 3696 : 1987 – Eau pour laboratoire à usage analytique – spécification et méthodes d'essai

ORIGINAL 2014

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
E-II-1.1	2	20/01/2022

Dosage des éléments métalliques en trace dans les eaux – Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec atomisation électrothermique en four graphite

Descriptif		
Paramètre	Métaux dissous, particulaires et totaux (voir §1)	
Référence normative	NBN EN ISO 15586	2003

Domaine d'application	
Matrice	Eaux de surface Eaux souterraines Eaux potables Eaux usées Lixiviats

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)		
Incertitude (relative) de la mesure		
Gamme de travail		

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

La présente procédure spécifie une méthode permettant de déterminer les très faibles teneurs en éléments argent (Ag), aluminium (Al), arsenic (As), Cadmium (Cd), cobalt (Co), chrome (Cr), cuivre (Cu), fer (Fe), manganèse (Mn), molybdène (Mo), nickel (Ni), plomb (Pb), antimoine (Sb), sélénium (Se), thallium (TI), vanadium (V) et zinc (Zn) présents à l'état de traces dans les eaux de surface, eaux souterraines, eaux potables et eaux usées (y compris les lixiviats) par spectrométrie d'absorption atomique avec atomisation électrothermique en four graphite. Cette méthode est applicable au dosage des éléments en faible concentration.

Pour ce qui est du domaine d'application « sédiments », se référer à la procédure S-II-2.1.

2. Procédure

L'ensemble des prescriptions de la norme de référence internationale NBN EN ISO 15586 :2003 sont d'application, à l'exception des prescriptions spécifiques à la Région wallonne. Ces prescriptions spécifiques s'écartent ou limitent le choix de celles de la norme de référence internationale. Elles sont reprises, en gras, dans le tableau ci-dessous au sein de la colonne « Prescriptions CWEA». Les prescriptions y relatives qui sont reprises dans la norme de référence sont listées, pour information au sein de la colonne « Prescription norme de référence ».

Wallonie

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Prélèvement et prétraitement des échantillons	
(§7 de la norme de référence)	**Les étapes de prétraitement et de conservation des échantillons dépendent du type de métaux (dissous, particulaires ou totaux) recherchés.**
(§7 de la norme de référence)	**STABILISATION POUR LE DOSAGE DES METAUX DISSOUS** **Filtrer l'échantillon au travers d'une membrane filtrante de 0.45 µm, le plus rapidement possible après le prélèvement, idéalement sur terrain et au plus tard au laboratoire dès la réception de l'échantillon. Ces échantillons doivent être incolore et avoir une turbidité < 1.5 NTU. Le filtrat est acidifié avec de l'acide nitrique 65 % afin que le pH de l'échantillon soit ≤ 2.**
(§7 de la norme de référence)	**STABILISATION POUR LE DOSAGE DES METAUX PARTICULAIRES** **Filtrer un volume mesuré d'échantillon non traité au travers d'une membrane filtrante de 0.45 µm, le plus rapidement possible après le prélèvement, idéalement sur terrain et au plus tard au laboratoire dès la réception de l'échantillon.** **La membrane et le résidu sont traités avec 4 ml d'acide nitrique 65 % et 4 ml de peroxyde d'hydrogène dans un récipient de digestion relié à un condenseur à reflux. L'opération est répétée jusqu'à obtention d'un minéralisat clair et d'une turbidité < 1.5 NTU. L'échantillon est ensuite évaporé à 2 ml et refroidi. 10 ml d'acide chlorhydrique 0.2 M et 15 ml d'eau ultrapure sont ajouté par 100 ml d'échantillon prélevé. Chauffer jusqu'à dissolution de tout matériau résiduel. Après refroidissement, l'échantillon est filtré.**

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
(§7 de la norme de référence)	**STABILISATION POUR LE DOSAGE DES METAUX TOTAUX** **L'échantillon est acidifié, le plus rapidement possible après le prélèvement, idéalement sur terrain et au plus tard au laboratoire dès la réception de l'échantillon, par de l'acide nitrique 65 % jusqu'à obtention d'un pH ≤2.** **Ne pas filtrer l'échantillon avant son traitement.** **L'étape de digestion peut être omise pour l'analyse directe des éléments totaux récupérables dans des échantillons d'eau d'alimentation ayant une turbidité < 1.5 NTU.**
(§7 de la norme de référence)	**L'étape de digestion s'effectue à pression atmosphérique ou dans un système fermé avec chauffage aux micro-ondes.** **Pour la digestion à l'acide nitrique se référer à la norme ISO 15587-2** **Pour la digestion à l'eau régale se référer à la norme ISO 15587-1** **Le chlorure pouvant créer d'importantes interférences dans la technique du four graphite, il est recommandé de procéder à une digestion à l'acide nitrique.** **Cependant, l'antimoine est à doser, la digestion à l'eau régale qui est recommandée.**
(§7 de la norme de référence)	**Les échantillons se conservent stabilisés au maximum pendant un mois.**
Etalonnage	
(§10 de la norme de référence) Effectuer l'étalonnage avec un blanc d'étalonnage et trois à cinq solutions d'étalonnage équidistantes pour une gamme de concentration appropriée. Il convient de souligner que la linéarité de la courbe d'étalonnage est souvent limitée.	Utiliser **cinq standards minimum** par étalonnage répartis uniformément dans la gamme de mesure et conformément aux instructions du manuel de l'appareil

ISSeP
Institut scientifique de service public

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
(§10 de la norme de référence)	**Vérification de l'étalonnage avec des solutions de contrôle : passer le contrôle avant le premier échantillon et ensuite après un groupe d'analyses. Les résultats seront validés si le contrôle de début et de fin de série rencontre les critères fixés. Sinon, identifier le problème, y remédier et recommencer l'étalonnage.**
(§10 de la norme de référence)	**La concentration en acide doit être similaire dans l'échantillon à analyser et dans les étalons, le blanc y compris ; Attention pour l'échantillon qui doit être dilué.**

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
E-II-1.2.1	2	20/01/2022

Dosage des éléments métalliques en trace dans les eaux – Méthode par spectrométrie d'émission optique avec plasma induit par haute fréquence (ICP-OES)

Descriptif		
Paramètre	Métaux dissous, particulaires et totaux (voir §1)	
Référence normative	NBN EN ISO 11885	2009

Domaine d'application	
Matrice	Eaux de surface Eaux souterraines Eaux potables Eaux résiduaires Eaux brutes Lixiviats

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)		
Incertitude (relative) de la mesure		
Gamme de travail		

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

La présente procédure spécifie une méthode permettant de réaliser le dosage des éléments dissous, des éléments liés aux particules (particulaires), ainsi que la teneur totale des éléments dans différents types d'eau (y compris les lixiviats). Cette méthode s'applique pour les éléments suivants : aluminium (Al), antimoine (Sb), argent (Ag), arsenic (As), baryum (Ba), béryllium (Be), bismuth (Bi), bore (B), cadmium (Cd), calcium (Ca), chrome (Cr), cobalt (Co), cuivre (Cu), étain (Sn), fer (Fe), gallium (Ga), indium (In), lithium (Li), magnésium (Mg), manganèse (Mn), molybdène (Mo), nickel (Ni), phosphore (P), plomb (Pb), potassium (K), sélénium (Se), silicium (Si), sodium (Na), strontium (Sr), soufre (S), titane (Ti), tungstène (W), vanadium (V), zinc (Zn) et zirconium (Zr).

2. Procédure

L'ensemble des prescriptions de la norme de référence internationale NBN EN ISO 11885:2009 sont d'application, à l'exception des prescriptions spécifiques à la Région wallonne. Ces prescriptions spécifiques s'écartent ou limitent le choix de celles de la norme de référence internationale. Elles sont reprises, en gras, dans le tableau ci-dessous au sein de la colonne « Prescriptions CWEA». Les prescriptions y relatives qui sont reprises dans la norme de référence sont listées, pour information au sein de la colonne « Prescription norme de référence ».

ISSeP
Institut scientifique de service public

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Prélèvement et prétraitement des échantillons	
(§9 de la norme de référence)	**Les étapes de prétraitement et de conservation des échantillons dépendent du type de métaux (dissous, particulaires ou totaux) recherchés.**
(§9 de la norme de référence)	**STABILISATION POUR LE DOSAGE DES METAUX DISSOUS** **Filtrer l'échantillon au travers d'une membrane filtrante de 0.45 µm, le plus rapidement possible après le prélèvement, idéalement sur terrain et au plus tard au laboratoire dès la réception de l'échantillon. Ces échantillons doivent être incolore et avoir une turbidité < 1.5 NTU. Le filtrat est acidifié avec de l'acide nitrique 65 % afin que le pH de l'échantillon soit ≤ 2.**
(§9 de la norme de référence)	**STABILISATION POUR LE DOSAGE DES METAUX PARTICULAIRES** **Filtrer un volume mesuré d'échantillon non traité au travers d'une membrane filtrante de 0.45 µm, le plus rapidement possible après le prélèvement, idéalement sur terrain et au plus tard au laboratoire dès la réception de l'échantillon.** **Transvaser le filtre et le matériau particulaire dans un récipient pour stockage. Aucun conservateur n'est requis.**
(§9 de la norme de référence)	**STABILISATION POUR LE DOSAGE DES METAUX TOTAUX** **L'échantillon est acidifié, le plus rapidement possible après le prélèvement, idéalement sur terrain et au plus tard au laboratoire dès la réception de l'échantillon, par de l'acide nitrique 65 % jusqu'à obtention d'un pH ≤2.** **Ne pas filtrer l'échantillon avant son traitement.** **L'étape de digestion peut être omise pour l'analyse directe des éléments totaux récupérables dans des échantillons d'eau d'alimentation ayant une turbidité < 1.5 NTU.**

Wallonie

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
(§9 de la norme de référence)	**L'étape de digestion s'effectue à pression atmosphérique ou dans un système fermé avec chauffage aux micro-ondes.** **Pour la digestion à l'acide nitrique se référer à la norme ISO 15587-2** **Pour la digestion à l'eau régale se référer à la norme ISO 15587-1** **Le chlorure pouvant créer d'importantes interférences dans la technique du four graphite, il est recommandé de procéder à une digestion à l'acide nitrique.** **Cependant, l'antimoine est à doser, la digestion à l'eau régale qui est recommandée.**
(§9 de la norme de référence)	**Les échantillons se conservent stabilisés au maximum pendant un mois.**
Etalonnage	
(§10 de la norme de référence)	Utiliser **cinq standards minimum** par étalonnage répartis uniformément dans la gamme de mesure et conformément aux instructions du manuel de l'appareil.
(§10 de la norme de référence)	**Vérification de l'étalonnage avec des solutions de contrôle : passer le contrôle avant le premier échantillon et ensuite après un groupe d'analyses. Les résultats seront validés si le contrôle de début et de fin de série rencontre les critères fixés. Sinon, identifier le problème, y remédier et recommencer l'étalonnage.**
(§10 de la norme de référence)	**La concentration en acide doit être similaire dans l'échantillon à analyser et dans les étalons, le blanc y compris ; Attention pour l'échantillon qui doit être dilué.**

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
E-II-1.2.2	2	20/01/2022

Dosage des éléments métalliques en trace dans les eaux – Méthode par spectrométrie de masse avec plasma induit par haute fréquence (ICP-MS)

Descriptif		
Paramètre	Métaux dissous, particulaires et totaux (voir §1)	
Référence normative	NBN EN ISO 17294-2	2016

Domaine d'application	
Matrice	Eau potable Eau de surface Eau souterraine Eaux usées Lixiviats

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)		
Incertitude (relative) de la mesure		
Gamme de travail		

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

La présente procédure spécifie une méthode permettant de réaliser le dosage des éléments suivants dans l'eau, y compris les lixiviats (par exemple l'eau potable, l'eau de surface, l'eau souterraine, les eaux usées et les éluats, …). Cette méthode s'applique pour les éléments suivants : aluminium (Al), antimoine (Sb), argent (Ag), arsenic (As), baryum (Ba), béryllium (Be), bismuth (Bi), bore (B), cadmium (Cd), Cérium (Ce), Césium (Cs), calcium (Ca), chrome (Cr), cobalt (Co), cuivre (Cu), dysprosium (Dy), erbium (Er), étain (Sn), fer (Fe), gallium (Ga), gadolinium (Gd), germanium (Ge), hafnium (Hf), holmium (Ho), indium (In), iridium (Ir), lanthane (La), lithium (Li), lutécium (Lu), mercure (Hg), néodyme (Nd), magnésium (Mg), manganèse (Mn), molybdène (Mo), nickel (Ni), or (Au), palladium (Pd), phosphore (P), platine (Pt), phosphore (P), plomb (Pb), praséodyme (Pr), rubidium (Ru), rhénium (Re), rhodium (Rh), ruthénium (Ru), potassium (K), sélénium (Se), samarium (Sm), scandium (Sc), sodium (Na), strontium (Sr), terbium (Tb), tellure (Te), thorium (Th), thallium (Tl), thulium (Tm), tungstène (W), uranium (U) et ses isotopes, vanadium (V), yttrium (Y), ytterbium (Yb), zinc (Zn) et zirconium (Zr).

2. Procédure

L'ensemble des prescriptions de la norme de référence internationale NBN EN ISO 17294-2 :2016 sont d'application, à l'exception des prescriptions spécifiques à la Région wallonne. Ces prescriptions spécifiques s'écartent ou limitent le choix de celles de la norme de référence internationale. Elles sont reprises, en gras, dans le tableau ci-dessous au sein de la colonne « Prescriptions CWEA». Les prescriptions y relatives qui sont reprises dans la norme de référence sont listées, pour information au sein de la colonne « Prescription norme de référence ».

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Prélèvement et prétraitement des échantillons	
(§9 de la norme de référence)	**Les étapes de prétraitement et de conservation des échantillons dépendent du type de métaux (dissous, particulaires ou totaux) recherchés.**
(§9 de la norme de référence)	**STABILISATION POUR LE DOSAGE DES METAUX DISSOUS** **Filtrer l'échantillon au travers d'une membrane filtrante de 0.45 µm, le plus rapidement possible après le prélèvement, idéalement sur terrain et au plus tard au laboratoire dès la réception de l'échantillon. Ces échantillons doivent être incolore et avoir une turbidité < 1.5 NTU. Le filtrat est acidifié avec de l'acide nitrique 65 % afin que le pH de l'échantillon soit ≤ 2.**
(§9 de la norme de référence)	**STABILISATION POUR LE DOSAGE DES METAUX PARTICULAIRES** **Filtrer un volume mesuré d'échantillon non traité au travers d'une membrane filtrante de 0.45 µm, le plus rapidement possible après le prélèvement, idéalement sur terrain et au plus tard au laboratoire dès la réception de l'échantillon.** **Transvaser le filtre et le matériau particulaire dans un récipient pour stockage. Aucun conservateur n'est requis.**
(§9 de la norme de référence)	**STABILISATION POUR LE DOSAGE DES METAUX TOTAUX** **L'échantillon est acidifié, le plus rapidement possible après le prélèvement, idéalement sur terrain et au plus tard au laboratoire dès la réception de l'échantillon,par de l'acide nitrique 65 % jusqu'à obtention d'un pH ≤2.** **Ne pas filtrer l'échantillon avant son traitement.** **L'étape de digestion peut être omise pour l'analyse directe des éléments totaux récupérables dans des échantillons d'eau d'alimentation ayant une turbidité < 1.5 NTU.**

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
(§9 de la norme de référence)	**L'étape de digestion s'effectue à pression atmosphérique ou dans un système fermé avec chauffage aux micro-ondes.** **Pour la digestion à l'acide nitrique se référer à la norme ISO 15587-2** **Pour la digestion à l'eau régale se référer à la norme ISO 15587-1** **Cependant, l'antimoine est à doser, la digestion à l'eau régale qui est recommandée.**
(§9 de la norme de référence)	**Les échantillons se conservent stabilisés au maximum pendant un mois.**
Etalonnage	
(§10 de la norme de référence)	Utiliser **cinq standards minimum** par étalonnage répartis uniformément dans la gamme de mesure et conformément aux instructions du manuel de l'appareil
	Vérification de l'étalonnage avec des solutions de contrôle : passer le contrôle avant le premier échantillon et ensuite après un groupe d'analyses. Les résultats seront validés si le contrôle de début et de fin de série rencontre les critères fixés. Sinon, identifier le problème, y remédier et recommencer l'étalonnage.
	La concentration en acide doit être similaire dans l'échantillon à analyser et dans les étalons, le blanc y compris ; Attention pour l'échantillon qui doit être dilué.

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
E-II-2.1	2	20/01/2022
Dosage du mercure (Hg) dans les eaux – Méthode par spectrométrie atomique de vapeur froide		

Descriptif		
Paramètre	Mercure (Hg)	
Référence normative	NBN EN ISO 12846	2012

Domaine d'application	
Matrice	Eau potable Eaux de surface Eaux souterraines Eaux de pluie Eaux résiduaires Lixiviats

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)		
Incertitude (relative) de la mesure		
Gamme de travail		

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

La présente procédure spécifie la méthode permettant de réaliser le dosage du mercure dans les eaux potables, de surface, souterraines, de pluie et résiduaires et les lixiviats.

2. Procédure

L'ensemble des prescriptions de la norme de référence internationale NBN EN ISO 12846:2012 sont d'application.

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont :

Version précédente	Présente version
Norme de référence : NBN EN 1483 :2007 (norme annulée)	Norme de référence : NBN EN ISO 12846 :2012

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
E-II-2.2	3	20/01/2022

Dosage du mercure (Hg) dans les eaux – Méthode par spectrométrie de fluorescence atomique de vapeur froide

Descriptif		
Paramètre	Mercure (Hg)	
Référence normative	NBN EN ISO 17852	2008

Domaine d'application	
Matrice	Eau potable Eaux de surface Eaux souterraines Eaux de pluie Eaux résiduaires industrielles et domestiques Lixiviats

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)		ng/l
Incertitude (relative) de la mesure		%
Gamme de travail		ng/l

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

La présente procédure spécifie une méthode permettant de réaliser le dosage du mercure dans l'eau potable, les eaux de surface, les eaux souterraines, les eaux de pluie et les lixiviats. Il est permis d'appliquer la présente méthode aux eaux résiduaires industrielles et domestiques après une phase de digestion supplémentaire, à 35 °C.

2. Procédure

L'ensemble des prescriptions de la norme de référence internationale NBN EN ISO 17852 :2008 sont d'application, à l'exception des prescriptions spécifiques à la Région wallonne. Ces prescriptions spécifiques s'écartent ou limitent le choix de celles de la norme de référence internationale. Elles sont reprises, en gras, dans le tableau ci-dessous au sein de la colonne « Prescriptions CWEA». Les prescriptions y relatives qui sont reprises dans la norme de référence sont listées, pour information au sein de la colonne « Prescription norme de référence ».

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Prélèvement et prétraitement des échantillons	
(§7 de la norme de référence)	**Si le dosage du mercure porte uniquement sur les composés solubles de mercure, une étape de filtration préalable à la digestion doit être effectuée au moyen d'une membrane filtrante de 0.45 µm.**
(§7 de la norme de référence)	**Les eaux sont digérées à une température de 35 °C pendant au moins 30 minutes.**
Réglage des instruments	
(§8 de la norme de référence) Pour les échantillons dont la concentration en mercure est en dehors de l'étendue de mesure pour un ajustement de gamme donné, refaire l'analyse à une sensibilité inférieure ou diluer un nouvel échantillon non digéré à l'intérieur de la gamme d'étalonnage.	Si la concentration en mercure de la solution d'essai dépasse la valeur maximale de la courbe d'étalonnage, **cette solution doit être diluée avec la solution d'acide nitrique dilué**.

Wallonie

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Calcul	
(§9.2 de la norme de référence) Les courbes d'étalonnage non linéaires sont également permises.	La courbe d'étalonnage **doit être linéaire** lors de l'utilisation d'un spectromètre de fluorescence atomique.
Expression des résultats	
(§9.3 de la norme de référence) Consigner les résultats en nanogrammes par litre à deux chiffres significatifs	Consigner des résultats **à trois chiffres significatifs au maximum**, en fonction de la fraction massique obtenue et des données de validation de la méthode.

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
E-II-3.1	4	20/01/2022

Dosage du chrome (Cr^{VI}) dans les eaux par détection spectrophotométrique

Descriptif		
Paramètre	chrome (Cr^{VI})	
Référence normative	ISO 11083 NBN EN 18412	1994 2006

Domaine d'application	
Matrice	Tous types d'eau Lixiviats

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)	50 selon la norme ISO 11083 2 selon la norme NBN EN 18412	µg/l
Incertitude (relative) de la mesure		%
Gamme de travail	50 à 3000 µg/l la gamme peut être étendue par dilution selon la norme ISO 11083 2 à 50 µg/l la gamme peut être étendue par dilution selon la norme NBN EN 18412	µg/l

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

Cette méthode décrit le dosage du chrome (VI) dans les eaux, y compris les lixiviats selon trois méthodes différentes : spectrométrie d'absorption moléculaire, l'analyse séquentielle ou l'utilisation de kits (tests en cuvette).

2. Procédure

Les prescriptions spécifiques à la Région wallonne sont reprises dans les normes de référence internationales citées ci-dessous.

Concentration en Cr^{VI}	Types d'eau	Méthode à utiliser	Norme de référence internationale
0.05 à 3 mg/l la gamme peut être étendue par dilution	Tous types d'eau	Spectrométrie d'absorption moléculaire	ISO 11083 :1994
2 à 50 µg/l la gamme peut être étendue par dilution	Eaux faiblement polluées	Spectrométrie d'absorption moléculaire	NBN EN 18412 :2006

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

Version précédente	Présente version
Numéro de la méthode : E-II-3	La méthode E-II-3 a été séparée en 2 méthodes, cela afin d'en faciliter le suivi. Il s'agit à présent de : - E-II-3 .1 méthode par détection spectrophotométrique - E-II-3 .2 méthode par chromatographie ionique

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
E-II-3.2	1	20/01/2022

Dosage du chrome (Cr^{VI}) dans les eaux par chromatographie ionique

Descriptif		
Paramètre	chrome (Cr^{VI})	
Référence normative	NBN EN ISO 10304-3	1997

Domaine d'application	
Matrice	Tous types d'eau Lixiviats

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)	1	µg/l
Incertitude (relative) de la mesure	20	%
Gamme de travail	1-150	µg/l

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

Cette méthode décrit le dosage du chrome (VI) dans les eaux, y compris les lixiviats par chromatographie des ions en phase liquide.

2. Procédure

L'ensemble des prescriptions de la norme de référence internationale NBN EN ISO 10304-3:1997 sont d'application, à l'exception des prescriptions spécifiques à la Région wallonne. Ces prescriptions spécifiques s'écartent ou limitent le choix de celles de la norme de référence internationale. Elles sont reprises, en gras, dans le tableau ci-dessous au sein de la colonne « Prescriptions CWEA». Les prescriptions y relatives qui sont reprises dans la norme de référence sont listées, pour information au sein de la colonne « Prescription norme de référence ».

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Principe de la mesure	
(§3 de la norme de référence)	Cette méthode consiste à séparer les ions chromates par chromatographie en phase liquide sur colonne et de les doser ensuite par détection colorimétrique (détecteur UV/visible) après réaction post colonne avec la diphénylcarbazide : - Utilisation d'un échange d'anion comme phase stationnaire et d'une solution de sulfate d'ammonium comme phase mobile. - **Après cette séparation, une réaction post-colonne entre le Cr(VI) et la diphénylcarbazide développe la couleur. Celle-ci est mesurée à 530 nm par un détecteur colorimétrique.**

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Réactifs utilisés	
(§6.1 de la norme de référence)	**En plus des réactifs indiqués dans la norme, les réactifs suivants sont à utiliser :** - **Diphényl-1,5-carbazide** - **Acide sulfurique, 25 % p.a.** - **Carbonate de sodium** **Préparation du réactif post colonne :** - **Dans un berlin de 250 ml, dissoudre 0.50 g de diphenyl-1,5-carbazide dans 100 ml de méthanol.** - **Dans un ballon jaugé de 1 l, introduire 500 ml d'eau, 48 ml d'acide sulfurique, y ajouter la solution de diphényl-1,5-carbazide et porter à 1 l avec de l'eau. Ce réactif est stable 5 jours.** **Préparation de la Solution de digestion alcaline :** - **0,5 mol/l d'hydroxyde de sodium (NaOH) / 0.28 mol/l de carbonate de sodium (Na2CO3)** - **Dissoudre 20.0 g d'hydroxyde de sodium dans environ 500 ml d'eau. Ajouter 30.0 g de carbonate de sodium et agiter en tournant pour mélanger. Transférer quantitativement la solution dans une fiole jaugée de 1 l. Compléter avec de l'eau jusqu'au trait. Le pH de la solution de digestion doit être vérifié avant utilisation. Il doit être supérieur ou égal à 11.5. Conserver la solution à température ambiante dans une bouteille en polyéthylène et en préparer une nouvelle chaque mois.**

Wallonie

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Conditionnement et conservation de l'échantillon	
(§6.4 de la norme de référence)	**L'échantillon est conservé entre 3 +/-2°C, durée de conservation de 5 jours. Les échantillons sont stabilisés avec la solution de digestion alcaline en ajoutant 2 ml pour 250 ml d'échantillon. Le pH de l'échantillon doit être alcalin (pH=9).**
Etalonnage et préparation des solutions standards	
(§6.5.1 de la norme de référence)	**Préparer une solution étalon 1 mg/l (CrVI) :** **Cette solution doit contenir 2ml de solution alcaline pour 250ml de standard comme les échantillons** **Préparation des solutions standards pour les concentrations allant de 10 □ 150 µg Cr(VI)/l :** **Ces solutions doivent contenir 2ml de solution alcaline pour 250ml de standard comme les échantillons** **Les solutions contrôles sont préparées dans les mêmes conditions.**

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

Version précédente	Présente version
Numéro de la méthode : E-II-3	La méthode E-II-3 a été séparée en 2 méthodes, cela afin d'en faciliter le suivi. Il s'agit à présent de : - E-II-3 .1 méthode par détection spectrophotométrique - E-II-3 .2 méthode par chromatographie ionique

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
E-II-4	2	20/01/2022

Dosage des cyanures totaux et libres : méthode d'analyse en flux continu

Descriptif		
Paramètre	CN libres et totaux	
Référence normative	NBN EN ISO 14403-2	2012

Domaine d'application	
Matrice	Eau souterraine Eaux industrielles Eaux usées Eau potable Eau de surface Lixiviats

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)		ng/l
Incertitude (relative) de la mesure		%
Gamme de travail		ng/l

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

La présente procédure spécifie une méthode pour le dosage des cyanures présents dans divers types d'eau (tels qu'eau souterraine, eau potable, eau de surface, lixiviats et eau résiduaire), exprimées en ions cyanure dans l'échantillon non dilué.

2. Procédure

L'ensemble des prescriptions de la norme de référence internationale NBN EN ISO 14403-2:2012 sont d'application, à l'exception des prescriptions spécifiques à la Région wallonne. Ces prescriptions spécifiques s'écartent ou limitent le choix de celles de la norme de référence internationale. Elles sont reprises, en gras, dans le tableau ci-dessous au sein de la colonne « Prescriptions CWEA». Les prescriptions y relatives qui sont reprises dans la norme de référence sont listées, pour information au sein de la colonne « Prescription norme de référence ».

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Vérification de l'analyse	
(§9 de la norme de référence)	**Un dopage est systématiquement utilisé pour confirmer les résultats (1 échantillon par type de matrice). Un ajout de dopage par rapport au dosage d'origine doit avoir un rendement de 80 à 120 %. Sinon, la validation du résultat sera évaluée par le responsable de cellule notamment pour des valeurs proches de la limite de quantification.**

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont :

Version précédente	Présente version
Norme de référence : ISO 14403 :2002	Norme de référence : NBN EN ISO 14403-2:2012

Wallonie

E-II-5V1 : DÉTERMINATION DE L'AZOTE KJELDAHL

1. Objet

La présente méthode de référence spécifie une méthode de dosage de l'azote Kjeldahl dans l'eau.

2. Domaine d'application

La méthode s'applique aux eaux brutes, aux eaux potables et eaux résiduaires dont la concentration en azote est comprise entre 1 et 10 mgN/l. Pour des concentrations plus élevées, les échantillons doivent être dilués avant la minéralisation.

3. Définitions et abréviations

Azote Kjeldahl : azote organique et ammoniacal contenu dans l'échantillon et déterminé après minéralisation.
Il n'inclut pas les nitrates et les nitrites, ni nécessairement tout l'azote organique.

4. Interférences

La présence de nitrates et/ou de nitrites peut être la cause d'erreurs par défaut ou par excès. Les nitrates et/ou nitrites peuvent être réduits dans les conditions de l'essai en ammonium, conduisant à des résultats faux par excès. Les nitrates et/ou nitrites peuvent également former des sels d'ammonium avec l'ammonium présent dans l'échantillon. Ces sels peuvent se décomposer à la température de minéralisation, ce qui conduit à la perte d'azote gazeux et par conséquent à des résultats faux par défaut.
Des résultats faux par défaut peuvent également être obtenus si le processus de minéralisation est trop prolongé.

5. Principe

Minéralisation à chaud de l'échantillon pour libérer l'azote sous forme d'ammonium et dosage par titrimétrie ou par spectrophotométrie.
Les composés de l'azote dosables par la méthode sont transformés en sulfate d'ammonium par minéralisation avec de l'acide sulfurique en présence de sélénium comme catalyseur. L'ammonium est ensuite libéré par l'ajout d'une base avant d'être distillé dans une solution d'acide borique.
Dosage de l'ion ammonium du distillat par titrimétrie avec de l'acide titré.
L'ion ammonium peut aussi être dosé directement sur le minéralisat par spectrophotométrie.

ORIGINAL 2014

6. Conditionnement et conservation de l'échantillon

Prélever les échantillons dans des bouteilles en polyéthylène ou en verre. Ils doivent être analysés dès que possible, ou conservés entre 2 et 5 °C jusqu'à analyse. Si l'échantillon doit être conservé avant l'analyse, ajouter 6 ml de chloroforme ($CHCl_3$) par litre d'échantillon (avec un minimum de 1 ml) et conserver les échantillons entre 2 et 5 °C. Analyser dans les 7 jours.

7. Appareillages et matériels utilisés

7.1.Fioles de minéralisation Kjeldahl, spécialement adaptées, de capacité suffisante pour recevoir les prises d'essai utilisées au cours de l'analyse, et de toute façon, n'excédant pas 500 ml. Elles devront être conçues pour pouvoir être directement rattachées à l'appareil de distillation.

7.2. Appareil de distillation, composé d'une tête de distillation anti-projections et d'un réfrigérant vertical, dont une extrémité peut être immergée dans la solution absorbante.
Si les fioles Kjeldahl ne sont pas conçues pour être raccordées directement à l'appareil de distillation, des ballons de distillation sont nécessaires.

7.3. Matériel de laboratoire courant.

8. Réactifs utilisés

Sauf indication contraire, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue.

8.1. **Eau,** exempte d'ammonium.

8.2. **Acide chlorhydrique**, ρ = 1.18 g/ml

8.3. **Acide sulfurique**, ρ = 1.84 g/ml
Note : de l'acide sulfurique de la plus grande pureté doit toujours être utilisé. Attacher une attention particulière aux spécifications du fabricant en ce qui concerne la teneur en azote.

8.4. **Hydroxyde de sodium**, solution à 500 mg/l.

8.5. **Acide chlorhydrique**, solution titrée, *c*(HCL) ~ 0.10 mol/l. Cette solution doit être préparée par dilution de l'acide chlorhydrique (8.2) puis titrée par les méthodes habituelles. Des solutions du commerce, dont la concentration est garantie, peuvent également être utilisées.

8.6. **Acide chlorhydrique**, solution titrée, *c*(HCL) ~ 0.02 mol/l. Cette solution doit être préparée par dilution de l'acide chlorhydrique (8.2 ou 8.5) puis titrée par les méthodes habituelles. Des solutions du commerce, dont la concentration est garantie, peuvent également être utilisées.

8.7. Acide borique indicateur, solution
Dissoudre 20 ± 1g d'acide borique (H_3BO_3) dans de l'eau chaude. Amener à température ambiante. Ajouter 10.0 ± 0.5 ml de la solution d'indicateur au rouge de méthyle (8.7.1) et 2.0 ± 0.1 ml de la solution de bleu de méthylène (8.7.2) et diluer à 1 litre avec de l'eau.

ORIGINAL 2014

8.7.1. Dissoudre 0.5 ± 0.1g de rouge de méthyle dans environ 800 ml d'eau et diluer à 1 litre avec de l'eau.
8.7.2. Dissoudre 1.5 ± 0.1g de bleu de méthylène dans environ 800 ml d'eau et diluer à 1 litre avec de l'eau.

8.8. Mélange catalyseur : mélanger soigneusement 1000 ± 20 g de sulfate de potassium et 10.0 ± 0.2 g de sélénium en pastilles. Il existe également des mélanges catalyseurs vendus prêts à l'emploi souvent sous forme de pastilles.

Remarque : Ce mélange est toxique. Il contient du sélénium. L'inhalation des poussières résultant de sa préparation ou de son emploi doit être évitée. Tous les résidus contenant du sélénium doivent être recueillis en vue de la récupération du sélénium ou de dispositions de contrôle.

8.9. Régulateurs d'ébullition.

ORIGINAL 2014

9. Mode opératoire

9.1. Dosage

- Introduire une prise d'essai de 250 ml dans un tube de minéralisation. Pour les concentrations supérieures, la prise d'essai initiale peut être ajustée.
- Ajouter 10 ml d'acide sulfurique concentré (8.3) et 5.0 ± 0.5 g du mélange catalyseur (8.8).
- Ajouter quelques régulateurs d'ébullition et faire bouillir le mélange rapidement le contenu du ballon, sous hotte aspirante jusqu'à apparition de fumées blanches.
- Après disparition des fumées blanches, observer le minéralisat et lorsqu'il s'éclaircit pour devenir incolore ou légèrement brun, poursuivre le chauffage pendant 60 min.
- Après minéralisation, laisser la fiole refroidir à température ambiante. Pendant ce temps, prélever 50 ± 5 ml d'indicateur (8.7) et les introduire dans le flacon récepteur de l'appareil de distillation (7.2); s'assurer que l'extrémité du réfrigérant est sous la surface de la solution d'acide borique.
- Ajouter avec précaution 250 ± 5 ml d'eau dans la fiole en même temps que quelques régulateurs d'ébullition. Avec une éprouvette graduée, ajouter 50 ml de la solution d'hydroxyde de sodium (8.4) et connecter aussitôt la fiole à l'appareil de distillation.
- Chauffer le ballon à distiller de façon à collecter le distillat à un débit d'environ 10ml/min. Arrêter la distillation lorsque 200 ml ont été recueillis. Titrer le distillat avec de la solution d'acide chlorhydrique (8.6), jusqu'au virage au rouge et noter le volume utilisé.
- Remarque : Pour des distillats d'échantillons contenant de fortes concentrations d'azote, la solution d'acide chlorhydrique (8.5) peut être utilisée.

9.2. Essai à blanc

Procéder comme en 9.1, mais utiliser 250 ml d'eau distillée au lieu de la prise d'essai. Noter le volume d'acide chlorhydrique utilisé.

9.3. Mode opératoire sans étape de distillation

L'ion ammonium peut être dosé directement sur le minéralisat par spectrophotométrie.
Après minéralisation et refroidissement de la fiole, ajouter 50 ± 10 ml d'eau puis 2 gouttes d'une solution aqueuse de nitrophénol-4 à 1g/l. Ajouter alors, lentement, la solution d'hydroxyde de sodium (8.4) tout en agitant vigoureusement et en refroidissant la solution jusqu'à apparition d'une couleur jaune pâle persistante. Ajouter quelques gouttes d'acide sulfurique (8.3) jusqu'à disparition de la coloration. Transférer quantitativement dans une fiole jaugée de 200 ml et compléter au volume avec de l'eau. Doser l'ammonium de cette solution en utilisant la méthode spectrométrique (voir ISO 11732). Les solutions d'étalonnage et l'essai à blanc doivent être préparés en suivant le même mode opératoire, car la forte concentration en sulfate de sodium de la solution minéralisée neutralisée affecte l'étalonnage de la méthode spectrométrique.
La concentration en ammonium, exprimée en milligrammes par litre, déterminée par spectrométrie doit être multipliée par le facteur $200/V_0$, où V_0 est le volume de la prise d'essai en millilitres, pour obtenir la concentration d'azote Kjeldahl, en mg/l, de l'échantillon.

10. Calcul

La concentration en azote Kjeldahl de l'échantillon exprimée en mg N/ litre, est donnée par la formule :

$$\text{Conc. en } N_{Kj} \text{ (mg N/l)} = \frac{V_1 - V_2}{V_0} \times c \times 14.01 \times 1000$$

où

V_0 est le volume, en ml, de la prise d'essai.
V_1 est le volume, en ml, de la solution titrée d'acide chlorhydrique (8.6) utilisée pour le titrage.
V_2 est le volume, en ml, de la solution titrée d'acide chlorhydrique (8.6) utilisée pour le titrage du blanc.
c est la concentration exacte, en moles par litre, de la solution titrée d'acide chlorhydrique utilisée pour le titrage.
14.01 est la masse atomique relative de l'azote.

11. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne ;
- L'identification complète de l'échantillon ;
- La spécification de la méthode utilisée ;
- Les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis ;
- Une description du type d'appareillage utilisé;
- Les résultats du dosage conformément au point 10 ;

ORIGINAL 2014

- Les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

12. Références

NBN EN ISO 25663 : 1996 – Qualité de l'eau – Dosage de l'azote Kjeldahl – Méthode après minéralisation au sélénium.

ISO 11732 :2005 – Qualité de l'eau – dosage de l'azote ammoniacal – Méthode par analyse en flux (CFA et FIA) et détection.

ORIGINAL 2014

E-II-6V1 : DÉTERMINATION DE L'AZOTE NITREUX PAR ANALYSE EN FLUX ET DETECTION SPECTROMETRIQUE

1. Objet

La présente méthode de référence spécifie une méthode de détermination de l'azote nitreux dans l'eau par analyse avec injection de flux (FIA) et détection spectrométrique.

2. Domaine d'application

La méthode s'applique à tous types d'eau (eau souterraine, eau potable, eau de surface et eaux usées), dont la concentration en nitrites est comprise entre 0.01 mg/l et 1 mg/l, pour des échantillons non dilués.

3. Interférences

Les matières particulaires présentes dans l'échantillon peuvent entraîner une obstruction des tubes de circulation et perturber le mesurage photométrique. Les grosses particules (> 0.1 mm) peuvent être éliminées par filtration sur la membrane, les petites particules peuvent être convenablement éliminées par dialyse.

Pour éliminer une matrice organique interférente (composés avec une masse moléculaire élevée), l'échantillon peut être dialysé si besoin est par un procédé en ligne. Il est également possible de filtrer l'échantillon sur du charbon actif, à condition que des changements de la concentration en masse de nitrite ou de nitrate soient exclus.
L'auto-absorption de l'échantillon peut être compensée en mesurant, en plus du signal de l'échantillon, le signal de l'échantillon sans ajout de réactifs. Dans ce cas, la différence entre les deux réponses est utilisée pour l'évaluation.

Avant d'effectuer le mesurage, diluer les échantillons présentant une concentration totale en sel de plus de 30 g/l.

Les concentrations d'agents de surface supérieures à 10 mg/l peuvent entraîner des interférences pendant la détermination. Cette interférence peut être évitée par une dialyse de l'échantillon, si besoin est par procédé en ligne.

4. Principe

Avec l'analyse avec injection de flux (FIA), l'échantillon est introduit à l'aide d'une valve d'injection dans une solution tampon à écoulement continu (courant vecteur).
Avec l'analyseur avec flux continu (CFA), il est continuellement mélangé à cette solution tampon.
Ensuite, une solution de réactif d'acide chlorhydrique (ou phosphorique) à écoulement également continu est introduite. Le nitrite produit une réaction de diazotation du sulfanilamide, en milieu acide, en un sel de diazonium, qui est ensuite transformé en un colorant rouge par

ORIGINAL 2014

couplage avec le dichlorure de *N*-(naphtyl-1) éthylènediamine. L'absorbance du colorant rouge formé est mesurée entre 520 et 560 nm.

5. Conditionnement et conservation de l'échantillon

Prélever l'échantillon dans une bouteille en polyéthylène ou en verre. Conserver les échantillons à l'obscurité à 4 °C et effectuer l'analyse de préférence dans les 24 h suivant le prélèvement. Si l'échantillon doit être conservé avant l'analyse, ajouter 6 ml de chloroforme par litre d'échantillon et stocker à l'obscurité entre 2 et 5 °C. L'analyse doit s'effectuer dans les 7 jours.

6. Appareillages et matériels utilisés

6.1. Dispositif d'analyse avec injection de flux (FIA), comprenant généralement les composants suivants :

- Réservoirs à réactifs
- Pompe à faible pulsation
- Si nécessaire, tubes de pompage appropriés
- Injecteur d'échantillon de volume d'injection de 10 à 300 µl
- Tubes de circulation et bobines de mélange de 0.5 à 0.8 mm de diamètre intérieur, avec des raccords de tubes et pièces en T en matière plastique chimiquement inerte
- Si nécessaire, cellule de dialyse avec, par exemple, une membrane à cellulose afin de prédiluer l'échantillon ou d'éliminer les composés interférents
- Détecteur photométrique à flux, domaine de longueurs d'onde de 520 à 560 nm
- Unité enregistreuse (par exemple traceur, intégrateur ou imprimante). Généralement, les signaux de hauteur de pic sont évalués
- Si nécessaire, un échantillonneur automatique

6.2. Dispositif d'analyse avec flux continu (CFA), comprenant généralement les composants suivants

- Echantillonneur automatique ou toute autre installation permettant un échantillonnage reproductible
- Réservoirs à réactifs
- Pompe à faible pulsation équipée de tubes appropriés en matière chimiquement inerte
- Manifold avec alimentation en bulles d'air à reproductibilité élevée. Si de l'air est utilisé pour la segmentation du flux, le flux doit être dégazé avant son entrée dans la colonne de cadmium.
- Si nécessaire, cellule de dialyse avec, par exemple, une membrane à cellulose afin de prédiluer l'échantillon ou d'éliminer les composés interférents
- Détecteur photométrique à flux, domaine de longueurs d'onde de 520 à 560 nm
- Unité enregistreuse (par exemple traceur, intégrateur ou imprimante). Généralement, les signaux de hauteur de pic sont évalués

ORIGINAL 2014

6.3. **Appareil de filtration sur membrane**, avec membranes filtrantes, de porosité 0.45 µm

6.4. Matériel de laboratoire courant

7. Réactifs utilisés

Sauf indication contraire, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue.

7.1. Eau de qualité 1 (conformément à l'ISO 3696).

7.2. Acide phosphorique H_3PO_4, ρ = 1.71 g/ml

7.3. Sulfanilamide (amino-4 benzènesulfanilamide, $C_6H_8N_2O_2S$)

7.4. Dichlorure de *N*-(naphtyl-1) éthylènediamine [Dichlorure de *N*-(naphtyl-1) diamino-1,2 éthane, $C_{12}H_{16}N_2Cl_2$]

7.5. Nitrite de sodium $NaNO_2$, séché par exemple à 150 °C jusqu'à masse constante

7.6. Imidazole ($C_3H_4N_2$) pour synthèse ou **chlorure d'ammonium** (NH_4Cl) séché, par exemple, à 150 °C jusqu'à masse constante.

7.7. Acide chlorhydrique I HCl, concentré, *w* = 37 %

7.8. Acide chlorhydrique II HCl ; c(HCl) = 1 mol/l

7.9. Sulfate de cuivre I, solution ρ($CuSO_4$, $5H_2O$) = 2.5 g/l ; cette solution reste stable

7.10. Sulfate de cuivre II, soultion ρ($CuSO_4$, $5H_2O$) = 20 g/l ; cette solution reste stable

7.11. Dodécyléther de polyéthylèneglycol [$HO\text{-}(CH_2CH_2\text{-}O)_n - C_{12}H_{21}$], agent de surface, θ = 33 °C à 41 °C, solution *w* = 30 % ; la solution reste stable environ 4 semaines

7.12. Solution mère d'imidazole, c = 0.25 mol/l : dissoudre, dans un bécher de 1 litre, 17.0 g d'imidazole (7.6) dans environ 900 ml d'eau. Tout en agitant avec un agitateur magnétique, ajouter de l'acide chlorhydrique I (7.7) et ajuster le pH à 7.5 à l'aide d'une électrode pH. Transvaser dans une fiole jaugée de 1000 ml, et compléter au volume avec de l'eau. La solution reste stable 4 semaines si elle est conservée dans un flacon en verre brun à température ambiante.

7.13. Solution tampon : mélanger 100 ml de la solution mère d'imidazole (7.12) avec 100 µl de solution de sulfate de cuivre I (7.9). Préparer la solution juste avant l'emploi.
On peut également utiliser une solution tampon d'ammonium, par exemple : dissoudre 85 g de chlorure d'ammonium (NH_4Cl) dans l'eau, compléter à 1000 ml et d'ajuster le pH à 7.5 environ.

7.14. Solutions vecteur ou de dilution : Le tableau ci-dessous indique des exemples connus pour la préparation de ces solutions.

ORIGINAL 2014

Tableau 1 : Exemples pour la préparation des solutions vecteur ou de dilution.

Méthode	Contenu de la solution vecteur	Contenu de la solution tampon
FIA	Eau	Eau, solution tampon (7.13) ou pas de solution
CFA	Pas nécessaire	Eau, solution tampon (7.13) ou pas de solution
Dans le cas de la technique CFA, si on n'utilise pas de solution tampon, l'agent de surface (7.11) doit être ajouté au réactif (7.16).		

Toutes les solutions contenant l'agent de surface (7.11) doivent être préparées juste avant l'emploi.
Les solutions pour FIA doivent être dégazées avant leur emploi, par exemple par filtration sur membrane (sous vide)

7.15. Solution tampon au sulfate de cuivre : Mélanger, dans un bécher de 50 ml, 20 ml de solution de sulfate de cuivre II (7.10) et 20 ml de solution mère d'imidazole (7.12). Préparer la solution juste avant l'emploi.

7.16. Réactif NED : Dissoudre dans une fiole jaugée de 500 ml, 5 g de sulfanilamide (7.3) et 0.5 g de dichlorure de *N*-(naphtyl-1) éthylènediamine (7.4) dans de l'eau, ajouter 50 ml d'acide phosphorique (7.2), et compléter au volume avec de l'eau. La solution reste stable au minimum une semaine si elle est conservée dans un flacon en verre brun. Pour la préparation de ce réactif, l'acide chlorhydrique (7.7 ou 7.8) peut également être utilisé à la place de l'acide phosphorique si des caractéristiques de performance équivalentes sont obtenues. Les solutions de sulfanilamide (7.3) et de dichlorure de *N*-(naphtyl-1) éthylènediamine (7.4) peuvent être préparées individuellement et dosées dans l'appareillage par des lignes différentes. La solution NED pour FIA doit être dégazée avant son emploi, par exemple par filtration sur membrane (sous vide).
Attention : le sulfanilamide et le réactif NED sont des produits toxiques. Le NED est reconnu comme irritant pour les yeux et la peau. Des précautions d'usage doivent donc être prises lors de leur manipulation.

7.17. Solution mère de nitrite, ρ_N = 100 mg/l : dissoudre, dans une fiole jaugée de 1000 ml ; 492.6 mg de nitrite de sodium (7.5) dans de l'eau et compléter au volume avec de l'eau. Cette solution reste stable au minimum 2 semaines si elle est conservée dans un flacon fermé en verre à 4 °C.

7.18. Solution mère de nitrite, ρ_N = 20 mg/l : Introduire, à l'aide d'une pipette, 20 ml de la solution mère (7.17) dans une fiole jaugée de 100 ml. Compléter au volume avec de l'eau. Préparer cette solution juste avant l'emploi.

7.19. Solution mère de nitrite, ρ_N = 1 mg/l : Introduire, à l'aide d'une pipette, 1 ml de la solution mère (7.17) dans une fiole jaugée de 100 ml. Compléter au volume avec de l'eau. Préparer cette solution juste avant l'emploi.

7.20. Solutions d'étalonnage : les solutions d'étalonnage sont préparées en diluant les solutions correspondantes comme décrit en 7.18 et 7.19. Ces solutions peuvent être combinées à volonté en vue de la préparation de solutions d'étalonnage pour la détermination du nitrite. Il est conseillé de préparer au moins cinq solutions d'étalonnage par domaine de travail. Les domaines de travail suivants sont prévus :
- domaine de travail I : de 0.01 à 0.1 mg/l
- domaine de travail I : de 0.1 à 1 mg/l

ORIGINAL 2014

Toutes les solutions d'étalonnage doivent être préparées juste avant mesurage.

8. Préparation de l'échantillon

Si l'échantillon contient des matières particulaires dont la granulométrie est supérieure à 0.1 mm, une filtration de l'échantillon est nécessaire (risque d'obstruction des tubes de circulation).

9. Mode opératoire

9.1. Préparation du mesurage

Assembler le dispositif en flux selon la méthode de détermination souhaitée.

Avant de procéder au mesurage, faire passer sans interruption pendant 10 minutes les réactifs à travers le dispositif en flux.

Le dispositif est prêt à fonctionner dès que la ligne de base n'indique plus de dérive. Il convient d'atteindre une relation signal/bruit satisfaisante.

9.2. Contrôle de la valeur à blanc des réactifs

Atteindre la stabilisation de la ligne de base.

Au lieu de la solution tampon et du réactif, faire passer de l'eau pendant 2 minutes et enregistrer les modifications du signal de mesurage.

Si l'absorbance varie de plus de 0.015 pour 10 mm de trajet optique, l'eau utilisée ou le réactif peuvent être contaminés. Prendre des mesures appropriées pour éliminer ces interférences.

Ensuite, faire passer de nouveau les réactifs.

9.3. Etalonnage

Etablir le domaine de travail et préparer les solutions d'étalonnage pour le domaine choisi. Procéder à un étalonnage par domaine de travail.

Etalonner par injection séquentielle des solutions d'étalonnage et de la solution à blanc.

Avant de commencer l'étalonnage, régler les instruments à zéro, si nécessaire selon les instructions du constructeur.

Déterminer les valeurs mesurées correspondant aux solutions d'étalonnage utilisées.

Les conditions d'essai pour l'étalonnage et le mesurage d'échantillons sont identiques. L'amplitude du signal de mesurage est proportionnelle à la concentration en masse de nitrite (N). Etablir la courbe d'étalonnage pour la série de mesurages obtenue.

ORIGINAL 2014

L'équation générale suivante est appliquée :

$$y = b * \rho_n + a$$

où

y est la valeur mesurée, en unités correspondant à l'appareil (par exemple hauteur de pic en millimètres ou en millivolts)
b est la pente de la fonction d'étalonnage, en unités correspondant à l'appareil litres par milligramme
ρ_N est la concentration en masse de nitrite, en milligrammes par litre
a est l'ordonnée à l'origine de la fonction d'étalonnage, en unités correspondant à l'appareil.

9.4. Mesurage de l'échantillon

Analyser les échantillons éventuellement prétraités de la même manière que les solutions d'étalonnage avec le dispositif en flux.

Si la concentration en masse de l'échantillon dépasse le domaine de validité du domaine de travail choisi, diluer l'échantillon ou l'analyser dans un autre domaine de travail.

Après chaque série d'échantillons, mais au plus tard après 10 à 20 mesurages, contrôler la validité de la fonction d'étalonnage du domaine de travail, en utilisant une solution d'étalonnage dans le premier et dans le dernier tiers du domaine de travail.

ORIGINAL 2014

10. Calcul

Déterminer la concentration en masse du composé à analyser dans la solution de mesurage à partir de la valeur mesurée obtenue selon 9.4, par la fonction d'étalonnage.

Pour l'évaluation, utiliser la fonction d'étalonnage appropriée. Ne pas extrapoler celle-ci au-delà du domaine de travail choisi.

Calculer ρ_N selon l'équation :

$$\rho_n = \frac{y - a}{b}$$

où

ρ_N est la concentration en masse de nitrite dans l'échantillon, en milligrammes par litre
y est la valeur mesurée, en unités correspondant à l'appareil (par exemple hauteur de pic en millimètres ou en millivolts)
b est la pente de la fonction d'étalonnage, en unités correspondant à l'appareil litres par milligramme
a est l'ordonnée à l'origine de la fonction d'étalonnage, en unités correspondant à l'appareil.

Consigner les résultats avec deux chiffres significatifs au plus.

11. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne ;
- L'identification complète de l'échantillon ;
- La spécification de la méthode utilisée (FIA ou CFA) ;
- Les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis ;
- Une description du type d'appareillage utilisé ou des conditions de flux ;
- Les résultats du dosage conformément au point 10 ;
- La fidélité et la justesse des résultats, si disponibles ;
- Les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

12. Références

NBN EN ISO 13395 : 1996 – Qualité de l'eau – Détermination de l'azote nitreux et de l'azote nitrique et de la somme des deux par analyse en flux (CFA et FIA) et détection spectrométrique

ISO 3696 :1987 – Eau pour laboratoire à usage analytique – Spécification et méthodes d'essai

ORIGINAL 2014

E-II-7V1 : DOSAGE DES ANIONS DISSOUS PAR CHROMATOGRAPHIE IONIQUE EN PHASE LIQUIDE – DOSAGE DES NITRATES ET DES NITRITES

1. Objet

La présente méthode de référence spécifie une procédure pour le dosage des anions nitrates et nitrites par chromatographie ionique en phase liquide.

2. Domaine d'application

La présente méthode de référence est applicable à tous types d'eau.

La limite inférieure d'application est ≥ 0.05 mg/l pour les ions nitrites, et ≥ 0.1 mg/l pour les ions nitrates. La limite inférieure dépend de la matrice et des interférences rencontrées.

Le domaine de travail peut être étendu à des concentrations plus faibles (par exemple ≥ 0.01 mg/l) si un prétraitement approprié de l'échantillon (par exemple conditions en vue d'analyse de traces, technique de préconcentration) est appliqué, et/ou si un détecteur ultraviolet (UV) est utilisé pour les ions nitrate et nitrite.

3. Interférences

Les acides organiques aliphatiques tels que les acides monocarboxyliques ou dicarboxyliques, peuvent interférer avec la séparation des anions.

Il convient de vérifier la présence de métaux (par exemple des métaux alcalino-terreux, des métaux de transition, des métaux lourds) interférant avec les anions étudiés et de les éliminer à l'aider d'échangeurs de cations spéciaux (par exemple une cartouche conditionnée sous forme H ou Na).

4. Principe

Les anions nitrate et nitrite sont séparés par chromatographie en phase liquide par l'application d'une résine échangeuse d'anions comme phase stationnaire et de solutions aqueuses de sels d'acides monobasiques et dibasiques faibles comme éluants pour les techniques d'élution isocratique ou avec un gradient (par exemple éluant carbonate, hydrogénocarbonate, hydroxyde). La détection s'effectue au moyen d'un détecteur de conductivité (CD).

Dans le cas de détecteur conductimétrique (CD), l'éluant doit avoir une conductivité faible. Pour cette raison, des CD sont habituellement associés à un dispositif supresseur (échangeur de cations) pour diminuer la conductivité de l'éluant et transformer les espèces de l'échantillon en leurs acides correspondants.

ORIGINAL 2014

Un détecteur UV n'est pas requis pour effectuer cette analyse, mais pourrait être utilisé en cas d'interférence matricielle avec le détecteur conductimétrique. Avec ce type de détecteur, les ions nitrate et nitrite peuvent être mesurés de $\lambda = 200$ nm à $\lambda = 215$ nm.

5. Conditionnement et conservation de l'échantillon

Utiliser pour l'échantillonnage des flacons en polyéthylène ou en polytétrafluoréthylène (PTFE).
Stabiliser les échantillons comme spécifiés dans la norme ISO 5667-3.
L'échantillon est conservé à 4 °C pas plus de 48 h pour l'analyse des nitrites et jusqu'à 28 jours pour l'analyse des nitrates.

Note : Les activités bactériennes et l'adsorption des anions sur une matière particulaire peuvent causer une conversion des anions (par exemple nitrate, nitrite, orthophosphate). Une étape de filtration à 0.45 µm au cours de l'échantillonnage peut éliminer les bactéries et la matière particulaire.

6. Préparation de l'échantillon

Avant l'injection dans l'analyseur, filtrer l'échantillon au travers d'un filtre à membrane (de porosité 0.45 µm) afin d'éliminer toute matière particulaire, si nécessaire.
Empêcher la contamination possible de l'échantillon par la membrane (par exemple rincer la membrane avec un petit volume de l'échantillon et éliminer la première portion du filtrat).

7. Appareillages et matériels utilisés

Appareillage de laboratoire courant et, en particulier, ce qui suit
Système de chromatographie ionique. En général, il est constitué des composants suivants :

- *Réservoir d'éluant,* et une unité de dégazage
- *Pompe pour HPLC* sans partie métallique
- *Système d'injection d'échantillons*, incorporant une boucle d'échantillonnage de volume approprié (par exemple 0,02 ml) ou un dispositif d'auto-échantillonnage.
- *Précolonnes*, si nécessaire : l'utilisation d'une précolonne est recommandée pour l'élimination des métaux, les analyses des eaux fortement chargées en produits organiques et la protection de la colonne de séparation analytique.
- *Colonne de séparation* ayant la performance de séparation spécifiée (voir annexe).
- *Détecteur de conductivité*
- *Détecteur UV*, par exemple un spectrophotomètre opérant dans la plage de longueur d'onde de 190 à 400 nm, utilisé éventuellement avec un détecteur conductimétrique ou en variante.
- *Dispositif d'enregistrement* (par exemple un ordinateur personnel équipé d'un logiciel d'acquisition et d'évaluation de données).

ORIGINAL 2014

8. Réactifs utilisés

Utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue. Peser les réactifs avec une précision de ± 1 % de la masse nominale, sauf indication contraire. Les réactifs énumérés de 8.2 à 8.5 peuvent être considérés comme représentatifs des exemples pour la préparation des éluants.

8.1 Eau de qualité 1 (conformément à l'ISO 3696). *La conductivité de l'eau ne doit pas dépasser 0.01 mS/m à 25 °C.*

8.2 Hydrogénocarbonate de sodium $NaHCO_3$

8.3 Carbonate de sodium Na_2CO_3

8.4 Hydroxyde de sodium NaOH

8.5 Hydroxyde de potassium KOH

8.6 Solutions étalons mères d'anions nitrate et nitrite à 1000 mg/l chacune.

Des solutions mères constituées d'une seule espèce d'anion ou d'un mélange d'anions ayant les spécifications appropriées requises sont disponibles dans le commerce. Ces solutions sont considérées comme étant stables durant plusieurs mois.
Pour une variante de préparation de solutions mères, voir le tableau ci-dessous. Dissoudre les sels en conséquence, après un traitement approprié.

Anion à doser	Sel à utiliser*	Masse (g)	Prétraitement par séchage à (105 ± 5) °C durant au moins
Nitrate	$NaNO_3$	1.3707	24 h
Nitrite	$NaNO_2$	1.4998	1 h
* D'autres sels ayant les spécifications appropriées requises peuvent être utilisés			

8.7 Solutions étalons d'ions nitrate et nitrite
En fonction des concentrations attendues, préparer des solutions étalons des anions nitrate et nitrite à partir de la solution mère (8.6). Conserver les solutions étalons dans des fioles de polyéthène.

8.8 Solutions d'étalonnage d'ions nitrate et nitrite
En fonction des concentrations attendues dans l'échantillon, utiliser la solution étalon (8.7) pour préparer, par exemple, 5 à 10 solutions d'étalonnage réparties aussi uniformément que possible dans le domaine de travail attendu. Préparer les solutions d'étalonnage le jour de l'utilisation.

8.9 Solution à blanc
Remplir une fiole jaugée avec de l'eau (8.1).

8.10 Eluants
Dégazer la totalité de l'eau utilisée pour la préparation de l'éluant. Afin d'éviter le développement de bactéries ou d'algues, préparer des éluants frais tous les 3 jours.
Le choix des éluants dépend de la colonne et du détecteur choisi.
La combinaison choisie de la colonne de séparation et de l'éluant doit satisfaire aux exigences de résolution mentionnées en annexe.
Un choix de réactifs pour les éluants courants est donné de 8.2 à 8.5.

ORIGINAL 2014

9. Mode opératoire

Régler le système de chromatographie ionique (point 7) en suivant les instructions données par le fabricant de l'appareil.
Laisser couler l'éluant et attendre une ligne de base stable.
Effectuer l'étalonnage comme décrit en 9.1. Mesurer les solutions d'échantillons, les solutions d'étalonnage (8.8) et le blanc (8.9) comme décrit en 9.2.

9.1. Etalonnage

Lorsque le système analytique est évalué une première fois, et par intervalles par la suite, établir une fonction d'étalonnage (par exemple comme spécifiée dans l'ISO 8466-1 ou l'ISO 8466-2) pour la mesure.

- Injecter les solutions d'étalonnage (8.8)
- Identifier les pics correspondant aux anions particuliers en comparant les temps de rétention à ceux des solutions étalons (8.8). L'écart des temps de rétention ne doit pas excéder 10 % dans un lot.
- Utiliser les données obtenues pour calculer la droite de régression
- Vérifier la fonction d'étalonnage avec des solutions de contrôle.

9.2. Analyse des échantillons

Après l'établissement de la fonction d'étalonnage, injecter l'échantillon dans le chromatographe et mesurer les pics comme décrit en annexe.

Si la concentration de l'analyte excède le domaine d'étalonnage, diluer l'échantillon ou établir une fonction d'étalonnage séparée pour un domaine de travail supérieur et l'analyser de nouveau.
Si la concentration de l'analyte est inférieur au domaine d'étalonnage, établir une fonction d'étalonnage séparée pour un domaine de travail inférieur et l'analyser de nouveau, si nécessaire.

Si des interférences matricielles sont attendues, utiliser la technique de l'ajout dosé afin de confirmer les résultats (vérifier les pics en comparant le temps de rétention de l'échantillon dopé à celui de l'échantillon original).
Mesurer la solution à blanc (8.9) de la même manière que l'échantillon.

ORIGINAL 2014

10. Calcul

Calculer la concentration massique, en microgrammes par litre ou en milligrammes par litre, des anions dans la solution au moyen des aires de pic ou des hauteurs de pic selon la fonction d'étalonnage utilisée.
Prendre en compte toutes les étapes de dilution.
Arrondir les résultats à un maximum de 2 chiffres significatifs.
Les résultats concernant les anions nitrate et nitrite peuvent être exprimés également en tant que NO_3-N et NO_2-N.

Multiplier les résultats pour	Par le facteur de conversion	Pour les données
NO_3^-	0.2259	NO_3-N
NO_3-N	4.4268	NO_3^-
NO_2^-	0.3045	NO_2-N
NO_2-N	3.2846	NO_2^-

11. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne ;
- L'identification complète de l'échantillon ;
- Les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis ;
- Les résultats du dosage conformément au point 10 ;
- Les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

ORIGINAL 2014

12. Références

ISO 10304-1 : 2007 - Qualité de l'eau – Dosage des anions dissous par chromatographie des ions en phase liquide – Partie 1 : Dosage du bromure, chlorure, fluorure, nitrate, nitrite, phosphate et sulfate

ISO 10304-1 : 2010 - Qualité de l'eau. Dosage des anions dissous par chromatographie des ions en phase liquide – Partie 1 : Dosage du bromure, chlorure, fluorure, nitrate, nitrite, phosphate et sulfate
Rectificatif technique 1

EPA Method 300.1: 1997 (+ errata 1999) – Determination of inorganic anions in drinking water by ion chromatography (pour le conditionnement et la conservation des échantillons)

ISO 3696 :1987 – Eau pour laboratoire à usage analytique – Spécification et méthodes d'essai

ISO 5667-3 : 2012 – Qualité de l'eau – Echantillonnage – Partie 3 : Lignes directrices pour la conservation et la manipulation des échantillons d'eau

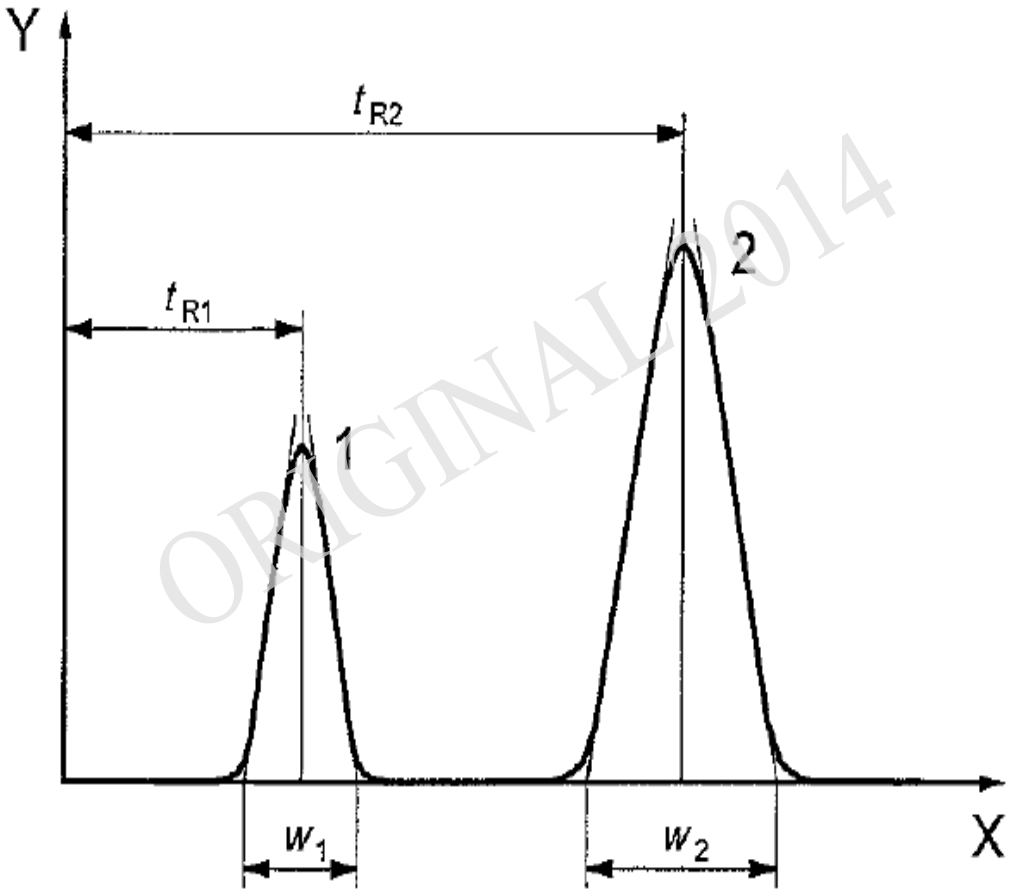
ISO 8466-1 :1990 – Etalonnage et évaluation des méthodes d'analyse et estimation des caractères de performance – Partie 1 : évaluation statistiques de la fonction linéaire d'étalonnage.

ISO 8466-2 :2001 – Etalonnage et évaluation des méthodes d'analyse et estimation des caractères de performance – Partie 2 : Stratégie d'étalonnage pour fonction d'étalonnage non linéaire du second degré.

Annexe : Exigence de qualité pour la colonne de séparation

Dans les chromatogrammes d'échantillons et de solutions étalons, la résolution du pic, *R*, entre l'anion étudié et son pic le plus proche ne doit pas descendre au-dessous de 1,3.

Les conditions de séparation doivent être telles que des anions pouvant éventuellement interférer n'interféreront pas avec l'anion étudié.



ORIGINAL 2014

Figure – Représentation graphique des paramètres pour calculer la résolution de pic, *R*

Légende

X temps de rétention, t_R, en secondes (s)
Y signal

w largeur de pic, s

1 pic 1
2 pic 2

Calculer la résolution de pic, *R*, en utilisant l'équation :

$$R_{2,1} = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{w_2 + w_1}$$

où

t_{R1} est le temps de rétention du premier pic, en secondes
t_{R2} est le temps de rétention du second pic, en secondes
w_1 est la largeur du premier pic sur l'axe du temps, en secondes
w_2 est la largeur du second pic sur l'axe du temps, en secondes

NB : Les largeurs de la base des pics w1 et w2 sont obtenues en construisant des triangles isocèles sur les pics gaussiens.

ORIGINAL 2014

E-II-8V1 : DÉTERMINATION DE L'AZOTE TOTAL

1. Objet

La présente méthode de référence spécifie une méthode de détermination de l'azote total dans l'eau.

2. Domaine d'application

La méthode s'applique à tous types d'eau (eau souterraine, eau potable, eau de surface et eaux usées).

3. Principe

L'azote total correspond à la somme des formes azotées suivantes : azote Kjeldahl + azote nitreux + azote nitrique.

4. Calcul

N total = N Kj + $N\text{-}NO_2$ + $N\text{-}NO_3$
La teneur en azote total, de même que celles en azote Kjeldahl, en azote nitreux et en azote nitrique sont exprimées en mgN/l.

5. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne ;
- L'identification complète de l'échantillon ;
- La spécification des méthodes utilisées pour déterminer l'azote Kjeldahl, l'azote nitreux et l'azote nitrique;
- Les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis ;
- Les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

ORIGINAL 2014

6. Références

NBN EN ISO 13395 : 1996 – Qualité de l'eau – Détermination de l'azote nitreux et de l'azote nitrique et de la somme des deux par analyse en flux (CFA et FIA) et détection spectrométrique.

ISO 10304-1 : 2007 - Qualité de l'eau – Dosage des anions dissous par chromatographie des ions en phase liquide – Partie 1 : Dosage du bromure, chlorure, fluorure, nitrate, nitrite, phosphate et sulfate.

NBN EN ISO 25663 : 1996 – Qualité de l'eau – Dosage de l'azote Kjeldahl – Méthode après minéralisation au sélénium.

ORIGINAL 2014

E-II-9V1 - DÉTERMINATION DES ORTHOPHOSPHATES PAR SPECTROPHOTOMETRIE

1. Objet

La présente méthode de référence spécifie 3 méthodes de détermination des orthophosphates avec détection spectrophotométrique. La méthode d'analyse pouvant être : l'analyse en flux, l'analyse séquentielle ou l'utilisation de kits (tests en cuvette)

2. Domaine d'application

En ce qui concerne l'analyse en flux et l'analyse séquentielle, la méthode s'applique à tous types d'eau (eau souterraine, eau potable, eau de surface et eaux usées), pour des concentrations en masse allant de 0.050 mg/l à 0.5 mg/l, pour des échantillons non dilués.
En ce qui les kits prêts à l'emploi, il en existe pour différentes gammes de concentration. Leur limite de quantification est cependant supérieure à celle des 2 autres méthodes (0.15 mg/l pour les kits Hach Lange).

3. Principe

Les phosphates réagissent avec le molybdate d'ammonium. L'acide molybdophosphorique qui en résulte est ensuite réduit par l'acide ascorbique en bleu de molybdène. Cette réaction est catalysée par le tartrate d'oxyde d'antimoine potassique. L'absorbance du colorant bleu formé est mesurée à 880 nm.

4. Interférences

L'arséniate produit une couleur similaire à celle des orthophosphates. Cette interférence peut être éliminée en réduisant l'arséniate en arsénite. De concentrations élevées en silicate (> 5 mg/l), sulfure (> 2 mg/l), nitrite (> 3 mg/l), chrome, fer et cuivre (> 10 mg/l) peuvent aussi interférer. Si la présence d'un de ces interférents est suspectée dans l'échantillon, il faudra en évaluer l'impact avant l'analyse.

5. Conditionnement et conservation de l'échantillon

Prélever les échantillons dans des bouteilles en verre. Pour conserver l'échantillon, ajouter 6 ml de chloroforme par litre d'échantillon et stocker à l'obscurité entre 2 et 5°C. L'analyse doit s'effectuer dans les 7 jours.

ORIGINAL 2014

6. Appareillages et matériels utilisés

Méthode d'analyse en flux

6.1. **Dispositif d'analyse avec injection de flux (FIA)**, comprenant généralement les composants suivants :
- Réservoirs à réactifs
- Pompe à faible pulsation
- Si nécessaire, tubes de pompage appropriés
- Injecteur d'échantillon de volume d'injection de 10 à 300 µl
- Tubes de circulation et bobines de mélange de 0,5 à 0,8 mm de diamètre intérieur, avec des raccords de tubes et pièces en T en matière plastique chimiquement inerte
- Si nécessaire, cellule de dialyse avec, par exemple, une membrane à cellulose afin de prédiluer l'échantillon ou d'éliminer les composés interférents
- Détecteur photométrique à flux
- Unité enregistreuse (par exemple traceur, intégrateur ou imprimante). Généralement, les signaux de hauteur de pic sont évalués
- Si nécessaire un échantillonneur automatique

6.2. **Appareil de filtration sur membrane**, avec membranes filtrantes, de porosité 0,45 µm
6.3. **Matériel de laboratoire courant**

Méthode d'analyse séquentielle

6.4. **Analyseur séquentiel** se composant des éléments suivants :
- Un plateau de prélèvement pouvant contenir un nombre variable de godets dans lesquels les échantillons à analyser sont placés.
- Un plateau réactionnel composé de cuvettes transparentes qui reçoivent la prise d'essai de l'échantillon à analyser et le ou les réactifs nécessaires. Ces cuvettes sont maintenues à température constante dans un bain thermostatisé et permettent une lecture colorimétrique.
- Un plateau de réactifs supportant les réservoirs des réactifs pour réaliser les dosages souhaités.
- Un ou des bras de prélèvement permettant de prélever, à l'aide d'un système de seringue automatique, les échantillons sur le plateau de prélèvement et les réactifs sur le plateau des réactifs et de les placer successivement dans la cuvette réactionnelle.
- Un lecteur optique permettant une mesure colorimétrique des différentes cuvettes réactionnelles.
- Un module électronique-informatique qui assure le pilotage du système et les calculs nécessaires pour obtenir le résultat recherché.

6.5. **Appareil de filtration sur membrane**, avec membranes filtrantes, de porosité 0,45 µm
6.6. **Matériel de laboratoire courant**

Méthode d'analyse utilisant les tests en cuvettes

6.7. **Tests en cuve Phosphore total/ Phosphate ortho** (par exemple HACH Lange LCK 348, LCK349 ou LCK350).
6.8. **Spectrophotomètre** permettant la lecture des cuvettes.

ORIGINAL 2014

6.9. **Appareil de filtration sur membrane**, avec membranes filtrantes, de porosité 0,45 µm
6.10. **Matériel de laboratoire courant**

7. Réactifs utilisés

Méthode d'analyse en flux

Sauf indication contraire, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue. Dégazer toutes les solutions vecteurs et les solutions de réactifs pour les dosages FIA, par exemple par filtration sur membrane (sous vide)..
7.1) **Eau** de qualité 1 (conformément à l'ISO 3696).
7.2) **Acide sulfurique concentré**, 98%
7.3) **Chlorure de sodium**, NaCl
7.4) **Acide ascorbique**, $C_6H_8O_6$
7.5) **Tartrate de potassium et d'antimoine hémihydraté**, $K(SbO)C_4H_4O_6,1/2H_2O$
7.6) **Heptamolybdate d'ammonium tétrahydraté**, $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$
7.7) **Réactifs de molybdate et tartrate d'antimoine**
7.7.1) **Solution de molybdate**. Dissoudre 40g d'heptamolybdate d'ammonium tétrahydraté (7.6) dans environ 800 ml d'eau (7.1) et compléter à 1000ml avec de l'eau (7.1). Cette solution est stable pendant 3 mois à température ambiante.
7.7.2) **Solution de tartrate de potassium et d'antimoine**. Dissoudre 3.0 g de tartrate de potassium et d'antimoine hémihydraté (7.6) dans environ 800 ml d'eau (7.1) et compléter à 1000ml avec de l'eau (7.1). Cette solution est stable pendant 3 mois à température ambiante.
7.7.3) **Réactif I de molybdate et de tartrate d'antimoine**. Ajouter 35 ml d'acide sulfurique (7.2) à environ 500 ml d'eau (7.1). Après refroidissement, ajouter 213 ml de solution de molybdate (7.7.1) et 72 ml de solution de tartrate de potassium et d'antimoine (7.7.2) et compléter à 1000ml avec de l'eau (7.1). Cette solution est stable pendant 2 semaines à température ambiante.
7.8) **Dodécylsulfate de sodium**, $NaC_{12}H_{25}SO_4$.
7.9) **Solution d'acide ascorbique.** Dissoudre 6.0 g d'acide ascorbique (7.4) dans environ 80 ml d'eau (7.1), ajouter 0.1g de dodécylsulfate de sodium (7.8) et compléter à 100 ml avec de l'eau (7.1). Cette solution est à préparer chaque jour avant utilisation.
7.10) **Solution vecteur pour les dispositifs FIA :** la solution vecteur est l'eau (7.1) sans agent de surface.
7.11) **Solution étalon d'orthophosphate** à 1000 mg/l.

Méthode d'analyse séquentielle

7.1) **Eau** de qualité 1 (conformément à l'ISO 3696).
7.7.1) **Solution de molybdate**. Dissoudre 40g d'heptamolybdate d'ammonium tétrahydraté (7.6) dans environ 800 ml d'eau (7.1) et compléter à 1000ml avec de l'eau (7.1). Cette solution est stable pendant 3 mois à température ambiante.
7.7.2) **Solution de tartrate de potassium et d'antimoine**. Dissoudre 3.0 g de tartrate de potassium et d'antimoine hémihydraté (7.6) dans environ 800 ml d'eau (7.1) et compléter à 1000ml avec de l'eau (7.1). Cette solution est stable pendant 3 mois à température ambiante.
7.12) **Solution d'acide sulfurique**. Ajouter prudemment (70 ± 2) ml d'acide sulfurique concentré (7.2) à 400 ml d'eau (7.1) dans un bécher de 500 ml puis complèter approximativement à 500ml.

ORIGINAL 2014

7.13) **Solution d'acide ascorbique.** Dans un ballon jaugé de 250 ml, dissoudre 4,5 g d'acide ascorbique (7.4) dans 250 ml d'eau. Cette solution est stable une semaine si elle est conservée entre 2 et 8°C dans une bouteille en polyéthylène.
7.13) **Réactif I** : dans une bouteille en polyéthylène, ajouter 75 ml de solution de molybdate (7.7.1) à 250 ml d'acide sulfurique (7.12). Ensuite, ajouter 25 ml de solution de tartrate de potassium et d'antimoine (7.7.2). Cette solution est stable 2 semaines si elle est conservée entre 2 et 8°C dans une bouteille en polyéthylène.
7.14) **Réactif II** : dans bécher, mélanger (14 ± 0,5) ml de réactif I (7.13) avec (6 ± 0,2) ml de solution d'acide ascorbique (7.13). Préparer cette solution le jour de son utilisation.
7.15) **Solution étalon d'orthophosphate** à 1000 mg/l.
7.16) **Solution de contrôle** : Matériau de référence certifié MRC

8. Préparation de l'échantillon

Si l'échantillon contient des matières particulaires dont la granulométrie est supérieure à 0,1 mm, une filtration de l'échantillon est nécessaire.

9. Mode opératoire

Méthode d'analyse en flux

9.1. Préparation pour l'analyse

Avant de procéder aux mesures, faire passer sans interruption pendant 10 minutes les réactifs à travers le dispositif en flux.

Le dispositif est prêt à fonctionner dès que la ligne de base n'indique plus de dérive. Il convient d'atteindre une relation signal/bruit satisfaisante.

9.2. Contrôle du réactif à blanc

Atteindre la stabilisation de la ligne de base.

Au lieu de la solution de réactif I (7.7.3) et de la solution du réactif, faire passer de l'eau dans tous les tubes et noter le changement d'absorbance.

Si l'absorbance par cm diminue de plus de 0,01 cm-1, il est possible que l'eau utilisée ou les réactifs soient contaminés. Prendre des mesures appropriées pour éliminer ces interférences avant de commencer l'analyse.

Ensuite, faire passer de nouveau les réactifs.

Il est également possible d'injecter de l'eau distillée (7.1) exempte de phosphates.

9.3. Etalonnage

Sélectionner le domaine de travail souhaité et au moins 5 solutions d'étalonnage appropriées.
Préparer les solutions d'étalonnage pour le domaine choisi.
Procéder à un étalonnage par domaine de travail.

ORIGINAL 2014

Avant de commencer l'étalonnage, régler la ligne de base selon les instructions du fabricant.

Déterminer les valeurs mesurées correspondant aux solutions d'étalonnage utilisées.

Les conditions d'analyse utilisées pour les étalons et les échantillons sont identiques. Le signal obtenu est proportionnel à la concentration en orthophosphates.

L'équation générale suivante est appliquée :
$y = b * \rho + a$

où

y est la valeur mesurée, en unités correspondant à l'instrument
b est la pente de la courbe d'étalonnage, en unités correspondant à l'appareil
ρ est la concentration en masse des orthophosphates, en milligrammes par litre
a est l'ordonnée à l'origine de la fonction d'étalonnage, en unités correspondant à l'instrument

9.4. Mesurage des échantillons

Analyser les échantillons éventuellement prétraités de la même manière que les solutions d'étalonnage avec le dispositif en flux.

Si la concentration en masse de l'échantillon dépasse le domaine de validité du domaine de travail choisi, diluer l'échantillon ou l'analyser dans un autre domaine de travail.

Après chaque série d'échantillons, mais au plus tard après 10 à 20 mesurages, contrôler la validité de la fonction d'étalonnage du domaine de travail, en utilisant une solution d'étalonnage dans le premier et dans le dernier tiers du domaine de travail. Etalonner de nouveau le dispositif si nécessaire.

Méthode d'analyse séquentielle

Se référer aux instructions du fabricant de l'analyseur séquentiel.

9.5. Etalonnage et préparation des solutions standards

Etablir la droite d'étalonnage en préparant une série de solutions d'étalonnage incluant une solution de concentration zéro. Par exemple, les standards : 0, 25, 50, 100, 200, 300, 400 et 500 ppb à partir de la solution (7.15).

9.6. Vérification de la fonction d'étalonnage

Lors de chaque étalonnage, un essai de contrôle est effectué avec un standard qui aura été préparé à partir d'un MRC (7.16). Vérifier la validité de la courbe d'étalonnage en analysant la solution de contrôle tous les 20 échantillons et au moins à la fin de chaque série d'échantillons. Réétalonner si nécessaire.

ORIGINAL 2014

9.6. Analyse des échantillons

Remplir le chariot de l'appareil avec les réactifs, l'eau, la solution de contrôle et des godets vides pour permettre à l'appareil de réaliser les standards nécessaires à l'établissement de la courbe d'étalonnage.
Dans le rack à échantillons, mettre les échantillons à analyser puis démarrer l'analyse.
La température d'incubation se situe entre 30°C et 40°C.

Méthode d'analyse utilisant les tests en cuvettes

Se référer au mode d'emploi fourni avec les kits.
Remarque : Sans hydrolyse, seul l'orthophosphate dissous est détecté. Avec hydrolyse, c'est principalement le phosphore total qui est détecté.

10. Calcul

Méthode d'analyse en flux

Déterminer la concentration en masse du composé à analyser dans la solution de mesurage à partir de la valeur mesurée obtenue selon 9.4, par la fonction d'étalonnage.

Pour l'évaluation, utiliser la fonction d'étalonnage appropriée. Ne pas extrapoler celle-ci au-delà du domaine de travail choisi.

Calculer ρ selon l'équation :

ρ = **Erreur ! Signet non défini.Erreur ! Signet non défini.** $\frac{y-a}{b}$

où les symboles sont tels que définis en 9.3.

Consigner les résultats avec deux chiffres significatifs au plus.

Méthode d'analyse séquentielle

Les concentrations en phosphates des échantillons sont directement calculées par le logiciel de l'appareil.

Méthode d'analyse utilisant les tests en cuvettes

La concentration en phosphates apparaît directement sur l'écran du spectrophotomètre lors de la lecture de la cuvette.

ORIGINAL 2014

11. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne ;
- L'identification complète de l'échantillon ;
- La spécification de la méthode utilisée (analyse en flux, analyse séquentielle, kits) ;
- Les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis ;
- Une description du type d'appareillage utilisé ou des conditions de flux ;
- Les résultats du dosage conformément au point 10 ;
- La fidélité et la justesse des résultats, si disponibles ;
- Les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

12. Référence

NBN EN ISO 15681-1 : 2005 - Qualité de l'eau – Dosage des orthophosphates et du phosphore total par analyse en flux (FIA et CFA)

ISO 15681-1 : 2013 - Qualité de l'eau – Détermination de paramètres sélectionnés par des systèmes d'analyse discrète – Partie 1 : ammonium, nitrate, nitrite, chlorure, orthophosphate, sulfate et silicate par détection photométrique.

ORIGINAL 2014

E-II-10V1 - DÉTERMINATION DU PHOSPHORE PAR SPECTROPHOTOMETRIE

1. Objet

La présente méthode de référence spécifie 2 méthodes de détermination du phosphore total avec détection spectrophotométrique. La méthode d'analyse pouvant être l'analyse en flux ou l'utilisation de kits (tests en cuvette)

2. Domaine d'application

En ce qui concerne l'analyse en flux, la méthode s'applique à tous types d'eau (eau souterraine, eau potable, eau de surface et eaux usées), pour des concentrations allant de 0.1 mg/l à 10 mg/l, pour des échantillons non dilués.
En ce qui les kits prêts à l'emploi, il en existe pour différentes gammes de concentration allant de 0.05 à 20 mg/l (pour les kits Hach Lange).

3. Principe

Avec digestion manuelle
Les composés phosphorés de l'échantillon sont oxydés manuellement avec une solution de peroxodisulfate de potassium, conformément à l'ISO 6878. Les orthophosphates qui en résultent sont dosés par la réaction au bleu de molybdène (cf. méthode des orthophosphates E-II-9).

Avec digestion UV intégrée et hydrolyse
L'échantillon passe à travers une bobine de digestion chauffée pour l'hydrolyse acide des polyphosphates, et à travers un dispositif de digestion UV pour la conversion du phosphore organique en orthophosphate à l'aide d'un réactif au peroxodisulfate.
Les orthophosphates obtenus sont dosés par la réaction au bleu de molybdène (cf méthode des orthophosphates E-II-9).

4. Interférences

Les échantillons contenant des particules solides ou en suspension peuvent présenter de faibles valeurs lorsqu'ils sont analysés par la méthode UV, si les particules ne sont pas complètement transportées dans l'unité UV.
Les interférences mentionnées pour le dosage des orthophosphates ne sont généralement pas observées en raison de la pré-digestion des échantillons et de la gamme d'analyse plus élevée.
L'efficacité de la digestion peut être affectée par des échantillons d'eau ayant une valeur de demande chimique en oxygène (DCO) égale à plus de 10 fois la concentration la plus élevée des solutions d'étalonnage. Dans ce cas, il convient de diluer l'échantillon.

ORIGINAL 2014

5. Conditionnement et conservation de l'échantillon

Prélever les échantillons dans des bouteilles en verre. Il convient de conserver les échantillons en ajoutant de l'acide sulfurique juste après l'échantillonnage afin de ramener le pH à une valeur < 2. Temps de conservation maximal : 1 mois. Les échantillons contenant des particules supérieures à 100µm doivent être homogénéisés

6. Appareillages et matériels utilisés

Méthode d'analyse en flux

6.1. **Dispositif d'analyse avec injection de flux (FIA)**, comprenant généralement les composants suivants :
- Réservoirs à réactifs
- Pompe à faible pulsation
- Si nécessaire, tubes de pompage appropriés
- Injecteur d'échantillon de volume d'injection de 10 à 300 µl
- Tubes de circulation et bobines de mélange de 0,5 à 0,8 mm de diamètre intérieur, avec des raccords de tubes et pièces en T en matière plastique chimiquement inerte
- Détecteur photométrique à flux
- Unité enregistreuse (par exemple traceur, intégrateur ou imprimante). Généralement, les signaux de hauteur de pic sont évalués
- Si nécessaire un échantillonneur automatique

6.2. **Matériel de laboratoire courant**
6.3. **pH-mètre**
6.4. **Homogénéiseur**
6.5. **Fioles borosilicatées**
6.6. Pour le dosage du P total après digestion intégrée **: dispositif de digestion UV + thermostat**

Méthode d'analyse utilisant les tests en cuvettes

6.7. **Tests en cuve Phosphore total/ Phosphate ortho** (par exemple HACH Lange LCK 348, LCK349 ou LCK350).
6.8. **Spectrophotomètre** permettant la lecture des cuvettes.
6.9. **Matériel de laboratoire courant**

7. Réactifs utilisés

Méthode d'analyse en flux

Sauf indication contraire, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue. Dégazer toutes les solutions vecteurs et les solutions de réactifs pour les dosages FIA, par exemple par filtration sur membrane (sous vide) ou par purge à l'hélium pendant 1 minute .
7.1) **Eau** de qualité 1 (conformément à l'ISO 3696).
7.2) **Acide sulfurique concentré**, 98%

ORIGINAL 2014

7.3) **Chlorure de sodium**, NaCl
7.4) **Acide ascorbique**, $C_6H_8O_6$
7.5) **Tartrate de potassium et d'antimoine hémihydraté**, $K(SbO)C_4H_4O_6,1/2H_2O$
7.6) **Heptamolybdate d'ammonium tétrahydraté**, $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$
7.7) **Réactifs de molybdate et tartrate d'antimoine**
7.7.1) **Solution de molybdate**. Dissoudre 40g d'heptamolybdate d'ammonium tétrahydraté (7.6) dans environ 800 ml d'eau (7.1) et compléter à 1000ml avec de l'eau (7.1). Cette solution est stable pendant 3 mois à température ambiante.
7.7.2) **Solution de tartrate de potassium et d'antimoine**. Dissoudre 3.0 g de tartrate de potassium et d'antimoine hémihydraté (7.6) dans environ 800 ml d'eau (7.1) et compléter à 1000ml avec de l'eau (7.1). Cette solution est stable pendant 3 mois à température ambiante.
7.7.3) **Réactif I de molybdate et de tartrate d'antimoine**. Ajouter 35 ml d'acide sulfurique (7.2) à environ 500 ml d'eau (7.1). Après refroidissement, ajouter 213 ml de solution de molybdate (7.7.1) et 72 ml de solution de tartrate de potassium et d'antimoine (7.7.2) et compléter à 1000ml avec de l'eau (7.1). Cette solution est stable pendant 2 semaines à température ambiante.
7.8) **Dodécylsulfate de sodium**, $NaC_{12}H_{25}SO_4$.
7.9) **Peroxodisulfate de potassium**, $K_2S_2O_8$.
7.10) **Pyrophosphate de potassium,** $K_4P_2O_7$
7.11) **Composés organophosphorés,** pour contrôler la digestion
7.11.1) **Pyridoxal-5-phosphate monohydraté,** $C_8H_{10}NO_6P,H_2O$ ou bien
7.11.2) **Phénylphosphate disodique**, $C_6H_5Na_2PO_4$
7.12) **Solution d'acide ascorbique.** Dissoudre 6.0 g d'acide ascorbique (7.4) dans environ 80 ml d'eau (7.1), ajouter 0.1g de dodécylsulfate de sodium (7.8) et compléter à 100 ml avec de l'eau (7.1). Cette solution est à préparer chaque jour avant utilisation.
7.13) **Solution vecteur pour le dosage du phosphore total après digestion manuelle.** Ajouter 5 ml d'acide sulfurique (7.2) à 1000 ml d'eau (7.1) et mélanger.
7.14) **Solution vecteur pour le dosage du phosphore total après digestion UV intégrée.** Ajouter soigneusement 37,8 ml d'acide sulfurique (7.2) à environ 800 ml d'eau (7.1) en mélangeant. Laisse refroidir et ajouter 5 g de chlorure de sodium (7.3) et 1.0 g de dodécylsulfate de sodium (7.8). Complèter à 1000 ml avec de l'eau (7.1).
7.15) **Réactifs de digestion** pour le dosage du phosphore total après digestion UV intégrée.
7.15.1) **Solution de digestion I**. Ajouter soigneusement 106,5 ml d'acide sulfurique (7.2) à environ 800 ml d'eau (7.1) en mélangeant.
NB. : Cette solution devient très chaude, laisser refroidir et compléter à 1000ml avec de l'eau (7.1).
7.15.2) **Solution de digestion II**. Dissoudre 26 g de peroxodisulfate de potassium (7.9) dans environ 800 ml d'eau et compléter à 1000ml avec de l'eau (7.1).
7.16) **Solution étalon d'orthophosphate** à 1000 mg/l.
7.17) **Etalons pour vérifier l'efficacité de l'hydrolyse et de la digestion**
7.17.1) **Solution mère de pyrophosphate de potassium**, ρ = 100 mg/l
Dissoudre (533 ± 3) mg de pyrophosphate de potassium (7.10) dans environ 800 ml d'eau (7.1), puis compléter à 1000 ml. Conserver dans un récipient en verre hermétique à (4 ± 2)°C. La solution est stable 6 mois.
7.17.2) **Solution mère d'organophosphorés**, ρ = 100 mg/l
Dissoudre (856 ± 4) mg de pyridoxal-5-phosphate monohydraté (7.11.1) dans environ 800 ml d'eau (7.1), puis compléter à 1000 ml. La solution est stable 6 mois si elle est conservée dans un récipient en verre hermétique à (4 ± 2)°C.

Ou bien :

ORIGINAL 2014

Dissoudre (704 ± 3) mg de phénylphosphate disodique (7.11.2) dans environ 800 ml d'eau (7.1), acidifier avec de l'acide sulfurique 2.45 mol/l à pH ≅ 2, puis compléter à 1000 ml avec de l'eau (7.1). La solution est stable 3 mois si elle est conservée à l'abri de la lumière à (4 ± 2)°C.

8. Préparation de l'échantillon

Si l'échantillon contient des matières particulaires dont la granulométrie est supérieure à 0,1 mm, une filtration de l'échantillon est nécessaire.

9. Mode opératoire

Méthode d'analyse en flux

9.1. Préparation pour l'analyse

Avant de procéder aux mesures, faire passer sans interruption pendant 10 minutes les réactifs à travers le dispositif en flux.

Le dispositif est prêt à fonctionner dès que la ligne de base n'indique plus de dérive. Il convient d'atteindre une relation signal/bruit satisfaisante.

9.2. Contrôle du réactif à blanc

Atteindre la stabilisation de la ligne de base.

Au lieu de la solution de réactif I (7.7.3) et de la solution du réactif, faire passer de l'eau dans tous les tubes et noter le changement d'absorbance.

Si l'absorbance par cm diminue de plus de 0,01 cm-1, il est possible que l'eau utilisée ou les réactifs soient contaminés. Prendre des mesures appropriées pour éliminer ces interférences avant de commencer l'analyse.

Ensuite, faire passer de nouveau les réactifs.

Il est également possible d'injecter de l'eau distillée (7.1) exempte de phosphates.

9.3. Etalonnage

Sélectionner le domaine de travail souhaité et au moins 5 solutions d'étalonnage appropriées.
Préparer les solutions d'étalonnage pour le domaine choisi.
Procéder à un étalonnage par domaine de travail.

Avant de commencer l'étalonnage, régler la ligne de base selon les instructions du fabricant.

Déterminer les valeurs mesurées correspondant aux solutions d'étalonnage utilisées.

ORIGINAL 2014

Les conditions d'analyse utilisées pour les étalons et les échantillons sont identiques. Le signal obtenu est proportionnel à la concentration en phosphore total.

L'équation générale suivante est appliquée :
$y = b * \rho + a$

où

y est la valeur mesurée, en unités correspondant à l'instrument
b est la pente de la courbe d'étalonnage, en unités correspondant à l'appareil
ρ est la concentration en masse du phosphore total, en milligrammes par litre
a est l'ordonnée à l'origine de la fonction d'étalonnage, en unités correspondant à l'instrument

9.4. Vérification de l'efficacité de la digestion pour le dosage du phosphore total

Préparer une solution de pyrophosphate de potassium et une solution d'organophosphorés à une concentration de 50% du domaine de travail à partir des solutions mères (7.17.1) et (7.17.2). Ces solutions doivent présenter un rendement d'au moins 90%.

9.5. Mesurage des échantillons

Analyser les échantillons de la même manière que les solutions d'étalonnage avec le dispositif en flux.

Si la concentration en masse de l'échantillon dépasse le domaine de validité du domaine de travail choisi, diluer l'échantillon ou l'analyser dans un autre domaine de travail.

Après chaque série d'échantillons, mais au plus tard après 10 à 20 mesurages, contrôler la validité de la fonction d'étalonnage du domaine de travail, en utilisant une solution d'étalonnage dans le premier et dans le dernier tiers du domaine de travail. Etalonner de nouveau le dispositif si nécessaire.

Méthode d'analyse utilisant les tests en cuvettes

Remarque : Sans hydrolyse, seul l'orthophosphate dissous est détecté. Avec hydrolyse, c'est principalement le phosphore total qui est détecté.

Se référer au mode d'emploi fourni avec les kits.

10. Calcul

Méthode d'analyse en flux

Déterminer la concentration en masse du composé à analyser dans la solution de mesurage à partir de la valeur mesurée obtenue selon 9.4, par la fonction d'étalonnage.

ORIGINAL 2014

Pour l'évaluation, utiliser la fonction d'étalonnage appropriée. Ne pas extrapoler celle-ci au-delà du domaine de travail choisi.

Calculer ρ selon l'équation :

$$\rho = \frac{y - a}{b}$$

où les symboles sont tels que définis en 9.3.

Consigner les résultats avec deux chiffres significatifs au plus.

Méthode d'analyse utilisant les tests en cuvettes

La concentration en phosphore total apparaît directement sur l'écran du spectrophotomètre lors de la lecture de la cuvette.

11. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne ;
- L'identification complète de l'échantillon ;
- La spécification de la méthode utilisée (analyse en flux, kits) ;
- Les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis ;
- Une description du type d'appareillage utilisé ou des conditions de flux ;
- Les résultats du dosage conformément au point 10 ;
- La fidélité et la justesse des résultats, si disponibles ;
- Les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

ORIGINAL 2014

12. Référence

NBN EN ISO 15681-1 : 2003 - Qualité de l'eau – Dosage des orthophosphates et du phosphore total par analyse en flux (FIA et CFA)

ISO 15681-1 : 2013 - Qualité de l'eau – Détermination de paramètres sélectionnés par des systèmes d'analyse discrète – Partie 1 : ammonium, nitrate, nitrite, chlorure, orthophosphate, sulfate et silicate par détection photométrique.

ISO 6878 : 2004 - Qualité de l'eau - Dosage du phosphore – Méthode spectrométrique au molybdate d'ammonium.

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
E-III-1.1.	3	20/01/2022

Détermination par chromatographie gazeuse / spectrométrie de masse des hydrocarbures aromatiques et halogénés volatils, du naphtalène et de certains éthers dans l'eau – méthode par purge et piégeage avec désorption thermique

Descriptif		
Paramètres	HAM (hydrocarbures aromatiques monocycliques) MTBE (Methyl-tert-butylether) COV (Composés organiques volatils)	
Référence normative	NBN EN ISO 15680	2004

Domaine d'application	
Matrice	Eaux potables Eaux de surface Eaux souterraines Eaux de mer Eaux résiduaires (diluées)

Critères de performance		
Limite inférieure de détermination (rapportage ISSeP)	0.1	µg/l
Limite inférieure de détermination (normative)	0,010	µg/l
Incertitude	cf. Annexe 1 (b) ou (c)	/
Gamme de travail (normative)	0.1 µg/l à 100 µg/l	/

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

Cette méthode décrit une méthode de dosage des composés organiques volatils (COV) dans l'eau par dégazage et piégeage suivis d'une chromatographie en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse.

2. Procédure

L'ensemble des prescriptions de la norme de référence internationale NBN EN ISO 15680:2004 sont d'application, à l'exception des prescriptions spécifiques à la Région wallonne. Ces prescriptions spécifiques s'écartent ou limitent le choix de celles de la norme de référence internationale. Elles sont reprises, en gras, dans le tableau ci-dessous au sein de la colonne « Prescriptions CWEA». Les prescriptions y relatives qui sont reprises dans la norme de référence sont listées, pour information au sein de la colonne « Prescription norme de référence ».

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Réactifs	
§ 6 de la norme de référence	**Il est admis que d'autres étalons internes soient utilisés. Adapter le nombre de standard interne en fonction des composés à analyser.**
Prélèvement, conservation et préparation des échantillons	
§ 8 de la norme de référence	**Une quantité de 0.5 g d'hydrogénosulfate de sodium hydraté est généralement suffisante pour un volume de 40ml.**

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

Annexe 1 (informative)

Nom du composé	*Masse 1 (m/z)*	*Masse 2 (m/z)*	*Masse 3 (m/z)*	*Etalon Interne*	*Incertitude élargie(%)*
Chlorométhane	50,0	52,0		1,2-dichloroethane-D4	
Chlorure de vinyle	62,0	64,0		Chlorure de vinyle-D3	51*
Chlorure de vinyle-D3	**65,0**	**67,0**		**N/A**	**N/A**
Trichlorofluorométhane	101,0	103,0		1,2-dichloroethane-D4	
1,1-dichloroéthylène	96,0	98,0		1,2-dichloroethane-D4	41
Dichlorométhane	84,0	86,0		1,2-dichloroethane-D4	32*
MTBE	73,0	57,0		1,2-dichloroethane-D4	*
trans-1,2,-dichloréthylène	61,0	96,0	98,0	1,2-dichloroethane-D4	*
1,1-dichloroéthane	63,0	65,0		1,2-dichloroethane-D4	
2,2-dichloropropane	77,0	79,0		1,2-dichloroethane-D4	
cis-1,2-dichloroéthylène	96,0	61,0	98,0	1,2-dichloroethane-D4	*
Bromochlorométhane	130,0	128,0	51,0	1,2-dichloroethane-D4	
Chloroforme	83,0	85,0		1,2-dichloroethane-D4	22*
1,1,1-trichloroéthane	97,0	99,0		1,2-dichloroethane-D4	21*
1,1-dichloropropène	75,0	110,0	112,0	1,2-dichloroethane-D4	
Tétrachlorométhane	117,0	119,0		1,2-dichloroethane-D4	60*
Benzène-D6	**84,0**			**N/A**	**N/A**
1,2-dichloroethane-D4	**65,0**	**67,0**		**N/A**	**N/A**
Benzène	78,0			Benzène-D6	34*
1,2-dichloroéthane	62,0	64,0		1,2-dichloroethane-D4	18*
Trichloroéthylène	130,0	132,0	95,0	1,2-dichloroethane-D4	33*
1,2-dichloropropane	63,0	62,0	65,0	1,2-dichloroethane-D4	
Dibromométhane	93,0	95,0	174,0	1,2-dichloroethane-D4	
Bromodichlorométhane	83,0	85,0		1,2-dichloroethane-D4	
cis-1,3-dichloropropène	75,0	77,0	110,0	1,2-dichloroethane-D4	
Toluène-D8	**98,0**	**100,0**		**N/A**	**N/A**
Toluène	91,0	92,0		Toluène-D8	16*
trans-1,3-dichloropropène	75,0	77,0	110,0	Chlorobenzène-D5	
1,1,2-trichloroéthane	83,0	97,0	99,0	Chlorobenzène-D5	24*
Tétrachloréthylène	166,0	131,0	129,0	Chlorobenzène-D5	41*
1,3-dichloropropane	76,0	78,0		Chlorobenzène-D5	
Dibromochlorométhane	129,0	127,0	131,0	Chlorobenzène-D5	18
Nom du composé	*Masse 1 (m/z)*	*Masse 2 (m/z)*	*Masse 3 (m/z)*	*Etalon Interne*	
1,2-dibromoéthane	109,0	107,0		Chlorobenzène-D5	
Chlorobenzène-D5	**117,0**	**82,0**	**119,0**	**N/A**	**N/A**

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

Chlorobenzène	112,0	77,0	114,0	Chlorobenzène-D5	
Ethylbenzène	91,0	106,0		p-xylène-D10	25*
1,1,1,2-tétrachloroéthane	131,0	133,0		Chlorobenzène-D5	
p-xylène-D10	**116,0**	**98,0**		**N/A**	**N/A**
mp-xylène	91,0	106,0		p-xylène-D10	44*
Styrène-D8	**112,0**			**N/A**	**N/A**
o-xylène	91,0	106,0		p-xylène-D10	52*
Styrène	104,0	103,0	78,0	Styrène-D8	*
Bromoforme	173,0	171,0	175,0	1,2-dichloroethane-D4	
Isopropylbenzène	105,0	120,0		p-xylène-D10	
1,1,2,2-tétrachloroéthane	83,0	85,0		Chlorobenzène-D5	
Bromobenzène	158,0	156,0	77,0	Chlorobenzène-D5	
1,2,3-trichloropropane	75,0	77,0		1,2-dichloroethane-D4	
n-propylbenzène	91,0	120,0		p-xylène-D10	
2-chlorotoluène	91,0	126,0		Chlorobenzène-D5	
1,3,5-triméthylbenzène	105,0	120,0		p-xylène-D10	
4-chlorotoluène	91,0	126,0		Chlorobenzène-D5	
tert-butylbenzène	119,0	91,0	134,0	p-xylène-D10	
1,2,4-triméthylbenzène	105,0	120,0		p-xylène-D10	
sec-butylbenzène	105,0	134,0		p-xylène-D10	
p-isopropyltoluène	119,0	91,0	134,0	p-xylène-D10	
1,3-dichlorobenzène	146,0	148,0	111,0	Chlorobenzène-D5	
1,4-dichlorobenzène	146,0	148,0		Chlorobenzène-D5	
n-butylbenzène	91,0	92,0	134,0	p-xylène-D10	
1,2-dichlorobenzène	146,0	148,0	111,0	Chlorobenzène-D5	
1,2,4-trichlorobenzène	180,0	182,0		Chlorobenzène-D5	
Naphtalène-D8	**136,0**			**N/A**	**N/A**
Naphtalène	128,0			Naphtalène-D8	
1,2,3-trichlorobenzène	180,0	182,0		Chlorobenzène-D5	65

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
E-III-1.2	2	20/01/2022

Détermination par chromatographie gazeuse / spectrométrie de masse des hydrocarbures aromatiques et halogénés volatils, du naphtalène et de certains éthers dans l'eau – méthode par espace de tête statique

Descriptif		
Paramètres	HAM (hydrocarbures aromatiques monocycliques) COVX (Composés organiques volatils halogénés) Naphtalène Certains éthers	
Référence normative	ISO 20595	2018

Domaine d'application	
Matrice	Eaux potables Eaux souterraines Eaux de surfaces Eaux résiduaires

Critères de performance		
Limite inférieure de quantification	0,1	µg/l
Incertitude à la LQ	/	%
Gamme de travail	/	/

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et dubiais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

Cette méthode décrit la détermination quantitative par chromatographie en phase gazeuse de l'espace de tête, des hydrocarbures monoaromatiques volatils, des hydrocarbures halogénés volatils, du naphtalène et de certains éthers contenus dans l'eau.

2. Procédure

Les prescriptions relatives à la méthode concernée sont décrites dans la norme ISO 20595 : 2018.

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont :

Version précédente	Présente version
Normes de référence : ISO 10301 :1997 ISO 11423-1 :1997	Norme de référence : ISO 20595 :2018

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
E-III-2.1	2	20/01/2022
Détermination de l'indice phénol dans les eaux		

Descriptif		
Paramètre	Indice phénol	
Référence normative	ISO 6439	1990

Domaine d'application	
Matrice	Eaux de boisson Eaux de surface Eaux résiduaires

Critères de performance		
Limite inférieure de quantification (LQ)	0,005	mg/l
Incertitude	30 (b)	%
Gamme de travail	0,005 – 0,10	mg/l

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

Cette méthode décrit la méthode spectrométrique de détermination de l'indice phénol dans les eaux après extraction au chloroforme. Cette méthode ne donne qu'une information obtenue dans des conditions conventionnelles sur la teneur globale en certains dérivés du phénol. Seule une analyse par chromatographie sera en mesure de quantifier individuellement le phénol (E-III-2.2).

2. Procédure

L'ensemble des prescriptions de la norme de référence internationale ISO 6439:1990 sont d'application, à l'exception des prescriptions spécifiques à la Région wallonne. Ces prescriptions spécifiques s'écartent ou limitent le choix de celles de la norme de référence internationale. Elles sont reprises, en gras, dans le tableau ci-dessous au sein de la colonne « Prescriptions CWEA». Les prescriptions y relatives qui sont reprises dans la norme de référence sont listées, pour information au sein de la colonne « Prescription norme de référence ».

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Domaine d'application	
§1 de la norme de référence	**La méthode B de la norme ISO 6439 :1990 doit être utilisée.**
Appareillage	
§ 5.3. de la norme de référence	**L'utilisation d'un dispositif d'analyse en flux continu est permise (ISO 14402 :1999).**
Echantillonnage et échantillons	
§ 5.4. de la norme de référence	**Si l'échantillon est chloré, ajouter 80 mg de $Na_2S_2O_3$ pour 1 litre d'échantillon.**
Contrôle	
En supplément de la norme	**Pour chaque série d'essais, une vérification du point d'étalonnage de milieu de gamme est réalisée et le résultat est placé dans une carte de contrôle. Si la valeur obtenue ne se situe pas dans les limites acceptables de la carte de contrôle, recommencer la droite d'étalonnage.**

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
E-III-2.2	1	20/01/2022
Détermination du phénol dans les eaux par chromatographie gazeuse		

Descriptif		
Paramètre	phénol	
Référence normative	NBN EN 12673 ISO 8165-2	1999 1999

Domaine d'application	
Matrice	Eaux destinées à la consommation humaine Eaux souterraines Eaux de pluie Eaux résiduaires Eaux de mer Eaux de surface

Critères de performance		
Limite inférieure de quantification (LQ)	-	-
Incertitude	-	%
Gamme de travail	-	mg/l

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

Cette méthode décrit la méthode de détermination du phénol dans les eaux par chromatographie gazeuse.

2. Procédure

Les prescriptions relatives à la méthode concernée sont décrites dans les normes NBN EN 12673 :1999 et ISO 8165-2 :1999.

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
E-III-3.1	2	20/01/2022

Dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) par HPLC dans les eaux

Descriptif		
Paramètre	-15 HAP de l'ISO 17993 : naphtalène, acénaphtène, fluorène, phénanthrène, anthracène, fluoranthène, pyrène, benzo(a)anthracène, chrysène, benzo(b)fluoranthène, benzo(k)fluoranthène, benzo(a)pyrène, dibenzo(ah)anthracène, benzo(ghi)périylène et indéno(1,2,3-cd)pyrène -un HAP supplémentaire : acénaphtylène	
Référence normative	NBN EN ISO 17993	2002

Domaine d'application	
Matrice	Eaux potable Eaux de surface Eaux souterraines Eaux usées

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)	Par composé individuel pour les 15 HAP de l'ISO 17993 : Eaux potables et eaux souterraines : 0,005 Eaux de surface : 0,01 Pour l'acénaphtylène : 0,03 avec un détecteur à barrette de diodes (DAD)	µg/l
Incertitude à la LQ	-	%
Gamme de travail	-	µg/l

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

Cette méthode décrit le dosage des 16 hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) par chromatographie liquide haute performance (HPLC) de tout échantillon d'eau.

2. Procédure

L'ensemble des prescriptions de la norme de référence internationale NBN EN ISO 17993 : 2002 sont d'application, à l'exception des prescriptions spécifiques à la Région wallonne. Ces prescriptions spécifiques s'écartent ou limitent le choix de celles de la norme de référence internationale. Elles sont reprises, en gras, dans le tableau ci-dessous au sein de la colonne « Prescriptions CWEA». Les prescriptions y relatives qui sont reprises dans la norme de référence sont listées, pour information au sein de la colonne « Prescription norme de référence ».

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Domaine d'application	
(§1 de la norme de référence)	**L'acénaphtylène doit être dosé à une concentration supérieure à 30 ng/l avec un détecteur à barrette de diodes (DAD).**
Principe	
(§3 de la norme de référence)	**Les HAP sont séparés par HPLC et détectés par un détecteur fluorimétrique à longueurs d'onde d'excitation et d'émission variables pour les 15 HAP et par un détecteur à barette de diodes DAD pour l'acénaphtylène.**
Réactifs	
(§5 de la norme de référence)	**La norme NBN EN ISO 17993 (2002) préconise une purification sur gel de silice pour les échantillons d'eaux usées ou d'échantillons d'origine inconnue mais une purification sur colonne d'oxyde d'alumine est également possible (la norme ISO 13859 (2014) dans les sols permet les 2 purifications):** **-Oxyde d'alumine basique de granulométrie ± 100 µm** **Activation et désactivation de l'alumine : chauffer l'alumine basique pendant huit heures à 150 °C. Laisser refroidir dans un dessicateur.** **Peser 11 g d'eau désionisée pour 89 g d'alumine activée. Agiter jusqu'à dispersion de tous les agrégats en flacon hermétique et laisser reposer l'alumine ainsi désactivée au moins 16 heures avant l'emploi. Utiliser pendant maximum 15 jours.**
(§5.8 de la norme de référence)	**Une solution de référence certifiée NIST1647 « Priority Pollutant Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Acetonitril » de concentrations variables suivant les constituants (de 4 mg/l à 20 mg/l) peut servir de solution-mère pour réaliser les solutions d'étalonnage ou uniquement pour vérifier la solution commerciale.**

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Appareillage	
(§6 de la norme de référence)	**Chromatographe en phase liquide à haute performance, équipé d'un détecteur fluorimétrique à longueurs d'onde d'excitation et d'émission variables (capable de programmer au moins 6 paires de longueurs d'ondes) et d'un détecteur à barette de diodes (DAD).**
Purification de l'extrait	
(§8.4 de la norme de référence)	**Dans le cas d'eaux usées (de rejet) ou d'échantillons d'origine inconnue, une purification a lieu soit sur gel de silice soit à l'aide d'oxyde d'alumine :** **Dans le cas de la purification sur colonne d'oxyde d'alumine :** **Faire glisser un petit tampon de laine de verre jusqu'à l'extrémité de la colonne de purification.** **Remplir la colonne de purification avec 5 g d'alumine désactivée en tapotant légèrement puis avec 1 cm de sulfate de sodium anhydre. Rincer la colonne avec environ 10 ml de cyclohexane (1 à 2 fois le volume d'alumine).** **Lorsque le ménisque du solvant affleure la surface du sulfate de sodium, ajouter l'extrait à la pipette Pasteur.** **Rincer le tube ayant contenu l'extrait et transférer sur la colonne. Eluer avec 40 ml de cyclohexane.** **Concentrer sous azote l'extrait purifié jusqu'à 0.5 ml.**

ISSeP
Institut scientifique de service public

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Détection	
(§8.5.3 de la norme de référence)	**A titre informatif, les longueurs d'onde sélectionnées à l'ISSeP sont présentées dans le tableau ci-dessous :**

	Composé	ISSeP		Norme ISO	
		Longueur d'onde (nm)		Longueur d'onde (nm)	
		Excitation	Emission	Excitation	Emission
1 2 3	Naphtalène Acénaphtène Fluorène	260	330	275	350
4	Phénanthrène	250	374		
5	Anthracène	250	400	260	420
6 7	Fluoranthène Pyrène	270	400	270	440
8 9	Benzo(a)anthracène Chrysène			260	420
10 11 12 13 14	Benzo(b)fluoranthène Benzo(k)fluoranthène Benzo(a)pyrène Dibenzo(ah)anthracène Benzo(ghi)pérylène	290	430	290	430
15	Indéno(1,2,3-cd)pyrène	305	500	305	500

Pour le détecteur à barrette de diodes (DAD) placé en série, la quantification de l'acénaphtylène peut être réalisée à 229 nm. La confirmation de l'identité et de la pureté du pic est réalisée par comparaison du spectre UV avec celui des étalons.

Wallonie

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Etalonnage	
(§8.6.4 de la norme de référence)	**Paramètre qualité : dans le cas où une purification à l'oxyde d'alumine est réalisée :** **Effectuer parallèlement à la purification un "test alumine" où l'échantillon est remplacé par100 µl de la solution étalon commerciale de concentration 10 mg/l diluée 20 x (500 µg/l).** **Le pourcentage de récupération de chaque HAP doit se situer entre 85 et 115 %.**
Rapport d'essai	
(§11 de la norme de référence)	**Le rapport doit contenir au minimum :** • **une référence à la présente méthode de la Région wallonne;** • **l'identification complète de l'échantillon;** • **les détails opératoires non prévus dans la méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.**

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
E-III-3.2	2	20/01/2022

Dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) par GC/MS dans les eaux

Descriptif		
Paramètre	16 HAP : naphtalène, acénaphtène, fluorène, phénanthrène, anthracène, fluoranthène, pyrène, benzo(a)anthracène, chrysène, benzo(b)fluoranthène, benzo(k)fluoranthène, benzo(a)pyrène, dibenzo(ah)anthracène, benzo(ghi)pérylène et indéno(1,2,3-cd)pyrène, acénaphtylène	
Référence normative	ISO 28540	2011

Domaine d'application	
Matrice	Eaux potables Eaux de surface Eaux souterraines Eaux usées

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)	Eaux potables et eaux souterraines : 0,005 Eaux de surface : 0,01	µg/l
Incertitude à la LQ	-	%
Gamme de travail	-	µg/l

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

Cette méthode décrit le dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) par GC/MS dans les eaux.

2. Procédure

Les prescriptions relatives à la méthode concernée sont décrites dans la norme ISO 28540 : 2011.

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
E-III-4	3	20/01/2022

Détermination de l'indice hydrocarbure C_5-C_{11} et fractionnement aromatique/aliphatique, par chromatographie en phase gazeuse

Descriptif	
Paramètre	Indice hydrocarbure C_5-C_{11}
Référence normative	§ 12 de la présente procédure

Domaine d'application	
Matrice	Eaux potables Eaux de surface Eaux souterraines Eaux de pluie Eaux résiduaires industrielles et domestiques

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)	50	µg/l
Incertitude à la LQ	-	%
Gamme de travail	50 à 500	µg/l

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

La présente méthode de référence spécifie une procédure pour la détermination quantitative de l'indice hydrocarbure volatil C_5-C_{11} dans les eaux, par chromatographie en phase gazeuse (GC) avec espace de tête statique (HS), couplée à un spectromètre de masse (MS). Elle spécifie également la méthode pour le fractionnement des hydrocarbures aromatiques et aliphatiques volatils.

2. Domaine d'application

La méthode est applicable à tous types d'eaux.
Dans les conditions spécifiées, la limite de quantification est de 50 µg/l.

La limite de détermination dépend du matériel utilisé, de la dilution éventuelle de l'échantillon avant analyse ainsi que de la maîtrise de la contamination des blancs.

3. Définitions et abréviations

- **GC-MS :** Chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse.
- **HS :** Espace de tête statique
- **Indice hydrocarbure volatil :** Somme des concentrations des composés dont les temps de rétention, en chromatographie gazeuse, sont compris entre ceux du n-pentane (C5) et du n-undécane (C11).
- **Rapport C_5/C_{11} :** Rapport entre l'aire du pic du n-pentane et l'aire du pic du n-undécane.
- **Equivalent carbone (EC) :** Le nombre d'équivalent carbone est défini comme le nombre relié au point d'ébullition d'un constituant, normalisé sur le point d'ébullition des n- alcanes et par conséquent sur leur temps de rétention sur une colonne apolaire en chromatographie gazeuse isotherme.

Wallonie

4. Principe

Ajout d'une quantité connue d'une solution méthanolique de bornage à une prise d'essai représentative de l'échantillon. Analyse par espace de tête statique et chromatographie gazeuse sur colonne capillaire, couplée à un spectromètre de masse. La mesure se fait en mode fullscan. La quantification des composés est réalisée par comparaison de l'aire du profil chromatographique (TIC), normalisée par la somme des aires des composés de bornage, avec la somme des aires des pics chromatographiques d'étalons externes, normalisée par la somme des aires des composés de bornage.

Remarque : Un détecteur FID peut également convenir. Cependant, dans une optique de détermination quantitative séparée des fractions aliphatiques et aromatiques, le spectromètre de masse est la solution préconisée.

Le fractionnement consiste en un retraitement du signal obtenu par le spectromètre de masse, en sélectionnant les ions spécifiques des hydrocarbures aliphatiques d'une part, et des hydrocarbures aromatiques d'autre part.

5. Conditionnement et conservation de l'échantillon

Les échantillons sont prélevés en double et sans espace de tête dans des flacons EPA de 40 ml munis d'un bouchon couronne garni d'un septum silicone/téflon. Ils sont conservés au frais (à 4 ± 2 °C) à l'abri de la lumière maximum 2 jours.

Si la présence de composés résiduels de désinfectant est suspectée, ajouter lors de l'échantillonnage, quelques cristaux de $Na_2S_2O_3.5H_2O$ (7.6) ou 0.1 ml d'une solution de $Na_2S_2O_3$ à 10% (m/m) par portion de 125 ml d'échantillon.

6. Appareillages et matériels utilisés

- Petit matériel de laboratoire ;
- Pipettes automatiques ;
- Flaconnages en verre de type EPA 40 ml, bouchons couronnes PE et septa silicone-teflon ;
- Balance analytique de précision 1mg ;
- Seringues ;
- Flaconnages en verre de type 'Headspace' de 20ml à bouchons couronnes en acier et septa silicone-teflon ;
- Four équipé d'un thermostat ;

- Système automatisé pour l'espace de tête statique, pouvant maintenir une température constante (entre 50C et 80 °C) ;
- Chromatographe en phase gazeuse ;
- Colonne de chromatographie capillaire en silice fondue, phase non polaire à semi-polaire (par exemple 6 % cyanopropyl phényl / 94 % diméthyl polysiloxane) avec une épaisseur de film supérieure à 1 µm, et une longueur d'au moins 30 m ;
- Spectromètre de masse capable de balayer la gamme de masse d'intérêt (35-265 uma), énergie des électrons d'impact à -70 eV ;
- Station informatisée d'acquisition et traitement du signal chromatographique.

7. Réactifs utilisés

7.1. méthanol(CH3OH)

La qualité utilisée doit être telle que le critère du blanc (9.2) soit atteint.

7.2. Substances étalons de haute qualité

- n-hexane (C6H14)
- 2,2,4-triméthylpentane (C8H18) (encore appelé iso-octane ou i-octane)
- toluène (C7H8)
- 1,2,4-triméthylbenzène (C9H12)
- n-décane (C10H22)
- n-pentane (C5H12)
- n-undécane (C11H24)

7.3. eau ultrapure

7.4. Hélium He 6.0

7.5. NaCl pour analyse

7.6. Thiosulfate de sodium (Na2S2O3.5H2O) pour analyse

ISSeP
Institut scientifique de service public

8. Préparation des réactifs

8.1. Préparation des solutions d'étalonnage

8.1.1. Solution mère d'étalons à 5g/l dans le méthanol

Diluer dans 10 ml de méthanol (7.1) en contrôlant précisément par pesée, les constituants (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**) suivants :

- 13,8 µl de n-décane
- 11,4 µl de 1,2,4-triméthylbenzène
- 11,5 µl de toluène
- 14, 5 µl de i-octane
- 15,1 µl de n-hexane

La concentration individuelle finale des constituants est d'environ 1 g/l.
Cette solution est conservée à -18 °C, dans l'obscurité. Elle reste stable 6 mois.

8.1.2. Solution fille d'étalons à 125 mg/l dans le méthanol

Diluer dans 20 ml de méthanol (7.1) en contrôlant précisément par pesée, 500 µl de solution mère d'étalons (8.1.1). La concentration individuelle finale des constituants est d'environ 125 mg/L.

8.1.3. Solutions d'étalonnage

Diluer dans 40 ml d'eau (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**), en contrôlant précisément par pesée, 80 µl de solution fille de bornage (8.2.2) et par exemple 0, 20, 50, 100, 150 et 200 µl de solution fille d'étalons (8.1.2). La concentration totale dans l'eau est respectivement d'environ 0, 62, 156, 312, 468, 624 µg/l.

8.2. Préparation de la solution de bornage (C5-C11)

8.2.1. Solution mère de bornage (C5-C11)

Diluer dans 10 ml de méthanol (7.1) en contrôlant précisément par pesée, 100 µl de n-pentane (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**) et 100µl de n-undécane (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). La concentration est de 6,14 g/l en n-pentane et 7.26 g/l en n-undécane.
La solution est conservée au réfrigérateur (4 ± 2 °C). Elle reste stable 1 mois.

8.2.2. Solution fille de bornage (C5-C11)

Diluer dans 10 ml de méthanol (7.1) en contrôlant précisément par pesée, 100 µl de la solution mère de bornage (8.2.1). La concentration finale souhaitée dans l'échantillon aqueux pour analyse est d'environ 100 µg/l.

ISSeP
Institut scientifique de service public

9. Mode opératoire

9.1. Préparation

Prélever environ 15 ml d'échantillon dans un flacon de type HS de 20 ml préalablement taré avec 4.5 g de NaCl (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). Peser pour déterminer précisément la masse d'échantillon. Doper avec 30 µl de la solution fille de bornage (8.2.2). Refermer hermétiquement et peser.
Remarque : La concentration en méthanol ne peut excéder 2 % (V/V) afin d'éviter les interférences avec l'équilibre de répartition.

9.2. Essai à blanc

Pour chaque série d'essais, effectuer dans les mêmes conditions que la détermination, un essai à blanc où l'échantillon est remplacé par 15 ml d'eau (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). Si nécessaire, la valeur des échantillons peut être corrigée par le blanc. Si les valeurs de blanc sont exceptionnellement élevées (supérieures à la limite de quantification validée), chaque étape de la procédure doit être vérifiée pour en trouver la raison, et la limite de quantification doit être adaptée.

9.3. Essai de contrôle

Pour chaque série d'essais, préparer un point de contrôle avec une concentration au centre de la gamme de mesurage. La préparation est indépendante de celle des solutions étalons (8.1.3).

9.4. Thermostatisation

Conditionner le flacon HS à une température entre 70 et 80 °C pendant au moins 30 minutes.

9.5. Analyse par chromatographie en phase gazeuse (GC-MS)

9.5.1. Réglage de l'appareillage

9.5.1.1. Système pour l'espace de tête

Un exemple de conditions HS est donné ci-dessous :
- Température de la seringue : 80 °C ;
- Température du four d'incubation : 70 °C ;
- Temps d'incubation : 35 minutes ;
- Agitation : faible.

Le paramétrage va dépendre du type d'appareillage utilisé.

9.5.1.2. Chromatographe en phase gazeuse

Un exemple de conditions GC est donné ci-dessous :
- Colonne : Rtx®-624 30 m x 0,25 mm x 1,4 µm ;
- Technique d'injection : split (ratio 1/100) ;
- Température d'injection : 220 °C ;
- Volume d'injection : 2 ml ;
- Gaz vecteur : hélium (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**) ;
- Programme de température du four : 35 °C (0:00 min) 15 °C/min / 182 °C (0:00 min) 120 °C/min / 220 °C (1:00 min).

9.5.1.3. Spectromètre de masse

Un exemple de conditions MS est donné ci-dessous :
- Température ligne de transfert : 220 °C
- Mode d'ionisation: impact électronique
- Courant d'émission : 50 µA
- Énergie des électrons : 70 eV
- Température de la source : 280 °C
- Masses mesurées : balayage de 35 à 265 uma
- Etalonnage en masse : sur le PFTBA (CAS : 311-89-7)

9.5.2. Etalonnage

9.5.2.1. Test de linéarité initial

Lorsque la méthode est utilisée pour la première fois, effectuer un test de linéarité (cf. ISO 8466-1) dans le domaine de travail choisi en analysant au moins les cinq dilutions du mélange étalon (8.1.3)

9.5.2.2. Etalonnage de routine

Analyser un minimum de cinq dilutions du mélange étalon comme repris en 8.1.3
Calculer la fonction d'étalonnage par une analyse de régression linéaire des aires de pic.

9.5.3. Mesurage

Injecter, dans l'ordre croissant, les solutions du mélange d'étalonnage (8.1.3), l'essai de contrôle (9.3), l'essai à blanc (9.2), les échantillons et un contrôle (9.3) tous les 10 échantillons.

ISSeP
Institut scientifique de service public

9.5.4. Intégration

Si nécessaire, corriger chaque chromatogramme en soustrayant le « bleeding » de la colonne enregistré.
Intégrer le chromatogramme entre le n-pentane et le n-undécane. Démarrer l'intégration juste après le pic du n-pentane au niveau du signal pris avant le pic du solvant ou juste après le pic du n-pentane au niveau du signal de ce pic suivant l'efficacité de la soustraction du « bleeding ». Mettre un terme à l'intégration juste avant le début du pic du n-undécane sur le même niveau de signal. Vérifier tous les chromatogrammes visuellement pour garantir une interprétation correcte.

10. Calcul

Les intégrations des chromatogrammes sont vérifiées manuellement et ajustées si nécessaire.

L'aire (TIC) entre C_5 et C_{11} est rapportée sur la somme des aires des bornes :

$$A_{corr}(x) = \frac{A(x)}{A(C_5) + A(C_{11})}$$

Si l'échantillon contient du C_5 et/ou du C_{11}, il peut être nécessaire de travailler sans correction.

La concentration dans l'extrait aqueux (µg/l) est déterminée par la régression linéaire.

Dans le cadre du Décret relatif à la gestion des sols du 5 décembre 2008, le fractionnement suivant est réalisé :
- EC5-EC8
- EC8-EC10
- (EC10-EC11)

Les bornes d'intégration sont placées aux temps de rétention correspondants des n-alcanes (C_8 et C_{10}), les aires de chaque fraction sont mesurées et le calcul de proportion relative est effectué sur base de l'aire totale C_5-C_{11}.

Le calcul pour le fractionnement aliphatique-aromatique est réalisé de la même façon. Les masses spécifiques des aliphatiques (41+43+55+56+57+69+70+71+84+85) et des aromatiques (78+91+105+117+118+119+120+134) sont utilisé au lieu du signal TIC.

Le tableau ci-dessous détaille les divisions et les composés servant de bornes pour ces fractions.

Fraction aliphatique (F1)	
Fraction en EC	**Composés servant de borne**
$EC_5 - EC_6$	n-pentane – n-hexane
$EC_6 - EC_8$	n-hexane – n-octane
$EC_8 - EC_{10}$	n-octane – n-décane

Fraction aromatique (F2)	
Fraction en EC	**Composés servant de borne**
$EC_5 - EC_7$	benzène *
$EC_7 - EC_8$	toluène *
$EC_8 - EC_{10}$	éthylbenzène – 1,2,4-triméthylbenzène

* : seul constituant se trouvant la fraction

11. Sécurité

Il convient de toujours garder à l'esprit que de nombreuses substances volatiles sont toxiques (par absorption cutanée, inhalation, ingestion). Port de gants, de lunettes, de vêtements de protection et travail sous hotte sont recommandés.

La pratique de la chromatographie en phase gazeuse présente des risques de brûlures ainsi que de blessures oculaires. Port de gants et de lunettes de protection sont recommandés.

Les résidus d'extraits méthanoliques doivent être éliminés dans le respect de la réglementation.

12. Références

- **AFNOR XP T 90-124 :2009** Qualité de l'eau – Détermination de l'indice hydrocarbure volatil – Méthode par chromatographie en phase gazeuse de l'espace de tête statique avec détection par ionisation de flamme

- **VITO CMA/3/R.3 :2014** : Petroleum Koolwaterstoffen

- **ISO 5667-3 :2018** Qualité de l'eau – Échantillonnage – Partie 3 : Lignes directrices pour la conservation et la manipulation des échantillons d'eaux.

- **ISO 22155 :2016** Qualité du sol – Dosage des hydrocarbures aromatiques et halogénés volatils et de certains éthers par chromatographie en phase gazeuse – Méthode par espace de tête statique.

- **ISO 15680 :2003** Qualité de l'eau – Dosage par chromatographie en phase gazeuse d'un certain nombre d'hydrocarbures aromatiques monocycliques, du naphtalène et de divers composés chlorés par dégazage, piégeage et désorption thermique.

- **ISO 8466-1 :1990** Qualité de l'eau – Étalonnage et évaluation des méthodes d'analyse et estimation des caractères de performance – Partie 1 : Évaluation statistique de la fonction linéaire d'étalonnage.

- **ISO 11504 :2017** Qualité du sol – Evaluation de l'impact du sol contaminé avec des hydrocarbures pétroliers

13. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
E-III-5	3	20/01/2022

Détermination de l'indice hydrocarbure C_{10}-C_{40} par chromatographie en phase gazeuse

Descriptif		
Paramètre	Indice hydrocarbure C_{10}-C_{40}	
Référence normative	NBN EN ISO 9377-2	2001

Domaine d'application	
Matrice	Eaux de surfaces Eaux résiduaires Eaux des stations d'épuration

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)	0,1	mg/l
Incertitude	55 (b)	%
Gamme de travail	0,1 à 5,0	mg/l

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

Cette méthode décrit la détermination de l'indice hydrocarbure C_{10}-C_{40} par extraction solvant et chromatographie en phase gazeuse.

2. Procédure

L'ensemble des prescriptions de la norme de référence internationale NBN EN ISO 9377-2 : 2001 sont d'application, à l'exception des prescriptions spécifiques à la Région wallonne. Ces prescriptions spécifiques s'écartent ou limitent le choix de celles de la norme de référence internationale. Elles sont reprises, en gras, dans le tableau ci-dessous au sein de la colonne « Prescriptions CWEA». Les prescriptions y relatives qui sont reprises dans la norme de référence sont listées, pour information au sein de la colonne « Prescription norme de référence ».

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Réactifs	
(§6.7 de la norme de référence)	**Activé à 600 °C pendant 16 heures.**
(§6.8.2 de la norme de référence)	**Les solutions filles d'étalonnage doivent être stockées à 4 °C dans des récipients hermétiquement fermés au maximum 6 semaines.**
(§ 6.8. et § 9.7.2.4 de la norme de référence)	**Une solution de contrôle indépendante (autre origine que la courbe d'étalonnage) avec une concentration en hydrocarbure au centre de la gamme de mesurage doit être préparée. Celle-ci permet de vérifier la validité de la fonction d'étalonnage.** **Des concentrations plus élevées peuvent être recommandées pour d'autres applications.** **En cas d'injection large volume, adapter les concentrations des étalons.**
(§6.9 de la norme de référence)	**Mélange de tous les n-alcanes pairs du C10 au C40.**

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

Appareillage	
(§7 de la norme de référence)	Colonne pour chromatographie en phase gazeuse : **colonne capillaire avec une phase apolaire (95 % diméthyl/5 % diphénylpolysiloxane de 5 à 25 m de long avec un diamètre interne de 0.10 à 0.32 mm et une épaisseur de film de 0.1 à 0.25 µm).**
Mode opératoire	
(§9.3 de la norme de référence)	**Rincer la bouteille ayant contenu l'échantillon (si bouteille dédiée) avec 50 ml de la solution étalon du solvant d'extraction, puis les transférer dans l'erlenmeyer, si l'extraction ne se fait pas dans la bouteille.** **Agiter sur plaque magnétique pendant 1 heure.** **Filtrer la phase organique sur du sulfate de sodium anhydre.** **Rincer l'ampoule et le sulfate avec la solution étalon du solvant d'extraction.**
(§9.4 de la norme de référence)	**Utiliser au moins 3 g de Florisil®.** **Remplir la colonne de purification avec un morceau de laine de verre, du Florisil® sur une hauteur d'environ 5 cm en tapotant légèrement et avec environ 1 cm de sulfate de sodium anhydre.** **Conditionner la colonne avec un volume au moins égal à la hauteur du Florisil® de solution étalon du solvant d'extraction.** **Eluer l'échantillon.** **Rincer l'échantillon avec 4x10 ml avec la solution étalon du solvant d'extraction.**
Etalonnage de routine	
(§9.7.2.3 de la norme de référence)	**Analyser un minimum de cinq dilutions du mélange étalon.** **Calculer la fonction d'étalonnage par une analyse de régression linéaire, pondérée ou non, des aires de pic. Cet étalonnage est effectué toutes les 6 semaines ou lorsque le contrôle montre une dérive de plus de 10 %.**

Wallonie

Calcul	
(§9.8 de la norme de référence)	**Dans le cadre du Décret relatif à la gestion des sols du 5 décembre 2008, le fractionnement suivant est demandé :** **EC10-EC12** **EC12-EC16** **EC16-EC21** **EC21-EC35** **(EC35-EC40)** **Les bornes d'intégration sont placées aux temps de rétention correspondants des n-alcanes (C12, C16, C21 et C35), les aires de chaque fraction sont mesurées et le calcul se fait sur base de l'aire totale C10-C40.**
Rapport d'essai	
(§10 de la norme de référence)	Le rapport doit contenir au minimum : **-une référence à la présente méthode de la Région Wallonne ;** -l'identification complète de l'échantillon; -les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis; -les résultats du dosage conformément au point 9.8; -les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats. **Les renseignements qualitatifs suivants peuvent également être fournis dans le rapport :** **1- la plage d'ébullition de substances telles que le kérosène, le diesel, les huiles minérales... détectées sur la base du temps de rétention relatif par rapport au point d'ébullition du mélange des n-alcanes.** **2- toute présence d'hydrocarbures volatils (< C10).** **3- toute présence d'hydrocarbures ayant un point d'ébullition élevé (> C40).** **Il peut être utile de joindre les chromatogrammes des échantillons.**

ISSeP
Institut scientifique de service public

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : le rinçage de l'échantillon avec 4x10 ml de la solution étalon du solvant d'extraction.

E-III-6V1 : DÉTERMINATION PAR CHROMATOGRAPHIE GAZEUSE ET DÉTECTION PAR CAPTURE D'ÉLECTRONS DES PCB N°28, 52, 101, 118, 138, 153 ET 180 DANS LES EAUX

1. Objet

La présente méthode de référence spécifie une procédure pour la détermination quantitative par chromatographie gazeuse à détection par capture d'électrons des PCB n° 28, 52, 101, 118, 138, 153 et 180 (selon la numérotation de Ballschmiter) dans les eaux.

2. Domaine d'application

La présente méthode de référence est applicable à tous les types d'eaux.

La gamme de mesure applicable est de 5(*) à 1000 ng/l par composé pour une prise d'essai d'un litre. La limite inférieure peut être divisée par deux en doublant la prise d'essai.

(*) Remarque : moyennant des teneurs en PCB de moins de 1 ng/l (par congénère) dans le blanc, cette limite peut être portée à 2,5 ng/l.

3. Définitions et abréviations

GC-ECD : Chromatographie gazeuse – détection par capture électronique

PCB : Polychlorobiphényles ou biphényles polychlorés.

4. Interférences

Les interférences potentielles sont dues aux : acides gras, détergents, phtalates, silicones (siloxanes), pesticides chlorés, composés nitro semi-volatiles, polysulfures (S6, S8, …), …

5. Principe

Après addition d'un étalon interne, les eaux sont extraites (extraction liquide-liquide) au moyen d'un solvant organique (n-hexane). Les extraits sont séchés sur sulfate de sodium anhydre et concentrés sous flux d'azote. Les extraits nécessitant une purification sont passés sur colonne de Florisil et éventuellement désulfurés au cuivre. L'analyse est réalisée par GC-ECD sur colonne capillaire. L'étalonnage interne corrige les rendements d'extraction et les fluctuations à l'injection. Les calculs sont basés sur la détermination préalable de facteurs de réponse moyens.

ORIGINAL 2014

6. Conditionnement et conservation de l'échantillon

Les échantillons sont prélevés dans des conteneurs en verre (fumé de préférence), munis de bouchons à revêtement PTFE et stockés au réfrigérateur à 4 °C et à l'abri de la lumière. Les échantillons sont en tous cas extraits au plus vite et dans un délai d'une semaine au plus (ISO 5667-3). Les extraits peuvent être conservés au réfrigérateur un mois en flacons hermétiques et protégés de la lumière.

7. Appareillages et matériels utilisés

- Chromatographe en phase gazeuse, muni d'un détecteur à capture d'électrons.
- Trébuchet
- Balance analytique de laboratoire de résolution 0,1 mg
- Propipettes (volumes variables de 10 à 200 µl)
- Pipettes Pasteur
- Pipettes jaugées ou graduées en verre (différents volumes de 0,1 à 10 ml)
- Flacons jaugés
- Agitateurs magnétiques, puces téflonées
- Ampoules à décanter, robinet en téflon
- Colonnes de chromatographie, diamètre 1 cm environ
- Entonnoirs en verre
- Filtres en fibre de verre type GF/C, rincés au solvant d'extraction
- Concentrateur sous flux d'azote + tubes de concentration
- Flaconnages en verre, hermétiques avec bouchons à face téflonée
- Colonne capillaire WCOT, phase apolaire de type DB5, de dimensions 60 m x 0,25 mm d.i. et d'une épaisseur de film de 0,2 µm (les dimensions sont facultatives dès lors que le pouvoir séparateur de la colonne est suffisant et vérifié dans les conditions d'utilisation).
- Petit matériel divers de laboratoire

Le matériel en verre utilisé est autant que possible à usage unique ou réservé à l'analyse de traces. Dans le cas de matériel réutilisable, les meilleures procédures de nettoyage disponibles sont utilisées (trempage en bain détergent, rinçage au solvant et/ou passage au four à 450 °C pendant 1 nuit). Des matériaux comme le caoutchouc butylique et le latex sont susceptibles de produire des interférences importantes et sont donc à éviter.

ORIGINAL 2014

8. Réactifs utilisés

8.1. Eau grade milliQ

8.2. Hydroxyde de sodium p.a.

8.3. Solvants pour analyse de résidus de pesticides : n-hexane, cyclohexane, isooctane, acétone, …

8.4. Sulfate de sodium anhydre p.a. : séché à 600 °C pendant 6 h minimum. Conservation à l'abri de l'humidité.

8.5. Colonnes de purification de Florisil commerciale **:** diamètre de 1 cm environ, type colonne SPE (0,5g/6ml ou 2g/15ml)
ou colonne remplie manuellement avec du Florisil (silicate de magnésium $MgSiO_3$), actif anhydre, de granulométrie comprise entre 60 et 100 Mesh - Activé à 140°C pendant au moins 16 heures.

8.6. Cuivre en granules

8.7. Polychlorobiphényles de puretés individuelles supérieures à 95 %: solution(s) mère(s) à 10 µg/ml dans le cyclohexane ou l'isooctane. Par exemple :

a) Mix PCB n° 3 de Dr. Ehrenstorfer, Gmbh (mélange des sept PCB). Stockage à 4 °C, à l'abri de la lumière. Les solutions dans l'isooctane peuvent être conservées à température ambiante (à 4 °C l'isooctane congèle, entraînant la précipitation des congénères de PCB à haut taux de chloration et des risques de mauvaise remise en solution). Durée de conservation : voir dates de validité du fournisseur pour les flacons non entamés et un an, en général, pour les solutions entamées et conservées dans les conditions optimales.
b) Solution de PCB n° 30 à 10 µg/ml (Dr. Ehrenstorfer, gmbh)
c) Solution de PCB n° 209 à 10 µg/ml (Dr. Ehrenstorfer, gmbh)

8.8. Solutions diluées de concentrations adaptées à la gamme de mesure : 5 points minimum. Ajouts (de 50 µl à 1 ml par ex.) de solution mère (8.5a) à un volume fixe de solvant (cyclohexane). Les dilutions sont mesurées par pesée. Conservation : 6 mois maximum

8.9. Solution d'étalon interne pour ajout dans l'eau : congénères n° 30/209 à 0,5 ng/µl dans l'acétone/cyclohexane 9/1 v/v. La dilution est réalisée par ajouts de 0,5 ml des solutions mères (8.5b et 8.5c) à de l'acétone amenée à 10 ml. La concentration est calculée par pesée. Conservation : 1 mois maximum.

8.10. Solution d'étalon interne pour mesure du facteur de réponse moyen : congénères n° 30/209 à 5 ng/µl dans le cyclohexane. La dilution est réalisée par mélange de deux volumes égaux des solutions mères mesurées par pesée. Cette solution est utilisée pour réaliser un ajout de 10 µl dans une fraction aliquote de 1 ml de solution diluée d'étalon (8.6). Cet ajout est réalisé directement dans les fioles de passeur d'échantillon.

9. Préparation de l'échantillon

L'échantillon est amené à température ambiante. Le conteneur est essuyé de toute trace de condensation et pesé au trébuchet (à 0.1 g près).
L'étalon interne (100 µl de solution 8.9) est additionné à la propipette directement dans le conteneur. Celui-ci est rebouché et agité manuellement pour homogénéiser l'ajout. Le pH de l'échantillon est contrôlé et amené entre 7 et 9,5 par de l'hydroxyde de sodium (Zappoli S. et al). Les avantages de la mise en pH basique de l'eau résident dans la rétention des acides fulviques et humiques, des composés phénoliques et des composés esters et des acides phtaliques dans la phase aqueuse ainsi qu'une meilleure récupération des PCB.

ORIGINAL 2014

10. Mode opératoire

10.1 Extraction :

L'extraction se fait par addition directe dans la bouteille ou en erlenmeyer (préalablement taré) de 50 ml de n-hexane par litre d'échantillon. L'eau est extraite pendant 1 h par agitation mécanique sur une plaque magnétique. La phase organique est recueillie par décantation en ampoule ou pipetage de la phase organique surnageante. La fraction est filtrée sur sulfate de sodium anhydre préalablement rincé avec le solvant d'extraction. L'ampoule à décanter et le sulfate sont rincés par du solvant. Le rinçage est ajouté aux extraits.

Les fractions combinées sont concentrées à 35 °C sous un flux d'azote de qualité 4.8 (99,998 %) au moins. La pression est ajustée afin d'évaporer une quantité de 100 ml de solvant en 30 minutes environ.

L'extrait est transféré par pipetage en fiole de 2 ml tarée. Les tubes de concentration sont rincés avec un peu de solvant qui est concentré et combiné à l'extrait final. Le volume final se situe entre 1 et 1,7 ml. (Essai à blanc : effectuer une extraction dans les mêmes conditions sur un volume d'eau milliQ.)

10.2 Purification : (dans le cas d'eaux fortement chargées et/ou d'extraits intensément colorés)

Sur une colonne de 500mg de Florisil est ajouté environ 1 cm de sulfate de sodium anhydre. Ensuite l'extrait (voir extraction) est transféré sur la colonne. La fiole d'extraction est rincée avec deux fois 2 ml de n-hexane et les rinçages sont également transférés sur la colonne. La colonne est éluée avec deux fois 10 ml de n-hexane dans une fiole de type EPA 40 ml. L'extrait purifié est concentré sous flux d'azote jusque 10 ml environ.

10.3 Désulfuration : (dans le cas d'eaux fortement chargées et/ou d'extraits intensément colorés)

Une bonne cuillère à café de cuivre est ajoutée à la fiole contenant l'extrait. L'extrait est mélangé pendant au moins 4 heures et le contenu de la fiole est ensuite filtré dans une autre fiole de 40 ml. La fiole initiale et le filtre contenant les granules de cuivre sont rincés à l'hexane.

L'extrait est concentré sous flux d'azote jusque 0,5 ml et est transféré dans une fiole de passeur d'échantillon préalablement tarée. Le flacon intermédiaire est rincé et le rinçage est additionné à l'extrait. La fiole du passeur d'échantillon est pesée.

ORIGINAL 2014

10.4 Analyse par chromatographie en phase gazeuse (GC-ECD)

10.4.1 Préparation du système d'analyse :

A. DETECTEUR ECD : Contrôle et réglage du bruit de fond détecteur et des conditions initiales selon la procédure d'utilisation

Paramètre	Valeurs
Pulse amplitude	50 V
Current	1 nA
Pulse Width	1 µsec (azote), 0,1 µsec (argon/méthane)
Température	310 °C

B. CHROMATOGRAPHE :

1. Identification de la colonne installée et contrôle des connexions
2. Recherche des fuites au septum de l'injecteur et vérification des débits :
   - pression d'entrée : fonction de la colonne
   - débit de split : fonction de la dilution voulue
   - balayage du septum : 2,5 ml/min env.
   - pression de gaz make-up : 170 kPa (fonction du détecteur)
3. Vérification des programmations de température :
   - four (pour une colonne de 60 m) : 60 °C (2:00 min) 20 °C/min // 160 °C (0:00 min) 1,2 °C/min // 280 °C (5:00 min).
   - Injecteur : 230 °C à 260 °C
   - Embase détecteur : 290 °C
4. Contrôle logiciel :
   - compléter la table d'échantillonnage avec noms de fichier, identification des solutions d'étalonnage et d'échantillons, les volumes d'échantillon et les dopages d'étalon interne et concentrations des solutions étalons.

C. PASSEUR D'ECHANTILLONS :

1. Remplissage du (des) flacon(s) de rinçage de seringue
2. Contrôle visuel de l'état de la seringue d'injection
3. Rinçage (abondant) de la seringue
4. Contrôle de la propreté du système par une injection à blanc de solvant

10.4.2 Etalonnage et analyse :

Un étalonnage est réalisé conjointement à chaque série de mesure.
Il faut injecter dans l'ordre le blanc, les cinq solutions étalons (par ordre croissant de concentration ; habituellement dans la gamme de 5 à 300 ng/ml) et les échantillons en se référant à la procédure d'utilisation du chromatographe en phase gazeuse.

ORIGINAL 2014

11. Calcul et expression des résultats

Les intégrations des chromatogrammes sont vérifiées manuellement et les temps de rétention définis par l'analyse des solutions étalons sont utilisés pour la reconnaissance automatique des pics lors du retraitement des résultats des inconnus. Dans tous les cas, l'attribution correcte des pics est soumise à vérification (par comparaison des temps de rétention des inconnus avec ceux des étalons ou calcul des temps de rétention relatifs au PCB 209). L'identification d'un profil ou de plus de trois pics simultanément n'est pas suivie de confirmation. Dans les cas ou moins de trois pics et/ou lorsqu'un doute surgit quant à l'authenticité de la contamination, une confirmation peut être menée par analyse des échantillons litigieux sur une colonne de polarité différente ou par analyse par GC-MS.

Le calcul des concentrations finales est réalisé selon un modèle de régression linéaire (sans pondération) calculé sur la hauteur des pics relativement à un étalon interne. Le PCB 30 est utilisé comme étalon interne. En fonction des interférents présents, le PCB 209 peut également être utilisé.

Les résultats sont exprimés en ng/l. La somme des 7 congénères est réalisée conjointement à la présentation des résultats individuels. La limite indiquée est variable et fonction de la quantité d'échantillon (< 18 ng/l pour 2 litres, < 35 ng/l pour 1 litre).

12. Sécurité

- L'hexane est un solvant neurotoxique, il convient de pratiquer les opérations d'extraction/concentration des échantillons aqueux sous hotte.
- Les composés organiques halogénés sont biopersistants et toxiques. Leur manipulation doit être réalisée par du personnel qualifié, équipé des moyens de protection individuels requis (gants, lunettes de protection, blouse de laboratoire, …) dans des locaux adaptés et sous interdiction de consommation de nourritures et boissons.
- Le détecteur ECD contient une source radioactive dont la manipulation est réglementée.

13. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne et à l'ISO6468 : 1996;
- L'identification complète de l'échantillon;
- Les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis;
- Les références de date de prélèvement et de début de traitement de l'échantillon
- Les résultats du dosage conformément au point 11;
- Les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

ORIGINAL 2014

14. Références

ISO 5667-3: 2013 : Qualité de l'eau – Echantillonnage – Partie 3 : Lignes directrices our la conservation et la manipulation des échantillons d'eau

ISO 6468:1996 : Qualité de l'eau – Dosage de certains insecticides organochlorés, des polychlorobiphényles et des chlorobenzènes – Méthode par chromatographie en phase gazeuse après extraction liquide-liquide

Zappoli S. et al., Dissolved organic matter en pH affect the extraction efficiency of PCB's from aqueous samples, Chemosphere 35/8 (1997), 1729-1736

ORIGINAL 2014

E-III-7V1 – DOSAGE DU CHLOROTHALONIL SA, DU MÉTOLACHLORE, MÉTAZACHLORE ET DE LEUR MÉTABOLITE PAR ULC/MS/MS

1. Objet

Dosage du chlorothalonil SA (VIS01), du métolachlore, du métazachlore et de leur métabolite par LC/MS/MS dans les eaux brutes.

2. Domaine d'application

La présente méthode décrit la détermination du chlorothalonil SA (VIS01), du métolachlore, du métazachlore et de leur métabolite (métolachlore ESA et métazachlore ESA) par chromatographie liquide ultra-performante (ULC) couplée à la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) après extraction solide-liquide (SPE).
La présente méthode est applicable à tous les types d'échantillons d'eaux brutes (eaux potables, eaux souterraines, eaux de surface).
La méthode est applicable pour des teneurs supérieures à 25 ng/l.

3. Principe

Les analytes sont extraits de l'échantillon à analyser par extraction solide-liquide (SPE) à pH acide, élués avec un solvant, séparés, identifiés et quantifiés par ULC/MS/MS par la méthode de l'étalonnage interne ou externe suivant les constituants.

4. Préparation de l'échantillon

Sans objet dans cette méthode.

5. Appareillages et matériels utilisés

Verrerie courante de laboratoire ;

- Balance analytique, permettant de peser avec une précision de 0.1 mg
- Pipettes Pasteur de 25 et 15 cm de long
- Fiole de 1.5 ml avec septum pré-fendu
- Berlins de 50 et 100 ml
- Erlenmeyers de 500 ml
- Pipettes de type Eppendorf de différents volumes, 10 à 100 µl et 100 à 1000 µl
- Tubes à essai de 10 ml adaptés à l'automate SPE.
- Rampe de concentration de solvant à l'N_2.
- Un bain thermostatique sec
- pH-mètre
- Un automate pour cartouches SPE
- Système ULC couplé à un détecteur triple quadripôle

6. Réactifs utilisés

Utiliser exclusivement des réactifs de qualité analytique reconnue.

- Eau ultra-pure, eau de qualité 2 conformément à l'ISO 3696
- Eau de source type Valvert
- Méthanol qualité ULC/MS comme éluant UPLC
- Méthanol pour HPLC pour la préparation des solutions étalons et pour l'extraction SPE
- Acétone pour analyses de résidus pesticides
- Acide formique de qualité ULC/MS
- Acide phosphorique concentré pour analyse (d=1.69kg/l)
- Etalons de référence : Matériaux de haute pureté ou certifiés (par exemple, standard Erhenstorfer)
- Azote de pureté 4.8 ou plus
- Colonnes SPE de type HLB (par exemple : OASIS HLB-WATERS 200 mg – 6 ml)
- Argon de pureté BIP

7. Echantillonnage

Les échantillons sont prélevés dans des bouteilles d'un litre en verre brun et remplies à ras bord. Ils sont conservés à 4°C et à l'abri de la lumière et subissent une phase d'extraction dès que possible après le prélèvement (de préférence dans les 24 heures et au maximum dans les 5 jours).

8. Mode opératoire

8.1 Préparation des solutions étalons :

8.1.1. Solutions mères : 500 mg/l

Peser exactement environ 0,0125g de chaque constituant et les dissoudre chacun dans un volume de 25 ml d'acétone (sauf pour le métazachlore ESA à dissoudre dans le méthanol).

Conserver les différentes solutions à 4°C à l'abri de la lumière, pendant une durée maximale de 12 mois.

8.1.2. Solution fille : 1 mg/l

Introduire 50 µl de chaque solution mère (8.1.1) dans une fiole jaugée de 25 ml et compléter au volume avec le mélange eau/méthanol (80/20).

Conserver la solution à environ 4°C, à l'abri de la lumière, pendant une durée maximale de 6 mois.

8.1.3. Solutions de référence pour l'étalonnage

Des solutions étalons de 10, 20, 40, 80, 160 et 320 ng/ml sont réalisées en prélevant respectivement 10 µl, 20 µl, 40 µl, 80 µl, 160 µl et 320 µl de la solution fille à 1 mg/l (8.1.2) et en les introduisant dans des jaugés de 1 ml. Ajouter également, avant la mise à volume, 100 µl de la solution fille du mélange du standard interne (8.1.5).

La solution étalon de 2 ng/ml est réalisée en prélevant 10 µl de la solution mère à 1 mg/l (8.1.2) et en l'introduisant dans un jaugé de 5 ml avec ajout de 500 µl de la solution fille du mélange du standard interne (8.1.5).

La solution étalon de 5 ng/ml est réalisée en prélevant 10 µl de la solution mère à 1 mg/l (8.1.2) et en l'introduisant dans un jaugé de 2 ml avec ajout de 200 µl de la solution fille du mélange du standard interne (8.1.5).

La mise à volume se fait avec le mélange eau/méthanol (80/20).

8.1.4. Solution mère de standard interne

Métolachlore-d6: solution commerciale à 100 mg/l dans l'acétone.

8.1.5. Solution fille de standard interne : 1 mg/l

Introduire 1 ml de lasolution mère (8.1.4) dans une fiole jaugée de 100 ml et compléter au volume avec le mélange eau/méthanol (80/20).

8.2 Préparation de l'échantillon

8.2.1 Extraction

Si nécessaire, éliminer les matières en suspension par filtration sur un filtre en fibre de verre ou laisser décanter.

Doper 500 ml d'échantillon avec 200 µl de la solution fille d'étalon interne à 1 mg/l (8.1.5) puis mettre à pH 3 avec H_3PO_4 concentré. Peser le flacon d'échantillonnage avant et après enrichissement de la colonne pour vérifier le volume prélevé par l'automate (250 ml).

Sélectionner des conditions d'extraction permettant d'obtenir une concentration et une purification efficace (pour exemple, voir Annexe A).

Remarque : les mêmes conditions sont utilisées pour tous les échantillons d'un lot ainsi que pour le blanc et les échantillons visant à obtenir un rendement. Le même lot de cartouches SPE est utilisé.

8.2.2 Concentration

Evaporation du solvant d'élution (méthanol) à l'aide d'un bain sec thermostatisé à 45 °C et reprise du résidu sec avec 1 ml du mélange eau milliQ /méthanol (80/20).

8.3 Essai à blanc :

Effectuer parallèlement à la détermination un essai à blanc dans les mêmes conditions où l'échantillon est remplacé par 500 ml d'eau de boisson exempte des constituants à doser et dopée avec 200 µl de la solution d'étalon interne à 1 mg/l (8.1.5). Le blanc ne peut pas contenir d'interférents supérieurs à 10 % de la plus petite valeur mesurée, sinon rechercher les sources de contamination et les éliminer.

8.4 Essai rendement :

Pour chaque lot d'analyses, effectuer 1 essai "eau dopée" à 60 ng/l dans les mêmes conditions où l'échantillon est remplacé par un volume de 500 ml d'eau de boisson dopée avec 30 µl de la solution fille à 1 mg/l (8.1.2) des analytes et avec 200 µl de la solution fille d'étalon interne à 1 mg/l (8.1.5). Cet essai est réalisé pour confirmer que la procédure s'est déroulée correctement. Les valeurs de rendement sont reportées en cartes de contrôle. Les rendements doivent se situer entre 60 et 130 %.

8.5 Analyse par ULC/MS/MS

8.5.1 Conditions chromatographiques

Utiliser l'ULC conformément aux instructions opératoires du fabricant.

Sélectionner une colonne et des conditions chromatographiques permettant d'obtenir une séparation efficace (pour exemple, voir Annexe B).

8.5.2 Conditions MS

Le spectromètre de masse est réglé conformément aux instructions du fabricant. L'analyse est réalisée en mode MRM (multiple reaction mode) par ionisation electrospray (ESI) en mode positif ou négatif (cf. chromatogramme TIC en Annexe C).

Un tableau reprenant pour chaque constituant, le temps de rétention, le mode d'ionisation, l'ion précurseur et ses 2 ions filles, l'étalon interne utilisé ainsi que le "cone voltage" et l'énergie de collision sur appareil type TQD (Waters), est donnée à titre indicatif en Annexe D.

La confirmation de l'identité du pic est assurée par la comparaison de son temps de rétention avec celui de l'étalon mais aussi surtout par l'utilisation de la détection par spectrométrie de masse (triple quadripôle) qui permet le criblage de l'ion précurseur du constituant et la recherche de ses 2 ions filles caractéristiques dans une fenêtre d'élution précise.

L'intensité ionique' relative' des 2 ions filles d'un constituant dans un échantillon doit être comprise dans une tolérance de 30% relatif.

8.5.3 Etalonnage

L'étalonnage se fait par la méthode de l'étalonnage interne et externe en spectrométrie de masse selon les constituants.
Une gamme d'étalonnage à 8 points est utilisée.
L'étalonnage est réalisé avant chaque série d'échantillons.

8.5.4 Contrôle

Toutes les 10 injections, un contrôle est effectué avec une solution à 80 ng/ml préparée indépendamment des points de la courbe d'étalonnage. Les résultats de ce contrôle sont repris sur des cartes de contrôle.

9. Calcul

Les concentrations des différents constituants dans l'extrait sont calculées par le logiciel en ng/l sur la base de la courbe d'étalonnage à 8 points réalisée pour chaque série d'échantillons à analyser.
Le calcul des quantités est effectué sur base de la réponse du 1er ion fille de l'ion précurseur.

Pour les composés possédant un étalon interne, le calcul de la concentration dans les échantillons est réalisé d'après la formule ci-après :

$$c_{éch.} = \frac{q_{ex}}{v_{éch.}}$$

Le rendement de l'étalon interne doit être supérieur à 40 %

Pour les composés calculés en étalonnage externe, le calcul de la concentration dans les échantillons est réalisé d'après la formule ci-après :

$$c_{éch.} = \frac{c_{ex} \cdot v_{ex}}{v_{éch.}}$$

$q_{éch.}$: quantité présente dans l'échantillon exprimée en ng
$c_{éch.}$: concentration présente dans l'échantillon exprimée en ng/l
$c_{ex.}$: concentration mesurée dans l'extrait exprimée en ng/ml
v_{ex} : volume de l'extrait exprimé en ml
$v_{éch.}$: volume de l'échantillon exprimé en litre

10. Avertissement

Les solvants utilisés pour cet essai, et en particulier, l'acétonitrile, l'acétone, le méthanol sont toxiques. Les acides (acide formique et acide phosphorique concentré) sont corrosifs. Des précautions doivent être prises lors de leur manipulation.

11. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne ;
- L'identification complète de l'échantillon ;
- Les détails opératoires non prévus dans la procédure, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

12. Références

NBN EN ISO 3696 (1995) – Eau pour laboratoire à usage analytique – Spécification et méthodes d'essai

NBN EN ISO 5667-3 (2013) – Qualité de l'eau- Echantillonnage- Partie 3 : Lignes directrices pour la conservation et la manipulation des échantillons d'eau*

NBN EN ISO 11369 (1997) - Qualité de l'eau -- Dosage de certains agents de traitement des plantes -- Méthode par chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP) avec détection UV après extraction solide-liquide

NBN EN ISO 15913 (2003) - Qualité de l'eau - Dosage de certains herbicides phénoxyalcanoïques, y compris bentazones et hydroxybenzonitriles, par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse après extraction en phase solide et dérivatisation

SANTE/11813/2017 21-22 november 2017 rev.0

*A la date de rédaction de cette fiche, la norme est en cours de révision.

Annexe A

Exemple de conditions d'extraction SPE ;

Extraction sur colonne OASIS-HLB (200 mg-6ml)

1) Conditionnement de la colonne avec 5 ml de méthanol.
2) Conditionnement de la colonne avec 5 ml d'eau milliQ.
3) Enrichissement de la colonne avec 250 ml d'échantillon à analyser à un débit de 8 ml /min.
4) Lavage de la colonne avec 5 ml d'eau milliQ.
5) Séchage de la colonne avec 2 ml d'azote 4.8.
6) Elution des analytes avec 2 x 4 ml de méthanol.

Annexe B

Exemple de conditions chromatographiques ULC

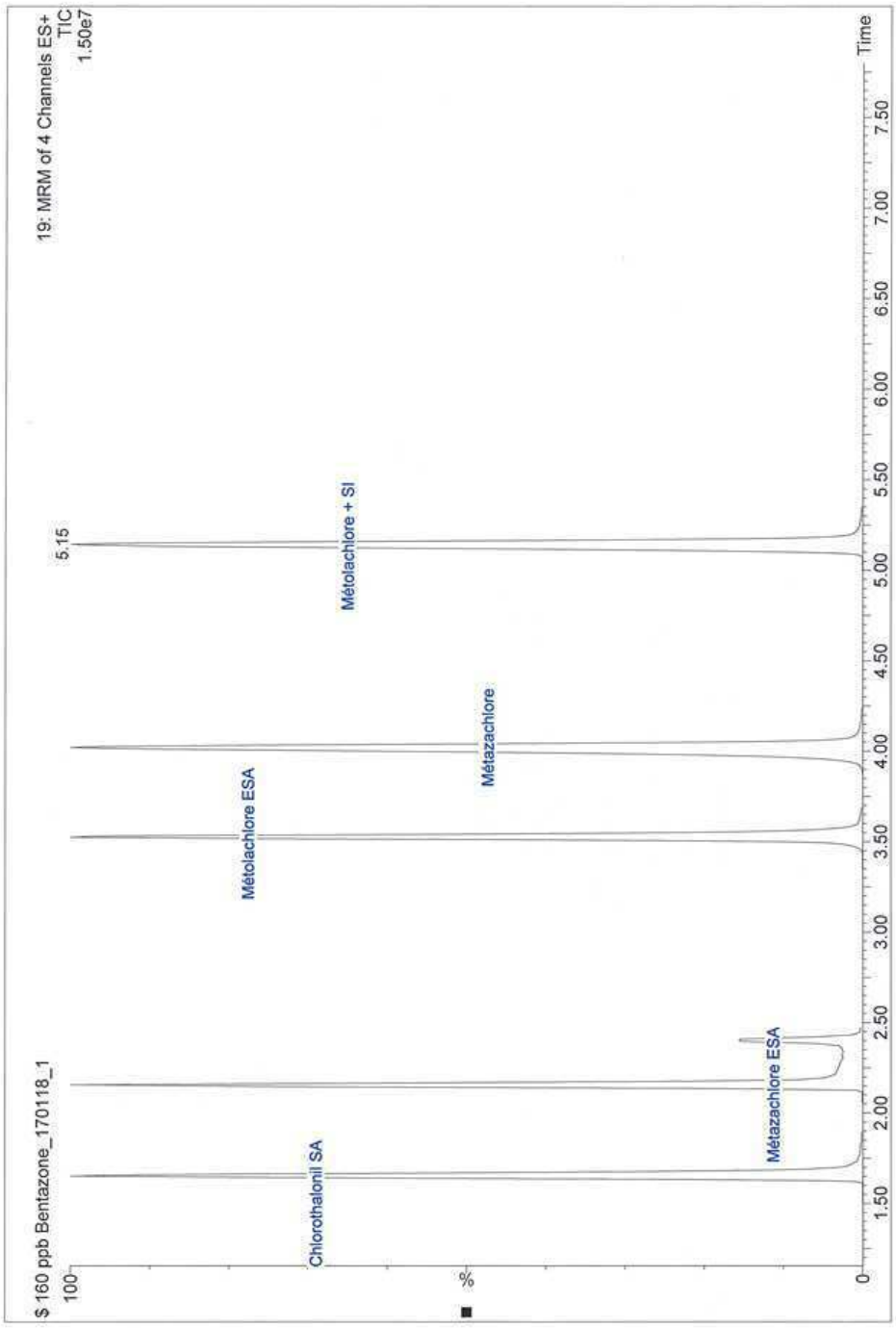
- Colonne Waters UPLC HSS-C18, 1,8 µm, 2,1 x 100 mm
- Débit : 0,45 ml/min
- Vol. injecté : 5 à 10 µl
- T° de colonne : 35°C
- Elution : éluant A : eau Milli-Q + 0,1 % ac. formique
  éluant B : méthanol + 0,1 % ac. formique

  avec le gradient d'élution repris ci-dessous :

Temps	%A	%B
0	85	15
0,5	70	30
5,5	42	58
6	5	95
7,5	5	95
7,6	85	15
13	85	15

Annexe C

Exemple de chromatogramme TIC



Annexe D

Exemple de conditions MS/MS

Composants	ESI	Temps de rétention (min)	Ion précurseur m/z	Cone Voltage	Ion fille 1 m/z	Energie de collision	Ion fille 2 m/z	Energie de collision	Etalon interne
Chlorothalonil SA	-	1.7	326.8	45	283.9	18	220.0	24	-
Métazachlore ESA	-	2.2	322.0	44	120.9	21	148.0	26	-
Métolachlore ESA	-	3.5	328.2	54	79.9	30	120.9	23	-
Métazachlore	+	4.0	278.2	22	210.1	12	134.1	26	Métolachlore-d_6
Métolachlore	+	5.2	284.1	26	176.1	25	252.1	16	Métolachlore-d_6
Métolachlore-d_6	+	5.2	290.2	26	182.2	16	258.1	16	-

E-III-8V1 – DÉTERMINATION DU CHLORIDAZON ET DE SES METABOLITES

1. Objet

Dosage du chloridazon et de ses métabolites dans les eaux brutes.

2. Domaine d'application

La présente méthode décrit la détermination du chloridazon et de ses métabolites par chromatographie liquide ultra-performante (ULC) couplée à la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) en injection directe. La présente méthode est applicable à tous les types d'échantillons d'eaux brutes (eaux potables, eaux souterraines, eaux de surface).
Les composés analysés sont : le desphényl-chloridazon, le méthyl-desphényl-chloridazon et le chloridazon.
Dans les eaux potables et souterraines, la méthode est applicable pour des teneurs supérieures à 10 ng/l pour le chloridazon et le méthyl-desphényl-chloridazon et supérieures à 25 ng/l pour le desphényl-chloridazon.
Dans les eaux de surface, la méthode est applicable pour des teneurs supérieures à 25 ng/l pour l'ensemble des composés.

3. Principe

Après ajout des standards internes, l'échantillon est analysé par ULC/MS.
La méthode d'injection directe permet une analyse de l'échantillon sans extraction ni concentration préalable. Un volume plus important (100 µl) est injecté en chromatographie ULC afin de permettre une bonne sensibilité.

4. Préparation de l'échantillon

Sans objet dans cette méthode.

5. Appareillages et matériels utilisés

Verrerie courante de laboratoire ;

- Balance analytique, permettant de peser avec une précision de 0.1 mg
- Pipettes Pasteur de 25 et 15 cm de long.
- Fiole de 1.5 ml avec septum pré-fendu.
- Berlins de 50 et 100 ml.
- Pipettes de type Eppendorf de différents volumes, 10 à 100 µl et 100 à 1000 µl
- Filtre PVDF 0.45 µm
- Seringue de 2.5 ml en PP

- Système ULC couplé à un détecteur triple quadripôle

6. Réactifs utilisés

Utiliser exclusivement des réactifs de qualité analytique reconnue.

- Eau ultra-pure, eau de qualité 2 conformément à l'ISO 3696
- Eau de source type Valvert
- Acétonitrile qualité ULC/MS
- Acétone pour analyses de résidus pesticides
- Acide formique de qualité ULC/MS
- Amoniaque de qualité LC/MS
- Etalons de référence : Matériaux de haute pureté ou certifiés (par exemple, standard Erhenstorfer)

7. Echantillonnage

Les échantillons sont prélevés dans des bouteilles de 100 millilitres en verre brun et remplies à ras bord. Ils sont conservés à 4°C et à l'abri de la lumière et sont analysés endéans les 14 jours.

8. Mode opératoire

8.1 Préparation des solutions étalons :

8.1.1. Solutions mères : 500mg/l

Peser exactement environ 0.0125 g de desphényl-chloridazon et le dissoudre dans un volume de 25 ml de méthanol pour obtenir une solution d'environ 500 mg/l. Peser exactement environ 0.0125 g chloridazon et le dissoudre dans un volume de 25 ml d'acétone pour obtenir une solution d'environ 500 mg/l. Le méthyl-desphényl-chloridazon est obtenu sous forme de solution à 100 mg/l dans de l'acétone (99.5% pureté).

Conserver les solutions à 4°C à l'abri de la lumière, pendant une durée maximale de 12 mois.

8.1.2. Solution fille : 1 mg/l

Introduire 50 µl de desphényl-chloridazon (à 500mg/l), 50 µl de chloridazon (à500mg/l) et 250 µl de méthyl-desphenyl-chloridazon (à 100mg/l) dans une fiole jaugée de 25 ml et compléter avec un mélange eau/acétonitrile (80/20).

Conserver la solution à environ 4°C, à l'abri de la lumière, pendant une durée maximale de 6 mois.

8.1.3. Solution fille : 20 µg/l

Introduire 100 µl de la solution fille à 1 mg/l dans une fiole jaugée de 5 ml et compléter au volume avec un mélange eau/acétonitrile (80/20).

8.1.4. Solution de référence pour l'étalonnage

Des solutions étalons de 250, 500, 1000, 2000 et 4000 ng/l sont réalisées en prélevant respectivement 25 µl, 50 µl, 100 µl, 200 µl et 400 µl de la solution fille à 20 µg/l (8.1.3) et en les introduisant dans des jaugés de 2 ml. Ajouter également, avant la mise à volume, 20 µl de la solution fille du mélange de standards internes.

La solution étalon de 10 ng/l est réalisée en prélevant 10 µl de solution fille à 20 µg/l (8.1.3) et en l'introduisant dans un jaugé de 20 ml avec ajout de 200 µl de la solution fille du mélange de standards internes (8.1.7).

La solution étalon de 25 ng/l est réalisée en prélevant 25 µl de solution fille à 20 µg/l (8.1.3) et en l'introduisant dans un jaugé de 20 ml avec ajout de 200 µl de la solution fille du mélange de standards internes (8.1.7).

8.1.5. Solution mère de chaque standard interne : 100 mg/l

Le chloridazon-d_5 et le $^{15}N_2$-desphenyl-chloridazon sont des solutions commerciales.

8.1.6. Solutions filles individuelles de standards internes : 1mg/l

Introduire 1 ml de solution mère de chloridazon-d_5 dans une fiole jaugée de 100 ml et compléter au volume avec un mélange eau/acétonitrile (80/20).

Introduire 1 ml de solution mère de $^{15}N_2$-desphenyl-chloridazon dans une fiole jaugée de 100 ml et compléter au volume avec un mélange eau/acétonitrile (80/20).

8.1.7. Solution fille de standards internes :20 µg/l chloridazon-$d_5$et 40 µg/l en $^{15}N_2$-desphenyl-chloridazon

Introduire dans un jaugé de 5 ml, 100 µl de la solution fille de chloridazon-d_5 (8.1.6) et 200 µl de la solution fille de $^{15}N_2$-desphenyl-chloridazon (8.1.6) et compléter au volume avec un mélange eau/acétonitrile (80/20).

8.1.8. Solution indépendante utilisée pour les contrôles : 1 mg/l

Une solution fille à 1 mg/l est réalisée à partir de solutions individuelles de concentrations 100 mg/l (les étalons ayant une origine différente de celle utilisée pour la courbe de calibration). Introduire 250 µl de chaque constituant dans une fiole jaugée de 25 ml et compléter au volume avec un mélange eau/acétonitrile (80/20).

8.1.9. Solution fille indépendante pour les contrôles: 20µg/l

Introduire 100 µl de la solution mère à 1 mg/l (8.1.8) dans une fiole jaugée de 5ml et compléter au volume avec un mélange eau/acétonitrile (80/20).

8.1.10. Solution de référence pour le contrôle : 100 ng/l

Introduire 25 µl de la solution fille à 20 µg/l (8.1.9) dans une fiole jaugée de 5 ml avec ajout de 50 µl de la solution fille du mélange de standards internes (8.1.7). La mise à volume se fait avec de l'eau de source.

8.2 Préparation de l'échantillon :

Introduire l'échantillon dans un jaugé de 10 ml. Ajouter 100 µl de solution fille de standards internes (8.1.7) avant mise à volume.

Prélever une portion afin de filtrer l'échantillon avant analyse.

8.3 Essai à blanc :

Effectuer parallèlement à la détermination un essai à blanc dans les mêmes conditions où l'échantillon est remplacé par 10 ml d'eau minérale exempte des pesticides recherchés.

Le blanc ne peut pas contenir d'interférents dépassants 10 % de la plus petite valeur mesurée, sinon rechercher les sources de contamination et les éliminer.

8.4 Analyse par ULC/MS/MS

8.4.1 Conditions chromatographiques

Utiliser l'ULC conformément aux instructions opératoires du fabricant.

Sélectionner une colonne et des conditions chromatographiques permettant d'obtenir une séparation efficace (pour exemple, voir Annexe A).

8.4.2 Conditions MS

Le spectromètre de masse est réglé conformément aux instructions du fabricant. L'analyse est réalisée en mode MRM (multiple reaction mode) par ionisation electrospray (ESI) en mode positif (cf. chromatogramme TIC en annexe B).

Un tableau reprenant pour chaque constituant, le mode d'ionisation, l'ion précurseur et ses 2 ions filles, l'étalon interne utilisé ainsi que le "cone voltage" et l'énergie de collision sur appareil type TQD (Waters), est donnée à titre indicatif en annexe C.

La confirmation de l'identité du pic est assurée par la comparaison de son temps de rétention avec celui de l'étalon mais aussi surtout par l'utilisation de la détection par spectrométrie de masse (triple quadripôle) qui permet le criblage de l'ion précurseur du constituant et la recherche de ses 2 ions filles caractéristiques dans une fenêtre d'élution précise.

L'intensité ionique' relative' des 2 ions filles d'un constituant dans un échantillon doit être comprise dans une tolérance de 30% relatif.

8.4.3 Etalonnage

L'étalonnage se fait par la méthode des standards internes en spectrométrie de masse.

Une gamme d'étalonnage à 8 points est utilisée.

L'étalonnage est réalisé avant chaque série d'échantillons.

8.4.4 Contrôle

Toutes les 10 injections, un contrôle est effectué avec la solution de référence pour le contrôle (8.1.10) fraichement préparée pour vérifier la courbe d'étalonnage ainsi que la déviation de l'appareil. Les résultats de ce contrôle sont repris sur des cartes de contrôle.

9. Calcul

La méthode d'injection directe permet une lecture directe du résultat exprimé en ng/l.

Les concentrations des différents constituants dans l'extrait sont calculées par le logiciel en ng/l sur la base de la courbe d'étalonnage à 8 points réalisée pour chaque série d'échantillons à analyser.

Le calcul des concentrations est effectué sur base de la réponse du 1er ion fille de l'ion précurseur.

10. Avertissement

Les solvants utilisés pour cet essai, et en particulier l'acétonitrile, sont toxiques. Des précautions doivent être prises lors de leur manipulation.

11. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne ;
- L'identification complète de l'échantillon ;
- Les détails opératoires non prévus dans la procédure, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

12. Références

NBN EN ISO 3696 (1995) – Eau pour laboratoire à usage analytique – Spécification et méthodes d'essai

NBN EN ISO 5667-3 (2013) – Qualité de l'eau- Echantillonage- Partie 3 : Lignes directrices pour la conservation et la manipulation des échantillons d'eau*

SANTE/11813/2017 21-22 november 2017 rev.0

Kowal S., (2012). Reduction of matrix effects and improvement of sensitivity during determination of two chloridazon degradation products in aqueous matrices by using UPLC-ESI-MS/MS. *Anal Bioanal Chem,*403,1707-1717

*A la date de rédaction de cette fiche, la norme est en cours de révision.

Annexe A

Exemple de conditions chromatographiques ULC

- Colonne Waters UPLC HSS-C18, 1,8 µm, 2,1 x 100 mm
- Débit : 0,45 ml/min
- Vol. injecté : 100 µl
- T° de colonne : 40°C
- Elution : éluant A : eau Milli-Q + 0,1 % ac. formique
  éluant B : acétonitrile + 0,1 % ac. formique

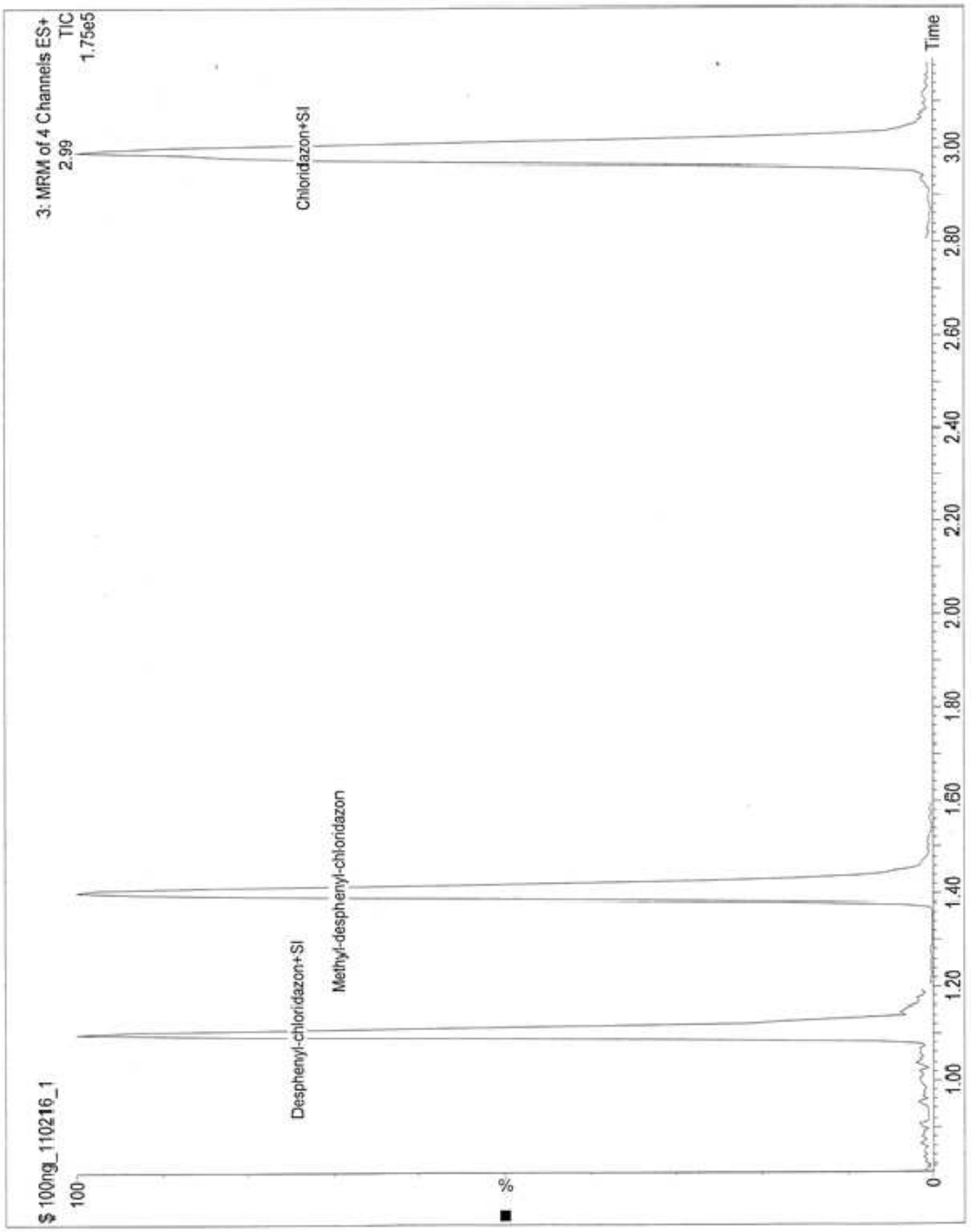
avec le gradient d'élution repris ci-dessous :

Temps	%A	%B
0	98	2
0,2	90	10
0,7	90	10
4,2	50	50
5	0	100
6	0	100
6,2	98	2
9	98	2

- Ajout post-colonne d'une solution à 0.4 mmol/l de NH4OH
  (50 µl d'ammoniaque dans 30 ml d'eau MilliQ) à un débit de 40 µl/min
  de 0 à 2 min

Annexe B

Exemple de chromatogramme TIC



Annexe C

Exemple de conditions MS/MS

Composants	Temps de rétention (min)	Ion précurseur m/z	Cone voltage (V)	Ion fille 1 m/z	Ecollision (V)	Ion fille 2 m/z	Ecollision (V)	Etalon interne
Desphenyl-chloridazon	1.1	146.0	45	117.1	18	101.1	21	$^{15}N_2$-desphenyl-chloridazon
$^{15}N_2$-desphenyl-chloridazon	1.1	148.0	45	117.0	18	102.0	20	-
Methyl-desphenyl-chloridazon	1.4	160.1	45	88.0	28	117.0	19	Chloridazon-d_5
Chloridazon	3.0	222.1	45	92.1	25	77.0	31	Chloridazon-d_5
Chloridazon-d_5	3.0	227.0	44	81.1	32	96.1	25	-

E-IV-1V1 – RECHERCHE ET DENOMBREMENT DE *LEGIONELLA PNEUMOPHILA* DANS LES EAUX

NOTIFICATION DE REVISION.

L'ISO 11731 de 1998 a récemment fait l'objet d'une révision. D'autre part, l'ISO 11731-2 de 2004 plus spécifique aux eaux 'propres' n'est plus d'application. Une nouvelle version de l'ISO 11731 intégrant les 2 volets précités a été éditée en mai 2017 et adoptée par le CEN en EN ISO 11731.

Cette nouvelle version introduit la possibilité de choisir le mode d'ensemencement en fonction du type d'eau, de la connaissance préalable ou non de l'échantillon, de la concentration présumée en légionelles, de l'abondance d'une flore interférente, etc.

Selon le type d'eaux à analyser et le seuil de détection souhaité, l'échantillon est par exemple:

- étalé directement sur le milieu de culture,
- concentré sur une membrane filtrante à déposer sur la gélose,
- étalé directement sur la gélose et étalement d'aliquotes (avec ou sans traitement) d'un concentré obtenu par filtration
- …

La procédure « E-IV-1V1 – Recherche et dénombrement de *Legionella pneumophila* dans les eaux » ayant pour référence normative l'ISO 11731 de 1998 et reprise dans le CWEA 2014 est par conséquent devenue obsolète. Sa révision est en cours afin d'y intégrer le schéma décisionnel repris dans l'EN ISO 11731 de 2017.

Les laboratoires agréés sont invités à mettre en œuvre la nouvelle version de la norme.

E-IV-2.1V1 : PROCEDURE PARTICULIERE RELATIVE AU PRELEVEMENT D'EAUX « PROPRES » EN VUE DE LA RECHERCHE DE LEGIONELLES

1. Objet

Cette procédure a pour objet d'expliciter la stratégie et les modalités de prélèvements d'échantillons d'eau pour la recherche de légionelles et les règles de sécurité propres à ce germe. Les informations dont le client a besoin pour définir la stratégie à mettre en œuvre y sont également reprises.

2. Domaine d'application

La présente procédure est applicable aux eaux sanitaires, eaux de distribution, eaux de bains à bulles ou toutes autres eaux chaudes 'propres'.

3. Introduction

Legionella pneumophilla

Les légionelles sont des bactéries d'origine hydrotellurique ; elles sont présentes à l'état naturel dans les eaux douces (lacs et rivières) et les sols humides. Cette famille de bacilles à Gram négatif comporte 43 espèces. L'espèce *Legionella pneumophila* est responsable de 90 % des légionelloses et le serogroupe 1 (Lp1) est associé à plus de 80 % des cas.

À partir du milieu naturel, la bactérie colonise des sites hydriques artificiels lorsque les conditions favorables à son développement sont réunies.
Ces conditions favorables se rencontrent dans différentes installations dites « à risque » telles que les réseaux d'eaux chaudes, les circuits des tours aéroréfrigérantes, les bains à bulles, les humidificateurs…

Les investigations réalisées lors d'épidémies et de cas sporadiques ont permis d'associer la maladie des légionnaires à deux sources principales, à savoir : d'une part les tours de refroidissement et condenseurs évaporatifs, et d'autres part, les systèmes de distribution d'eau sanitaire chaude.

La température de l'eau est un facteur important conditionnant la survie et la prolifération des légionelles dans les réseaux d'eau. Si ces germes sont capables de survivre plusieurs mois à des températures basses (moins de 20 °C), ils prolifèrent entre 20 °C et 43 °C et leur viabilité est réduite à partir de 50 °C. La zone de température comprise entre 20 °C et 50 °C doit donc être réduite au maximum dans les réseaux d'eaux susceptibles de contaminer des personnes.

ORIGINAL 2014

La contamination des personnes exposées se fait essentiellement par inhalation de fines gouttelettes d'eau (taille inférieure à 5 µm) contaminées et diffusées en aérosol. Ces aérosols atteignent les alvéoles pulmonaires, infestent les macrophages pulmonaires et provoquent leur destruction. Il n'y pas de transmission inter-humaine.

Les légionelloses se manifestent sous deux formes cliniques distinctes :

- la fièvre de Pontiac, qui est une forme bénigne (syndrome pseudo-grippal) passant le plus souvent inaperçue,
- la maladie des légionnaires, qui se présente sous la forme d'une infection pulmonaire grave dont la létalité est de 20 %.

Des facteurs individuels, permanents ou passagers, tels que l'âge, l'alcoolisme, le tabagisme, l'immunodéficience, les affections respiratoires chroniques, peuvent induire une plus grande sensibilité au risque d'infection.

La recherche et le dénombrement des légionelles au sein du laboratoire de microbiologie de l'ISSeP sont réalisés selon la méthode E-IV-1 (méthode de référence ISO 11731).

ORIGINAL 2014

4. Stratégie d'échantillonnage

Les légionelles prolifèrent surtout sur les surfaces en contact avec l'eau et sont émises dans l'eau en fonction notamment des mouvements hydrauliques. La configuration de l'installation, les traitements préalables du réseau, l'emplacement des points d'échantillonnage, le choix d'un prélèvement direct ou différé (quelques minutes) sont autant de facteurs susceptibles d'influencer le dénombrement de légionelles. Le choix des lieux et des modalités de prélèvement relèvent de la stratégie d'échantillonnage.

La stratégie d'échantillonnage en vue de l'analyse de légionelles doit être adaptée à l'objectif poursuivi : connaissance de l'exposition des personnes, diagnostic du réseau d'eau, mise en évidence de dysfonctionnement.

Dans la mesure du possible, la stratégie doit être établie conjointement par le client et le laboratoire, sinon la stratégie d'évaluation d'exposition aux légionelles est appliquée.

En fonction des informations récoltées auprès du client trois types de stratégie peuvent lui être proposés:

- Evaluation de l'exposition aux légionelles
- Diagnostic de l'ensemble du réseau
- Recherche de dysfonctionnement

4.1 Evaluation de l'exposition aux légionelles.

Cette stratégie permet de déterminer si les eaux chaudes présentes dans les installations du demandeur sont une source de contamination pour le personnel ou le public fréquentant l'établissement, elle a un objectif de sécurité sanitaire souvent essentielle pour le client.

Cette stratégie implique la prise d'échantillons au niveau des douches, des bains à bulles ou tout autre générateur d'aérosols aqueux.

Les échantillons doivent être prélevés sur des zones utilisées régulièrement où l'eau atteint plus de 20 °C en permanence.

Un circuit d'eau chaude comprend l'ensemble du système de chauffe et la distribution de l'eau sanitaire (douche : zone de contamination). Un ou deux points sont échantillonnés par circuit d'eau chaude sur le ou les pommeaux de douche situés le plus en aval du circuit. Si un système de chauffe alimente plusieurs ensembles de douches assez éloignés les uns des autres, chacun d'entre eux devrait être considéré isolément.

Le premier jet de 1 litre est prélevé dans le flacon.

La technique de prélèvement au niveau des douches, robinets, vannes sont décrites aux points 4.5 et 4.6

Dans le cas de cette stratégie le pommeau de douche, le robinet, ou la vanne ne sont pas désinfectée avant prélèvement. Cette stratégie a pour but de connaître l'exposition réelle des personnes et non savoir ce qui se passe dans le réseau.

Lorsque le prélèvement est effectué sur une vanne ou un robinet dans cette stratégie, l'ouverture du flacon ne doit pas toucher ces derniers

4.2 Diagnostic du réseau d'eau

Le diagnostic d'un réseau d'eau vise à déterminer le taux de contamination au niveau de ses différentes sections en vue de l'évaluer globalement les traitements et/ou de choisir un éventuel traitement. Le diagnostic réalisé après un traitement a pour but d'évaluer le taux résiduel de légionelles dans les différentes sections du réseau et permet d'adapter les traitements ultérieurs.

Ce type de stratégie consiste à connaître les taux de concentration de légionelles dans l'eau du circuit en début de soutirage (premier jet, sans désinfection préalable) et après 45 ± 15 sec d'écoulement-rinçage. Ceci implique pour le second prélèvement une désinfection soignée des robinets vannes ou pommeaux de douche avant ce prélèvement à l'aide d'une lingette imbibée d'un désinfectant à base d'alcool à l'extérieur du robinet ou du pommeau. L'intérieur des robinets et vannes doivent être désinfecté par injection de norvanol liquide, ce dernier sera élimé lors du rinçage. Il est nécessaire d'attendre quelques instants (1 à 2 minutes) afin de laisser agir le désinfectant et de le laisser s'évaporer à l'extérieur avant de laisser s'écouler l'eau 45 sec et de prélever l'eau à analyser.

L'étude d'un réseau peut impliquer la prise d'échantillons en plusieurs points de chaque circuit d'eau chaude. Pour chacun d'entre eux, 2 échantillons sont prélevés : un échantillon d'un litre sur le premier jet (zone d'accumulation potentielle de légionelles) et un échantillon d'un litre après 45 ± 15 sec d'écoulement (zone de contamination potentielle). Si le point d'utilisation n'a pas servi dans les 2 à 3 heures qui précèdent le prélèvement, la durée d'attente pour obtenir de l'eau chaude à ce point est un indicateur de l'état d'équilibrage du réseau. Ainsi, l'obtention rapide (moins d'une minute) de l'eau chaude indique une circulation de l'eau satisfaisante dans les systèmes de retour de boucle de l'eau chaude sanitaire, ou indique la proximité du point de chauffe.

Par circuit d'eau chaude, les endroits généralement échantillonnés sont :

- Le point bas du ballon et/ou du réservoir de stockage de l'eau chaude. Si ce n'est pas possible, le prélèvement est réalisé au point le plus proche de la sortie d'eau du ballon d'eau chaude. Si le système de chauffe est un échangeur à plaques, l'échantillonnage se fait au point d'usage le plus proche.

ORIGINAL 2014

- Différents pommeaux de douche le long du circuit dont celui situé le plus en aval du ballon,
- Les longues canalisations d'eau chaude alimentant des robinets
- Si possible les bras morts.

Il est parfois nécessaire de contrôler le réseau d'eau froide notamment lorsque celui-ci est jointif au réseau d'eau chaude non isolé ou est situé en partie près d'une source de chaleur.
L'échantillonnage s'effectuera en aval d'un long tronçon du réseau d'eau froide proche d'une source de chaleur.
La technique de prélèvement au niveau des douches, robinets, vannes sont décrites ci-dessous aux points 4.5 et 4.6.

4.3 Recherche de dysfonctionnements.

Il y a dysfonctionnement lorsque le réseau d'eau est potentiellement favorable au développement des légionelles. La mise en évidence de dysfonctionnement permet ainsi de mieux connaître les zones de prolifération des légionelles.

Le facteur essentiel favorisant le développement des légionelles est la température de l'eau dans les différentes sections du réseau. La présence de dépôts, de tartre et d'un biofilm dans la canalisation est également un facteur aggravant.

Il est possible de mettre en évidence les zones favorables au développement des légionelles en mesurant la température aux différents points de soutirage le long du circuit.

La mesure de température débutera dès l'ouverture du point de soutirage et se déroulera jusqu'à stabilisation de la température de l'eau. L'estimation de la durée nécessaire à la stabilisation de la température permettra éventuellement d'affiner le diagnostic.
La mesure de température après stabilisation pourra déterminer si la température de l'eau est favorable au développement des légionelles et si la circulation d'eau chaude dans le circuit est satisfaisante (stabilisation de la température après un temps d'écoulement d'eau court).

La mesure de température sera effectuée dans un flacon de maximum 250 ml à large ouverture et placé sous le flux d'eau du robinet (ou autre point d'écoulement). Conjointement, le temps nécessaire à la stabilisation de la température sera chronométré.

ORIGINAL 2014

5. Prélèvements

5.1 Généralités

Les échantillons sont prélevés dans des flacons stériles de 1 litre

Lorsque l'échantillon à prélever est susceptible de contenir un agent désinfectant du type oxydant (chlore, brome, H_2O_2), les flacons contiennent 20 mg de thiosulfate de sodium Ce composé assure la neutralisation des éventuels résidus des biocides oxydants. Les flacons sont annotés « + thiosulfate » ou « + T ».
Le thiosulfate n'étant pas efficace pour les biocides non-oxydants, un autre neutralisant devra être utilisé. Par exemple en cas de traitement avec les ions Cu-Ag (situation rare) le thiosulfate est remplacé par 1 ml d'EDTA stérile à 1 % dans le flacon de prélèvement.

Les flacons ne doivent pas être rincés avant utilisation. Ils sont remplis en tenant la bouteille de façon à éviter toute perte de thiosulfate et en limitant au mieux tout débordement. Cela permettra de garder un petit peu d'air sous le capuchon.

Pour les prélèvements par immersion dans l'eau à analyser (bains à bulles, fontaines) les flacons stériles seront sous emballage stérile. Ces flacons sont manipulés avec des gants à usage unique et une nouvelle paire de gants sera utilisée à chaque point de prélèvement.

Les échantillons sont clairement identifiés sur le lieu de prélèvement
Quels que soient le site à visiter et la stratégie à appliquer il est conseillé au préleveur de compléter une fiche de prélèvement.

Cette fiche reprendra, entre autres, les informations suivantes:

- les coordonnées de l'établissement (adresse, personne de contact,…),
- le type d'installation étudiée,
- la stratégie adoptée,
- la date et l'heure de prélèvement,
- le nombre et identification des échantillons,
- …

Les échantillons sont placés dans un Frigo box contenant un bloc réfrigéré par échantillon d'eau chaude et sont remis le jour même au laboratoire en vue de leur analyse.

ORIGINAL 2014

5.2 Matériel

- Flaconnage : les échantillons sont prélevés dans des flacons (1 l) stériles en verre ou en plastique à usage unique. Les flacons en verre sont stérilisés au laboratoire.
  Le cas échéant, le flacon contiendra un neutralisant adéquat (5.1) Les flacons destinés à être plongé dans l'eau à analyser (jacuzzi, fontaines,…) seront conditionnés en emballage stérile individuel.
- Pissette de Norvanol ou assimilé + papier absorbant ou assimilé
- Lingette désinfectante utilisée pour la désinfection des embouts, pommeaux si nécessaire
- Thermomètre.
- Trousse de dosage du chlore.
- Sachets plastiques au moins « stérile machine ».
- Colsons
- Paire de ciseaux
- Frigo box de transport identifié spécifiquement pour les prélèvements légionelles (leg pn) (+ blocs réfrigérants ou refroidisseur).
- Nécessaire pour identification des échantillons

5.3 Prélèvement au niveau des ballons d'eau chaude

Les réservoirs de stockage d'eau chaude sont assimilés à un ballon.

S'il y a plusieurs ballons en série, le prélèvement sera réalisé au niveau du dernier. De même, s'il y a plusieurs ballons en parallèle, le prélèvement sera réalisé soit au niveau du ballon semblant présenter le plus grand risque de contamination (celui qui est en moins bon état ou celui présentant la température la plus basse) soit au niveau de celui choisi au hasard s'ils sont similaires. Cela afin de ne pas augmenter le nombre de prélèvements.

Le prélèvement s'effectue, si possible, au fond du ballon d'eau chaude.
Il est utile de soutirer d'abord les dépôts avant de faire le prélèvement, la présence de ces dépôts est signalée dans la fiche de prélèvement.
Si l'arrivée d'eau froide est située à proximité du point de puisage, il faut la fermer avant prélèvement.

S'il n'y a pas de possibilité de prélever au fond du ballon d'eau chaude, le prélèvement se fera à la sortie du ballon ou au point d'usage le plus proche.
Le prélèvement est effectué à la sortie d'un robinet ou d'une vanne cf. 5.5.

Le dénombrement de légionelles dans l'eau des ballons d'eau chaude donne une indication sur l'état de maintenance du ballon mais n'est pas représentative de la qualité de l'eau sanitaire distribuée.

5.4 Prélèvement au niveau des douches

Lorsque l'installation compte plusieurs 'circuits' il est nécessaire de contrôler au moins une douche par circuit. C'est la douche où la perte de charge est la plus importante c'est-à-dire la plus éloignée du ballon d'eau chaude qui est généralement retenue.

Evaluation de l'exposition des personnes :

- Fixer un sachet stérile au pommeau par un système de serrage type Colson.
- Ensuite désinfecter un coin du sac et les lames de ciseaux à l'aide d'une lingette désinfectante
- Couper le coin du sac
- Prélever l'entièreté du premier jet (1 litre).

Diagnostic de réseau :

- Fixer un sachet stérile au pommeau par un système de serrage type Colson.
- Ensuite désinfecter un coin du sac et les lames de ciseaux à l'aide d'une lingette désinfectante
- Couper le coin du sac
- Prélever l'entièreté du premier jet (1 litre).
- Retirer le 1er sac et désinfecter le pommeau à l'aide d'une lingette imbibée d'alcool.
- Attendre 1 à 2 minutes et placer un nouveau sachet comme ci-dessus
- Ouvrir le robinet et laisser couler 45 secondes ± 15 sec avant de récolter le second prélèvement.

ORIGINAL 2014

NB : Lorsque la présence d'un mitigeur ne peut être évitée, il est nécessaire de positionner celui-ci sur la température d'utilisation avant l'échantillonnage, généralement vers 37°C.

5.5 Prélèvement au niveau d'un robinet ou d'une vanne.

Il est parfois nécessaire d'échantillonner au niveau d'un robinet ou d'une vanne lors d'un diagnostic du réseau ou lors d'une évaluation d'exposition des personnes.
Ce sont les vannes ou robinets alimentés par de l'eau chaude et généralement situés au bout d'une longue canalisation, ou ceux dont l'usage est peu courant (bras mort) qui sont sélectionnés pour l'échantillonnage.

Dans le cas d'un diagnostic réseau, l'extérieur du robinet (ou de la vanne) est désinfecté à l'aide d'une lingette désinfectante et l'intérieur via injection de norv0anol liquide. (Attendre l'évaporation du désinfectant avant prélèvement)

Attention : adapter le mode de prélèvement en fonction de la stratégie d'échantillonnage (cf. 4.1 ou 4.2)

Attention : lors d'un prélèvement au niveau des vannes situées à la sortie d'eau du générateur de chaleur (échangeur à plaques), du retour de boucle, de pied de colonne, ballon… Après désinfection, il est utile de laisser couler l'eau environ 45±15 secondes de façon à réduire l'éventuelle contamination périphérique, un échantillon seulement est alors prélevé

5.6 Réseau d'eau froide

Il est souvent recommandé de contrôler également l'eau du circuit d'eau froide lorsqu'il peut être réchauffé par une source de chaleur locale ou continue (proximité du circuit d'eau chaude).

Si le but est d'évaluer la qualité de l'eau à l'entrée de l'installation, l'eau est prélevée après décontamination de la vanne et écoulement de l'eau pendant 45 ± 15 secondes afin d'éviter une éventuelle contamination périphérique.

Dans le cas d'un prélèvement effectué sur un mélangeur ou mitigeur, il faut laisser couler 3 minutes afin de réduire le risque d'entraîner la flore périphérique lié à l'eau chaude.

5.7 Fontaines décoratives

L'eau des fontaines décoratives est susceptible d'être contaminée par des légionelles lorsque la température de l'eau est supérieure à 20 °C. Les jets d'eau en fines gouttelettes présentent potentiellement plus de risques que les fontaines à simple écoulement d'eau.

L'eau est soit prélevée à la sortie immédiate du bassin, au niveau d'une vanne sur la canalisation de recyclage de l'eau soit directement dans le bassin.

Au niveau d'une vanne le prélèvement s'effectuera après décontamination et écoulement de 45 ± 15 sec.

ORIGINAL 2014

Pour le prélèvement dans la masse d'eau le préleveur utilisera et manipulera de façon aseptique des flacons stériles (avec thiosulfate) conditionnés en emballage stérile.

- Après ouverture de l'emballage entourant le flacon, enfiler une paire de gants à usage unique.
- Maintenir le flacon dans son emballage tout en ouvrant le bouchon
- Une fois le bouchon enlevé, prélever immédiatement en introduisant le flacon dans la masse d'eau. à 30 ± 10 cm de profondeur (en s'écartant de l'arrivée de l'eau d'appoint).
- Après remplissage, sécher le flacon et annoter le (identification de l'échantillon).
- Remettre le flacon rempli dans son emballage avant de le placer dans le frigo box de transport

5.8 Bains à bulles

Le prélèvement a lieu dans la masse d'eau après, si possible, l'arrêt du bullage pendant 15 minutes.
Le prélèvement s'effectuera selon les modalités décrites ci-dessus (5.7)

ORIGINAL 2014

6. Transport des échantillons légionelles

Les échantillons doivent être protégés de la chaleur et des rayons du soleil. Ils sont conservés dans un frigo box à température ambiante (environ 20 °C). Pour ce faire chaque échantillon d'eau chaude est disposé dans le frigo box avec 1 bloc réfrigéré.
NB : le transport et le stockage des échantillons à une température inférieure à 6 °C peuvent réduire la viabilité des légionelles.

Les échantillons doivent être rendus au laboratoire le jour du prélèvement et filtré de préférence dans les 24 h qui suivent le prélèvement. Le délai entre le prélèvement et le début de l'analyse ne peut excéder 48 heures. La date de prélèvement et la date de filtration correspondant au début de l'analyse seront indiquées sur le rapport.

Si des biocides présents dans l'échantillon ne peuvent être neutralisés (biocides autres que les oxydants et Cu/Ag) ils seront mentionnés dans le rapport et l'analyse sera effectuée le plus rapidement possible.

7. Mesure de sécurité à prendre par le préleveur.

La zone de risques peut être définie comme étant l'espace où un individu est exposé à l'inhalation d'un aérosol d'eau potentiellement contaminé par Legionella. Ces zones de productions d'aérosols assez importantes sont notamment les tours de refroidissement, les douches avec des micro-diffuseurs, les bains à bulles en fonctionnement.

Quel que soit le type de prélèvement entrepris, s'il y a un doute sur la présence d'un risque de contamination par Legionella, des mesures de sécurité respiratoire doivent être prises. En effet, des facteurs individuels, permanents ou passagers, peuvent induire une plus grande sensibilité au risque d'infection chez le préleveur.

Les mesures de sécurité à prendre varient en fonction du lieu de prélèvement. Le risque lié à l'inhalation d'un aérosol d'eau potentiellement contaminé doit être prévenu par le port d'une protection respiratoire adaptée à la nature et à la durée du travail.

En ce qui concerne le type de protection, le choix peut se faire entre :

- un filtre de type P3SL contre les aérosols solides et liquides qui assure un niveau élevé de filtration du milieu ambiant. Tout utilisateur d'une protection respiratoire P3SL doit au préalable s'assurer de son bon état et veiller à un ajustement correct.
- un demi-masque FFP3SL dit « masque jetable » qui n'assure pas une protection prolongée en ambiance saturée en humidité. Leur usage est unique et ils doivent par conséquent être jetés après chaque intervention.
- un appareil de protection respiratoire à ventilation assistée qui est recommandé lorsque les risques évalués sont particulièrement élevés (par exemple, des interventions en milieu confiné exposant à des aérosols en quantité importante ou pendant une longue durée). Ce type d'appareil améliore le confort et la protection des intervenants pour des opérations prolongées. Les équipements à cartouche sont réutilisables ; le masque doit être nettoyé après chaque usage et la cartouche doit être remplacée dès qu'elle présente une résistance mécanique à la respiration.

Quel que soit le type de protection, la date de péremption du produit ne doit pas être dépassée.

L'ensemble de ces protections doit être stocké dans un endroit sec, propre et aéré.

Remarques complémentaires :
Certaines entreprises imposent des mesure de sécurité supplémentaires (chaussures de sécurité, lunettes de protection, casque de protection)

Les règles de sécurité à appliquer varient selon les sites de production d'aérosols à visiter.

- Au niveau des tours de refroidissement, il est conseillé de ne pas s'approcher du côté du panache de vapeurs et de prélever l'eau aux endroits accessibles où la probabilité de présence d'aérosols est faible. Il est déconseillé d'entrer totalement dans une tour : si elle est en fonction, il est alors demandé l'arrêt temporaire de la ventilation et de la circulation d'eau avant le prélèvement (sauf impératif justifié par la nécessité de maintenir le fonctionnement de la tour). Un temps de latence suffisant entre l'arrêt du fonctionnement de la tour et le prélèvement doit permettre aux gouttelettes d'eau de se déposer.
- Lors d'un travail dans une atmosphère saturée en humidité dans les tours de refroidissement, le port du masque respiratoire à ventilation assistée est conseillé.
- Au niveau des bains à bulles, il doit être demandé à l'exploitant d'interrompre le bullage 15 minutes avant le prélèvement ou de porter sont masque P3SL
- Dans le cas de prélèvement niveau des douches, produisant des microjets, sans possibilité de placer un sachet, il est prudent de porter un masque P3SL.

ORIGINAL 2014

- Dans les autres cas, la présence d'aérosols est évaluée de visu de manière à adopter une sécurité respiratoire optimale.

8. Interprétation des résultats d'analyse

La vigilance est de mise lors de l'interprétation des résultats d'une étude de réseaux d'eau sanitaire. Parmi les facteurs pouvant influencer ces résultats, le moment choisi pour l'échantillonnage et les traitements chocs réalisés sont déterminants :

- Le résultat d'analyse d'un prélèvement d'eau réalisé quelques jours après un choc chloré ou thermique est uniquement représentatif de l'efficacité ponctuelle du traitement. En général, le résultat est alors satisfaisant. Cependant, en aucun cas, ce résultat d'analyse ne doit être considéré comme le reflet d'une situation sous contrôle. La recolonisation d'un réseau peut intervenir très rapidement (2 à 4 semaines environ après le traitement). Il ne faut donc pas considérer ce résultat acquis comme un élément prouvant une maîtrise de la problématique liée aux légionelles ;
- L'heure de l'échantillonnage au point de puisage est aussi un facteur déterminant : le matin avant soutirage d'eau, les résultats obtenus correspondent à la stagnation de la nuit alors qu'en fin de matinée ou durant l'après midi, ils correspondent à un tirage abondant. Les concentrations varient de même selon que le prélèvement est réalisé au premier jet ou après écoulement de l'eau.
- Si le point d'usage prélevé n'a pas été utilisé depuis plusieurs jours, les dénombrements peuvent augmenter de 1 à 2 log par rapport au point d'usage quotidiennement utilisé.

9. Rapport de prélèvement

Le rapport d'essais reprendra les données relatives aux prélèvements; les informations suivantes y seront notamment reprises:

- Date de prélèvement,
- Adresse du site de prélèvement
- Description succincte des points de prélèvements ainsi que les correspondances avec les échantillons analysés
- Détails des conditions environnementales qui pourraient influencer les résultats d'essais ou aider à leur interprétation
- Référence à la procédure de prélèvement et à la norme suivie et toute déviation par rapport à celle-ci

ORIGINAL 2014

10. Références

Circulaire DGS/SD7A/SD5C-DHOS/E4 n° 2002/243 – 22/04/2002, relative à la prévention du risque lié aux légionelles dans les établissements de santé

Circulaire DGS/VSA n°98-771, 31/12/1998, relative à la mise en œuvre de bonnes pratiques d'entretien des réseaux d'eau dans les établissements de santé et aux moyens de prévention du risque lié aux légionelles dans les installations à risque et dans des bâtiments recevant du public

ISO 19458 2006 – Qualité de l'eau - Échantillonnage pour analyse microbiologique

BSI 7592: 2008, 30/11/2008, sampling for Legionella bacteria in water systems- code of practice

ORIGINAL 2014

E-IV-2.2V1 – PROCEDURE PARTICULIERE RELATIVE AU PRELEVEMENT D'EAUX « INDUSTRIELLES » EN VUE DE LA RECHERCHE DE LEGIONELLES

1. Objet

Cette procédure a pour objet d'expliciter la stratégie et les modalités de prélèvements d'échantillons d'eau pour la recherche de légionelles et les règles de sécurité propres à ce germe.

2. Domaine d'application

La présente procédure est applicable aux eaux industrielles (ex : tour de refroidissement).

3. Introduction

Legionella pneumophilla

Les légionelles sont des bactéries d'origine hydrotellurique ; elles sont présentes à l'état naturel dans les eaux douces (lacs et rivières) et les sols humides. Cette famille de bacilles à Gram négatif comporte 43 espèces. L'espèce *Legionella pneumophila* est responsable de 90 % des légionelloses et le serogroupe 1 (Lp1) est associé à plus de 80 % des cas.

À partir du milieu naturel, la bactérie colonise des sites hydriques artificiels lorsque les conditions favorables à son développement sont réunies.
Ces conditions favorables se rencontrent dans différentes installations dites « à risque » telles que les réseaux d'eaux chaudes, les circuits des tours aéroréfrigérantes, les bains à bulles, les humidificateurs…

Les investigations réalisées lors d'épidémies et de cas sporadiques ont permis d'associer la maladie des légionnaires à deux sources principales, à savoir : d'une part les tours de refroidissement et condenseurs évaporatifs, et d'autres part, les systèmes de distribution d'eau sanitaire chaude.

La température de l'eau est un facteur important conditionnant la survie et la prolifération des légionelles dans les réseaux d'eau. Si ces germes sont capables de survivre plusieurs mois à des températures basses (moins de 20 °C), ils prolifèrent entre 20 °C et 43 °C et leur viabilité est réduite à partir de 50 °C. La zone de température comprise entre 20 °C et 50 °C doit donc être réduite au maximum dans les réseaux d'eaux susceptibles de contaminer des personnes.

La contamination des personnes exposées se fait essentiellement par inhalation de fines gouttelettes d'eau (taille inférieure à 5 µm) contaminées et diffusées en aérosol. Ces aérosols atteignent les alvéoles pulmonaires, infestent les macrophages pulmonaires et provoquent leur destruction. Il n'y pas de transmission inter-humaine.
Les légionelloses se manifestent sous deux formes cliniques distinctes :

ORIGINAL 2014

- la fièvre de Pontiac, qui est une forme bénigne (syndrome pseudo-grippal) passant le plus souvent inaperçue,
- la maladie des légionnaires, qui se présente sous la forme d'une infection pulmonaire grave dont la létalité est de 20 %.

Des facteurs individuels, permanents ou passagers, tels que l'âge, l'alcoolisme, le tabagisme, l'immunodéficience, les affections respiratoires chroniques, peuvent induire une plus grande sensibilité au risque d'infection.

La recherche et le dénombrement des légionelles au sein du laboratoire de microbiologie de l'ISSeP sont réalisés selon la méthode E-IV-1 (méthode de référence ISO 11731).

4. Stratégie d'échantillonnage

Les légionelles prolifèrent surtout sur les surfaces en contact avec l'eau et sont émises dans l'eau en fonction notamment des mouvements hydrauliques. La configuration de l'installation, les traitements préalables du réseau, l'emplacement des points d'échantillonnage, sont autant de facteurs susceptibles d'influencer le dénombrement de légionelles.

Pour les nouveaux clients, le premier contact téléphonique permet l'échange d'informations nécessaires à la prise de décisions.

- Type d'installation visée : tours aéroréfrigérées, bain de trempe,…
- Intervention souhaitée : contrôle de routine, contrôle en situation de crise (cas de légionellose) ou évaluation d'efficacité de traitement de l'installation
- les conditions de maintenance mises en œuvre (dont le biocide utilisé) et/ou l'application éventuelle de traitements de choc (dont le biocide utilisé)
- Renseignement sur les légionelles : écologie, zones potentielles de prolifération, mode de contamination
- les différentes stratégies d'échantillonnage

Le client fournit également les indications suivantes:

- ses coordonnées + éventuellement le nom d'un contact
- l'adresse, conditions d'accès au site de prélèvement
- les règles de sécurité à mettre en œuvre lors du prélèvement (tour de refroidissement)

ORIGINAL 2014

5. Prélèvements

5.1 Généralités

Les échantillons sont prélevés dans des flacons stériles de 1 litre

Lorsque l'échantillon à prélever est susceptible de contenir un agent désinfectant du type oxydant (chlore, brome, H_2O_2), les flacons contiennent 20 mg de thiosulfate de sodium Ce composé assure la neutralisation des éventuels résidus des biocides oxydants. Les flacons sont annotés « + thiosulfate » ou « + T ».
Le thiosulfate n'étant pas efficace pour les biocides non-oxydants, un autre neutralisant devra être utilisé. Par exemple en cas de traitement avec les ions Cu-Ag (situation rare) le thiosulfate est remplacé par 1 ml d'EDTA stérile à 1% dans le flacon de prélèvement.

Les flacons ne doivent pas être rincés avant utilisation. Ils sont remplis en tenant la bouteille de façon à éviter toute perte de thiosulfate et en limitant au mieux tout débordement. Cela permettra de garder un petit peu d'air sous le capuchon.

Pour les prélèvements par immersion dans l'eau à analyser (bains à bulles, fontaines) les flacons stériles seront sous emballage stérile. Ces flacons sont manipulés avec des gants à usage unique et une nouvelle paire de gants sera utilisée à chaque point de prélèvement.

Les échantillons sont clairement identifiés sur le lieu de prélèvement

Quel que soit le site à visiter, il est conseillé au préleveur de compléter une fiche de prélèvement.

Cette fiche reprendra, entre autres, les informations suivantes:

- les coordonnées de l'établissement (adresse, personne de contact,…),
- le type d'installation étudiée,
- la date et l'heure de prélèvement,
- le nombre et identification des échantillons,
- …

Les échantillons sont placés dans un Frigo box contenant un bloc réfrigéré par échantillon d'eau chaude et sont remis le jour même au laboratoire en vue de leur analyse.

ORIGINAL 2014

5.2 Matériel

- Flaconnage : les échantillons sont prélevés dans des flacons (1 l) stériles en verre ou en plastique à usage unique. Les flacons en verre sont stérilisés au laboratoire.
  Le cas échéant, le flacon contiendra un neutralisant adéquat (4..1) Les flacons destinés à être plongé dans l'eau à analyser seront conditionnés en emballage stérile individuel.
- Pissette de Norvanol ou assimilé + papier absorbant ou assimilé
- Lingette désinfectante utilisée pour la désinfection des embouts
- Thermomètre.
- Trousse de dosage du chlore.
- Frigo box de transport identifié spécifiquement pour les prélèvements légionelles (leg pn) (+ blocs réfrigérants ou refroidisseur).
- Nécessaire pour identification des échantillons
- Lunette de protection.
- Masque de protection
- Canne de prélèvement ou dispositif stérile pour aspiration d'eau. Lorsqu'elle est utilisée, la canne de prélèvement doit être décontaminée à l'aide d'un chiffon propre imbibé d'alcool ou lingette désinfectante à base d'alcool. La canne peut être utilisée après évaporation de l'alcool (1 à 2 minutes). Après chaque campagne de prélèvement, la canne est nettoyée à l'aide d'un détergent, rincée à l'eau froide, séchée avant d'être emballée dans un sac plastique propre.

5.3 Prélèvement au niveau des tours aéroréfrigérantes et condenseurs à évaporation forcée

La tour aéroréfrigérante est principalement constituée d'un **système de distribution de l'eau**, d'un **système d'échange thermique**, d'un **bassin** récupérant l'eau refroidie, et d'un **séparateur de gouttes** ou dévésiculeur, le tout étant traversé par un courant d'air initié par tirage naturel ou par tirage forcé par ventilateur.

Les prélèvements sont réalisés sur des équipements en fonctionnement. Le client indiquera la date du dernier traitement chimique ou physique réalisé sur l'installation .Le prélèvement aura lieu au plus tôt 48 heures après celui-ci.

Le prélèvement sera effectué au niveau du caisson de réception de l'eau de ruissellement ou au niveau du circuit d'eau à selon l'accessibilité de l'eau à analyser (et si possible en aval de la source chaude).

5.3.1 Au niveau du caisson de réception de l'eau de ruissellement :

Le prélèvement d'eau sera effectué directement dans le caisson si celui-ci est facile d'accès et que la sécurité du préleveur est assurée (c.-à-d. pas de courant d'air en direction du préleveur, vers l'extérieur du caisson et pas de présence de ventilateur ou autre appareil dangereux en fonctionnement près de la zone de prélèvement…).

Si le caisson n'est pas accessible facilement, qu'il est nécessaire de s'introduire dans une trappe à l'intérieur de la tour et que la ventilation est importante, il est alors demandé L'arrêt temporaire de la ventilation et de la circulation d'eau est demandé. Si l'arrêt de l'installation est impossible, un autre point de prélèvement sera alors recherché ou aménagé par le client.

Les flacons destinés à être introduits dans l'eau sont conditionnés en emballage individuel stérile
Pour le prélèvement dans la masse d'eau le préleveur utilisera et manipulera de façon aseptique des flacons stériles (avec thiosulfate) conditionnés en emballage stérile.

- Après ouverture de l'emballage entourant le flacon, enfiler une paire de gants à usage unique.
- Maintenir le flacon dans son emballage tout en ouvrant le bouchon
- Une fois le bouchon enlevé, prélevé immédiatement en introduisant le flacon dans la masse d'eau. à 30 ± 10 cm de profondeur (en s'écartant de l'arrivée de l'eau d'appoint).Une canne de prélèvement sera utilisée si l'eau dans le caisson n'est pas facilement accessible.
- Après remplissage, sécher le flacon et annoter le (identification de l'échantillon).
- Remettre le flacon rempli dans son emballage avant de le placer dans le frigo box de transport

5.3.2 Au niveau du circuit d'eau

Lors d'un échantillonnage au niveau du circuit d'eau, le prélèvement se fera à une vanne située en amont de la pulvérisation ou d'une vanne située en aval du caisson de ruissellement.

Il faut désinfecter l'extérieur et l'intérieur de l'embout et ensuite laisser l'eau s'écouler 45 ± 15 sec avant de la recueillir dans le flacon.

ORIGINAL 2014

5.4 Prélèvement au niveau d'installations de conditionnement d'air

Les systèmes qui utilisent l'eau pour refroidir ou humidifier l'air sont concernés par la problématique des légionelles. L'eau qui sert à refroidir ou humidifier l'air est susceptible de se retrouver dans l'air frais pulsé vers les locaux.

L'eau en excès est récupérée dans des bacs de contention. Si les dimensions du bac le permettent l'échantillonnage se fait par immersion d'un flacon stérile selon la technique de prélèvement est décrite au point 5.3.1.
Dans le cas contraire l'échantillonnage se fera par aspiration à l'aide d'une seringue stérile, d'une pipette stérile ou d'un petit récipient stérile qui permet de transvaser l'eau dans le flacon de prélèvement.

Si le bac de rétention n'est pas accessible ou le niveau d'eau trop bas, une canne de prélèvement préalablement décontaminée sera utilisée

Au niveau des générateurs d'aérosols, l'eau est prélevée dans le réservoir ou sur une vanne selon un mode de soutirage approprié à chaque système, comme cité ci-dessus dans les bacs de rétention cités ci-dessus. Le dispositif de traitement d'eau situé en amont peut faire également l'objet d'un prélèvement.

6. Transport des échantillons légionelles

Les échantillons doivent être protégés de la chaleur et des rayons du soleil. Ils sont conservés dans un frigo box à température ambiante (environ 20 °C). Pour ce faire, chaque échantillon d'eau chaude est disposé dans le frigo box avec 1 bloc réfrigéré.
NB : le transport et le stockage des échantillons à une température inférieure à 6 °C peuvent réduire la viabilité des légionelles.

Les échantillons doivent être rendus au laboratoire le jour du prélèvement et filtré de préférence dans les 24 h qui suivent le prélèvement. Le délai entre le prélèvement et le début de l'analyse ne peut excéder 48 heures. La date de prélèvement et la date de filtration correspondant au début de l'analyse seront indiquées sur le rapport.

Si des biocides présents dans l'échantillon ne peuvent être neutralisés (biocides autres que les oxydants et Cu/Ag) ils seront mentionnés dans le rapport et l'analyse sera effectuée le plus rapidement possible.

7. Mesure de sécurité à prendre par le préleveur.

La zone de risques peut être définie comme étant l'espace où un individu est exposé à l'inhalation d'un aérosol d'eau potentiellement contaminé par Legionella. Ces zones de productions d'aérosols assez importantes sont notamment les tours de refroidissement.

ORIGINAL 2014

Quel que soit le type de prélèvement entrepris, s'il y a un doute sur la présence d'un risque de contamination par Legionella, des mesures de sécurité respiratoire doivent être prises. En effet, des facteurs individuels, permanents ou passagers, peuvent induire une plus grande sensibilité au risque d'infection chez le préleveur.
Les mesures de sécurité à prendre varient en fonction du lieu de prélèvement. Le risque lié à l'inhalation d'un aérosol d'eau potentiellement contaminé doit être prévenu par le port d'une protection respiratoire adaptée à la nature et à la durée du travail.

En ce qui concerne le type de protection, le choix peut se faire entre :

- un filtre de type P3SL contre les aérosols solides et liquides qui assure un niveau élevé de filtration du milieu ambiant. Tout utilisateur d'une protection respiratoire P3SL doit au préalable s'assurer de son bon état et veiller à un ajustement correct.
- un demi-masque FFP3SL dit « masque jetable » qui n'assure pas une protection prolongée en ambiance saturée en humidité. Leur usage est unique et ils doivent par conséquent être jetés après chaque intervention.
- un appareil de protection respiratoire à ventilation assistée qui est recommandé lorsque les risques évalués sont particulièrement élevés (par exemple, des interventions en milieu confiné exposant à des aérosols en quantité importante ou pendant une longue durée). Ce type d'appareil améliore le confort et la protection des intervenants pour des opérations prolongées. Les équipements à cartouche sont réutilisables ; le masque doit être nettoyé après chaque usage et la cartouche doit être remplacée dès qu'elle présente une résistance mécanique à la respiration.

Quel que soit le type de protection, la date de péremption du produit ne doit pas être dépassée.

L'ensemble de ces protections doit être stocké dans un endroit sec, propre et aéré.

Remarques complémentaires :
Certaines entreprises imposent des mesure de sécurité supplémentaires (chaussures de sécurité, lunettes de protection, casque de protection)

Les règles de sécurité à appliquer varient selon les sites de production d'aérosols à visiter.

- Au niveau des tours de refroidissement, il est conseillé de ne pas s'approcher du côté du panache de vapeurs et de prélever l'eau aux endroits accessibles où la probabilité de présence d'aérosols est faible. Il est déconseillé d'entrer totalement dans une tour : si elle est en fonction, il est alors demandé l'arrêt temporaire de la ventilation et de la circulation d'eau avant le prélèvement (sauf impératif justifié par la nécessité de maintenir le fonctionnement de la tour). Un temps de latence suffisant entre l'arrêt du fonctionnement de la tour et le prélèvement doit permettre aux gouttelettes d'eau de se déposer.
- Lors d'un travail dans une atmosphère saturée en humidité dans les tours de refroidissement, le port du masque respiratoire à ventilation assistée est conseillé.
- Dans les autres cas, la présence d'aérosols est évaluée de visu de manière à adopter une sécurité respiratoire optimale.

ORIGINAL 2014

8. Interprétation des résultats d'analyse

Parmi les facteurs pouvant influencer les résultats, le moment choisi pour l'échantillonnage, les maintenances et les traitements chocs réalisés sont déterminants
Le résultat d'analyse d'un prélèvement d'eau réalisé immédiatement après un traitement chimique ou physique est uniquement représentatif de l'efficacité ponctuelle du traitement. En général, le résultat est alors satisfaisant. Cependant, en aucun cas, ce résultat d'analyse ne doit être considéré comme le reflet d'une situation sous contrôle.

9. Rapport de prélèvement

Le rapport d'essais reprendra les données relatives aux prélèvements; les informations suivantes y seront notamment reprises:

- Date de prélèvement,
- Adresse du site de prélèvement
- Description succincte des points de prélèvements ainsi que les correspondances avec les échantillons analysés
- Détails des conditions environnementales qui pourraient influencer les résultats d'essais ou aider à leur interprétation
- Référence à la procédure de prélèvement et à la norme suivie et toute déviation par rapport à celle-ci

ORIGINAL 2014

10. Références

Circulaire DGS/SD7A/SD5C-DHOS/E4 n° 2002/243, 22/04/2002, relative à la prévention du risque lié aux légionelles dans les établissements de santé

Circulaire DGS/VSA n°98-771, 31/12/1998, relative à la mise en œuvre de bonnes pratiques d'entretien des réseaux d'eau dans les établissements de santé et aux moyens de prévention du risque lié aux légionelles dans les installations à risque et dans des bâtiments recevant du public

BSI 7592: 2008 – sampling for Legionella bacteria in water systems- code of practice

ISO 19458 2006 – Qualité de l'eau - Échantillonnage pour analyse microbiologique

E-IV-2.3V1 : PROCEDURE PARTICULIERE RELATIVE AUX PRELEVEMENTS DES EAUX DE PISCINES EN VUE DE LEURS ANALYSES BACTERIOLOGIQUES ET CHIMIQUES

ORIGINAL 2014

1. Objet

Cette procédure a pour objet d'expliciter les modalités de prélèvement d'eaux dans un bassin de natation.

2. Domaine d'application

La présente procédure est applicable aux eaux des bassins de natation, de pataugeoires, de bains, de bassins à usage thérapeutiques et de jacuzzi.

3. Introduction

Les modalités de prélèvement d'eau et du transport des échantillons sont expliquées dans ce document.

4. Flaconnage

Le type de flacon utilisé varie en fonction du paramètre à analyser.

Pour l'analyse microbiologique, un flacon certifié stérile dont le volume est adapté aux paramètres étudiés est utilisé. Ce flacon est emballé individuellement et à usage unique. Il contient un neutralisant du désinfectant utilisé.
Les désinfectants du type oxydant comme le chlore, le brome, le peroxyde d'hydrogène et l'ozone sont neutralisés par le thiosulfate. Pour les piscines désinfectées au Cu-Ag, il sera fait usage d'EDTA.

Les échantillons destinés à l'analyse chimique, sont prélevés dans des flacons dont les volumes et la nature sont en adéquation avec les techniques utilisées au laboratoire et respectant les normes en vigueur.

Un flacon unique de capacité suffisante peut être utilisé pour le prélèvement. Dans ce cas, si les analyses ne sont pas réalisées immédiatement par le laboratoire, il est conseillé de partager l'échantillon dans des flacons en adéquation avec les paramètres à analyser. L'aliquote destinée à la mesure de l'oxydabilité sera contenue dans un flacon de 250 ml acidifiés par H_2SO_4. Un flacon d'au moins 100ml sera également prévu pour l'analyse de l'urée. Enfin, dans le cas des piscines désinfectées au chlore, un flacon en plastique à usage unique de 40 ml pour sera prévu pour le dosage des chlorures.

Pour les piscines au Cu-Ag, un flacon en plastique de 250 ml est prévu pour le dosage du Cu et de l'Ag..

Les volumes sont donnés à titre d'exemple.

Pour les paramètres à analyser in situ, un flacon supplémentaire d'un volume suffisant sera prévu.

Les flacons vides nécessaires pour une tournée de prélèvements sont répartis dans des frigos box et/ou un bac propre au laboratoire.

5. Matériel

- Appareil de mesure de terrain pour l'analyse in situ notamment du chlore, pH, acide isocyanurique et de l'ozone ;
- Thermomètre ;
- Gants à usage unique de 40 cm au moins (prélèvement manuel direct) ou canne de prélèvement pour autant qu'elle puisse être facilement nettoyée et `désinfectée'' entre 2 échantillonnages ;
- Lingettes désinfectantes ;
- Solution désinfectante (par exemple : alcool isopropylique) ;
- Overshoes ;
- Frigo boxes (avec blocs réfrigérés initialement dans un congélateur dont la température est inférieure à -18 °C) ou chambre réfrigérée pour le transport.

Cette liste de matériel n'est pas exhaustive. Il convient toutefois d'utiliser du matériel adéquat qui n'engendre pas de contamination au niveau de l'échantillonnage.

6 Prélèvement d'eau du bassin de natation

6.1 Généralités

De manière à limiter le risque de contamination, il sera fait usage des gants à usage unique pour le prélèvement par immersion à la main (annexe 10.2) ou d'une canne télescopique qui peut être facilement désinfectée (annexe 10.1).

Dans l'établissement, le préleveur s'assurera auprès du responsable de la piscine des mesures particulières d'hygiène et de sécurité à respecter. Il veillera notamment à respecter la séparation entre la zone « pieds nus » et la zone « pieds chaussés ». Des overshoes seront enfilés avant d'accéder à la plage du bassin.

L'échantillonnage doit être réalisé conformément à la législation en vigueur à savoir à l'endroit le plus éloigné de l'arrivée d'eau traitée dans le bassin. (Généralement, cette zone est située du côté de la grande profondeur, au milieu de la largeur du bassin).

L'échantillonnage est réalisé dans les 30 premiers centimètres sous la surface de l'eau. Les prélèvements se font toujours au même endroit.

Il débutera toujours par le prélèvement d'eau destiné aux analyses microbiologiques (flacon stérile + neutralisant du désinfectant).
Ensuite, sont prélevés les échantillons destinés aux analyses chimiques. La prise d'eau pour les analyses de terrain (pH, chlore, ozone, …) est réalisée en dernier lieu.

ORIGINAL 2014

Pour les prélèvements des jacuzzis ou bains thérapeutiques ayant des systèmes de bullage, il convient d'arrêter le système durant le prélèvement afin d'éviter toutes interférences.

6.2 Prélèvement d'eau pour les analyses bactériologiques

Que le prélèvement soit réalisé par immersion de la main ou par immersion d'une canne télescopique, le préleveur veillera à éviter toute contamination du flacon par l'usage régulier de lingettes désinfectantes ou d'une solution fournie par le laboratoire (par exemple : alcool isopropylique).
NB : si utilisée, la canne télescopique sera désinfectée avant le prélèvement.

Le flacon stérile de prélèvement est retiré de son emballage (tout en maintenant la stérilité des parois externes du flacon).

La date de péremption est vérifiée.
Le capuchon est retiré et tenu dans la main opposée en prenant soin de ne pas contaminer le côté interne.

Le flacon est introduit rapidement et horizontalement (afin d'éviter le déversement du neutralisant) dans l'eau jusqu'à une profondeur d'environ 20 cm. Il est ensuite retiré rapidement de l'eau dès qu'il est presque rempli. Il ne faut pas remplir totalement le flacon; en effet, la présence d'une poche d'air (de la hauteur d'un bouchon) entre la surface du liquide et le bouchon permet une meilleure homogénéisation avant analyse.

Le flacon est ensuite refermé et agité de façon à neutraliser l'oxydant, annoté (référence de l'échantillon : référence de l'établissement et du bassin, si nécessaire) et placé dans le frigo box spécifique avec blocs réfrigérants / enceinte réfrigérée.

6.3 Prélèvement d'eau pour les analyses chimiques

Les différents flacons destinés aux analyses chimiques sont démunis de leur bouchon et plongés dans les 30 premiers centimètres sous la surface de l'eau. Les flacons sont ensuite refermés soigneusement et identifiés pour leur transport vers le laboratoire.

6.4 Prélèvement d'eau pour les analyses « in situ »

Un flacon d'au moins 250 ml, ouvert est plongé sous la surface de l'eau jusqu'à remplissage.

Si le flacon a déjà été utilisé dans la même journée pour des prélèvements d'eau pour les paramètres, il doit être rincé trois fois avec l'eau à analyser avant utilisation.

Cet échantillon est utilisé immédiatement (dans les 20 minutes maximum) pour effectuer les mesures et observations suivantes : chlore (libre, total et combiné), pH, acide isocyanurique (si opportun), ozone (si opportun). Ces tests se feront de préférence sur une surface plane et à l'abri des éclaboussures. Le dosage de l'acide cyanurique peut éventuellement être réalisé au laboratoire.
Outre ces mesures, des observations telles que transparence (vision de fond), couleur ou autre pollution visible sont réalisées.
Toutes ces données seront reprises au niveau du rapport.
NB : en fonction du matériel et de la configuration du bassin, la mesure du pH et de la température peuvent être effectuées directement dans le bassin.

ORIGINALE 2014

Le surplus d'échantillon, les résidus d'analyses et les liquides de rinçage sont éliminés soit dans le réseau d'égout (évier, sterfput,…) soit dans un flacon prévu à cet effet. Ils ne sont en aucun cas versés dans le bassin ou dans la goulotte en bordure de bassin.

6.5 Identification des flaconnages

Les flacons sont essuyés soigneusement, étiquetés et placés dans une enceinte réfrigérée / frigo box.
Les échantillons pour analyses chimiques sont stabilisés à l'arrivée au laboratoire.

7 Fiche de prélèvement

La fiche de prélèvement doit au moins contenir les informations suivantes :

- le nom du préleveur,
- la date et l'heure du prélèvement,
- la dénomination de la piscine et l'adresse,
- lieu précis de prélèvement au niveau du bassin (schéma éventuel),
- les mesures et observations in situ (chlore libre, chlore total, pH, température,…),
- le nombre de baigneurs pendant le prélèvement,
- l'identification de la procédure de prélèvement.

D'autres renseignements pourront également figurer sur cette fiche en fonction des souhaits des clients.

8. Conditions de transport :

Les échantillons doivent être transportés idéalement à une température entre 2 et 8 °C, (maximum 10 °C) et à l'obscurité Ils ne pourront en aucun cas être congelés.
Le temps de transport entre le moment de prélèvement et l'arrivée des échantillons au laboratoire doit être le plus court possible.

Après le prélèvement, dès la sortie de l'établissement, les échantillons sont placés dans le frigo box de transport avec des blocs réfrigérés (conservés dans un frigo box) ou dans une enceinte réfrigérée.

Si un ou plusieurs prélèvements supplémentaires sont prévus dans la journée, des blocs réfrigérés supplémentaires seront ajoutés avec chaque nouveau lot de flacons.

9 Références.

ISO 19458 :2006 : Qualité de l'eau - Échantillonnage pour analyse microbiologique

ISO 5667-1 :2006 : Qualité de l'eau – Echantillonnage – Partie 1 : Lignes directrices pour la conception des programmes et des techniques d'échantillonnage

NBN EN ISO 5667-3 :2013 : Qualité de l'eau – Echantillonnage – Partie 3 : Lignes directrices pour la conservation et la manipulation des échantillons d'eau.

ORIGINAL 2014

10 Annexes.

10.1. PRELEVEMENT PAR IMMERSION A LA PERCHE TELESCOPIQUE

10.1.1. Préparation du prélèvement

- Préparer la perche télescopique et le flaconnage en fonction des prélèvements à réaliser. Compléter le rapport d'analyse d'eaux de piscine avec les renseignements nécessaires.

10.1.2. Désinfection

- Se désinfecter les mains avec une solution fournie par le laboratoire.
- Désinfecter la perche télescopique en utilisant une solution désinfectante fournie par le laboratoire par exemple de l'alcool isopropylique (pissette).

10.1.3. Prélèvement d'eau pour l'analyse des paramètres microbiologiques

- Enlever le flacon stérile de prélèvement de son emballage et vérifier la date de péremption.
- Placer le flacon stérile de prélèvement fermé dans les griffes de la perche.
- Ouvrir le flacon stérile de prélèvement et déposer le bouchon en un endroit propre (ex : se servir d'un bouchon de pot plasma comme support)
- Plonger le flacon de prélèvement tout en maintenant son goulot incliné vers le bas et en évitant la perte des grains de thiosulfate.
- Pivoter le flacon de prélèvement, goulot vers le haut pour qu'il se remplisse et laisser un volume d'air d'environ 1/10 du volume du flacon.
- Sortir le flacon de l'eau, le retirer des griffes de la perche, le fermer et agiter de façon à neutraliser le chlore avec la solution de thiosulfate.

10.1.4. Prélèvement d'eau pour les analyses chimiques

- Placer le flacon de prélèvement fermé dans les griffes de la perche.
- Ouvrir le flacon de prélèvement en tenant le bouchon par sa partie supérieure et garder, si possible, le bouchon en main pendant toute la durée du prélèvement en ayant soin de maintenir sa partie intérieure orientée vers le bas. Néanmoins, le bouchon peut être déposé, partie intérieure orientée vers le bas, en un endroit propre (ex : se servir d'un bouchon de pot de plasma comme support).
- Plonger le flacon de prélèvement tout en maintenant son goulot incliné vers le bas.
- Pivoter le flacon de prélèvement, goulot vers le haut pour qu'il se remplisse.
- Sortir le flacon de l'eau, le retirer des griffes de la perche et le fermer.

ORIGINAL 2014

10.1.5. Prélèvement d'eau pour les analyses « in situ »

- Ouvrir le flacon de prélèvement en tenant le bouchon par sa partie supérieure et garder, si possible, le bouchon en main pendant toute la durée du prélèvement en ayant soin de maintenir sa partie intérieure orientée vers le bas. Néanmoins, le bouchon peut être déposé, partie intérieure orientée vers le bas, en un endroit propre (ex : se servir d'un bouchon de pot de plasma comme support).
- Plonger le flacon de prélèvement tout en maintenant son goulot incliné vers le bas.
- Pivoter le flacon de prélèvement, goulot vers le haut pour qu'il se remplisse.
- Réaliser les mesures sur place suivantes à l'aide d'appareils de mesure portable :
    - pH
    - Température
    - Chlore libre
    - Chlore total
    - Chlore combiné
    - Transparence (vision de fond)
    - Couleur (si colorée noter la couleur)
    - Pollution visible
- Se référer aux méthodes d'essai sur place établies.
- Compléter le rapport d'analyse d'eaux de piscine avec les résultats de mesure sur place.

ORIGINAL 2014

10.2. PRELEVEMENT PAR IMMERSION A LA MAIN

10.2.1. Prélèvement d'eau pour les analyses bactériologiques

- Déposer verticalement le flacon stérile emballé près de l'endroit de prélèvement.
- Frotter la zone de l'emballage à découper et les ciseaux avec une lingette désinfectante.
- Tenir l'emballage par le haut à l'aide d'une main, pendant son ouverture avec les ciseaux.
- Retirer ensuite un gant à usage unique de son emballage et enfiler le à la main qui devra plonger dans l'eau. Il devra couvrir l'avant bras au mieux. Ce gant sera enfilé de façon à éviter le risque de contamination des 30 premiers centimètres.
- Tenir le flacon toujours dans son emballage avec la main non gantée. La partie supérieure du sachet plastique étant légèrement repliée vers l'extérieur et le bas, le flacon est alors enlevé partiellement de son emballage avec la main gantée en le tenant par le bouchon qui peut alors être desserré).
- Maintenir le flacon par la main gantée et le débarrasser de son emballage. Enlever le capuchon et le tenir dans la main non gantée en prenant soin de ne pas contaminer le côté interne.
- Introduire rapidement le flacon horizontalement (afin d'éviter le déversement du thiosulfate) dans l'eau jusqu'à une profondeur de 10 à 20 cm. Le redresser ensuite jusqu'à ce que le volume d'eau recueilli soit suffisant. Retirer le flacon rapidement de l'eau dès qu'il est plein. Le flacon ne doit pas être nécessairement totalement rempli ; en effet la présence d'une poche d'air (de la hauteur d'un bouchon) entre la surface du liquide et le bouchon permet une meilleure homogénéisation avant analyse.
- Refermer et annoter le flacon (référence de l'échantillon : référence de l'établissement et du bassin, si nécessaire) et replacer le dans l'emballage avant dépôt dans le frigo box spécifique.

10.2.2. Prélèvement d'eau pour les analyses chimiques

- La main toujours gantée, annoter les flacons en plastique pour les chlorures (250 ml), pour l'oxydabilité à chaud (250 ml) et pour l'urée (100ml) avec la référence de référence de l'échantillon.
- Oter le bouchon de chaque flacon (il peut être déposé sur une surface plane avec l'ouverture vers le haut).
- Plonger chaque flacon est sous la surface d'eau, dans les 30 premiers centimètres. Le flacon est ensuite refermé soigneusement.

10.2.3. Prélèvement d'eau pour les analyses « in situ »

Un flacon d'au moins 250 ml, ouvert est plongé sous la surface d'eau jusqu'à remplissage. Si le flacon a déjà été utilisé dans la même journée pour des prélèvements d'eau pour les paramètres, il doit être rincé trois fois avec l'eau à analyser avant utilisation.
Cet échantillon est utilisé, dans les 20 minutes qui suivent, pour effectuer les analyses de chlore, pH, acide isocyanurique (si opportun). Ces tests se feront de préférence sur une surface plane et à l'abri des éclaboussures.

Si nécessaire, la température de l'eau sera mesurée directement dans le bassin.

ORIGINAL 2014

E-IV-3V1 – DÉNOMBREMENT DES MICRO-ORGANISMES REVIVIFIABLES À 22 °C ET/OU 36 °C. INCORPORATION EN GELOSE.

1. Objet

Cette procédure a pour objet de décrire une méthode visant à dénombrer non spécifiquement les micro-organismes revivifiables présents dans un échantillon d'eau.

2. Domaine d'application

Cette procédure s'applique à tous les types d'eau (y compris les eaux de piscine).

ORIGINAL 2014

3. Définitions et abréviations

Microorganismes revivifiables : totalité des bactéries, levures et moisissures capables de former des colonies dans un milieu de culture spécifié dans les conditions d'essai décrites. (Source : ISO 6222:1999)

4. Principe

Ensemencement en profondeur d'une gélose nutritive non sélective dans des boîtes de Petri, par incorporation d'un ml d'échantillon initial ou de dilutions de celui-ci
Après incubation à 36 °C pendant 44 h et/ou à 22 °C pendant 68 h, dénombrement de toutes les colonies.

5. Conditionnement et conservation de l'échantillon

Les échantillons d'eau doivent être prélevés dans des bouteilles ou des flacons stériles à usage unique (avec inhibiteur de désinfectant si nécessaire)
Les flacons contenant les échantillons destinés aux analyses microbiologiques ne sont pas remplis entièrement.

Les échantillons sont conservés jusqu'au moment de l'analyse entre 2° et 5 °C.

L'échantillon doit être analysé de préférence dans les 8 heures qui suivent le prélèvement, sinon impérativement dans les 24 h.

6. Appareillages et matériels utilisés

6.1 Appareillage

- Hotte à flux laminaire
- Incubateur à 22 ± 2°C
- Incubateur à 36 ± 2°C
- Colony counter
- Sonde PT100 vérifiée annuellement.
- Bain-marie à 45 ± 1°C

6.2 Petit matériel

- Bouteille en verre : préparation du milieu de culture.
- Petit matériel stérile à usage unique : pipettes individuelles stériles en plastique de 2 ml, boîtes de pétri de 90 mm de diamètre, pots de 50 ml ou tubes de 12 ml en plastique pour les éventuelles dilutions.

7. Réactifs utilisés

- Gélose à l'extrait de levure
- Solution Ringer ¼ (diluant).

8. Mode opératoire

8.1 Prise d'essai

La prise d'essai, ou d'une dilution de l'échantillon est généralement de 1 ml mais peut augmenter jusqu'à 5 ml en adaptant la quantité et la concentration du milieu utilisé.
La dilution doit être si possible choisie de telle sorte que le nombre présumé de colonies formées sur les boîtes de 90 mm de diamètre soit compris entre 15 et 300.

8.2 Ensemencement

L'incorporation des échantillons et/ou de leurs dilutions à la gélose s'effectue dans des conditions d'asepsie sous hotte à flux laminaire ou près d'une flamme de bec Bunsen.

- Maintenir la gélose en fusion dans un bain marie jusqu'à stabilisation de sa température à 45 ± 1° C, pendant un maximum de 4 h avant utilisation.
- Après mélange vigoureux de l'échantillon, répartir les prises d'essai dans les boîtes de Pétri à l'aide une pipette à usage unique stérile.
- Verser la gélose liquide de manière à obtenir une couche d'un minimum de 3 à 4 mm d'épaisseur. (Cette opération doit se faire dans les dix minutes qui suivent l'inoculation de la boîte).

ORIGINAL 2014

- Homogénéiser ce mélange par des mouvements circulaires (3 à gauche et 3 à droite) et linéaires (3 avant - arrière et 3 gauche - droite) en évitant la formation de bulles et sans mouiller les bords supérieurs de la boîte.
- Laisser à refroidir les boîtes sur une surface plane.

8.3 Incubation

- Après solidification de la gélose, retourner les boîtes et les placer dans l'incubateur
- Laisser incuber dans l'enceinte réglée à 22 ± 2°C pendant 68 ± 4 heures ou à 36 ± 2°C pendant 44 ± 4 heures.

8.4 Lecture.

- Examiner les boîtes dès la fin de l'incubation sinon les conserver à environ 4 °C pendant 24 heures au maximum.
- Lorsque plusieurs dilutions sont effectuées, dénombrer les colonies sur la gélose présentant entre 15 et 300 colonies.
- Comptabiliser toutes les colonies présentes à l'aide d'un colony counter.
- Ecarter les boîtes qui ne présentent pas de colonies bien séparées sur au moins la moitié de la surface.

ORIGINAL 2014

9. Paramètres qualité

Le contrôle de qualité des essais sera réalisé par :

- Le contrôle des conditions d'essais : délais entre le prélèvement et l'analyse, condition de conservation des échantillons, qualité des milieux de culture, surveillance des températures d'incubation,…
- La vérification de l'asepsie de l'environnement : témoin (gélose ensemencée avec 1ml de diluant et incubée parallèlement aux échantillons)
- Le contrôle externe par la participation à des exercices interlaboratoires

10. Calcul et expression de résultats

Le calcul des résultats s'effectue par la moyenne des dénombrements réalisés sur les répliques de la dilution retenue.
Le résultat s'exprime en nombre de germes dans le volume de référence (généralement 1 ml).
Lorsque aucune colonie n'apparaît dans la gélose inoculée avec le volume d'essai de l'échantillon non dilué, le résultat est exprimé sous la forme de « non détecté dans 1 ml ».
En présence de plus de 300 colonies sur les boîtes inoculées avec la plus haute dilution inoculée, les résultats sont exprimés qu'approximativement.

11. Sécurité

Sans objet dans cette procédure.

12. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- une référence à la présente méthode de la Région wallonne et éventuellement à la méthode normalisée
- l'identification complète de l'échantillon
- la date de prélèvement ; ceci qu'il ait été réalisé par le laboratoire ou par le client
- la date d'analyse
- les résultats du dénombrement conformément au point 10
- les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

13. Références

EN ISO 6222 : 1999 : Qualité de l'eau - Dénombrement des microorganismes revivifiables - comptage des colonies par ensemencement dans un milieu de culture nutritif gélosé

ISO 8199 : 2005 – Water quality -- General guidance on the enumeration of micro-organisms by culture

ORIGINAL 2014

E-IV-4V1 – RECHERCHE ET DÉNOMBREMENT DES ENTEROCOQUES INTESTINAUX. FILTRATION SUR MEMBRANE

1. Objet

Cette procédure décrit la méthode de recherche et de dénombrement des entérocoques intestinaux dans les eaux après filtration sur membrane.

2. Domaine d'application

Cette procédure s'applique à tous les types d'eaux (y compris les eaux de piscines), excepté lorsque de grandes quantités de matières susceptibles d'être retenues par la membrane sont présentes.

3. Définitions et abréviations

Entérocoques intestinaux présumés: bactéries (appelée aussi Streptocoques fécaux) se développant en 44 ± 4 heures à 36 °C, sur milieu sélectif à l'azoture de sodium en donnant des colonies typiques réduisant le chlorure de triphényl-2,3,5 tétrazolium

Entérocoques intestinaux: bactéries se développant en en 44 ± 4 heures à 36 °C, sur milieu sélectif à l'azoture de sodium en donnant des colonies typiques réduisant le chlorure de triphényl-2,3,5 tétrazolium qui, de plus donnent une réaction positive sur une gélose biliée à l'esculine et une réponse négative au test catalase.

4. Principe

Le dénombrement des entérocoques intestinaux est basé sur la filtration de volumes donnés d'échantillon d'eau sur une membrane filtrante de porosité 0,45 µm.
Les membranes sont placées sur un milieu sélectif contenant de l'azoture de Na et du chlorure de triphényl-2,3,5 tétrazolium et mises à incuber.
Après incubation toutes les colonies présentant une coloration rouge, marron ou rose sont dénombrées comme entérocoques intestinaux présumés.
Les colonies ayant une réaction positive à l'esculine sont considérées comme entérocoques intestinaux.
N.B.: En cas de doute, une réaction négative au test à la catalase confirmera la présence d'Entérocoques intestinaux.

ORIGINAL 2014

5. Conditionnement et conservation de l'échantillon

Les échantillons d'eau doivent être prélevés dans des bouteilles ou des flacons stériles à usage unique (avec inhibiteur de désinfectant si nécessaire)
Les flacons contenant les échantillons destinés aux analyses microbiologiques ne sont pas remplis entièrement.

Les échantillons sont conservés jusqu' au moment de l' analyse entre 2 et 5 °C.

L'échantillon doit être analysé de préférence dans les 8 heures qui suivent le prélèvement, sinon impérativement dans les 24 h.

6. Appareillages et matériels utilisés

6.1 Appareillage

- Rampe de filtration
- Autoclave
- Incubateur à 36 ± 2 °C
- incubateur à 44 ± 0.5 °C
- Compteur de colonies.

6.2 Petit matériel

- Bouteille en verre : préparation du milieu de culture.
- Petit matériel stérile à usage unique : pipettes individuelles stériles en plastique de 2 et 10 ml, boîtes de pétri de 50 mm de diamètre, pots de 50 ml ou tubes de 20 ml en plastique pour les éventuelles dilutions.
- Des membranes filtrantes stériles de 0.45 µm de porosité, d'environ 47 mm de diamètre

ORIGINAL 2014

7. Réactifs utilisés

- **Milieu de culture sélectif " SLANETZ et BARTLEY "**
  La présence d'azide limite la croissance de la flore secondaire.Les entérocoques intestinaux réduisent le TTC en formazan qui les colore en rouge.
- **Gélose biliée à l'esculine et à l'azoture**
  Alors que la prolifération des entérocoques tolérant la bile n'est pas ralentie, la croissance des bactéries secondaires gram-positives est largement inhibée par les sels biliaires. Les entérocoques intestinaux hydrolysent le glucoside d'esculine en glucose et en esculine. Cette dernière forme avec les ions Fer(III), un complexe vert olive à noir.
- **Solution Ringer ¼** stérile utilisée pour des dilutions éventuelles
- **Eau oxygénée** si le test catalase s' avère nécessaire

8. Mode opératoire

8.1 Préparation de l'échantillon

Le nombre de dilutions réalisées et le choix des volumes à filtrer varient en fonction du type d' échantillons analysé.
A titre indicatif :

- Pour les échantillons ponctuels d'eaux de surface normales, les volumes de l'échantillon filtrés sont de 100 ml, 10 ml, 1 ml.
- Dans le cas de cours d'eau réputés pour leur forte pollution, la dilution 0.1 ml complétera la série.
- Pour les eaux de distribution, eaux de piscine, les eaux souterraines et les eaux alimentaires, le volume filtré est de 100 ml.

8.2 Filtration

Les prises d' essai sont filtrées sur membranes de 0.45 µm de porosité.

8.3 Incubation.

Les boîtes ensemencées sont retournées et disposées en piles (max 6 boîtes) et mises à incuber pendant 44 ± 4 h dans un incubateur réglé à 36 ± 2 °C.

8.4 Lecture.

Sur le milieu SLANEZT ET BARTLEY, les colonies caractéristiques considérées comme entérocoques intestinaux sont de couleur rose, rouge ou marron pouvant être limitées à leur centre ou à leur périphérie par une zone plus claire.

8.5 Confirmation

Après dénombrement, la totalité des entérocoques intestinaux présumés sont confirmés par transfert de la membrane sur une gélose biliée à l'esculine et à l'azoture préalablement chauffée à 44 °C et incubation d' environ 2 h à 44 ± 0.5 °C.
La gélose prend une coloration noirâtre autour et/ou sous les colonies des entérocoques intestinaux

N.B. : En cas de réaction douteuse, le test à la catalase sera utilisé pour confirmer ou infirmer la présence d'entérocoques intestinaux.

9. Paramètres qualité

Le contrôle de qualité des essais sera réalisé par :

- Le contrôle des conditions d' essais : délais entre le prélèvement et l' analyse, condition de conservation des échantillons, qualité des milieux de culture, surveillance des températures d' incubation,…
- La vérification de l'asepsie de l'environnement : témoin (filtration de 100ml de solution de Ringer et incubation parallèlement aux échantillons)

ORIGINAL 2014

- Utilisation de Matériaux de référence quantifiés et établissement d'une carte de contrôle
- Le contrôle externe par la participation à des exercices interlaboratoires

10. Calcul et expression de résultats

Les résultats sont généralement exprimés en nombre d'entérocoques intestinaux par 100 ml.

11. Sécurité

Sans objet dans cette procédure.

12. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- une référence à la présente méthode de la Région wallonne et éventuellement à la méthode normalisée
- l'identification complète de l'échantillon
- la date de prélèvement ; ceci qu'il ait été réalisé par le laboratoire ou par le client
- la date d'analyse
- les résultats du dénombrement conformément au point 10
- les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

13. Références

ISO 7899-2 : 2000: Qualité de l'eau - Recherche et dénombrement des entérocoques intestinaux- partie 2 : méthode par filtration sur membrane.

ISO 8199 : 2005 - Water quality -- General guidance on the enumeration of micro-organisms by culture

ORIGINAL 2014

E-IV-5V1 – RECHERCHE ET DÉNOMBREMENT DES STAPHYLOCOQUES PATHOGÈNES *et/ ou* Staphylococcus *aureus*. FILTRATION SUR MEMBRANE

1. Objet

Cette procédure décrit la méthode de recherche et de dénombrement des staphylocoques pathogènes et / ou de *Staphylococcus aureus* dans un échantillon d'eau par filtration sur membrane.

2. Domaine d'application

Cette procédure s'applique aux eaux de boisson et de distribution, aux eaux souterraines, aux eaux de piscines, excepté lorsque d'autres organismes en trop grand nombre interfèrent avec la croissance des staphylocoques.

ORIGINAL 2014

3. Définitions et abréviations

Staphylocoques pathogènes : bactéries capables de former des colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques à la surface d' un milieu de culture sélectif et donnant une réaction positive à la coagulase.

Staphylococcus aureus: bactéries capables de former des colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques à la surface d' un milieu de culture sélectif contenant du tellurite de potassium et du chlorure de lithium, donnant une réaction fortement positive à la coagulase, possédant une désoxyribonucléase et agglutinant en présence d' un anticorps spécifique.

4. Principe

Le dénombrement des staphylocoques est basé sur la filtration de volumes donnés de l'échantillon sur une membrane filtrante de porosité 0.45 µm.
Les membranes sont alors placées sur un milieu sélectif contenant du tellurite de potassium et du chlorure de lithium et sont mises à incuber.
Les types de colonies caractéristiques sont confirmés par le test de la coagulase. Les colonies suspectées d' être *Staphylococcus aureus* subissent un test de séro-agglutination.

5. Conditionnement et conservation de l'échantillon

Les échantillons d'eau doivent être prélevés dans des bouteilles ou des flacons stériles à usage unique (avec inhibiteur de désinfectant si nécessaire)
Les flacons contenant les échantillons destinés aux analyses microbiologiques ne sont pas remplis entièrement.

Les échantillons sont conservés jusqu'au moment de l'analyse entre 2 et 5 °C.
L'échantillon doit être analysé de préférence dans les 8 heures qui suivent le prélèvement, sinon impérativement dans les 24 h.

6. Appareillages et matériels utilisés

6.1 Appareillage

- Rampe de filtration
- Autoclave
- Incubateur à 37 ± 1 °C
- Colony counter

6.2 Petit matériel

- Bouteille en verre : préparation du milieu de culture.
- Petit matériel stérile à usage unique : pipettes individuelles stériles en plastique de 2 et 10 ml, boîtes de pétri de 50 mm de diamètre, pots de 50 ml ou tubes de 20 ml en plastique pour les éventuelles dilutions.
- Des membranes filtrantes stériles de 0.45 µm de porosité, d'environ 47 mm de diamètre

7. Réactifs utilisés

7.1 Milieu de culture Baird-Parker

Le milieu contient du chlorure de lithium, du tellurite et une forte concentration de glycine pour inhiber la flore secondaire. Par contre, le pyruvate et la glycine agissent comme accélérateurs sélectifs de la croissance pour les staphylocoques.
Sur ce milieu, les colonies des staphylocoques donnent naissance par lipolyse et protéolyse à des halos clairs. La réduction du tellurite en tellure développe une colonie noire.

7.2 Bouillon cœur-cervelle :

Ce bouillon est utilisé pour la culture des staphylocoques pour le test coagulase.

7.3 Diluant

Pour des dilutions éventuelles, la solution de Ringer ¼ stérile est utilisée.

7.4 Plasma de lapin :

Le plasma de lapin permet de tester l'activité de la coagulase des colonies suspectes apparues sur le milieu sélectif

ORIGINAL 2014

7.5 Slidex Staph-Kit :

Slidex Staph kit est un test d'agglutination de particules de latex et d'hématies pour l'identification des souches de *Staphylococcus aureus* qui possèdent le facteur d'affinité pour le fibrinogène et /ou d'autres antigènes caractéristiques. Le kit permet l'identification rapide des souches de *Staphylococcus aureus*.

8. Mode opératoire

8.1 Préparation de l'échantillon

Le nombre de dilutions réalisées et le choix des volumes à filtrer varient en fonction du type d'échantillon analysé.
A titre indicatif, pour les eaux de distribution, les eaux de piscines, la filtration est effectuée pour 10 et 100 ml d'échantillons. Lorsqu'une pollution est suspectée un aliquote de 1 ml est également filtré.

8.2 Filtration

Les prises d'essai sont filtrées sur membranes de 0.45 µm de porosité.

8.3 Incubation.

Les membranes placées sur milieu Baird-Parker. Les boîtes ensemencées sont retournées et disposées en piles (max 6 boîtes) sont mises à incuber dans un incubateur réglé à 37 ± 1 °C pendant 48 ± 4 h.

8.4 Lecture.

Sur Baird-Parker, les colonies caractéristiques présentent un halo brillant sur la membrane et un halo dans la gélose, (généralement une zone plus opaque sous la colonie puis un cercle clair entouré par une tranche opaque, visible lorsque la membrane est légèrement soulevée).
Différents types de colonies peuvent être observés selon que la couleur, l'aspect et la forme varient (halo + ou - marqué, colonie grise ou noire, mate ou brillante, ronde ou polygonale...).Ces différents types sont dénombrés séparément.
Pour chaque type de colonie, deux colonies isolées sont retenues pour le test de la coagulase, et la séro-agglutination.

8.5 Confirmation

Des témoins positif et négatif sont réalisés pour chaque test de confirmation.

ORIGINAL 2014

8.5.1 Préparation d'une culture pure.

Avant la mise en œuvre des tests de confirmation, il est parfois nécessaire de ré-isoler une colonie afin d'obtenir une culture pure.

Ces isolements sont effectués sur une gélose de Baird-Parker coulée en boîtes de 90 mm de diamètre. Après ensemencement, ces boîtes sont incubées à 37 ± 1 °C pendant 24 ± 4 h.

8.5.2 Test de la coagulase.

A partir des colonies isolées ou des isolements, la colonie est prélevée et ensemencée dans un bouillon Cœur-cervelle à l'aide d'une pipette stérile de 2 ml ou d'une anse stérile. Une fois ensemencés les bouillons sont incubés à 37 ± 1°C durant 24 ± 2 h.

Après incubation, une aliquote de bouillon est transférée dans un tube contenant du plasma de lapin stérile pour la mise en évidence de l'activité coagulase. (Selon les prescriptions du fabricant). Le mélange "bouillon cœur-cervelle + plasma" est incubé à 37 ± 1 °C pendant maximum 24 h.
Après 4h à 6 h, les tubes sont examinés une première fois afin de vérifier une éventuelle coagulation du plasma. Si la réaction est négative l'incubation est poursuivie et les tubes sont à nouveau examinés au bout des 24 ± 4 h.
La réaction est positive lorsque le coagulum occupe plus de la moitié du volume initialement occupé par le liquide.

A titre de contrôle, un même aliquote du bouillon cœur-cervelle stérile est ajouté à la quantité recommandée de plasma de lapin et est incubé sans ensemencement. Pour que la réaction soit valable, le plasma du tube témoin ne devra montrer aucun signe de coagulation.

8.5.3 Test sérologique.

Lorsque *Staphyploccoccus aureus* est spécifiquement recherché, un test d'agglutination est effectué pour les cultures pures qui se sont révélées positives au test coagulase. Ce test est effectué suivant les indications du fabricant.

9. Paramètres qualité

Le contrôle de qualité des essais sera réalisé par :

- Le contrôle des conditions d'essais : délais entre le prélèvement et l'analyse, condition de conservation des échantillons, qualité des milieux de culture, surveillance des températures d'incubation,…
- La vérification de l'asepsie de l'environnement : témoin (filtration de 100 ml de solution de Ringer et incubation parallèlement aux échantillons)
- Utilisation de Matériaux de référence quantifiés et établissement d'une carte de contrôle
- Le contrôle externe par la participation à des exercices interlaboratoires

ORIGINAL 2014

10. Calcul et expression de résultats

Additionner le nombre de chaque type de colonies observées pour lesquels les tests de confirmation sont positifs.
Les résultats sont normalement exprimés en nombre de staphylocoques pathogènes ou *Staphylococcus aureus* par 100 ml.

11. Sécurité

Sans objet dans cette procédure.

12. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- une référence à la présente méthode de la Région wallonne et éventuellement à la méthode normalisée
- l'identification complète de l'échantillon
- la date de prélèvement ; ceci qu'il ait été réalisé par le laboratoire ou par le client
- la date d'analyse
- les résultats du dénombrement conformément au point 10
- les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

13. Références

AFNOR XP T90-412 : 2006

ISO 8199 :2005 – Water quality -- General guidance on the enumeration of micro-organisms by culture

ORIGINAL 2014

E-IV-6V1 – RECHERCHE ET DÉNOMBREMENT DE *Pseudomonas aeruginosa*. FILTRATION SUR MEMBRANE

1. Objet

Cette procédure décrit la méthode de recherche et de dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* dans les eaux après filtration sur membrane.

2. Domaine d'application

Cette procédure s'applique à tous les types d'eaux (y compris les eaux de piscines), excepté lorsque de grandes quantités de matières susceptibles d'être retenues par la membrane sont présentes.

3. Définitions et abréviations

Pseudomonas aeruginosa : bactéries se développant sur des milieux sélectifs contenant du cétrimide et produisant de la pyocyanine ou bactéries se développant sur des milieux sélectifs contenant du cétrimide, oxydase positive donnant lieu à fluorescence sous rayonnement ultraviolet (360 ± 20 nm) et capables généralement de produire de l'ammoniac à partir d'acétamide. Ils hydrolysent la caséine.

4. Principe

Le dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* est basé sur la filtration de volumes donnés d'échantillon d'eau sur une membrane filtrante de porosité 0.45 µm.
Les membranes sont placées sur un milieu sélectif approprié contenant du cétrimide et incubées à 36 ± 2 °C pendant 44 ± 4 h.
La confirmation est basée sur les caractéristiques de *Pseudomonas aeruginosa*: les colonies produisant de la pyocyanine sont considérées comme *Pseudomonas aeruginosa* confirmées mais les autres colonies fluorescentes ou de couleur brun rougeâtre nécessitent, après repiquage sur milieu nutritif, les confirmations suivantes : oxydase, la production de pigment fluorescent, l'aptitude de produire généralement de l'ammoniac à partir d'acétamide, hydrolyse de la caséine.

5. Conditionnement et conservation de l'échantillon

Les échantillons d'eau doivent être prélevés dans des bouteilles ou des flacons stériles à usage unique (avec inhibiteur de désinfectant si nécessaire).
Les flacons contenant les échantillons destinés aux analyses microbiologiques ne sont pas remplis entièrement.

ORIGINAL 2014

Les échantillons sont conservés jusqu'au moment de l'analyse entre 2 et 5 °C.

L'échantillon doit être analysé de préférence dans les 8 heures qui suivent le prélèvement, sinon impérativement dans les 24 h.

6. Appareillages et matériels utilisés

6.1 Appareillage

- Rampe de filtration
- Autoclave
- Incubateur à 36 ± 2 °C
- Lampe à ultraviolet (360 ± 20 nm)
- Compteur de colonies.

6.2 Petit matériel

- Bouteille en verre : préparation du milieu de culture.
- Petit matériel stérile à usage unique : pipettes individuelles stériles en plastique de 2 et 10 ml, boîtes de pétri de 50 mm de diamètre, pots de 50 ml ou tubes de 20 ml en plastique pour les éventuelles dilutions.
- Des membranes filtrantes stériles de 0.45 µm de porosité, d'environ 47 mm de diamètre

7. Réactifs utilisés

- **Milieu de culture sélectif " Base gélosée pour Pseudomonas » :** Les colonies pigmentées (vert –bleu) (pyocyanine) sont considérées comme *Pseudomonas aeruginosa* confirmées, les autres colonies fluorescentes sous UV ou de couleur brun-rougeâtre sont à confirmer.
- **Milieu de confirmation : « King b » :** Milieu permettant de mettre en évidence l'aptitude des *Pseudomonas aeruginosa* à produire un pigment fluorescent sous UV.
- **Milieu de confirmation : Bouillon d'acétamide » :** Bouillon permettant de mettre en évidence l'aptitude des *Pseudomonas aeruginosa* à produire de l'ammoniac à partir d'acétamide, révélé par le réactif de Nessler.
- **Réactif Oxydase :** Réactif permettant de mettre en évidence l'enzyme cytochrome oxydase présent notamment chez les Pseudomonas.
- **Diluant :** Pour des dilutions éventuelles, la solution de Ringer ¼ stérile est utilisée.
- **Milieu de confirmation au lait et au cétrimide :** Milieu permettant de révéler l'hydrolyse de la caséine

ORIGINAL 2014

8. Mode opératoire

8.1 Préparation de l'échantillon

Le nombre de dilutions réalisées et le choix des volumes à filtrer varient en fonction du type d'échantillon analysé.

A titre indicatif :

- Pour les échantillons ponctuels d'eaux contaminées, les volumes de l'échantillon filtrés sont de 100 ml, 10 ml, 1 ml.
- Pour les eaux de distribution, eaux de piscine, les eaux souterraines et les eaux alimentaires, le volume filtré est de 100 ml.

Dans le cas où une pollution importante est suspectée le nombre de dilutions est augmenté.

8.2 Filtration

Les prises d'essai sont filtrées sur membranes de 0.45 µm de porosité.

8.3 Incubation.

Les boîtes ensemencées sont retournées et disposées en piles (max 6 boîtes) et mises à incuber dans un incubateur réglé à 36 ± 2 °C pendant 44 ± 4 h.

8.4 Lecture.

Une première lecture est effectuée après 21 ± 3 h. Si la membrane montre une croissance importante, un premier dénombrement a lieu. Les boîtes sont ensuite remises à incuber jusqu'au terme des 44 ± 4 h et un second dénombrement est alors réalisé. Les confirmations débutent à ce moment.

- Sur le milieu avec Cétrimide, les colonies caractéristiques pigmentées (bleu-vert) sont considérées comme *Pseudomonas aeruginosa* confirmés et ne doivent pas être soumises aux tests de confirmation.
- Les colonies fluorescentes non bleu-vert sont considérées comme des *Pseudomonas aeruginosa* présumés et doivent être confirmées par les tests de production d'ammoniaque à partir d'acétamide et l'hydrolyse de la caséine.
- Les colonies brun rouge sont considérées aussi comme des *Pseudomonas aeruginosa* présumés, elles doivent être confirmées par le test à l'oxydase, la fluorescence sur milieu King's B, la production d'ammoniac à partir d'acétamide et l'hydrolyse de la caséine.

8.5 Confirmation

La confirmation concerne 2 types de colonies :

- les colonies fluorescentes qui ne présentent pas une coloration bleu-vert
- les colonies qui présentent une coloration 'brun rougeâtre'.

Les colonies qui ne sont ni bleu –vert, ni brun rougeâtre et qui ne fluorescent pas ne doivent pas être confirmées.

Il convient d'éviter une exposition prolongée aux UV car les bactéries peuvent être tuées et incapables de se développer sur le milieu de confirmation.

ORIGINAL 2014

8.5.1 Isolement

Si possible, 10 colonies par type morphologique sont à confirmer.

Si les colonies ne sont pas bien isolées, les colonies à confirmer sont isolées sur la Gélose nutritive et incubées à 36 ± 2 °C pendant 22 ± 2 h. Pour les colonies brun rouge, elles sont d'office isolées sur gélose nutritive en vue d'entreprendre les tests de confirmation.

Après vérification de la pureté de la colonie, les tests de confirmation peuvent alors être entrepris.

8.5.2 Essai oxydase

Pour les colonies brun-rougeâtre, le test d'oxydase est en premier lieu effectué à partir de l'isolement. A l'aide d'une anse en plastique, une partie de la culture est étalée sur la bandelette « Bactident oxidase », si la zone ensemencée de la bandelette vire au rose-violet dans les 10 sec, la réaction est considérée comme étant positive.

Une réponse positive est nécessaire pour poursuivre les prochains tests : acétamide et fluorescence sur King B.

8.5.3 Fluorescence sur milieu King B

Les colonies brun rougeâtre isolées sur la gélose nutritive et oxydase positive subissent ce test.
Une partie de la culture est étalée sur la gélose en pente King B à l'aide d'une anse ; cette gélose est ensuite incubée pendant 5 jours maximum (en général 24 h suffisent) à une température de 36 ± 2 °C. Examiner la croissance sous lumière UV et noter la présence de toute fluorescence. Un isolement est considéré comme positif si une fluorescence apparaît dans les 5 jours.

8.5.4 Production d'ammoniaque à partir d'acétamide

Les colonies brun rougeâtre positives pour l'oxydase et les colonies fluorescentes non bleu vert doivent être contrôlées pour la production d'ammoniaque à partir d'acétamide.

Un tube de bouillon d'acétamide est ensemencé à l'aide de la culture isolée et est incubé à 36 ± 2 °C pendant 22 ± 2 h. Après incubation, deux gouttes de réactif de Nessler sont ajoutées au bouillon ; si le test est positif une coloration allant du jaune au rouge brique (en fonction de la concentration en ammoniaque) apparaît.

8.5.5 Hydrolyse de la caséine

Les colonies fluorescentes ne présentant pas une couleur bleu-vert et les colonies brun rougeâtre doivent être contrôlées pour l'hydrolyse de la caséine.

Deux colonies par type sont isolées sur une gélose au lait et au cétrimide, et incubées à 36 ± 2 °C pendant 22 ± 2 h. L'apparition de halos translucides au niveau des colonies indique l'hydrolyse de la caséine et confirme la présence de *Pseudomonas aeruginosa*

NB : Des témoins positif et négatif sont réalisés pour chaque test de confirmation.

ORIGINAL 2014

9. Paramètres qualité

Le contrôle de qualité des essais sera réalisé par :

- Le contrôle des conditions d'essais : délais entre le prélèvement et l'analyse, condition de conservation des échantillons, qualité des milieux de culture, surveillance des températures d'incubation,…
- La vérification de l'asepsie de l'environnement : témoin (filtration de 100ml de solution de Ringer et incubation parallèlement aux échantillons)
- Utilisation de Matériaux de référence quantifiés et établissement d'une carte de contrôle
- Le contrôle externe par la participation à des exercices interlaboratoires

10. Calcul et expression de résultats

Le nombre de *Pseudomonas aeruginosa* est déterminé en tenant compte:

- Du nombre de *Pseudomonas aeruginosa* se présentant sous forme de colonies bleu-vert
- Du taux de confirmation obtenu à partir des colonies fluorescentes (hydrolyse de la caséine positive, et généralement acétamide positive) et des colonies de coloration brun-rougeâtre (cf test spécifique)
- Du volume d'échantillon ou de la dilution analysée

Les résultats sont généralement exprimés en nombre de *Pseudomonas aeruginosa* par 100 ml.

11. Sécurité

Sans objet dans cette procédure.

12. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- une référence à la présente méthode de la Région wallonne et éventuellement à la méthode normalisée
- l'identification complète de l'échantillon
- la date de prélèvement ; ceci qu'il ait été réalisé par le laboratoire ou par le client
- la date d'analyse
- les résultats du dénombrement conformément au point 10
- les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

ORIGINAL 2014

13. Références

ISO 16266: 2006 – Water Quality- Detection and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa* – Method by membrane filtration

ISO 8199 : 2005 – Water quality -- General guidance on the enumeration of micro-organisms by culture

ORIGINAL 2014

E-V-1v1-Détermination de l'inhibition de la croissance des algues d'eau douce avec des algues vertes unicellulaires

1. Préambule

Il existe deux méthodes de détermination de l'inhibition de croissance des algues d'eau douce : une méthode dite « conventionnelle » qui utilise des souches d'algues monospécifiques mises en culture pendant plusieurs générations et la méthode dite « en kit » qui utilise des microalgues immobilisées dans une matrice spéciale qui peuvent être « désimmobilisées » pour l'essai et directement utilisées. Cette dernière méthode est a priori plus facile à mettre en œuvre puisqu'elle ne nécessite pas le maintien de cultures d'algues.

2. Objet

Cette procédure décrit une méthode relative à la détermination de l'inhibition de croissance des algues d'eau douce avec des algues vertes unicellulaires, par exemple de l'espèce *Pseudokirchneriella subcapitata* (anciennement *Selenastrum capricornutum*), par des substances solubles dans l'eau.

3. Domaine d'application

Cette procédure s'applique à différents types d'échantillons d'eaux et d'extraits aqueux : solutions aqueuses de substances pures, effluents urbains et industriels, éluats, eaux interstitielles, eaux douces (de surface ou souterraines).

4. Définitions et abréviations

Concentration cellulaire x : nombre de cellules par unité de volume de milieu. La densité cellulaire est exprimée en nombre de cellules par millilitre.

Taux de croissance spécifique μ : taux proportionnel d'augmentation de la concentration cellulaire par unité de temps :

$$\mu = \frac{1}{x}\frac{\mathrm{d}x}{\mathrm{d}t}$$

où :

x est la concentration cellulaire, exprimée en nombre de cellules par millilitre.
t est le temps, exprimé en jours.

NOTE : le taux de croissance spécifique est exprimé en jours^{-1}.

Milieu de croissance : mélange d'eau et de substances nutritives, utilisé pour les pré-cultures et les solutions témoins, dans lequel les cellules algales seront incubées.

Milieu d'essai : mélange d'eau, de substances nutritives et d'échantillon pour essai.

Lot d'essai : milieu d'essai inoculé avec des algues.

ORIGINAL 2014

Solution témoin : milieu de croissance sans échantillon pour essai, inoculé avec des algues.

Concentration efficace EC_{rx} : concentration de l'échantillon pour essai qui entraîne une diminution de x du taux de croissance spécifique par rapport aux solutions témoin.

NOTE : pour désigner sans ambiguïté une valeur de la concentration efficace (EC) dérivant du taux de croissance, il est proposé d'utiliser le symbole EC_r.

5. Principe

Des souches d'algues monospécifiques sont mises en culture pendant plusieurs générations dans un milieu défini, contenant une gamme de concentrations de l'échantillon pour essai préparé en mélangeant des quantités appropriées de milieu de croissance, d'échantillon pour essai et un inoculum de cellules algales en phase exponentielle de croissance. Les lots d'essai sont incubés pendant une période de 72 ± 2 heures, pendant laquelle la concentration cellulaire de chaque solution d'essai est mesurée au moins toutes les 24 heures. Toutefois, pour la détection de l'inhibition de la croissance algale par les eaux résiduaires et conformément à l'annexe A de la Norme ISO 8692, la durée de l'essai peut être ramenée à 48 heures. L'inhibition est quantifiée par la diminution du taux de croissance, par comparaison à des cultures témoins réalisées dans des conditions identiques.

6. Appareillages et matériels utilisés

5.1. Appareillage

- Pièce ou enceinte climatisée à 23 ± 2°C équipée de néons
- Réfrigérateur (4 °C)
- pH-mètre
- Luxmètre pour le contrôle de la luminosité dans l'enceinte climatisée
- Appareil de mesure de concentration cellulaire algale :
  -) soit un compteur de particules, par exemple un Coulter Multisizer 3
  -) soit un spectrophotomètre modulaire (UV-VIS) + module de spectrofluorométrie (doit permettre de mesurer des concentrations cellulaires aussi faibles que 10^4 cellules/ml)
  -) soit un microscope équipé d'une chambre de comptage (par exemple une cellule de Thoma)
- Hotte à flux laminaire pour la préparation des cultures d'algues dans des conditions stériles
- Autoclave
- Pompe à vide pour la filtration des échantillons
- Bain à ultrasons
- Balance de sensibilité 10^{-4} g/l
- Agitateurs

ORIGINAL 2014

5.2. Petit matériel

- Microplaques 48 puits stériles
- Cuvettes en polystyrène de 10 cm de long pour la mesure d'absorbance avec le spectrophotomètre
- Ballons jaugés en verre de classe A
- Micropipettes
- Flacons Bulk® de capacité 20 ml pour le comptage des algues de la préculture et pour le prélèvement des solutions essais
- Tourie en verre, par exemple de 5 l, équipée d'un robinet pour faciliter la distribution du milieu
- Bouteilles en verre avec col fileté pour la filtration des échantillons
- Supports de filtres Nalgène® en polysulfone pouvant s'adapter sur les bouteilles en verre préalablement mentionnées
- Filtres 0,45 µm de diamètre de pores (par exemple en acétate de cellulose) pour la filtration des échantillons
- Filtres de 0,22 µm de diamètre de pores (par exemple en acétate de cellulose) pour la stérilisation du milieu de culture
- Flacons pour cultures cellulaires, stériles, d'une capacité de 50 ml

6. Matériel biologique

Les organismes sont des algues vertes unicellulaires d'eau douce, appartenant à l'une des 2 espèces suivantes : *Pseudokirchneriella subcapitata* (anciennement *Selenastrum capricornutum*) ou *Desmodesmus subcapitatus*.

On peut se procurer des souches sous formes de cultures monospécifiques non axéniques par exemple auprès de :

Culture Centre of Algae and Protozoa (CCAP)
Freshwater Biological Association
The Ferry House
Ambleside
Cumbria LA22 OLP
Royaume-Uni

Algothèque du laboratoire de cryptogamie
Muséum National d'Histoire Naturelle
12, rue Buffon
75005 Paris
France

Collection of Algal Cultures
Inst. Plant Physiology
Université de Göttingen
Nikolausberger Weg 18
D-37073
Allemagne

7. Réactifs utilisés

ORIGINAL 2014

7.1. Eau

Il convient d'utiliser de l'eau déionisée ou d'une pureté équivalente (conductivité < 10 µS/cm) pour la préparation du milieu de croissance et des solutions de substance à expérimenter.

Veiller à éviter toute contamination de l'eau par des substances inorganiques ou organiques pendant la préparation et la conservation. Aucun matériel en cuivre ne doit être utilisé.

7.2. Substances nutritives

Préparer quatre solutions mères de substances nutritives dans l'eau, selon les compositions données dans le **tableau 1**.

Ces solutions pourront éventuellement être diluées pour obtenir les concentrations finales en substances nutritives dans les solutions d'essai. Toutefois, les macronutriments peuvent, à l'inverse, être ajoutés directement dans l'eau. Tous les produits chimiques utilisés doivent être des réactifs de qualité analytique.

Stériliser les solutions mères par filtration sur membrane (diamètre moyen des pores de 0,2 µm) ou par passage à l'autoclave (120 °C, 15 minutes). Conserver les solutions à l'abri de la lumière et à 4 °C.

Remarquons qu'afin d'éviter toute perte de $NaHCO_3$ par évaporation, la solution mère 4 ne doit pas être stérilisée en autoclave mais uniquement par filtration sur membrane.

Tableau 1 : concentrations massiques des substances nutritives dans la solution d'essai.

Solution mère	Substance nutritive	Concentration massique de la solution mère	Concentration massique finale dans la solution d'essai
Solution mère 1: macro-nutriments	NH_4Cl	1,5 g/l	15 mg/l
	$MgCl_2.6H_2O$	1,2 g/l	12 mg/l
	$CaCl_2.2H_2O$	1,8 g/l	18 mg/l
	$MgSO_4.7H_2O$	1,5 g/l	15 mg/l
	KH_2PO_4	0,16 g/l	1,6 mg/l
Solution mère 2: Fe-EDTA	$FeCl_3.6H_2O$	64 mg/l	64 µg/l
	$Na_2EDTA.2H_2O$	100 mg/l	100 µg/l
Solution mère 3: éléments traces	H_3BO_3 (a)	185 mg/l	185 µg/l
	$MnCl_2.4H_2O$	415 mg/l	415 µg/l
	$ZnCl_2$	3 mg/l	3 µg/l
	$CoCl_2.6H_2O$	1,5 mg/l	1,5 µg/l
	$CuCl_2.2H_2O$	0,01 mg/l	0,01 µg/l
	$Na_2MoO_4.2H_2O$	7 mg/l	7 µg/l
Solution mère 4 : $NaHCO_3$	$NaHCO_3$	50 g/l	50 mg/l

(a) H_3BO_3 peut être dissous en ajoutant 0,1 N NaOH

7.3. Solution de référence – Dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$)

Préparer une solution de dichromate de potassium à 1 g/l en dissolvant par exemple 100 mg de $K_2Cr_2O_7$ pesés à l'aide d'une balance analytique précise au 10^{-4} g dans 100 ml d'eau déionisée. La solution peut se conserver pendant 4 mois au réfrigérateur (4 °C) et à l'obscurité.

7.4. Electrolyte isotonique (par exemple ISOTON II®)

ORIGINAL 2014

Un électrolyte isotonique, par exemple l'ISOTON II®, est utilisé pour le comptage des cellules algales avec le compteur de particules. Cette solution commerciale provient de Beckman Coulter Inc.

7.5. Solution algistatique

Si nécessaire, une solution algistatique peut être distribuée dans les flacons de prélèvement pour arrêter la croissance algale en fin de test (habituellement, une solution concentrée à 7,5 mg/l est utilisée. 1 ml de cette solution est nécessaire pour 2 ml de solution d'essai). Cette solution peut être préparée à partir la solution de référence (voir **point 7.3.** ci-dessus) ou indépendamment.

8. Instructions opératoires

8.1. Préparation du milieu de croissance (diluant)

Préparer le milieu de croissance avant chaque essai à partir des solutions mères de substances nutritives préalablement préparées (**point 7.2.**).
Par exemple, pour 1 l de milieu de croissance, à environ 800 ml d'eau déionisée, ajouter :
- 10 ml de solution mère 1
- 1 ml de solution mère 2
- 1 ml de solution mère 3
- 1 ml de solution mère 4

Compléter à 1000 ml avec de l'eau déionisée.

Avant utilisation, le milieu doit atteindre l'état d'équilibre en restant à l'air pendant une nuit ou par un bullage d'air filtré pendant minimum 30 minutes. Vérifier le pH et l'ajuster si nécessaire à 8,1±0,2 avec une solution diluée de HCl (1 mol/l) ou de NaOH (1 mol/l).

8.2. Préparation de la préculture et de l'inoculum

L'inoculum d'algues pour l'essai doit être prélevé sur une préculture en phase exponentielle de croissance. Préparer la préculture, environ 3 jours avant le début de l'essai comme suit :

- Dans le milieu de croissance, ajouter un inoculum provenant d'une culture mère dont la concentration a été préalablement déterminée, pour que la concentration soit comprise entre 5.10^3 et 10^4 cellules/ml.

- Maintenir la préculture dans les mêmes conditions que celles de l'essai pendant environ 3 jours après lesquels elle devrait être en phase exponentielle de croissance et la concentration cellulaire devrait être suffisante pour qu'elle soit utilisée comme inoculum.

- Déterminer la concentration cellulaire de la préculture juste avant l'essai pour calculer le volume d'inoculum nécessaire.

- La détermination de la concentration cellulaire de la culture mère et de la préculture se fait habituellement avec le compteur de particules ou avec la cellule de Thoma.

ORIGINAL 2014

8.3. Pré-traitement de l'échantillon

Pour des échantillons aqueux (par exemple, eau résiduaire), il est recommandé de réaliser un prétraitement (filtration, neutralisation par exemple), suivant la nature de l'échantillon et l'objectif de l'essai. Ajouter les solutions mères de substances nutritives.

Procédure :

- Amener progressivement l'échantillon à température ambiante.
- Généralement, filtrer sur filtre 0,45 µm de porosité
- Ajouter à l'échantillon les solutions mères de substances nutritives (7.2) tel que décrit au point 8.1.
- Contrôler le pH. Si nécessaire, en fonction de la nature de l'échantillon et de l'objectif de l'essai (par exemple, essai ne comportant qu'une seule concentration), le pH de l'échantillon ou de la solution d'essai peut être ajusté à la valeur du contrôle (milieu de croissance).

NOTE : Normalement, l'essai est effectué sans ajustement du pH mais si l'échantillon ou la substance devait présenter une acidité ou une alcalinité trop importante, il peut s'avérer nécessaire d'effectuer un ajustement du pH. Par exemple, ajuster le pH à 8,1 ± 0,2 (pH du milieu de croissance) en utilisant des solutions diluées de HCl ou de NaOH. Comme le stipule la norme ISO 5667 -16, il convient que le volume d'agent neutralisant utilisé soit le plus faible possible afin de limiter au maximum les effets de la neutralisation sur le résultat de l'essai. Il est donc important d'utiliser une concentration appropriée en agent neutralisant et d'éviter de dépasser le point de neutralité.

8.4. Concentrations des solutions d'essai

La gamme de dilutions utile est fonction de la toxicité de l'échantillon ou de la substance et du paramètre d'effet ciblé (EC50). Un essai préliminaire peut être nécessaire pour déterminer la gamme de concentrations utile.

On peut également procéder à un test limite, essai ne comportant qu'une seule concentration de l'échantillon ou de la substance (par exemple 98 %). Dans ce cas, le nombre de répliques de l'échantillon est identique au nombre de répliques témoins.

NOTE 1 :
La répétition de chaque concentration d'essai n'est pas nécessaire lors de l'essai préliminaire.

NOTE 2 :
Si possible, les concentrations doivent être choisies pour permettre l'obtention de plusieurs effets induisant une inhibition de croissance comprise entre 10 et 90 %.

8.5. Préparation des milieux d'essai

Conformément au point 7.5 de la norme ISO 8692, les lots d'essai et les témoins sont préparés en mélangeant les volumes appropriés d'échantillon pour essai ou de solutions mères de l'échantillon pour essai, de milieu de croissance et d'inoculum dans les récipients d'essai. Le volume total, les concentrations de substances nutritives ajoutées au milieu de croissance et la densité de cellules doivent être les mêmes dans tous les récipients.

ORIGINAL 2014

La concentration cellulaire initiale doit être suffisamment faible pour permettre l'obtention d'une croissance en phase exponentielle dans la culture témoin pendant toute la durée de l'essai, sans variation du pH supérieure à 1,5 unité. Par conséquent, les concentrations cellulaires initiales ne doivent pas excéder 10^4 cellules/ml.

Au moins trois répliques doivent être préparées pour chaque concentration de substance à expérimenter. Il faut également 6 témoins pour lesquels on ajoute uniquement le milieu de culture et l'inoculum sans échantillon pour essai. Si cela est approprié, une gamme distincte de concentrations de l'échantillon pour essai sans algues, servant de valeur de base pour les déterminations de la concentration cellulaire, peut être préparée.

Le pH d'un échantillon de chaque lot d'essai ainsi que celui des solutions témoins doit être mesuré.

8.5.1. Echantillon (effluent, eau de surface, eau interstitielle de sédiment, …)

Pour le système en microplaques, ajouter à l'échantillon les volumes appropriés de solutions mères de substances nutritives nécessaires pour que les concentrations en substances nutritives ajoutées correspondent à celles des solutions témoins (milieu de croissance).

Par exemple, dans un ballon jaugé de 200 ml, introduire environ 150 ml d'échantillon, puis ajouter les volumes de concentrés nutritifs adéquats, soit 2 ml de solution mère 1 et 200 µl de chacune des solutions mères 2, 3 et 4 (voir **point 7.2.** pour la préparation de ces solutions). Compléter ensuite jusqu'au trait de 200 ml avec l'échantillon.
Réaliser une série de dilutions successives de l'échantillon enrichi en substances nutritives en respectant une progression géométrique, par exemple des dilutions de facteur 2. Diluer avec le milieu de croissance.

8.6. Lots d'essai

8.6.1. Exemple en microplaque

Une fois les dilutions successives de l'échantillon terminées, prélever un volume défini de chaque dilution (par exemple 1200 µl) qui servira de blanc sans algues et ajouter un volume de suspension algale (inoculum) au volume restant de sorte que la concentration initiale soit inférieure ou égale à 10^4 cellules/ml.

Par concentration d'essai, distribuer dans trois puits (test limite : six puits) un volume, habituellement de 1200µl, de chacune des dilutions de l'échantillon (lots d'essai) et un quatrième (ou septième s'il s'agit d'un test limite) avec le milieu d'essai (blanc sans algues).

Pour la préparation du lot d'essai témoin, remplir un ballon jaugé (par exemple 100 ml) avec du milieu de croissance auquel sera ajouté l'inoculum. Six puits de la microplaque ne contiendront que le lot d'essai témoin et un septième le milieu d'essai témoin (milieu de croissance sans inoculum).

Remplir les puits vides surnuméraires de la microplaque avec de l'eau Milli-Q.

Mesurer ensuite le pH sur les volumes restant de chaque concentration d'essai ainsi que sur le témoin.

ORIGINAL 2014

8.6.2. Exemple en flacon

Par concentration d'essai, préparer cinq récipients (huit récipients s'il s'agit d'un test limite), par exemple des flacons Costar® en polystyrène de 50 ml.

Distribuer un volume, habituellement 25 ml, de chacun des milieux d'essai et ajouter un volume de suspension algale (inoculum) de sorte que la concentration initiale soit inférieure ou égale à 10^4 cellules/ml. Dans un des récipients, ne pas ajouter d'algues (blanc).

Pour la préparation du lot témoin, huit récipients ne contiendront que du milieu de croissance (témoins). L'inoculum sera distribué dans sept récipients, le huitième en sera exempt (témoin sans algues).

Utiliser une réplique de chaque lot d'essai et lot témoin pour la mesure du pH, les autres pour le test.

8.7. Incubation

Conformément au point 7.6 de la norme ISO 8692, les récipients ou les microplaques doivent être suffisamment couverts pour éviter toute contamination aérienne et pour réduire l'évaporation de l'eau, mais ils ne doivent pas être étanches à l'air de façon à ce que le CO_2 puisse y pénétrer (une petite ouverture suffit).

Incuber les récipients d'essai à 23±2 °C sous lumière blanche continue. L'intensité lumineuse au niveau moyen des milieux d'essai, mesurée à l'aide d'un récepteur approprié dans le domaine de longueur d'onde effective de la photosynthèse de 400 nm à 700 nm, doit être homogène à ± 10 % et doit se situer dans l'intervalle de 60 µmol/(m^2 s) à 120 µmol/(m^2 s).

Il est important de noter que la méthode de mesure, en particulier le type de récepteur (collecteur), influe sur la valeur mesurée. Les récepteurs sphériques (lesquels répondent à la lumière sous tous les angles au-dessus et au-dessous du plan de mesure) et les récepteurs hémisphériques (lesquels répondent à la lumière sous tous les angles au-dessus du plan de mesure) sont préférés aux récepteurs unidirectionnels. Ils donnent des résultats plus élevés pour une source lumineuse multipoint du type de celle décrite dans la **Note** ci-dessous.

Pour les instruments de mesure de la lumière étalonnés en lux, un intervalle équivalent de 6000 lux à 10000 lux est acceptable pour l'essai.

Secouer, agiter ou aérer les cultures en continu pour maintenir les cellules en suspension, faciliter les échanges gazeux air/eau (CO_2), et par voie de conséquence, réduire la variation du pH.

NOTE : l'intensité lumineuse spécifiée ci-dessus peut être obtenue à l'aide de quatre à six lampes fluorescentes du type lumière blanche universelle (naturelle) [par exemple, un étalon de couleur 2 spécifié (d'une température de couleur de 4300 K)]. La distance optimale des lampes est d'environ 0,35 m du milieu de culture algale.

ORIGINAL 2014

8.8. Mesures

Les mesures sont effectuées conformément au point 7.7 de la norme ISO 8692 ou conformément au point A9 de l'Annexe de cette norme lors de l'utilisation de microplaques.

Déterminer la concentration cellulaire dans chaque récipient si possible toutes les 24 h, tout au moins en fin d'essai (48 ou 72 h). Pour les échantillons turbides, il est recommandé que les mesures se fassent avec le fluorimètre pour maintenir les interférences dues à la turbidité aussi faibles que possible, mais en cas de nécessité, elles peuvent se faire avec le compteur de particules.

Essai en microplaque :
- par fluorimétrie : effectuer directement la lecture de la plaque d'essai ;
- par comptage au compteur de particules : effectuer le comptage sur un prélèvement, par exemple, de 1 ml (dans ce cas, le prélèvement ne sera effectué qu'en fin de test vu le faible volume disponible dans une microplaque).

Essai en flacon :
- par fluorimétrie : prélever 1,2 ml de chaque réplique des lots d'essai et transférer dans une microplaque puis effectuer les mesures ;
- par comptage au compteur de particule sur un prélèvement de faible volume, par exemple 2 ml.

NOTE :
Si le dénombrement cellulaire ne peut être effectué juste après les prélèvements, arrêter la croissance par l'ajout de solution algistatique (voir **point 7.5.** pour la préparation de cette solution) dans les flacons de prélèvement puis les conserver au réfrigérateur.

En fin de test, contrôler le pH d'une réplique des témoins, excepté le témoin sans algues.

9. Critères de validité

L'essai peut être considéré comme valide si les conditions suivantes sont remplies :

a) le taux de croissance moyen du témoin doit être au moins de 1,4 j^{-1}, ce qui correspond à une augmentation de la densité cellulaire d'un facteur 67 en 72 heures ;

b) le coefficient de variation du taux de croissance des solutions témoins ne doit pas dépasser 5% ;

c) le pH des solutions témoins ne doit pas avoir augmenté de plus de 1,5 unités pendant l'essai par rapport au pH du milieu de croissance.

Une augmentation du pH pendant l'essai pouvant influer significativement sur les résultats, une limite de 1.5 unités est fixée. Il convient toutefois de toujours maintenir ces variations aussi faibles que possible, par exemple en maintenant une agitation continue pendant l'essai.

d) il ne doit pas y avoir de croissance d'algue qui interfère dans le témoin négatif à la fin de l'essai.

ORIGINAL 2014

Si ces critères ne sont pas satisfaits, passer en revue les techniques expérimentales et utiliser des inoculums d'origine différente, si nécessaire.

10. Expression des résultats

10.1. Présentation des résultats

Calculer les taux de croissance spécifiques moyens, μ, pour chaque culture d'essai, d'après l'équation :

$$\mu = \frac{\ln x_L - \ln x_0}{t_L - t_0}$$

où

x_0 est la concentration cellulaire nominale initiale ;

x_L est la concentration cellulaire mesurée à l'instant t_L ;

t_0 est l'heure du début de l'essai ;

t_L est l'heure de fin d'essai [l'heure de la dernière mesure au cours de la phase de croissance exponentielle des cultures témoins]

Calculer la valeur moyenne de μ pour chaque réplicat du lot d'essai et du témoin.. A partir de ces valeurs, calculer le pourcentage d'inhibition pour chaque réplicat du lot d'essai :

$$I_{\mu i} = \frac{\mu_c - \mu_i}{\mu_c}$$

$I_{\mu i}$ est le pourcentage d'inhibition (taux de croissance) pour la concentration d'essai i
μ_i est le taux de croissance moyen à la concentration d'essai i,
μ_c est le taux de croissance moyen de la culture témoin.

Pour calculer les concentrations efficaces EC_{rx}, il convient d'ajuster un modèle non linéaire adapté aux points des données expérimentales en effectuant une analyse de régression de façon à déterminer les valeurs de EC_{rx}, de préférence avec leurs intervalles de confiance. Le logiciel ToxCal5® peut par exemple être utilisé pour le traitement statistique.

Noter les valeurs de EC_{10} et EC_{50} se rapportant au taux de croissance sous la forme CE_{r10} et CE_{r50}. Ces valeurs sont exprimées en mg/l ou ml/l. Les intervalles de confiance correspondants doivent également être mentionnés.

Indiquer clairement l'intervalle de temps utilisé pour effectuer la détermination, par exemple CE_{r50} (0 à 72 h).

Les comptages cellulaires ou les données de fluorimétrie ainsi que le calcul des résultats peuvent être encodés dans un fichier Excel spécifique.

ORIGINAL 2014

10.2. Interprétation des résultats

Les valeurs de EC_{10} et EC_{50} sont des données toxicologiques obtenues à partir d'une expérience réalisée en laboratoire dans des conditions types définies. Elles donnent une indication des risques potentiels, mais ne peuvent pas être utilisées directement pour prévoir les effets dans un environnement naturel.

NOTE :
Il est important de tenir compte de la forme des courbes de croissance lors de l'interprétation des valeurs. En effet, certaines caractéristiques de ces courbes (par exemple : départ tardif de la croissance, bonne croissance initiale mais non soutenue par la suite,…) peuvent donner des indications sur le mode d'action de la substance toxique concernée.

11. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- une référence à la présente méthode de la Région wallonne et éventuellement à la méthode normalisée ;
- l'identification complète de l'échantillon ;
- la date de prélèvement ; ceci qu'il ait été réalisé par le laboratoire ou par le client ;
- la date d'analyse ;
- les résultats du dénombrement conformément au **point 10** ;
- les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

La feuille d'essai, les feuilles d'encodage et de rapport des résultats, et la feuille de traitement statistique (par exemple par le logiciel ToxCalc5®) reprennent l'ensemble des informations qui doivent être fournies.

12. Références

Norme internationale ISO 8692: Qualité de l'eau – Essai d'inhibition de la croissance des algues d'eau douce avec des algues vertes unicellulaires.

Norme internationale ISO 5667-16: Qualité de l'eau – Échantillonnage – Partie 16: Lignes directrices pour les essais biologiques des échantillons.

ORIGINAL 2014

E-V-2v1-Détermination de l'inhibition de la croissance des algues d'eau douce avec des algues vertes unicellulaires - Méthode en Kit (ALGALTOXKIT)

1. Préambule

Il existe deux méthodes de détermination de l'inhibition de croissance des algues d'eau douce : une méthode dite « conventionnelle » qui utilise des souches d'algues monospécifiques mises en culture pendant plusieurs générations et la méthode dite « en kit » qui utilise des microalgues immobilisées dans une matrice spéciale qui peuvent être « désimmobilisées » pour l'essai et directement utilisées. Cette dernière méthode est a priori plus facile à mettre en œuvre puisqu'elle ne nécessite pas le maintien de cultures d'algues.

2. Objet

Cette procédure décrit une méthode relative à la détermination de l'inhibition de croissance des algues d'eau douce avec des algues vertes unicellulaires, par exemple de l'espèce *Pseudokirchneriella subcapitata* (anciennement *Selenastrum capricornutum*), par des substances solubles dans l'eau.

3. Domaine d'application

Cette procédure s'applique à différents types d'échantillons d'eaux et d'extraits aqueux : solutions aqueuses de substances pures, effluents urbains et industriels, éluats, eaux interstitielles, eaux douces (de surface ou souterraines).

4. Introduction à l'ALGALTOXKIT

4.1. Origine

Ce bioessai basé sur l'inhibition de la croissance des algues a été développé par les équipes de recherche du Prof.Dr.G.Persoone au « Laboratory for Biological Research in Aquatic Pollution »[1] (LABRAP) à l'Université de Gand en Belgique.

4.2. Champ d'application

Les TOXKITS sont des microbioessais contenant tout ce qui est nécessaire (y compris les organismes d'essai) pour réaliser des essais de toxicité simples, rapides, sensibles et reproductibles avec un bon rapport coût/efficacité. Les essais Toxkits sont particulièrement adaptés pour les essais de toxicité de routine sur des produits chimiques et des rejets évacués dans le milieu aquatique aussi bien que dans les environnements terrestres.

[1] *Le Laboratoire a récemment été renommé « Laboratory for Environmental Toxicology and Aquatic Ecology» (LETAE).*

4.3. Avantages des essais Toxkit

L'avantage majeur des microbioessais Toxkit par rapport aux bioessais conventionnels est que les organismes d'essai sont intégrés dans les kits sous une forme dormante ou immobilisée, à partir de laquelle ils peuvent être activés à la demande avant l'exécution de l'essai de toxicité. Ceci élimine la nécessité d'un approvisionnement continu et/ou d'une culture d'organismes d'essai et donc diminue la charge de travail liée à l'entretien d'une culture pour des laboratoires qui n'exécutent pas ce test en routine.

Tous les essais Toxkit ont été « miniaturisés » en microbioessais pratiques et faciles à utiliser qui peuvent être effectués avec du matériel de laboratoire et des équipements conventionnels, sur un espace de travail relativement réduit.

4.4. Avantages de l'essai Algaltoxkit

- Pas de culture : l'Algaltoxkit est basé sur l'utilisation de microalgues immobilisées dans une matrice spéciale dans laquelle elles sont immobilisées pendant plusieurs mois sans perdre leur viabilité. Après « désimmobilisation » et transfert dans un milieu de culture d'algues adéquat, les microalgues reprennent leur croissance immédiatement; le bon état physiologique est mis en évidence par le fait que le taux de division est analogue à celui des algues provenant des cultures mères.

- Une lecture rapide : l'Algaltoxkit fait usage d'un nouveau type de flacons d'essai, à savoir des cellules jetables en polystyrène. Ces cellules peuvent être utilisées avec tout type de spectrophotomètre muni d'un support pour cellules de 10 cm de longueur. Chaque cellule est pourvue d'un couvercle spécial en élastomère, une matière thermoplastique chimiquement inerte.

- Les cellules en tant que flacons d'essai

a. Elles permettent la détermination de la croissance des algues par mesure de la densité optique directement dans les flacons d'essai. Cette nouvelle technologie permet un gain de temps substantiel pour la mesure quotidienne de la croissance des algues en comparaison aux techniques conventionnelles de comptage.

b. L'utilisation de cellules d'une longueur de 10 cm permet de réaliser l'essai Algaltoxkit selon les conditions prescrites par les directives nationales et internationales (par exemple ISO, OCDE, USEPA, ASTM). Les mesures de densité optique constituent en effet une technique rapide et très commode pour déterminer le taux de croissance des algues avec une bonne précision.

c. Les cellules peuvent contenir un volume d'essai de 25 ml sur une surface de base de seulement 12 cm^2. Le plateau contenant les 18 flacons d'essai prend une surface de 13 x 25 cm seulement sur l'espace de travail. En pratique, cela signifie que 3 tests Algaltoxkit peuvent être réalisés sur l'espace nécessaire à un seul essai classique.

d. Les cellules étant jetables et peu couteuses, il n'y a pas de long et coûteux nettoyage des flacons d'essai.

ORIGINAL 2014

4.5. Principe du test Algaltoxkit

L'essai d'inhibition de la croissance des algues à 72 h est réalisé dans des cellules d'essai, avec l'espèce d'algues *Pseudokirchneriella subcapitata* sous forme « désimmobilisée » à partir de billes d'algues. L'essai Algaltoxkit décrit ci-dessous suit les prescriptions de, et a été conçu sur base des, normes de l'OCDE «Test d'inhibition de la croissance des algues » (ligne directrice 201) et de la norme ISO « Qualité de l'eau » - Essais d'inhibition de la croissance des algues d'eau douce avec des algues vertes unicellulaires "(Norme ISO 8692). A noter que cette dernière prévoit dans son annexe A concernant les eaux résiduaires que la durée de l'essai peut être ramenée à 48 heures.

4.6. Caractéristiques

Chaque Algaltoxkit contient tous les matériaux (jetables) pour effectuer deux essais complets en 72 h (ou 48 h) (essais préliminaires ou essais définitifs).
Outre la verrerie de laboratoire conventionnelle, les seuls équipements nécessaires sont :
a) un incubateur (ou une chambre à température contrôlée) à 23 ± 2 °C équipé d'un système d'éclairage,
b) un spectrophotomètre équipé d'un support pour les cellules d'une longueur de 10 cm.
c) une centrifugeuse pour centrifuger à 3000 rotations par minute (rpm).

4.7. Sensibilité

La sensibilité de l'essai Algaltoxkit a été déterminée pour une variété de produits chimiques organiques et inorganiques et d'échantillons environnementaux en parallèle aux essais classiques d'inhibition de la croissance des algues. Les données générées par les laboratoires de différents pays ainsi que par des exercices interlaboratoires indiquent que la sensibilité du microbioessai « algues » est la même que celle de l'essai « algues » conventionnel.

4.8. Précision

Une étude comparative entre les tests algues classiques et les tests Algaltoxkit a également révélé que la précision des tests Algaltoxkit pour les produits chimiques et les échantillons environnementaux est égale à celle des tests algues classiques.

4.9. Durée de conservation

Etant donné que le taux de croissance des microalgues reste constant même après un stockage de plusieurs mois au réfrigérateur dans l'obscurité, les tests Algaltoxkit peuvent être effectués dans un délai de plusieurs mois, comme indiqué par la date d'expiration.

5. Contenu de l'ALGALTOXKIT

L'Algaltoxkit contient :

- Deux tubes contenant de petites billes de microalgues *Pseudokirchneriella subcapitata* immobilisées dans une matrice inerte. Les tubes avec le milieu de stockage et les billes d'algues doivent être conservés au réfrigérateur à l'obscurité à 5 ± 2 °C jusqu'à utilisation.

ORIGINAL 2014

- Une bouteille en verre contenant le milieu destiné à dissoudre la matrice dans laquelle les microalgues sont immobilisées. Le milieu de dissolution de la matrice doit être conservé dans le réfrigérateur et dans l'obscurité à 5 ± 2 °C jusqu'à utilisation.
- Cinq bouteilles en verre contenant des solutions concentrées de produits chimiques permettant de préparer 2 litres de milieu de culture pour les algues avec de l'eau déionisée, selon la formule de la ligne directrice de l'OCDE 201 «Test d'inhibition de la croissance des algues » et de la norme ISO 8692 « Qualité de l'eau » - Essais d'inhibition de la croissance des algues d'eau douce avec des algues vertes unicellulaires ». Le protocole de préparation de ce milieu est décrit ci-dessous (**point 6**). Les flacons doivent être conservés dans le réfrigérateur à 5 ± 2 °C dans l'obscurité jusqu'à utilisation.
- Deux séries de 18 cellules jetables de 10cm de long avec couvercle, chacune dans un bac transparent muni de deux bandes de matière plastique. Les cellules servent aussi bien de flacons d'essai que de cuvettes permettant la mesure directe de la densité optique (DO) dans les récipients d'essai.
- Deux cellules avec couvercle, pour la calibration du spectrophotomètre et la mesure de la DO de la suspension concentrée d'algues.
- Le Manuel de Protocole Standard, c'est-à-dire une brochure détaillée contenant toutes les instructions pour l'exécution des essais préliminaires ou définitifs sur des produits chimiques purs et des effluents.
- Une version abrégée du manuel détaillé du protocole standard.
- Des fiches pour consigner les lectures quotidiennes de DO dans les cellules.
- Une feuille indiquant le numéro de lot des billes d'algues, du milieu de dissolution de la matrice, du milieu de culture des algues, la date d'expiration du Toxkit et l'EC50 à 72 h pour le dichromate de potassium, utilisé comme substance de référence.

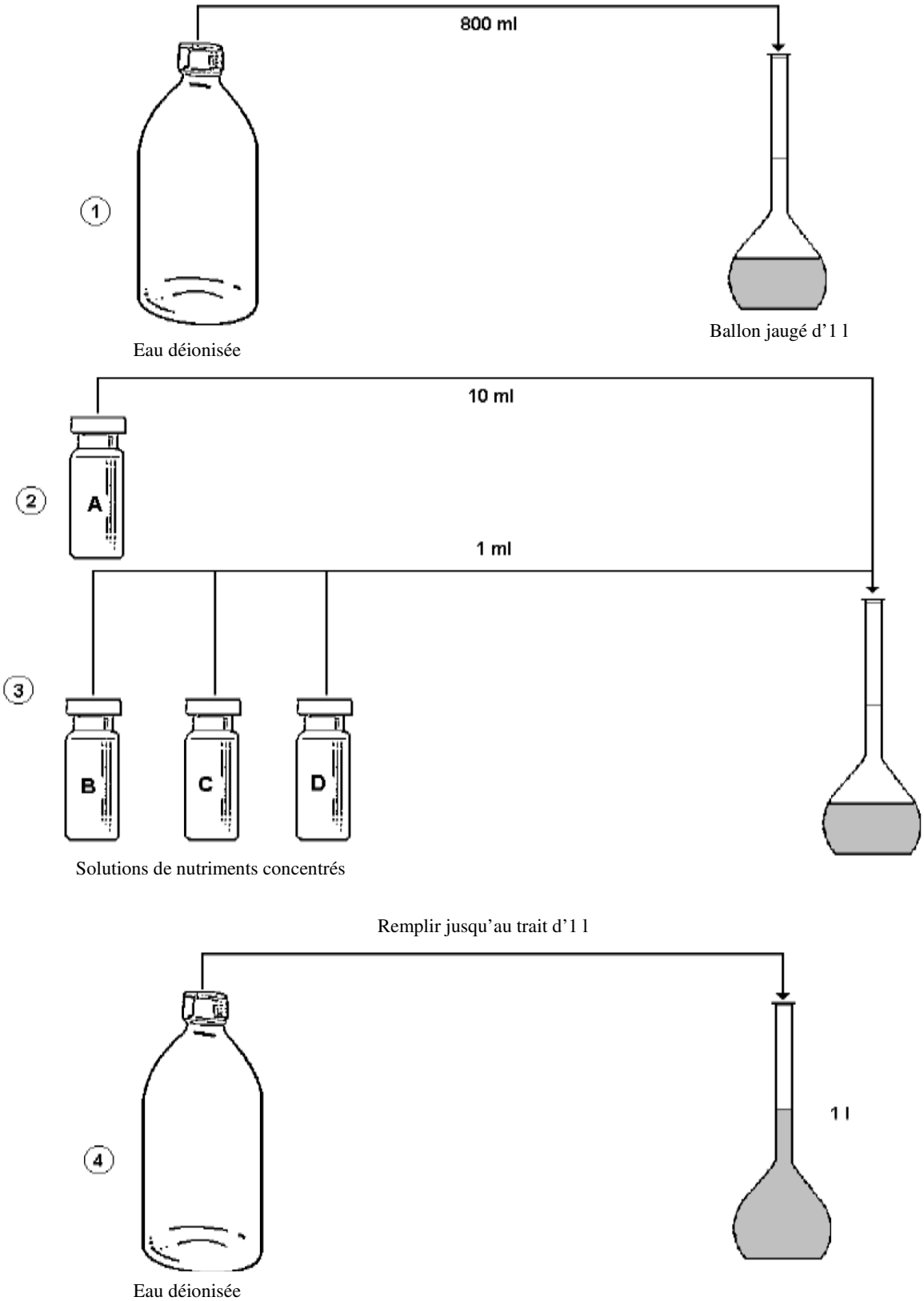
6. Préparation du milieu de culture des algues

6.1. Procédure (voir **figure 1**)

1. Transférer 800 ml d'eau déionisée dans un ballon jaugé de 1 l.
2. Déboucher un des deux flacons étiquetés "Nutrient Stock A" et transférer 10 ml de la solution dans le ballon jaugé.
3. Déboucher les flacons étiquetés "Nutrient Stock B, C et D", et transférer 1 ml de chacune de ces solutions dans le ballon jaugé. Reboucher les flacons et les conserver à nouveau dans le réfrigérateur à l'obscurité à 5 ± 2 °C.
4. Remplir le ballon jaugé jusqu'au trait de 1 litre avec de l'eau déionisée, boucher et agiter vigoureusement pour homogénéiser le milieu de culture des algues.
5. Avant utilisation, équilibrer le milieu en le laissant toute la nuit en contact avec l'air, ou en faisant buller de l'air filtré pendant 30 min. Ajuster ensuite le pH si nécessaire à 8.1 ± 0.2 avec du HCl 1 mol/l ou du NaOH 1 mol/l.

ORIGINAL 2014

Figure 1 **:** préparation du milieu de culture des algues (d'après la *standard operational procedure* de l'Algaltoxkit de MicroBio Tests).



7. Désimmobilisation des algues

Selon la norme ISO 8692 - Section 5.1 «Organisme d'essai», les billes d'algues fournies par MicroBio Tests Inc. sont un exemple de produit adapté disponible sur le marché.

7.1. Procédure (voir **figure 2**)

1. Prendre l'un des deux tubes contenant les billes d'algues et vider le liquide en prenant garde à ne pas éliminer de billes d'algues au cours de la manœuvre.
2. Ouvrir le flacon étiqueté "Matrix dissolving medium" et en transférer 5 ml dans le tube.
3. Boucher le tube et agiter vigoureusement. Répéter l'agitation toutes les deux minutes jusqu'à ce que la matrice d'immobilisation des algues soit totalement dissoute. Les algues devraient être entièrement libérées en 5 à 10 minutes. Un vortex peut être utilisé pour accélérer le processus.
4. Centrifuger le tube pendant 10 minutes à 3000 rpm dans une centrifugeuse de laboratoire conventionnelle.
5. Eliminer le surnageant et le remplacer par 10 ml d'eau déionisée.
6. Boucher le tube et l'agiter vigoureusement pour remettre les algues en suspension de façon homogène.
7. Centrifuger à nouveau le tube pendant 10 minutes à 3000 rpm et éliminer le surnageant.
8. Remettre les algues en suspension dans 10 ml de milieu de culture.

7.2. Règles générales pour la fiabilité des mesures de densité optique de suspensions d'algues

La technologie de l'Algaltoxkit est basée sur la mesure (rapide) de la densité optique (DO) de suspensions cellulaires d'algues dans les cellules spectrophotométriques jetables de 10 cm de longueur.

*(Les explications nécessaires sont données au **point 12.1.** pour faire face aux interférences rencontrées avec des échantillons troubles ou colorés.)*

La mesure de la DO peut être réalisée avec n'importe quel spectrophotomètre muni d'un filtre de 670 nanomètres et équipé d'un support pour cellules de 10 cm.

Les densités optiques peuvent être facilement converties en nombres d'algues à l'aide des formules de régression données sur la feuille DO/N comprise dans chaque Algaltoxkit (voir annexe I).

ORIGINAL 2014

Figure 2 **:** préparation de l'inoculum d'algues (d'après la *standard operational procedure* de l'Algaltoxkit de MicroBio Tests).

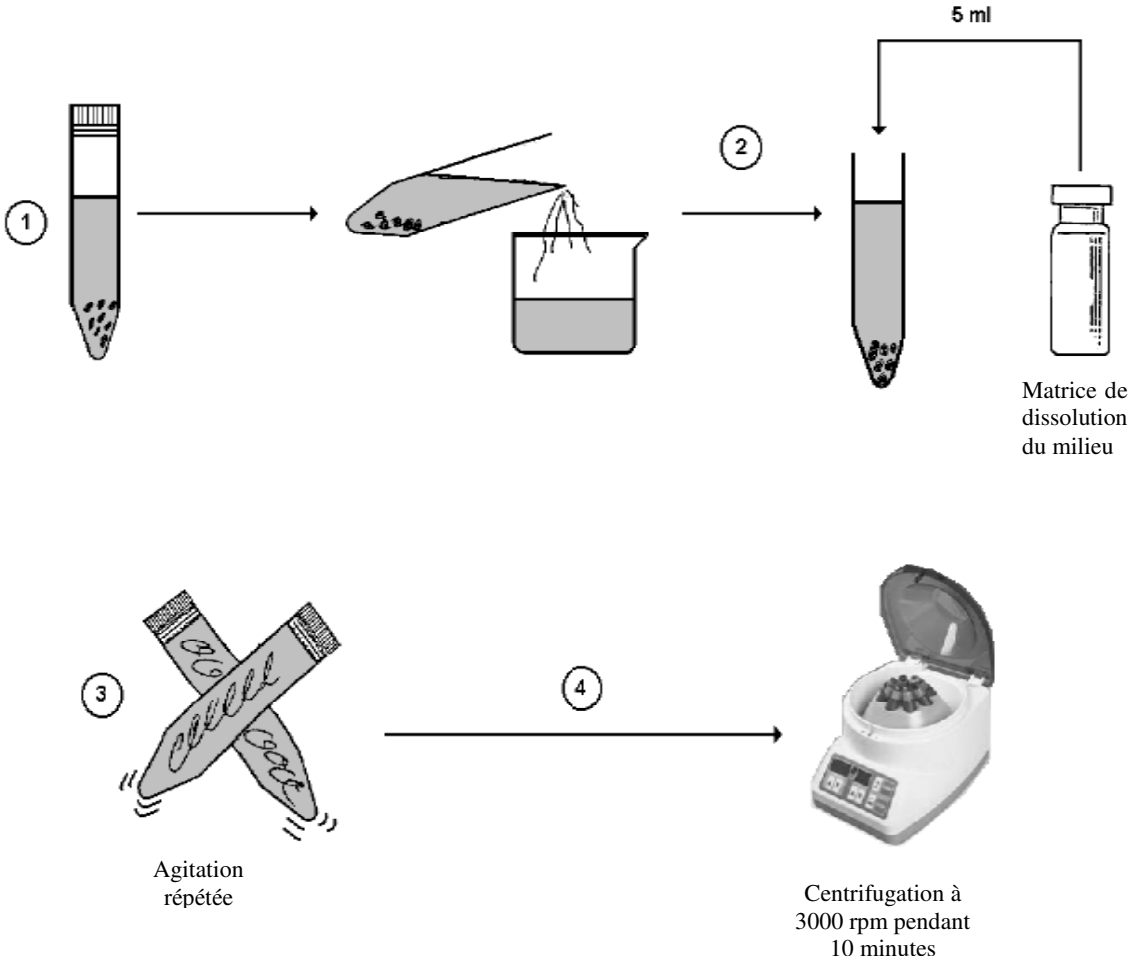
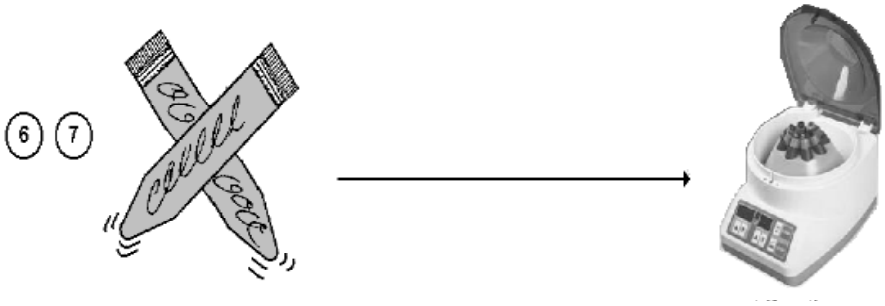
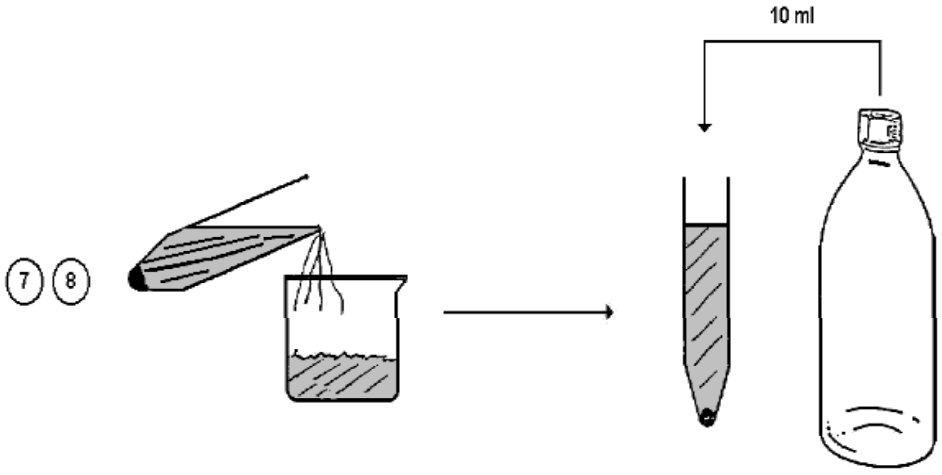


Figure 2 **:** préparation de l'inoculum d'algues (d'après la *standard operational procedure* de l'Algaltoxkit de MicroBio Tests).

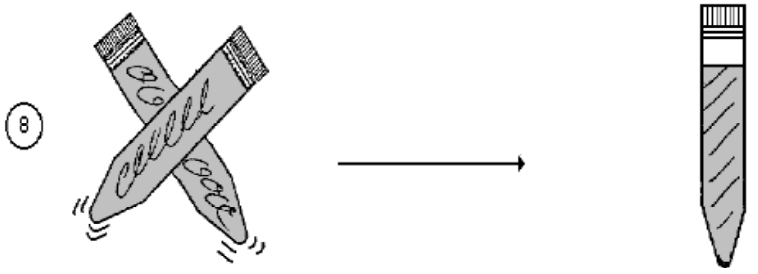


Remise en suspension des algues

Centrifugation à 3000 rpm pendant 10 minutes



Milieu de culture des algues



Remise en suspension des algues par agitation

Suspension d'algues

Afin de maximiser la reproductibilité de la lecture des DO, **les précautions suivantes doivent être respectées de manière très stricte**:

- Les cellules doivent toujours être placées dans le spectrophotomètre dans le même sens, à savoir avec les flèches imprimées sur les deux côtés latéraux des cellules pointant vers la gauche.

- Le spectrophotomètre doit être étalonné avant les mesures de DO des suspensions d'algues. L'étalonnage doit être effectué avec la cellule d'étalonnage remplie de milieu de culture (**point 6.1.**). Il est conseillé d'étalonner le matériel à intervalles réguliers au cours de la journée de mesures.

- Les suspensions d'algues dans les cellules doivent être agitées pendant 10 secondes immédiatement avant leur introduction dans le spectrophotomètre pour assurer une répartition homogène des algues.

- Les lectures de DO doivent être réalisées dans les 10 secondes après l'agitation des cellules, c'est-à-dire avant que les algues ne commencent à se redéposer.

REMARQUE IMPORTANTE:
La régression DO/N est donnée à titre d'exemple et a été déterminée avec un spectrophotomètre Jenway 6300 (fabricant: Jenway Ltd, Angleterre). Elle est spécifique à ce type de matériel.
Dans le cas où un autre spectrophotomètre est utilisé, les valeurs de DO mesurées peuvent ne pas correspondre exactement avec le nombre d'algues de la régression donnée. Dans ce cas, il est conseillé de contrôler d'abord les lectures de DO avec ses propres comptages d'algues, et si nécessaire de travailler sur un nouveau graphique DO/N.

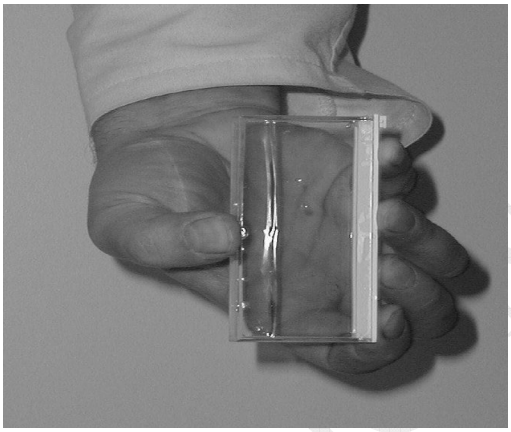
8. Préparation de l'inoculum d'algues concentré

8.1. Procédure (voir **figure 3bis**)

1. Verser la suspension d'algues du tube dans un ballon jaugé de 25 ml et amener le liquide au trait avec du milieu de culture. Boucher et agiter pour homogénéiser la suspension d'algues.
2. Prendre les deux cellules étiquetées «Calibration long cell» et « Algal Stock cell ».
3. Remplir la cellule d'étalonnage avec 25 ml de milieu de culture d'algues et fermer la cellule avec le couvercle.
4. Mettre cette cellule dans le spectrophotomètre et étalonner l'instrument.
5. Transférer la suspension d'algues dans la cellule « Algal Stock cell » et bien fermer le couvercle.
6. Bien agiter cette cellule pour distribuer uniformément la suspension d'algues (**figure 3**).

ORIGINAL 2014

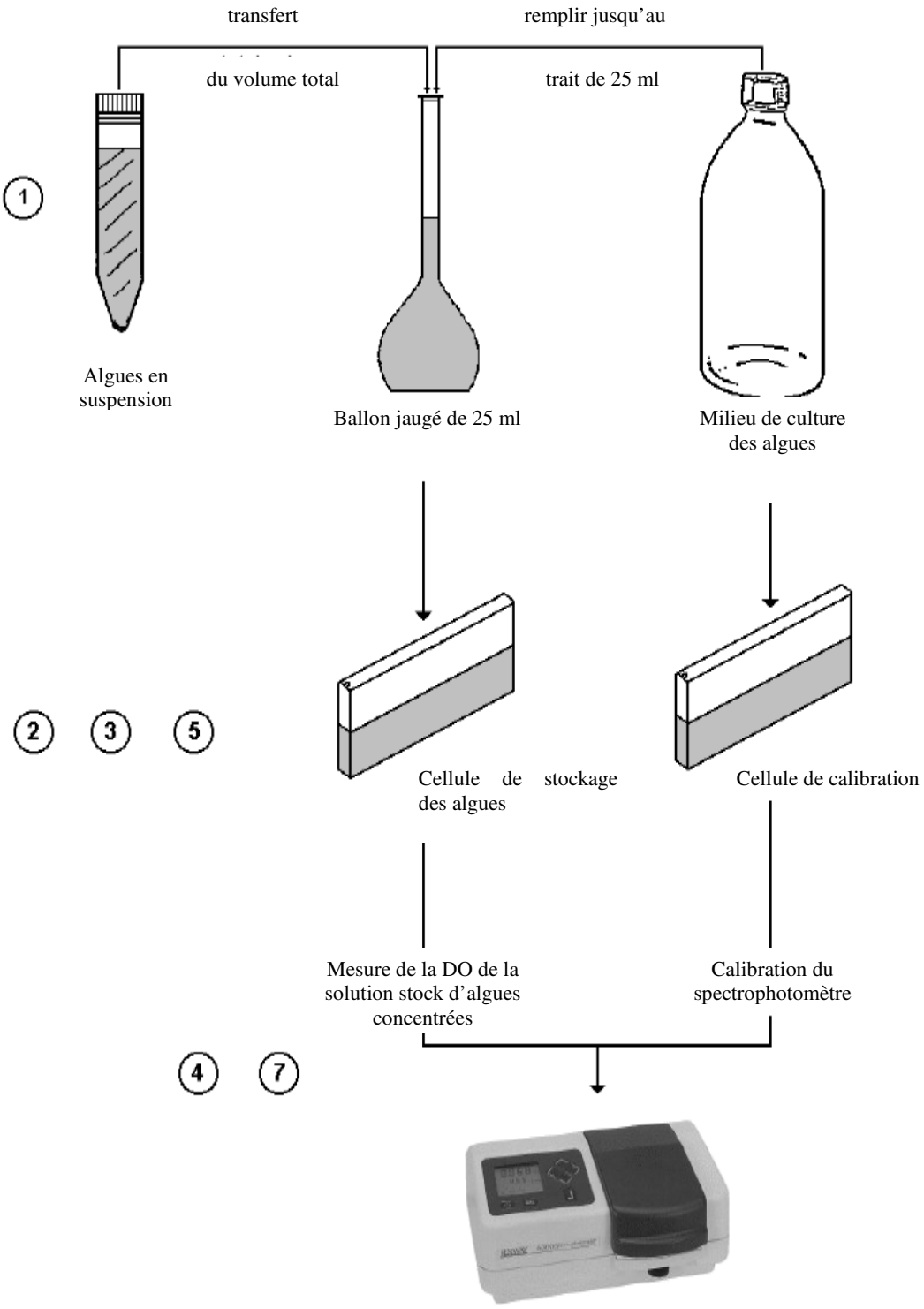
Figure 3 **:** Procédure d'agitation des cellules contenant les suspensions d'algues (d'après la *standard operational procedure* de l'Algaltoxkit de MicroBio Tests).

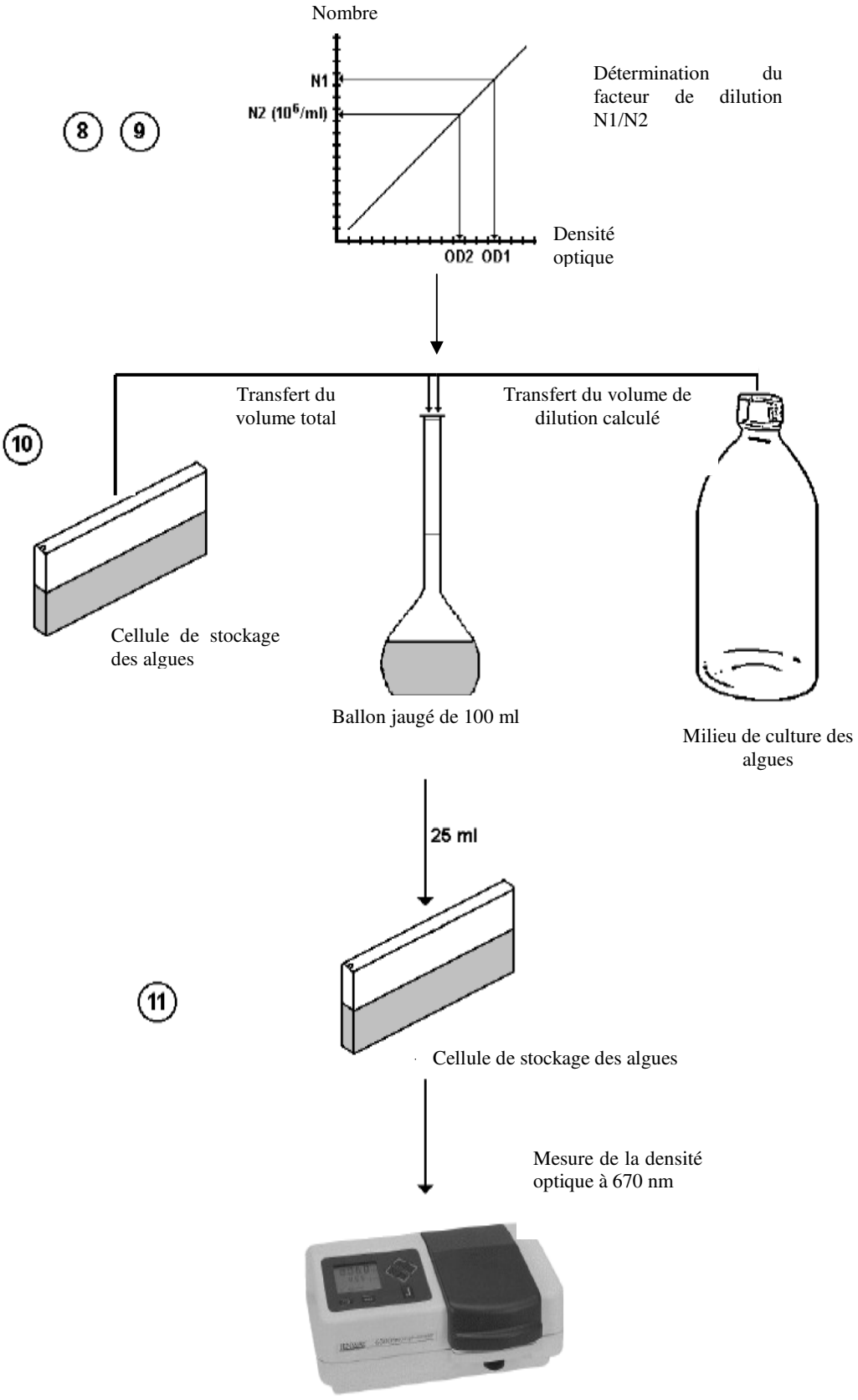
 1  2	- Placer le pouce sur le fond de la cellule, au milieu, et tous les autres doigts sur le couvercle, à égale distance l'un de l'autre (voir photo 1) - Appuyer fermement pour assurer la bonne fermeture de la cellule - Retourner la cellule à l'envers et agiter doucement pendant environ 10 secondes (voir photo 2) - Tourner à nouveau la cellule vers le haut - Mettre la cellule dans le spectrophotomètre et lire la DO après 10 secondes.

Pour assurer une reproductibilité maximale, cette opération, qui sera par la suite appliquée à toutes les mesures de DO des suspensions d'algues dans les cellules, devrait être effectuée d'une manière standard.

ORIGINAL 2014

Figure 3bis **:** préparation de l'inoculum d'algues concentré (d'après la *standard operational procedure* de l'Algaltoxkit de MicroBio Tests).




Nombre
N1
N2 (10^5/ml)
OD2 OD1
Densité optique
Détermination du facteur de dilution N1/N2
8
9
Transfert du volume total
Transfert du volume de dilution calculé
10
Cellule de stockage des algues
Ballon jaugé de 100 ml
Milieu de culture des algues
25 ml
11
Cellule de stockage des algues
Mesure de la densité optique à 670 nm

7. Mettre la cellule « Algal Stock cell » dans le spectrophotomètre et relever la densité optique (DO1) après 10 secondes.
8. Rechercher le nombre d'algues (N1) correspondant à DO1 sur la feuille de densité optique/nombre d'algues (DO/N).
9. Avec un N2 égal à 1.10^6 algues/ml, calculer le facteur de dilution nécessaire pour atteindre une densité optique égale à la DO2 à partir du rapport N1/N2, correspondant à une densité d'algues de 1.10^6 cellules par ml.
10. Transférer la suspension d'algues de la cellule « Algal Stock cell » dans un flacon de 100 ml et ajouter le volume de milieu de culture nécessaire pour obtenir une suspension de 1.10^6 cellules/ml. Boucher et agiter le flacon soigneusement pour distribuer les algues uniformément.

9. Préparation de la série de dilution de l'échantillon

9.1. Effluents

Comme indiqué dans la norme ISO 8692 - Section 7.4 «Préparation de l'échantillon d'essai et des solutions-mères » et/ou à l'annexe A (informative) – « Détection rapide de l'inhibition de la croissance algale par des eaux résiduaires », une série de dilutions 1 :1 (100% - 50% - 25% - 12,5% et 6,25%) est préparée par dilution en série de l'échantillon d'effluent en le diluant successivement de moitié (cf. US EPA/600/4-85/013, 1985) (voir détails ci-dessous).

9.1.1. Traitement de l'échantillon

Pour éliminer la turbidité, les échantillons doivent être filtrés sous vide avant l'essai (par exemple sur un filtre de 0,45 µm de porosité).

9.1.2. Préparation de la série de dilution 1 :1 de l'effluent

Procédure (voir **figure 4**)

1. Prendre six ballons jaugés de 200 ml et de les noter de C0 à C5. Le C0 est le flacon contrôle, C1 est l'effluent non dilué et C5 la plus forte dilution (voir **tableau 1**).

Tableau 1 **:** série de dilution de l'effluent

Flacon	Concentration en effluent (en %)
C0	0
C1	100
C2	50
C3	25
C4	12.5
C5	6.25

ORIGINAL 2014

2. Remplir le flacon C1 jusqu'au trait avec l'effluent filtré et les solutions de nutriments (2 ml de « Stock Solution A » et 0.2 ml des « Stock Solution B, C et D »). Boucher le flacon et bien l'agiter pour homogénéiser le contenu.

3. Mettre 100 ml de milieu de culture dans les flacons C0, C2, C3, C4 et C5.

4. Transférer la moitié du contenu du flacon C1 (soit 100 ml) dans le ballon jaugé C2 (jusqu'au trait de C2) pour effectuer la première dilution 1:1 (50 % de l'effluent); boucher le flacon C2 et agiter vigoureusement pour homogénéiser le contenu.

5. Répéter l'opération indiquée à l'étape 4, pour les flacons C3, C4 et C5, c'est-à-dire :

- 100 ml de C2 dans C3 (= 25 % de l'effluent)
- 100 ml de C3 dans C4 (= 12.5 % de l'effluent)
- 100 ml de C4 dans C5 (= 6.25 % de l'effluent).

6. Vider et éliminer 100 ml de solution du flacon C5.

7. Ajouter 1 ml de la suspension à 1.10^6 algues/ml dans chaque flacon, afin d'obtenir une concentration initiale d'algues de 1.10^4 algues/ml dans chaque flacon. Boucher les flacons et agiter vigoureusement de façon à répartir uniformément les algues.

N.B. : L'ajout de 1 ml de suspension d'algues concentrée à chaque flacon et de 2.6 ml de solution stock d'éléments nutritifs à C1 (100 % de l'effluent) conduit à une erreur de 1 % dans les dilutions d'effluents respectives.

Cette petite erreur est autorisée afin de permettre une procédure moins compliquée pour la préparation de la série de dilutions de l'échantillon

.

8. Passez au **point 10** : **Transfert des dilutions d'algues-échantillon dans les flacons d'essai.**

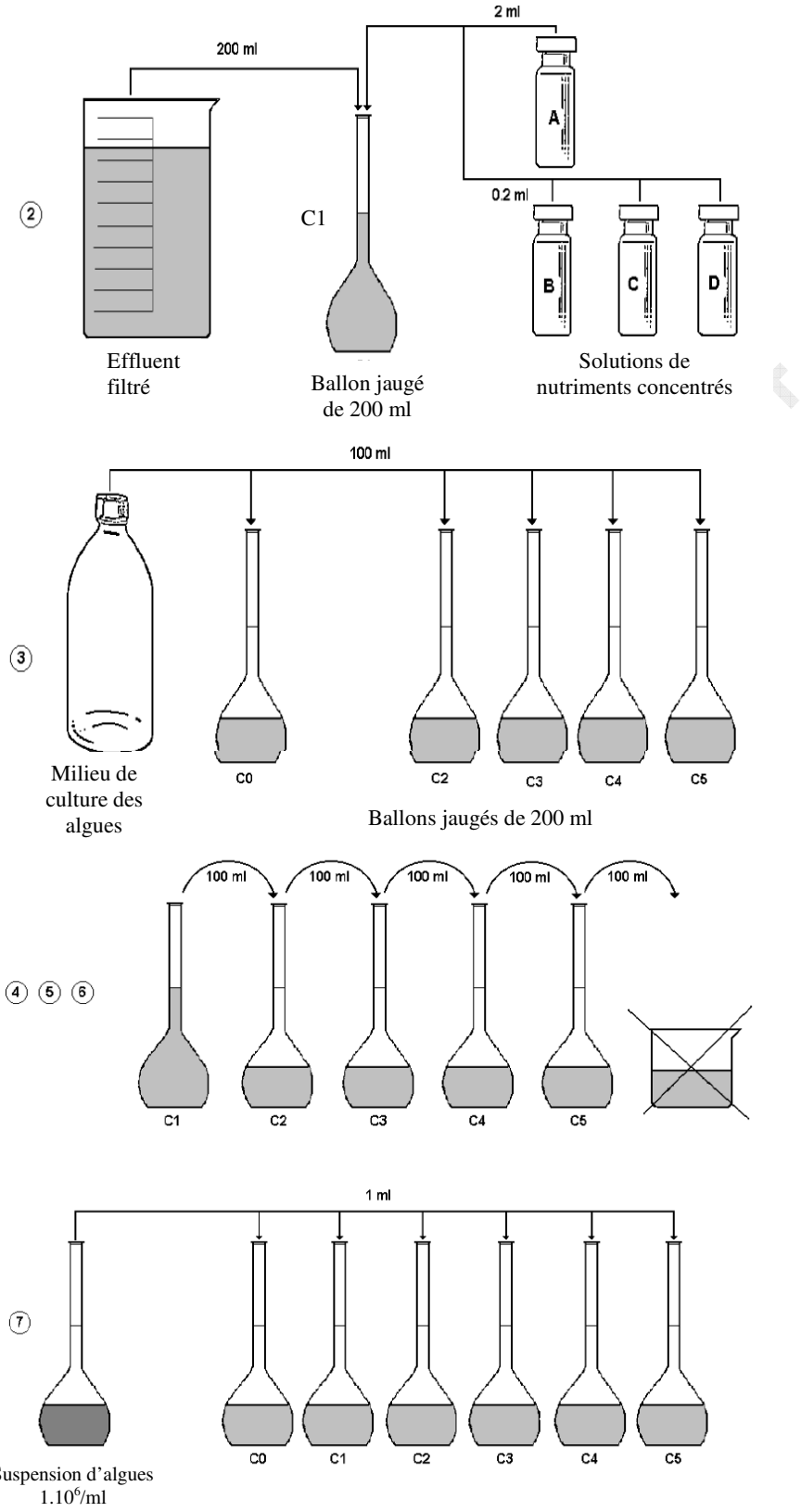
Si, à la fin de la période d'essai de 3 jours, la plus faible concentration en effluent (6.25 %) inhibe sensiblement la croissance des algues par rapport au contrôle (par exemple, de près de 50 % d'inhibition ou plus), un deuxième essai doit être effectué avec une nouvelle série de dilutions (de concentrations plus faibles). La concentration en effluent la plus importante de cette nouvelle série de dilution sera la concentration la plus faible qui a produit 90-100 % d'inhibition de la croissance des algues dans le premier essai.

9.2. Composés chimiques

Bien que prévus par le kit, la présente méthode ne s'intéresse pas aux tests sur composés chimiques mais uniquement aux tests sur eaux résiduaires (effluents).

ORIGINAL 2014

Figure 4 : tests sur effluents, préparation de la série de dilutions 1 : 1 (d'après la *standard operational procedure* de l'Algaltoxkit de MicroBio Tests).



10. Transfert des dilutions d'algues-échantillon dans les flacons d'essai

Pour une évaluation statistiquement acceptable de l'inhibition de la croissance des algues, chaque concentration d'essai, ainsi que le contrôle, doivent être testés en trois répétitions.

Chaque Algaltoxkit contient deux ensembles de 18 cellules dans un bac transparent muni de 2 bandes en plastique et maintenus en position par 2 élastiques.

1. Prendre l'un des deux bacs transparents, retirer les élastiques et les bandes en plastique, et marquer les cellules par groupes de 3 (a, b, c) pour chaque concentration (de C0 à C5).

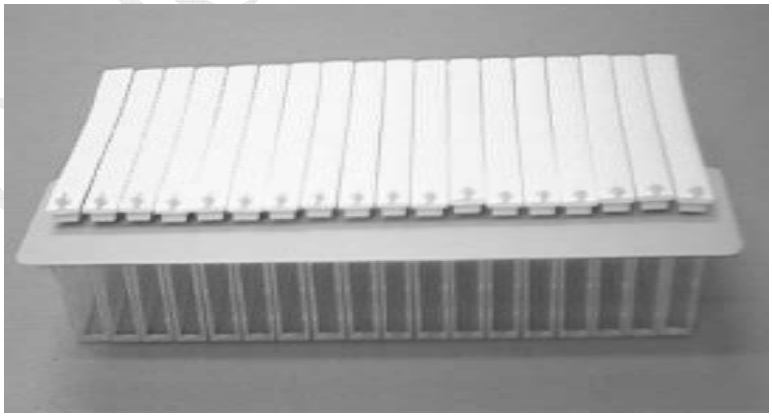
2. Ouvrir toutes les cellules et après agitation vigoureuse, transférer 25 ml des dilutions algues-échantillon à partir de chaque flacon dans les 3 cellules correspondantes.

11. Incubation des flacons d'essai

1. Fermer toutes les cellules et les remettre dans leur bac transparent. Soulever ensuite un peu le couvercle sur un côté des cellules et y glisser la bande en plastique afin de laisser une certaine ouverture vers le milieu des cellules permettant les échanges gazeux (voir **figure 5**).

Les cellules doivent être placées dans le bac transparent d'une façon aléatoire (c'est-à-dire pas dans la séquence C0 à C5, et en séparant les 3 répétitions des différentes dilutions), afin de compenser les éventuelles différences locales au cours de l'incubation.

Figure 5 : bac transparent contenant les cellules (d'après la *standard operational procedure* de l'Algaltoxkit de MicroBio Tests).



2. Suite à la prescription de la norme ISO 8692, section 7.6 «incubation», le bac transparent avec les cellules doit être incubé pendant 72 h dans un incubateur (ou 48 h comme admis par la norme pour des effluents ; ISO 8692 – Annexe A point A.10), ou dans une pièce dont la température ambiante est contrôlée, avec un éclairage uniforme constant par lampes fluorescentes blanc froid. Une illumination de 10000 lux est nécessaire pour l'éclairage latéral du bac ou 3000-4000 lux pour un éclairage par le fond.

Pour obtenir une croissance satisfaisante des algues au cours de la période d'essai de 3 jours (ou de 2 jours, admis pour un effluent ; ISO 8692 – Annexe A point A.10), la température dans l'incubateur ou dans la pièce à température contrôlée devrait être de 23 ± 2 °C.

Les procédures habituelles d'essai de toxicité sur les algues recommandent généralement que les algues soient maintenues en suspension continue pour faciliter le transfert de CO_2 et réduire les variations du pH. Des enquêtes détaillées avec l'Algaltoxkit ont cependant révélé qu'une remise en suspension des algues une fois par jour, immédiatement avant la lecture de DO des cellules, suffisait largement pour obtenir le nombre minimum de divisions d'algues prescrit dans les procédures habituelles. L'agitation continue des flacons d'essai n'est donc pas obligatoire pour l'essai Algaltoxkit.

12. Rapport de résultats

Comme indiqué dans la norme ISO 8692, l'inhibition de la croissance des algues par rapport au contrôle doit être déterminée toutes les 24 heures. La mesure de la DO à 670 nm des suspensions d'algues dans les cellules devrait être réalisée durant les 3 jours d'essai, c'est à dire après 24 h, 48 h (et 72 h le cas échéant) d'exposition à la substance toxique. Les cellules doivent être replacées dans l'incubateur de manière aléatoire après la mesure journalière. Les résultats quotidiens pour chaque cellule sont consignés sur la «Feuille de résultats » (exemple **en annexe II**).

12.1. Interférence des échantillons colorés sur les lectures de DO

La couleur des échantillons environnementaux peut interférer avec les lectures de DO des suspensions d'algues, surtout quand la couleur présente une absorption à la longueur d'onde qui est utilisée pour mesurer la densité des algues (670 nm).

Quoi qu'il en soit, il est important de rappeler que la détermination de la toxicité, vis-à-vis des microalgues, des échantillons très colorés est automatiquement biaisée par les interférences de la couleur avec la pénétration de la lumière dans le milieu contenant les algues. En outre, les mesures de densité optique dans les cellules ne sont possibles que jusqu'à une certaine intensité de coloration.

Pour les échantillons colorés, une série de dilution sans algues devrait être constituée. Cette technique nécessite 5 cellules supplémentaires, qui ne sont pas incluses dans les 2 séries de 18 cellules incluses dans chaque Algaltoxkit mais qui peuvent être obtenues séparément.

1. Après avoir préparé la série de dilution de l'échantillon dans les ballons jaugés mais avant l'ajout de la suspension d'algues concentrée, remplir 5 cellules avec 25 ml de la dilution correspondante.
2. Garder les 5 cellules avec les dilutions (de couleur) à part et procéder à nouveau à l'étape 7 du **point 9.1.2.** (Préparation de la série de dilution 1 :1 de l'effluent), en n'ajoutant que 0.75 ml de suspension concentrée d'algues à chaque flacon de dilution (qui contiennent 75 ml de solution chacun) au lieu de 1 ml.
3. Avant la mesure quotidienne de la DO des cellules contenant les dilutions algues-substances toxiques, étalonner le spectrophotomètre avec les cellules contenant les dilutions correspondantes de substances toxiques colorées.

ORIGINAL 2014

Les cellules contenant les dilutions toxiques des substances colorées doivent aussi être incubées dans les mêmes conditions de lumière et de température que les cellules du bac transparent. De cette façon, les changements de couleur au cours des 3 (2) jours d'exposition seront automatiquement pris en compte lors de l'étalonnage réalisé tous les jours avec les cellules correspondantes.

En cas d'interférence des valeurs de densité optique par la turbidité, cette méthode peut également être utilisée.

13. Traitement des données

1. Calculer la moyenne journalière des valeurs de DO pour les 3 répétitions de cellules du contrôle et pour les différentes dilutions de la substance toxique.

2. Calculer l'inhibition de croissance des algues pour chaque concentration de substance toxique et la E_rC_{50} à 48 ou 72 h correspondante selon les protocoles de traitement de données internationalement acceptés (par exemple, la norme ISO 8692 ou de la ligne directrice 201 de l'OCDE).

N.B. Un logiciel de traitement automatique des résultats de l'Algaltoxkit est disponible pour les utilisateurs de l'Algaltoxkit.

14. Validité de l'essai

Les lignes directrices nationales et internationales pour les tests de toxicité sur les algues ont chacune leurs propres critères de validité.
La norme ISO 8692 - Section 8 «Critères de validité » stipule, par exemple, que le taux de croissance moyen dans le contrôle soit au moins de 1,4 par jour.
La ligne directrice 201 de l'OCDE indique, quant à elle, que le taux de croissance du contrôle doit être d'au moins 0,92 par jour, à savoir un facteur de multiplication de seulement 16.
Les deux organisations indiquent en outre que les valeurs de pH dans les contrôles ne doivent pas augmenter de plus de 1,5 unités par rapport au pH initial dans le milieu de culture.

15. Essai sur substance de référence

Afin de vérifier la bonne exécution du protocole d'essai ainsi que sa sensibilité, il est conseillé d'effectuer un essai sur substance de référence de temps à autre (par exemple tous les 5 à 10 essais).

Ce test de contrôle de qualité peut être réalisé avec la substance chimique de référence dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$).

ORIGINAL 2014

Procédure:

Une série de dilutions allant de 1.8 mg/l à 0.18 mg/l doit être préparée suivant les instructions données dans la section **9.2.2. Essai définitif – 9.2.2.1. C1-C5 s'étend sur un ordre de grandeur.**

1. Prendre 8 flacons calibrés de 100 ml, les étiqueter «Stock 1» et «Stock 2» et C0 à C5.

2. Peser 100 mg de dichromate de potassium sur une balance analytique et les transférer dans le flacon «Stock 1». Amener le volume jusqu'au trait avec du milieu de culture et agiter pour dissoudre le composé chimique et obtenir une solution de concentration 1 g/l («Stock 1»).

3. Transférer 1 ml de la solution «Stock 1» dans le flacon «Stock 2» et amener jusqu'au trait avec le milieu de culture. Agiter pour homogénéiser le contenu et obtenir une concentration de 10 mg/l (« Stock 2 »).

4. Transférer les volumes suivants de solution du flacon « Stock 2 » dans les autres flacons tel que décrit ci-après:

- 18 ml dans le flacon C1
- 10 ml dans le flacon C2
- 5.6 ml dans le flacon C3
- 3.2 ml dans le flacon C4
- 1.8 ml dans le flacon C5

Même remarque que précédemment pour la petite erreur (1%) dans les dilutions résultant de l'ajout de la suspension d'algues concentrée.

5. Ajuster le volume au trait de 100 ml avec du milieu de culture dans les ballons jaugés C0, C1, C2, C3, C4 et C5 (voir tableau 4).

6. Ajouter 1 ml de suspension d'algues (1.10^6 cellules/ml) dans les flacons C0, C1, C2, C3, C4 et C5, afin d'obtenir une densité d'algues de 1.10^4 algues/ml dans chaque flacon. Boucher et agiter vigoureusement les flacons pour répartir les algues de façon homogène.

7. Suivre les instructions du **paragraphe 10** (**Transfert des dilutions d'algues-échantillon dans les flacons d'essai**) et des paragraphes suivants.

D'après les données obtenues avec le test de contrôle de qualité, la valeur de l'E_rC_{50} 48 h ou 72 h calculée devrait être dans les limites de confiance à 95% stipulées dans la feuille de spécifications.

ORIGINAL 2014

16. Version mise à jour du protocole standard de l'Algaltoxkit

Pour répondre aux spécifications de la norme ISO 8692 et de la ligne directrice 201 de l'OCDE (récemment modifiées), les modifications suivantes ont été apportées à la nouvelle version du protocole standard du microbiotest Algaltoxkit :

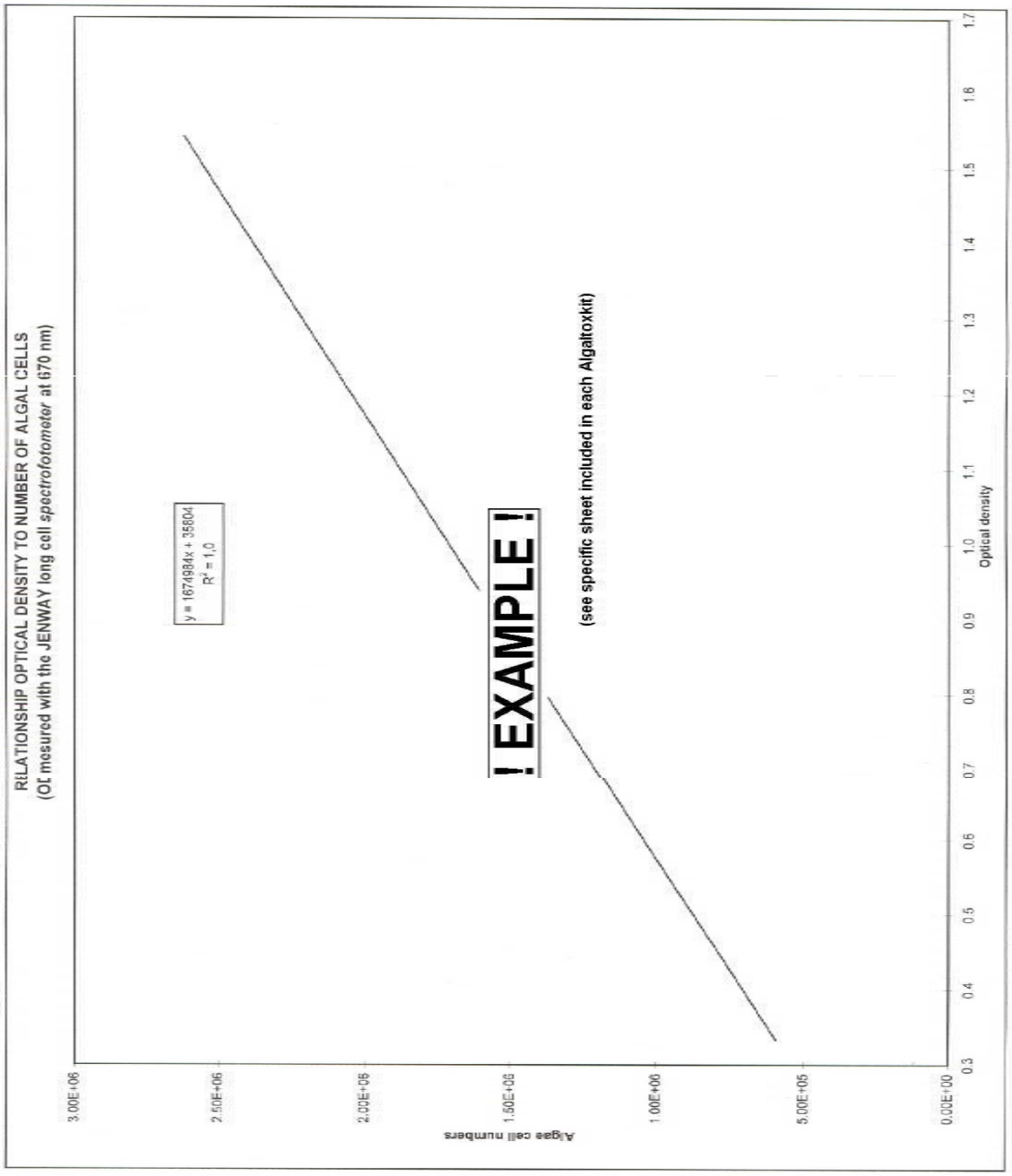
1. Les mesures de la croissance des algues dans les cellules sont réalisées à 24 h, 48 h (et 72 h le cas échéant) d'incubation et ne doivent plus être déterminées au début de l'essai (c'est-à-dire au t_0). La norme ISO 8692 spécifie en effet à la section « 7.7 Mesures » : « la densité cellulaire nominale peut être utilisée comme densité cellulaire initiale et la mesure de la densité cellulaire n'est pas nécessaire. »
2. Les calculs d'inhibition de croissance dans les concentrations d'essai en comparaison à la croissance dans le contrôle sont basés sur la détermination des taux de croissance µ moyens, après transformation des valeurs de DO en nombre de cellules. Un logiciel a été conçu pour le traitement des données de l'Algaltoxkit, celui-ci calcule les E_rC_{50} à 48 h ou 72h, E_rC_{10} à 48 h ou 72 h et E_rC_{20} à 48h ou 72h avec leurs intervalles de confiance à 95%. Ce logiciel est disponible gratuitement pour les utilisateurs de l'Algaltoxkit.

17. Références

- **ALGALTOXKIT F_{TM} :** Freshwater Toxicity Test with Microalgae, standard operational procedure.
- **Ligne directrice 201 de l'OCDE** pour les essais de produits chimiques. Algues d'eau douce et cyanobactéries, essai d'inhibition de la croissance.
- **Norme internationale ISO 8692:** Qualité de l'eau – Essai d'inhibition de la croissance des algues d'eau douce avec des algues vertes unicellulaires

ORIGINAL 2014

ANNEXE I


RELATIONSHIP OPTICAL DENSITY TO NUMBER OF ALGAL CELLS
(OI mesured with the JENWAY long cell spectrofotometer at 670 nm)
y = 1674984x + 35804
R² = 1,0
! EXAMPLE !
(see specific sheet included in each Algaltoxkit)
Algae cell numbers
Optical density
3.00E+06
2.50E+06
2.00E+06
1.50E+06
1.00E+06
5.00E+05
0.00E+00
0.3
0.4
0.5
0.6
0.7
0.8
0.9
1.0
1.1
1.2
1.3
1.4
1.5
1.6
1.7

ANNEXE II

ALGALTOXKIT F - FEUILLE DE RESULTATS

Nom de l'opérateur: .....

Série de dilutions testée: concertraticn 1 : .....
concertraticn 2 : .....
concertraticn 3 : .....
concertraticn 4 : .....
concertraticn 5 : .....

Date d'application du test : .....

Espèce testée: .....

Substance testée: .....

DENSITE OPTIQUE A 670nm							
Temps d'exposition	Réplicats	Contrôle	C5	C4	C3	C2	C1
24h	1						
	2						
	3						
	Moyenne						
	CV%						
48h	1						
	2						
	3						
	Moyenne						
	CV%						
72h	1						
	2						
	3						
	Moyenne						
	CV%						

ORIGINAL 201

E-V-3v2-Détermination de la toxicité aiguë (EC50-48h) par *Daphnia magna* Straus – Méthode conventionnelle (daphnies issues d'élevage)

1. Préambule

Il existe deux méthodes de détermination de la toxicité aiguë par *Daphnia magna* : la présente méthode dite « conventionnelle » qui utilise des daphnies maintenues en élevage et la méthode dite « en kit » qui utilise des daphnies directement écloses à partir d'œufs dormants (éphippies ; kit disponible auprès de la société belge Microbiotests Inc.). Cette dernière méthode est notamment bien adaptée à l'autocontrôle puisqu'elle ne nécessite pas le maintien d'un élevage de daphnies, mais exige la même rigueur dans sa mise en œuvre, en particulier dans le respect des conditions d'ambiance (température, milieu, …).
Différentes études comparatives de la sensibilité des deux méthodes ont été réalisées : aucune différence significative n'a été constatée entre les deux méthodes.

2. Objet

Cette procédure décrit la méthode de détermination de la toxicité aiguë d'échantillons liquides vis-à-vis de *Daphnia magna* Straus (*Cladocera*, *Crustacea*) suivant la méthode conventionnelle impliquant l'utilisation de daphnies issues d'un élevage. Le paramètre d'effet est l'inhibition de la mobilité.

ORIGINAL 2016

3. Domaine d'application

Cette procédure s'applique aux échantillons liquides tels les eaux usées industrielles et les eaux usées urbaines ou agricoles, épurées ou non, les eaux douces de surface et souterraines, les eaux interstitielles, les lixiviats de résidus solides, les substances chimiques solubles dans les conditions de l'essai, ou pouvant être maintenues en suspension ou en dispersion stable dans les conditions de l'essai, ou tout autre échantillon aqueux.

4. Définitions et abréviations

Daphnia magna : microcrustacé d'eau douce de l'ordre des cladocères.

EC50-24/48h : concentration ou dilution effective estimée qui immobilise 50 % des daphnies après 24/48h d'exposition.

Parthénogenèse acyclique : reproduction asexuée (pas d'intervention de gamète mâle) sans alternance avec une phase de reproduction sexuée normale. Dans ce cas, les femelles donnent naissance uniquement à des femelles. L'apparition de mâles dans l'élevage est le signe de perturbations dans celui-ci.

5. Principe

L'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* est utilisée comme mesure de la toxicité aiguë des substances et des échantillons aqueux soumis à l'essai.

Pendant l'essai, les daphnies sont exposées pendant 24 et/ou 48 heures à des concentrations ou dilutions graduelles de la substance ou de l'échantillon dans les conditions définies par la norme ISO 6341 et décrites dans le mode opératoire présenté ci-dessous (**point 10**). La relation concentration-effet est déterminée par analyse statistique. L'eau de dilution sert de témoin.
La toxicité de la substance ou de l'échantillon est exprimée en concentration ou dilution qui en 24 et/ou 48 heures immobilise 50 % des *D. magna* mises en expérimentation, respectivement EC_{50}-24h et/ou EC_{50}-48h.

La toxicité d'un échantillon ou d'une substance en solution peut également être exprimée en unités de toxicité : TU_{50}-24h(48h)= 100/EC_{50}-24h(48h).

6. Conditionnement et conservation de l'échantillon

Les flacons en verre ou en matériau chimiquement inerte doivent être complètement remplis pour ne plus contenir d'air. L'essai de toxicité doit être effectué dès que possible, idéalement dans les 6 heures qui suivent le prélèvement. Si ce délai ne peut être respecté, l'échantillon doit être refroidi à 3 ± 2 °C sur le lieu du prélèvement et conservé à cette température afin d'être analysé dans les 48 heures qui suivent le prélèvement. S'il ne peut être analysé dans les 48h suivant le prélèvement, l'échantillon peut également être congelé (à une température inférieure à -18°C) directement après le prélèvement pour être soumis à l'essai dans les 2 mois qui suivent le prélèvement. Cette congélation, bien que prévue par la norme ISO 6341, n'est toutefois pas à privilégier dans la mesure où une modification de la toxicité est généralement constatée suite à la congélation.

7. Appareillages et matériels utilisés

7.1. Appareillage

- Pièce ou enceinte climatisée à 20 ± 2 °C
- Balance analytique de sensibilité 0,1 mg
- pH-mètre
- Oxymètre
- Conductivimètre
- Kit de mesure de la dureté de l'eau

7.2. Petit matériel

- Ballons jaugés en verre (pour la préparation des solutions et des dilutions) ;
- Entonnoirs en verre ;
- Béchers en verre de 600 ml par exemple (pour l'élevage des daphnies) ;
- Béchers en verre de 50 ml ;
- Béchers de 30 ml en polypropylène par exemple (récipients d'essai) ;
- Verres de montre (utilisés comme couvercles pour les récipients d'essai) ;
- Plateaux (pour disposer les récipients d'essai) ;
- Pipettes pasteurs ;
- Poires d'aspiration (2 ml) (pour la récupération des daphnies).

La verrerie utilisée doit être propre. Le nettoyage s'effectue à l'aide d'un programme comportant de nombreux rinçages (détergent, rinçage, rinçage à l'eau acidifiée, sept rinçages à l'eau déminéralisée et séchage). Elle doit être rincée avec de l'eau déionisée avant utilisation (il en est de même pour les béchers en polypropylène).

ORIGINAL 2016

8. Matériel biologique

Les essais sont réalisés sur *Daphnia magna* Straus (*Cladocera, Crustacea*) âgées de moins de 24h, obtenues par parthénogenèse acyclique dans des conditions d'élevage spécifiées. Il convient qu'elles ne soient pas issues d'une première génération de descendants.

Afin de récolter des néonates de moins 24h, il convient d'isoler les femelles porteuses dans du milieu frais et de recueillir les nouveau-nés libérés dans les 24 h suivant l'isolement de la mère.

Les *D. magna* doivent provenir d'une culture saine, ne montrant pas de signe de stress (mortalité < 20 % en 2 jours, absence de mâles ou d'éphippies, pas de décoloration des individus, aucun retard ne doit être observé dans l'obtention de la première ponte, etc.).

L'âge et l'origine des organismes doivent figurer dans le rapport d'essai car ils ont un impact sur la sensibilité aux substances toxiques.

9. Réactifs utilisés

9.1. Eau

Il convient d'utiliser de l'eau déionisée ou d'une pureté équivalente (conductivité < 10 µS/cm, COT < 5ppb) pour la préparation des solutions et de l'eau de dilution.

Il convient d'éviter toute contamination de l'eau par des substances inorganiques ou organiques pendant la préparation et la conservation.

ORIGINAL 2016

9.2. Solution de chlorure de calcium (solution 1)

Dissoudre 11,76 g (balance analytique précise au 10^{-4} g) de chlorure de calcium dihydraté ($CaCl_2.2H_2O$) dans de l'eau déionisée et compléter à 1 litre. La solution, conservée au frigo (4 °C), peut être utilisée pendant 4 mois.

9.3. Solution de sulfate de magnésium (solution 2)

Dissoudre 4,93 g (balance analytique précise au 10^{-4} g) de sulfate de magnésium heptahydraté ($MgSO_4.7H_2O$) dans de l'eau déionisée et compléter à 1 litre. La solution, conservée au frigo (4 °C), peut être utilisée pendant 4 mois.

9.4. Solution d'hydrogénocarbonate (solution 3)

Dissoudre 2,59 g (balance analytique précise au 10^{-4} g) d'hydrogénocarbonate de sodium ($NaHCO_3$) dans de l'eau déionisée et compléter à 1 litre. La solution, conservée au frigo (4 °C), peut être utilisée pendant 4 mois.

9.5. Solution de chlorure de potassium (solution 4)

Dissoudre 0,23 g (balance analytique précise au 10^{-4} g) de chlorure de potassium (KCl) dans de l'eau déionisée et compléter à 1 litre. La solution, conservée au frigo (4 °C), peut être utilisée pendant 4 mois.

9.6. Eau de dilution (ED)

Pour un volume total de 1 litre, mélanger 25 ml de chacune des quatre solutions (**points 9.2. à 9.5.**) avec de l'eau déionisée (de conductivité < 10µS/cm). L'eau de dilution doit être aérée jusqu'à stabilisation du pH (minimum 2 heures, de préférence une nuit). Le pH doit être de 7,8 ± 0,5 ; si nécessaire, ajuster par ajout d'une solution de NaOH (1N) ou de HCl (1N). La dureté totale doit être de 225 mg/l ± 50 mg/l en $CaCO_3$ (soit 12,6 ± 2,8 degré allemand équivalent à 22,5 ± 5 °F) et la concentration en oxygène dissous supérieure à 7 mg/l.

Lors de la préparation des solutions 1 à 4 (**points 9.2 à 9.5**), un carnet de suivi pour l'eau de dilution doit être complété. Les éléments suivants doivent y figurer :

- la dénomination exacte de la substance utilisée ;
- la date de préparation de la solution ;
- la pesée réelle effectuée ;
- la balance utilisée.

Lors de la préparation de l'eau de dilution, le carnet de suivi pour l'eau de dilution doit être complété. Les éléments suivants doivent y figurer :

- la date de préparation des solutions mères 1 à 4 ;
- la date de préparation de l'ED et le volume préparé.

ORIGINAL 2016

9.7. Solution de la substance de référence dichromate de potassium (solution mère)

Préparer une solution de dichromate de potassium à 1g/l en dissolvant par exemple 100 mg de $K_2Cr_2O_7$ (pesés sur une balance analytique précise au 10^{-4} g) dans 100ml d'eau déionisée. La solution peut se conserver pendant 4 mois au frigo (4°C) et à l'obscurité.

Attention à la manipulation de cette substance cancérigène ! : porter tablier, gants et éviter toute inhalation de cette poudre toxique.
Pour plus d'information, la fiche de sécurité de cette substance est disponible sur le lien suivant (fiche INRS FT-180) :
http://www.inrs.fr/publications/bdd/doc/fichetox.html?refINRS=FT%20180.

9.8. Solution d'essai de la substance de référence à 10 mg/l

Le jour du test, diluer 100 fois la solution mère de dichromate de potassium (**point 9.7**) dans de l'eau de dilution. Par exemple, pipeter 1 ml de solution mère dans un jaugé de 100 ml et ajuster au trait avec de l'eau de dilution.

10. Mode opératoire

10.1. Préparation des daphnies en vue d'essais

Pour le test, seules les daphnies âgées de moins de 24 heures peuvent être utilisées. Afin d'obtenir les jeunes désirés, il est nécessaire de sélectionner les daphnies productrices avant (< 24h) le début de l'essai.

Les daphnies utilisées lors des essais proviennent au minimum de la troisième génération de descendants (3ème ponte) par parthénogenèse acyclique. Afin d'assurer la production de jeunes de deuxième à cinquième portée, le système d'élevage suit l'âge des daphnies mères.

Généralement, les daphnies passent par 3 « niveaux » : le niveau des jeunes, le niveau des productrices première semaine et le niveau des productrices deuxième et/ou troisième semaine. Seuls les niveaux des productrices (première, deuxième et/ou troisième semaine) ayant leur troisième portée sont utilisés pour produire les jeunes servant aux essais.

10.2. Préparation de l'échantillon

Avant la préparation des dilutions, l'échantillon et l'eau de dilution sont amenés à une température de 20 ± 2°C. L'échantillon est mis à décanter minimum 2h. Le pH, la conductivité, et la concentration en oxygène dissous sont mesurés dans l'échantillon décanté et non dilué.

Si la concentration en oxygène dissous des échantillons est inférieure à 40% de la valeur de saturation, elle peut être amenée à minimum cette valeur (suivant instructions reçues avec l'échantillon) par aération de l'échantillon au moyen de méthodes appropriées (par exemple aération ou agitation), pendant un temps inférieur à 20 minutes. Il convient d'éviter toute sursaturation. Si une aération a été effectuée, celle-ci doit être consignée dans le rapport d'essai.

Le pH de l'échantillon peut également être corrigé (suivant instructions reçue avec l'échantillon). Cela est envisagé lorsque des effets toxiques sont observés aux concentrations/dilutions où le pH n'est pas compatible avec la survie des organismes (c'est-à-dire en dehors de l'intervalle de tolérance 6 à 9). Dans ce cas, l'essai peut être répété avec le pH qui aura été ajusté par ajout de HCl ou de NaOH (généralement utilisation d'une solution 1 M ; veiller à ce que la fraction volumique ajoutée ne dépasse pas 5 %). Attention que l'ajustement de pH peut dénaturer l'échantillon. C'est pour cette raison qu'il est important de d'abord réaliser l'essai sur échantillon non ajusté. Si l'ajustement de pH donne lieu à l'apparition de matières en suspension, il convient de réaliser une nouvelle décantation. Tout ajustement de pH doit être consigné dans le rapport d'essai.

ORIGINAL 2016

10.3. Préparation des dilutions ou concentrations de l'échantillon à tester

La gamme de dilutions préparée est fonction de la toxicité de l'échantillon et du paramètre d'effet ciblé (EC_{50}-24h ou EC_{50}-48h). Un test préliminaire peut être nécessaire pour déterminer la gamme de concentrations utile.
Si le test se déroule en deux étapes (préliminaire + définitif), il est souhaitable que la gamme de dilution choisie pour le test définitif résulte d'au moins trois pourcentages d'immobilisation compris entre 10 et 90 %. Il convient que l'essai comprenne au moins 5 dilutions, en plus du témoin.

10.3.1. Dilutions des échantillons

Pour les échantillons environnementaux, les dilutions se font habituellement dans les béchers en polypropylène (s'il n'y a pas de contre-indication) à l'aide de pipettes et le facteur de dilution est généralement de 2. Les récipients en verre sont requis dans le contexte « substances chimiques ». Les dilutions peuvent également se faire par dilutions successives de moitié dans des jaugés de 200 ml et 100 ml :

- remplir le jaugé de 200 ml au trait avec l'échantillon.
- compléter au trait un jaugé de 100 ml noté « dilution 100% » à partir du jaugé de 200 ml
- il reste alors 100 ml d'échantillon dans le jaugé de 200 ml, l'ajuster au trait avec de l'ED (dilution 2 fois)
- compléter au trait un second jaugé de 100 ml (noté 50 %) à partir du jaugé de 200 ml ;
- procéder ainsi de suite jusqu'à l'obtention du nombre de dilutions voulues.

10.3.2. Préparation des solutions des substances chimiques à expérimenter

10.3.2.1. Préparation des solutions mères

Les solutions mères des substances à expérimenter doivent être préparées par dissolution d'une quantité connue de la substance à expérimenter dans un volume défini d'eau de dilution (**point 9.6.**) dans un récipient en verre. Elles doivent être préparées au moment de l'emploi à moins que la substance en solution soit connue pour être stable, auquel cas la solution mère peut être préparée jusqu'à 2 jours avant l'essai. Si un solvant est utilisé, la concentration du solvant dans la solution d'essai finale ne doit pas dépasser 0,1 ml/l. Dans ce cas, deux essais témoins, l'un ne contenant aucun solvant, l'autre contenant la concentration maximale en solvant, doivent être inclus dans l'essai.

10.3.2.2. Préparation des solutions d'essai

Les solutions d'essai doivent être préparées par ajout des solutions mères (**point 10.3.2.1**) à l'eau de dilution (**point 9.6.**) en quantités définies. Généralement, les solutions sont préparées dans des ballons jaugés en verre d'une contenance de 100 ml.

Lorsque les solutions mères sont préparées dans de l'eau déionisée ou distillée, il est recommandé de ne pas ajouter plus de 10 ml de solution mère par litre d'eau de dilution.

Pour les substances chimiques, les gammes de dilution sont préparées avec une raison ne dépassant pas 3.2.

ORIGINAL 2016

10.4. Distribution des solutions dans les béchers

Les solutions à tester sont dispensées, à raison de 20 ml, dans les récipients adéquats, généralement des béchers en polypropylène de 30 ml pour les échantillons environnementaux (ou des béchers en verre de 50 ml en cas de contre-indication). Pour chaque concentration ou dilution ainsi que pour le(s) témoin(s), quatre répliques sont préparées.

10.5. Transfert des daphnies dans l'échantillon

Cette opération doit être terminée au plus tard 24 heures après la préparation des daphnies en vue de l'essai (**point 10.1.**). Un minimum de 2 ml de solution d'essai par daphnie est recommandé.

A l'aide d'une pipette adéquate (par exemple une pipette pasteur, côté col large et non coupant), transférer 5 daphnies dans les béchers en débutant par la concentration la plus faible. Veiller à transférer le moins de liquide possible lors de ce transfert (si possible réaliser le transfert de 5 daphnies en une seule fois dans une même goutte d'eau).

Lors de ce transfert, il est important de veiller à ce que les daphnies ne soient pas retenues à l'interface milieu/air. Afin d'éviter ce problème, il est nécessaire d'injecter les daphnies sous la surface du milieu à tester. Dans ce cas, il est alors important, afin d'éviter la contamination du réservoir de daphnies, de changer de pipette pour chaque transfert. Une autre solution, consiste en l'utilisation d'un réservoir intermédiaire pour chaque concentration de l'échantillon à tester, réservoir contenant 20 daphnies au moins (4x5). Réaliser les transferts dans l'ordre croissant des concentrations en partant du témoin. Dans ce cas, la concentration/dilution du milieu d'essai est minimisée.

Recouvrir chaque bécher contenant 5 daphnies d'un verre de montre afin de minimiser les risques d'évaporation et de contamination.

Incuber à 20 ± 2°C à l'obscurité.

Si certains béchers ne contiennent pas 5 daphnies, le nombre total de daphnies transférées dans le récipient d'essai doit être noté sur la feuille d'essai afin d'en tenir compte lors du traitement des résultats.

10.6. Dénombrement des daphnies après 24 heures

Vingt-quatre heures après l'introduction des daphnies dans les différentes dilutions de l'échantillon, les daphnies immobiles sont dénombrées dans chaque récipient. Les individus incapables de se déplacer dans les quinze secondes qui suivent une légère agitation du récipient sont considérés comme étant immobilisés, même si des mouvements d'antennes peuvent encore être décelés.

Si la mise en contact est poursuivie à 48 h, immédiatement après le dénombrement de 24h, la concentration en oxygène dissous est mesurée pour la plus faible concentration pour laquelle toutes les daphnies sont immobilisées (1 réplique). Passer ensuite au point 10.7.

Si la mise en contact n'est pas poursuivie au-delà de 24h, mesurer la concentration en oxygène dissous immédiatement après le comptage dans les récipients du lot témoin et du lot d'essai le plus concentré. Si la concentration en oxygène dissous du lot d'essai le plus concentré est inférieure à 2 mg/l, la concentration en oxygène dissous doit être mesurée dans les autres lots d'essai afin de vérifier si leur concentration est conforme à la concentration minimale requise de 2 mg/l. Tous les lots d'essai dont la concentration en oxygène dissous est inférieure à 2 mg/l doivent être exclus du calcul final. Le pH et la conductivité des lots d'essai sont également mesurés de la même manière (limites : 6-9 pour le pH et 6500 µS/cm pour la conductivité).

Ces mesures sont consignées dans le rapport d'essai.

Les béchers sont remis à l'obscurité si la mise en contact doit être poursuivie.

ORIGINAL 2016

10.7. Dénombrement des daphnies après 48 heures

Quarante-huit heures après la mise en contact des daphnies avec l'échantillon ou la substance d'essai, effectuer le dénombrement tel que décrit ci-dessus (**point 10.6.**).

Mesurer la concentration en oxygène dissous immédiatement après le comptage dans les récipients du lot témoin et du lot d'essai le plus concentré. Si la concentration en oxygène dissous du lot d'essai le plus concentré passe en dessous de 2mg/l, la concentration en oxygène dissous doit être mesurée dans les autres lots d'essai afin de vérifier si leur concentration est conforme à la concentration minimale requise de 2 mg/l. **Tous les lots d'essai dont la concentration en oxygène dissous est inférieure à 2 mg/l doivent être exclus du calcul final.** Le pH et la conductivité des lots d'essai sont également mesurés de la même manière (limites : 6-9 pour le pH et 6500 µS/cm pour la conductivité).

Ces mesures sont consignées dans le rapport d'essai.

11. Essai de contrôle

L'essai de contrôle avec la substance de référence est réalisé chaque semaine d'essai et à chaque fois qu'un élément du mode opératoire de l'essai ou de l'élevage est modifié. A cette fin, préparer les dilutions suivantes dans de l'eau de dilution à partir de la solution d'essai (**point 9.8.**). Par exemple dans des jaugés de 100 ml : solutions à 2,4 mg/l ; 1,8 mg/l ; 1,3 mg/l ; 1,0 mg/l ; 0,75 mg/l ; 0,56 mg/l ; 0,42 mg/l en $K_2Cr_2O_7$.
Suivre ensuite les instructions détaillées dans les **points 10.4. à 10.7.** du mode opératoire. Les valeurs des essais de contrôles sont reportées en carte de contrôle d'acceptation, la EC_{50}-24h du dichromate de potassium devant être comprise entre 0,6 et 2,1 mg/l. En cas de dépassement des limites d'action (3s), la fiabilité des résultats devra être évaluée et, le cas échéant, l'essai devra être recommencé dans la mesure du possible (selon la disponibilité de l'échantillon).

12. Estimation de la EC_{50} et expression des résultats

Important : les taux d'immobilisation des lots d'essai dont la concentration en oxygène dissous est inférieure à 2 mg/l doivent être exclus du calcul.

La EC_{50}-24h et, le cas échéant, la EC_{50}-48h sont déterminées par traitement informatique utilisant des méthodes statistiques. Cette méthode présente l'avantage, notamment, de déterminer les intervalles de confiance.

Les logiciels suivants sont disponibles sur simple demande chez Microbiotests :
- « LC50.exe » de l'US-EPA (méthode statistique binomiale, moyenne mobile et probit).
- REGTOX adapté au Daphtoxkit[1] (choix entre les modèles Hill, Weibull et Log-normal).

En ce qui concerne l'analyse d'une substance chimique, il convient de mesurer sa concentration au minimum à la plus faible et à la plus forte concentration, au début et à la fin d'essai. Il est recommandé de baser les résultats sur les concentrations mesurées. Cependant, s'il est prouvé que la concentration de la substance chimique ne s'est jamais écartée de ± 20 % de la concentration initiale nominale ou mesurée tout au long de l'essai, les résultats peuvent être basés sur les valeurs initiales nominales ou mesurées.

Sur la feuille d'essai, la EC_{50}-24h, EC_{50}-48h ainsi que les limites correspondant à 0% et à 100% d'immobilisation sont exprimées :
- en pourcentage dans le cas des effluents ou d'autres échantillons aqueux de composition inconnue ;
- en milligrammes par litre dans le cas des substances chimiques.

13. Validité des résultats

Les résultats sont considérés comme valables si les conditions suivantes sont satisfaites:

- le pourcentage d'immobilisation observé dans les récipients témoins est inférieur ou égal à 10 % ;
- la EC_{50}-24h du dichromate de potassium de l'essai de contrôle (**point 11.**) est comprise entre 0,6 mg/l et 2,1 mg/l.

[1] Il s'agit d'une adaptation du programme statistique « open access » développé par E. Vindimian. Plus d'information sur le lien suivant : http://www.normalesup.org/~vindimian/fr_index.html

ORIGINAL 2016

14. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum les informations suivantes :

Intitulé de la méthode d'essai	Détermination de la toxicité aiguë par *Daphnia magna* (inhibition de la mobilité)
Référence de la méthode utilisée	ISO 6341 (2012) + référence méthode CWEA (élevage ou kit)
Identification du client	
Identification complète de l'échantillon	Référence échantillon du client + référence interne Date de réception Prélèvement réalisé par le client ou par le laboratoire + date de prélèvement Méthode de conservation de l'échantillon
Identification du laboratoire effectuant l'analyse	Nom et adresse du laboratoire, nom du technicien, nom de la personne qui valide le rapport
Méthode(s) de préparation de l'échantillon	Présicez si il y a eu congélation, décantation, filtration, centrifugation, ajustement (pH, O2) Présicez le pH, l'oxygène dissous et la conductivité sur l'échantillon initial Précisez l'aspect de l'échantillon initial Rem: s'il y a lieu d'ajuster le pH, celui-ci sera ajusté lors d'un 2ème essai. Le 1er essai étant réalisé sur échantillon non ajusté.
Daphnies utilisées pour l'essai	Précisez l'origine des daphnies utilisées (élevages + souche, kit) et leur âge
Eau de dilution	Précisez le type d'eau utilisé (ex : eau synthétique selon ISO6341), sa date de préparation et ses pH, dureté et O2 dissous
Conditions d'essai	Précisez les dilutions utilisées, le nombre de répliques et le nombre de daphnies utilisées par réplique Précisez la date et la durée de l'essai (24h-48h)
Expression des résultats	Précisez sous forme de tableau et pour chaque concentration testée le dénombrement des daphnies immobiles, le pourcentage d'immobilisation et les teneurs en O2, le pH et la conductivité tel que préconisé (cf. points 10.6 et 10.7). Exemple de tableau :

Concentration	Nbre daphnies immobiles/nbre total daphnies					Pourcentage d'immobilisation	O2 dissous (mg/l)	pH	Conductivité (µS/cm)
	1	2	3	4	Total				
0 % (témoin)	./.	./.	./.	./.	./.	-	-	-	-
100	./.	./.	./.	./.	./.	-	-	-	-
50	./.	./.	./.	./.	./.	-	-	-	-
25	./.	./.	./.	./.	./.	-	-	-	-
12.5	./.	./.	./.	./.	./.	-	-	-	-
…	./.	./.	./.	./.	./.	-	-	-	-

Notez tout comportement anormal des daphnies dans les conditions d'essai (ex : léthargie, flottaison, mouvement anormal,…).
Rapportez la EC50-24h et, si il y a lieu, la EC50-48h, la méthode de calcul employée (manuelle, nom du logiciel, méthode statistique utilisée), si possible les intervalles de confiance à 95 %
Précisez si il y a eu lieu de ne pas employer certaines concentrations dans le calcul de le EC50 (car O2 < 2mg/l en fin d'essai). Précisez lesquelles.
Rapportez la concentration minimale soumise à l'essai correspondant à 100 % d'immobilisation et la concentration maximale soumise à l'essai correspondant à 0 % d'immobilisation (à 24h et, le cas échéant, à 48h)
Précisez si les critères de validité sont respectés, à savoir :
- pourcentage d'immobilisation des témoins ≤ 10 %
- CE50-24h du dichromate de potassium compris entre 0.6 et 2.1 mg/l (précisez la date de l'essai et la valeur de la EC50-24).
Rapporter la valeur des TU (unités de toxicité) calculées de la sorte : $TU50_{24h} = 100/EC50\text{-}24h$ et, le cas échéant, $TU50_{48h} = 100/EC50\text{-}48h$.

Remarque	Présicez toutes les informations relatives aux opérations non spécifiées dans la méthode et/ou tout incident susceptible d'avoir influencé les résultats

ORIGINAL 2016

15. Références

Norme belge enregistrée **NBN EN ISO 6341 (2012)** : Qualité de l'eau – Détermination de l'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* Straus (*Cladocera, Crustacea*) – Essai de toxicité aiguë.

Recommandations pour la mise en élevage des daphnies et les recommandations générales relatives à cet élevage :

Environment Canada 1990. Biological test method. Reference method for determining acute lethality of effluents to Daphnia magna. EPS 1 /RM/14. Environment Canada, Ottawa, Ontario, Canada.

Greene, J.C., Bartels, C.L., Warren-Hicks, W.J., Parkhurst, B.P., Linder, G.L., Peterson, S.A. and Miller, W.E. Protocols for short term toxicity screening of hazardous waste sites. U.S. Environmental Protection Agency, Corvallis, Oregon.

US. EPA 1982. Daphnid Acute Toxicity Test. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Toxic Substances. Document EG-1 /ES-I , Washington, D.C.

US. EPA 1985. Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms.

W.G. Peltier and C.I. Weber (eds). US. Environmental Protection Agency Report EPA/600[4-85/013, Cincinnati, Ohio.

POSTMA, J.F. et al (2002): Confounding factors in bioassays with freshwater and marine organisms. Ecotoxicol. Environ. Safety, 53 (2), p. 226-237.

ORIGINAL 2016

E-V-4v2-Détermination de la toxicité aiguë par *Daphnia magna* Straus – Méthode en kit (DAPHTOXKIT F *MAGNA*).

1. Préambule

Il existe deux méthodes de détermination de la toxicité aiguë par *Daphnia magna* : la méthode dite « conventionnelle » qui utilise des daphnies maintenues en élevage et la présente méthode dite « en kit » qui utilise des daphnies directement écloses à partir d'œufs dormants (éphippies ; kit disponible par exemple auprès de la société belge Microbiotests Inc.). Cette dernière méthode est notamment bien adaptée à l'autocontrôle puisqu'elle ne nécessite pas le maintien d'un élevage de daphnies, mais exige la même rigueur dans sa mise en œuvre, en particulier dans le respect des conditions d'ambiance (température, milieu, …).

Différentes études comparatives de la sensibilité des deux méthodes ont été réalisées : aucune différence significative n'a été constatée entre les deux méthodes.

2. Objet

Cette procédure décrit la méthode de détermination de la toxicité aiguë d'échantillons liquides vis-à-vis de *Daphnia magna* Straus (*Cladocera*, *Crustacea*) suivant la méthode en kit qui utilise des daphnies directement écloses à partir d'œufs dormants (éphippies ; kit disponible par exemple auprès de la société belge Microbiotests Inc.). Le paramètre d'effet est l'inhibition de la mobilité.

ORIGINAL 2016

3. Domaine d'application

Cette procédure s'applique aux échantillons liquides tels les eaux usées industrielles et les eaux usées urbaines ou agricoles, épurées ou non, les eaux douces de surface et souterraines, les eaux interstitielles, les lixiviats de résidus solides, les substances chimiques solubles dans les conditions de l'essai, ou pouvant être maintenues en suspension ou en dispersion stable dans les conditions de l'essai, ou tout autre échantillon aqueux.

4. Définitions et abréviations

Daphnia magna : microcrustacé d'eau douce de l'ordre des cladocères.

EC50-24/48h : concentration ou dilution effective estimée qui immobilise 50 % des daphnies après 24/48h d'exposition.

5. Conditionnement et conservation de l'échantillon

Les flacons en verre ou en matériau chimiquement inerte doivent être complètement remplis pour ne plus contenir d'air. L'essai de toxicité doit être effectué dès que possible, idéalement dans les 6 heures qui suivent le prélèvement. Si ce délai ne peut être respecté, l'échantillon doit être refroidit à 3 ± 2 °C sur le lieu du prélèvement et conservé à cette température afin d'être analysé dans les 48 heures qui suivent le prélèvement. S'il ne peut être analysé dans les 48h suivant le prélèvement, l'échantillon peut également être congelé (à une température inférieure à -18°C) directement après le prélèvement pour être soumis à l'essai dans les 2 mois qui suivent le prélèvement. Cette congélation, bien que prévue par la norme ISO 6341, n'est toutefois pas à

privilégier dans la mesure où une modification de la toxicité est généralement constatée suite à la congélation.

6. Introduction au Daphtoxkit

6.1. Origine

Les bioessais de criblage utilisant les espèces de daphnies *Daphnia magna, Daphnia pulex* et *Ceriodaphnia dubia* ont été développés par les équipes de recherche du Prof. Dr. G. Persoone au « Laboratory for Biological Research in Aquatic Pollution » (LABRAP) à l'Université de Gand en Belgique.[1] La société MicroBioTests a repris les activités découlant de ces recherches en produisant les Toxkits et en les commercialisant.

6.2. Champ d'application

Les TOXKITS sont des microbioessais contenant tout ce qui est nécessaire (y compris les organismes d'essai) pour réaliser des tests de toxicité simples, rapides, sensibles et reproductibles. Les tests Toxkits sont particulièrement adaptés pour les essais de toxicité en autocontrôle sur des produits chimiques et des rejets évacués dans les milieux aquatiques, à condition de respecter une rigueur dans la mise en œuvre, en particulier le respect de conditions d'ambiance reproductibles (température, milieu, …).

6.3. Avantages des essais Toxkit

L'avantage majeur des microbioessais Toxkit par rapport aux bioessais conventionnels est que les organismes d'essai sont intégrés dans les kits sous une forme dormante ou immobilisée, à partir de laquelle ils peuvent être activés à la demande avant l'exécution de l'essai de toxicité. Ceci élimine la nécessité d'un approvisionnement continu et/ou d'un élevage d'organismes d'essai et donc diminue la charge de travail liée à l'entretien d'un élevage pour des laboratoires qui n'exécutent pas ce test en routine.

Tous les essais Toxkit ont été « miniaturisés » en microbioessais pratiques et faciles à utiliser qui peuvent être effectués avec du matériel de laboratoire et des équipements conventionnels, sur un espace de travail relativement réduit.

6.4. Caractéristiques biologiques des Daphtoxkits

Les Daphtoxkits sont basés sur l'utilisation d'œufs dormants des crustacés *Daphnia magna, Daphnia pulex* et *Ceriodaphnia dubia*, qui sont utilisés dans le monde entier pour des essais de toxicité. Ces œufs sont protégés par une capsule chitineuse appelée éphippie, et peuvent être stockés pendant de longues périodes sans perdre leur viabilité. Quand les éphippies sont placées dans des conditions environnementales spécifiques pour déclencher l'éclosion, les œufs se développent en néonates en environ 3 jours. Ces néonates peuvent alors être employés immédiatement pour les essais de toxicité.

La présente procédure concerne le Daphtoxkit F *Magna* qui permet de travailler avec le crustacé *Daphnia magna*.

[1] * *Le Laboratoire a récemment été renommé « Laboratory for Environmental Toxicology and Aquatic Ecology» (LETAE).*

ORIGINAL 2016

6.5. Principe du Daphtoxkit

L'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* (néonates issus d'éphippies homogènes en taille et en âge) est utilisée comme mesure de la toxicité aiguë des substances et des échantillons aqueux soumis à l'essai.

Pendant l'essai, les daphnies sont exposées pendant 24 et/ou 48 heures à des concentrations ou dilutions graduelles de la substance ou de l'échantillon dans les conditions définies par la norme ISO 6341 et décrites dans le mode opératoire présenté ci-dessous. La relation concentration-effet est déterminée par analyse statistique. L'eau de dilution sert de témoin.
La toxicité de la substance ou de l'échantillon est exprimée en concentration ou dilution qui en 24 et/ou 48 heures immobilise 50 % des *D. magna* mises en expérimentation, respectivement EC_{50}-24h et/ou EC_{50}-48h.

La toxicité d'un échantillon ou d'une substance en solution peut également être exprimée en unités de toxicité : TU_{50}-24h(48h)= 100/EC_{50}-24h(48h).

6.6. Méthodologie d'essai

Les essais réalisés à l'aide du Daphtoxkit sont effectués conformément aux procédures d'essais prescrites par les organisations nationales et internationales (p. ex. OCDE, ISO, CEE, EPA, ASTM).

6.7. Dispositifs

Chaque Daphtoxkit contient tous les matériaux (jetables) nécessaires pour exécuter 6 bioessais complets (essai préliminaire ou EC_{50} à 24-48h définitif). Le seul équipement complémentaire requis est un incubateur ou une salle à température contrôlée à 20 ± 2 °C, un frigo pour la conservation des éphippies, une petite table lumineuse ou une loupe binoculaire, de la verrerie de laboratoire conventionnelle, une balance analytique, un pHmètre, un oxymètre et un conductivimètre. Du $K_2Cr_2O_7$ sera nécessaire pour réaliser l'essai contrôle.

ORIGINAL 2016

6.8. Sensibilité

La recherche comparative réalisée dans plusieurs laboratoires de différents pays a prouvé que la sensibilité des bioessais exécutés avec le Daphtoxkit est semblable à celle des tests de toxicité conventionnels effectués avec des néonates d'élevage[2].

6.9. Précision

Etant donné que les Daphtoxkits contiennent les matériaux d'essai standards (et les matières biologiques), la répétabilité de ces microbioessais est très élevée.

6.10. Durée de conservation

Les éphippies doivent être conservées dans l'obscurité, à 5 ± 2 °C pour maintenir leur viabilité. Le succès de l'éclosion des éphippies conservées dans ces conditions est garanti pendant plusieurs mois, comme indiqué sur l'étiquette mentionnant la date de péremption de chaque kit.

[2] Publication disponible sur le lien suivant :
http://www.kmae-journal.org/articles/kmae/abs/2009/02/kmae09009/kmae09009.html

6.11. Représentativité

Comme les rotifères et les copépodes, les cladocères sont des membres écologiquement importants des communautés aquatiques d'eau douce et au sein des réseaux trophiques. Les daphnies sont les espèces de crustacés les plus utilisées pour la détermination des effets des xénobiotiques sur les consommateurs primaires dans les écosystèmes aquatiques d'eau douce.

7. Contenu du DAPHTOXKIT F MAGNA

Le DAPHTOXKIT F *MAGNA* contient :

- Six tubes en plastique de 1 ml couverts d'une feuille d'aluminium, contenant des éphippies de *Daphnia magna*, à stocker dans un réfrigérateur à 5 ± 2 °C jusqu'à utilisation. Le nombre de néonates issus de chaque flacon suffit pour un test de toxicité complet.
- Deux lots de 4 petites bouteilles en verre, contenant chacune une solution saline concentrée, pour composer 2 x 2 litres d'eau douce de référence (milieu ISO, formule selon ISO 6341) avec de l'eau déionisée ou de l'eau distillée, pour la préparation du milieu d'éclosion et la dilution de l'échantillon. Composition :
  - flacon 1 : $NaHCO_3$ (129,5 mg – à dissoudre dans 2 litres pour obtenir une concentration de 64.75 mg/l)
  - flacon 2 : $CaCl_2.2H_2O$ (588 mg - à dissoudre dans 2 litres pour obtenir une concentration de 294 mg/l)
  - flacon 3 : $MgSO_4.7H_2O$ (246,5 mg - à dissoudre dans 2 litres pour obtenir une concentration de 123.25 mg/l)
  - flacon 4 : KCl (11,5 mg - à dissoudre dans 2 litres pour obtenir une concentration de 5,75 mg/l)
- Six boîtes de Pétri en polystyrène de 5 cm de diamètre pour l'éclosion des éphippies.
- Six plaques d'essai en polycarbonate composées de 6 puits de rinçage et 24 puits pour les dilutions de l'échantillon.
- Six tubes en plastique de 1 ml contenant une petite quantité de poudre de spiruline pour le "pré-nourrissage" des organismes d'essai avant l'essai de toxicité.
- Six bandes de Parafilm pour sceller les plaques multipuits afin de minimiser l'évaporation au cours de la période d'incubation.
- Six micropipettes en polyéthylène pour le transfert des organismes d'essai.
- Un petit tamis à mailles de 100 µm, pour le rinçage des éphippies.
- Un Manuel de Protocole Standard, c'est-à-dire une brochure détaillée contenant toutes les instructions pour l'exécution des essais préliminaires et / ou des essais définitifs sur les composés chimiques purs ou les déchets.
- Un protocole de laboratoire, c'est-à-dire une version abrégée du Manuel de Protocole Standard.
- Six feuilles pour le report des résultats et les calculs de pourcentages d'effets moyens.
- Six feuilles d'interpolation graphique pour le calcul manuel rapide de l'EC_{50}.

ORIGINAL 2016

- Une fiche de spécification indiquant le numéro de lot et la durée de vie des éphippies, le numéro de lot des solutions salines concentrées, la date d'expiration du Daphtoxkit et les valeurs d'EC_{50} à 24 ou 48 h pour le dichromate de potassium (substance de référence).

Toutes les matières non biologiques prévues dans le Daphtoxkit F magna sont réalisées en matériaux inerte, non toxiques. Ces matériaux sont jetables et ne devraient donc être utilisés qu'une seule fois.

A noter que tout ce matériel peut être commandé séparément par exemple chez le fournisseur du Daphtoxkit (MicroBio Test) ou chez d'autres fournisseurs. De même, MicroBioTests Inc. est un exemple de fournisseur d'ephippies de *Daphnia magna* appropriées. Le projet de norme internationale ISO/DIS 6341 indique par ailleurs la marche à suivre pour la production d'éphippies à partir d'un élevage.

8. Préparation de l'eau douce de référence

Remarque générale: les solutions décrites ci-dessous sont préparées avec de l'eau déionisée ou d'une pureté équivalente (conductivité < 10 µS/cm, C_{OT} < 5ppb).
Il convient de veiller à éviter toute contamination de l'eau par des substances inorganiques ou organiques pendant la préparation et la conservation.

L'eau douce de référence est préparée à l'aide des flacons de solutions salines concentrées disponibles dans le kit (voir **point 2**) et utilisée comme milieu d'éclosion pour les éphippies et comme milieu de dilution pour la préparation de la série de dilution de l'échantillon.

Protocole pour la préparation de 2 litres d'eau douce de référence (voir **figure 1**) :

1. Remplir un ballon jaugé de 2 l avec environ un litre d'eau déionisée.
2. Déboucher le flacon étiqueté 1 ($NaHCO_3$), et en verser le contenu dans le ballon.
3. Répéter cette opération pour le flacon 2 ($CaCl_2$), le flacon 3 ($MgSO_4$) et le flacon 4 (KCl), en respectant cet ordre.
4. Ajouter de l'eau déionisée jusqu'au trait de 2 l, boucher le ballon jaugé et agiter pour homogénéiser le milieu.

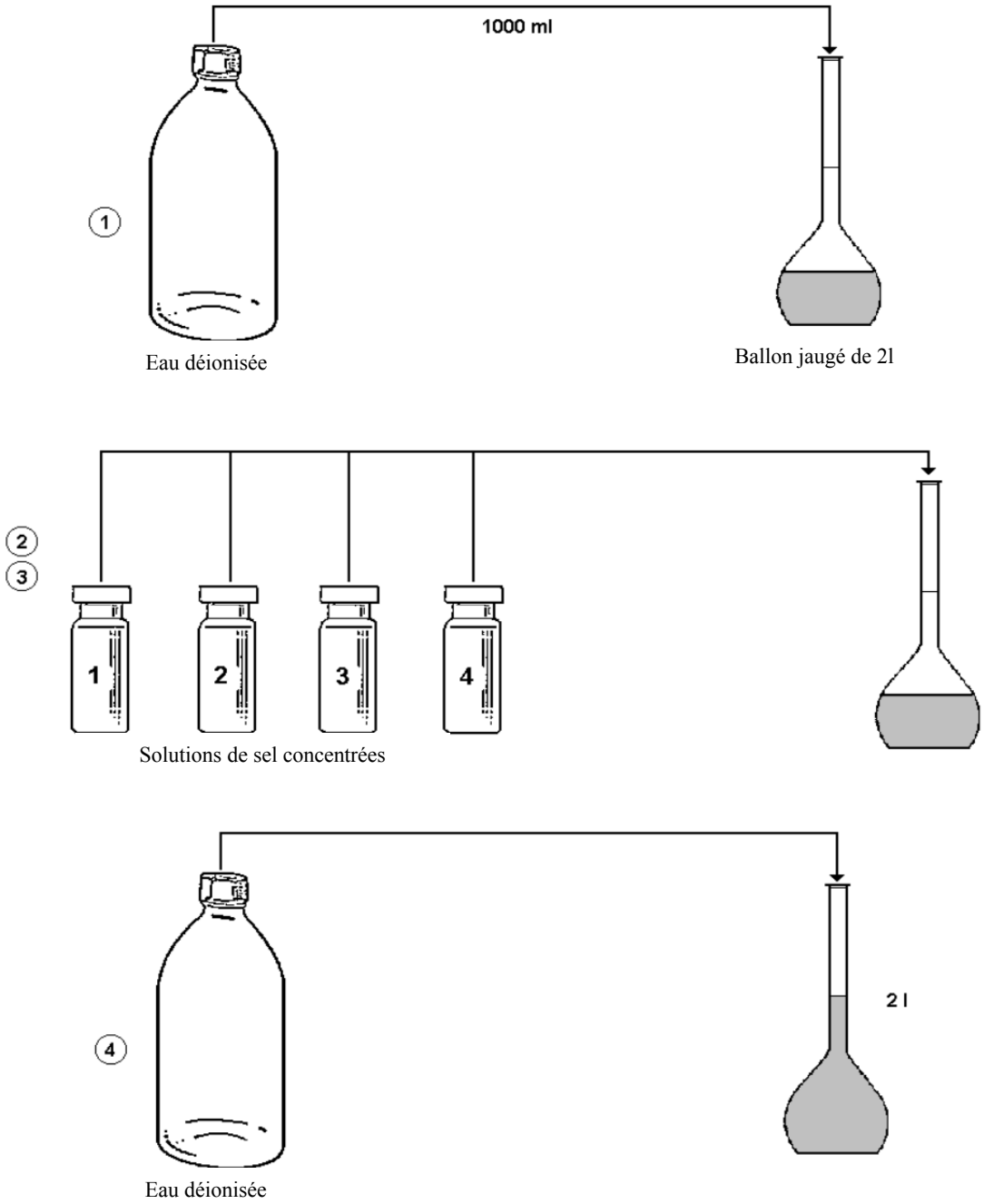
N.B. un milieu d'eau douce concentré 2 fois peut être préparé dans un ballon jaugé de 1 litre, en prévoyant une dilution ultérieure de moitié au moment de l'utilisation du milieu.

ORIGINAL 2016

9. Stockage du milieu d'éclosion et de dilution

Deux litres d'eau douce de référence suffisent pour l'exécution de 3 bioessais complets avec *Daphnia magna*. Si les 3 essais ne sont pas effectués dans les quelques jours après préparation de l'eau douce de référence, le milieu devrait être stocké dans un réfrigérateur à l'obscurité. Il est important de prendre soin d'amener le milieu froid (progressivement) à 20 ± 2 °C avant de l'utiliser.

Figure 1 : préparation de l'eau douce de référence (d'après la *standard operational procedure* du Daphtoxkit de MicroBio Tests).



10. Pré-aération de l'eau douce de référence

L'eau douce de référence doit être aérée pendant au moins 15 minutes (jusqu'à stabilisation du pH) avant d'être utilisée pour l'éclosion des œufs de dormance et pour la préparation des dilutions des échantillons. La pré-aération peut être effectuée très facilement par bullage d'air à travers un tube relié à une pompe à air d'aquarium.
Le pH doit être de 7,8 ± 0,5 ; si nécessaire, ajuster par ajout d'une solution de NaOH (1N) ou de HCl (1N). La dureté totale doit être de 225 mg/l ± 50 mg/l en $CaCO_3$ (soit 12,6 ± 2,8 degré allemand équivalent à 22,5 ± 5 °F) et la concentration en oxygène dissous supérieure à 7 mg/l.

11. Eclosion des éphippies

L'éclosion des éphippies doit être initiée 3 jours avant le début de l'essai de toxicité. En effet, dans des conditions optimales, le développement embryonnaire des œufs de *Daphnia magna* prend environ 3 jours. Sous éclairage et dans les conditions de température indiquées ci-dessous (minimum 6000 lux et 20-22 ° C), les premiers néonates peuvent même apparaître avant la fin de la période d'incubation de 72 h, mais la majorité des éclosions se produira entre 72 h et 80 h d'incubation. Le respect strict des conditions de température et d'intensité lumineuse est très important. En effet, un écart par rapport à ces conditions peut entraîner un délai ou au contraire une accélération dans l'éclosion des éphippies. En tenant compte du fait qu'un minimum de 120 néonates sont nécessaires pour effectuer un test complet et que les néonates ne devraient pas être plus âgés que 24 h au début de l'essai de toxicité, **les organismes doivent être collectés au plus tard 90 h après le début de l'incubation.**

ORIGINAL 2016

Procédure (voir **figure 2**):

1. Verser le contenu d'un flacon d'éphippies dans le micro-tamis et s'assurer que toutes les éphippies soient transférées.
2. Rincer les éphippies abondamment à l'eau du robinet pour éliminer toute trace du milieu de conservation.
3. Transférer les éphippies dans la boîte de Pétri destinée à l'éclosion avec 15 ml d'eau douce de référence pré-aérée (on peut aussi utiliser une boîte de Pétri d'un diamètre de 10 cm contenant 50 ml d'eau douce de référence pré-aérée).
4. Couvrir la boîte de Pétri d'éclosion et incuber pendant 72 h, à 20-22 °C sous un éclairage continu de minimum 6000 lux (intensité lumineuse dirigée sur le haut de la boîte de Pétri).

12. Préparation des échantillons

Avant la préparation des dilutions, les échantillons sont amenés à une température de 20 ± 2°C. L'échantillon est mis à décanter minimum 2h. Le pH, la conductivité, et la concentration en oxygène dissous sont mesurés dans l'échantillon décanté et non dilué.

Si la concentration en oxygène dissous des échantillons est inférieure à 40% de la valeur de saturation, elle peut être amenée à minimum cette valeur (suivant instructions reçues avec l'échantillon) par aération de l'échantillon au moyen de méthodes appropriées (par exemple aération ou agitation), pendant un temps inférieur à 20 minutes. Il convient d'éviter toute sursaturation. Si une aération a été effectuée, celle-ci doit être consignée dans le rapport d'essai.

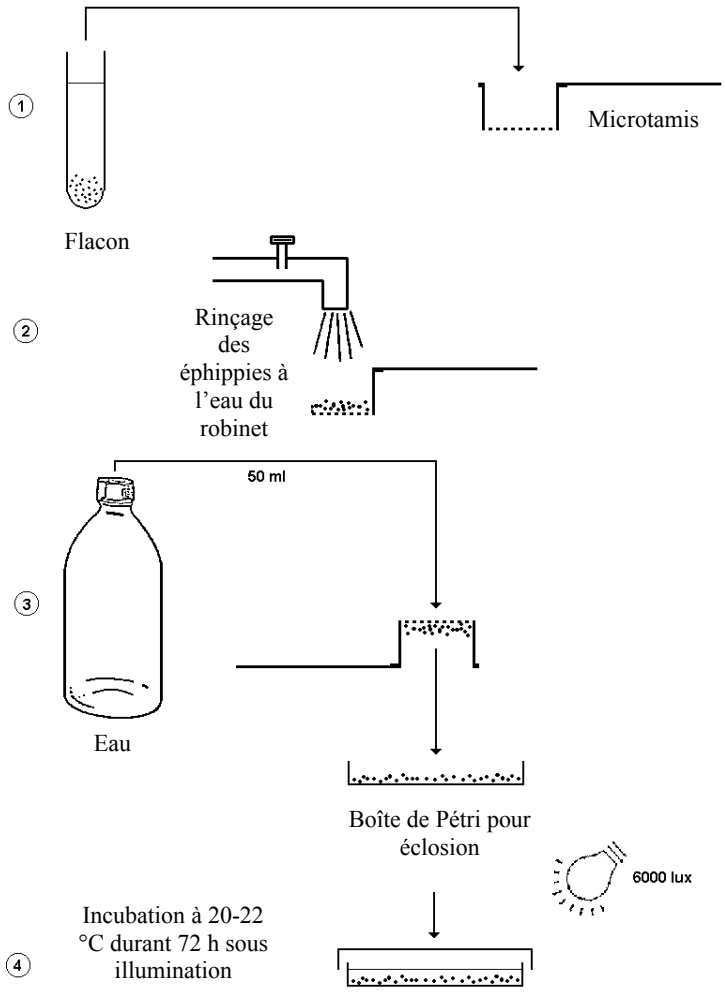
Le pH de l'échantillon peut également être corrigé (suivant instructions reçue avec l'échantillon). Cela est envisagé lorsque des effets toxiques sont observés aux concentrations/dilutions où le pH n'est pas compatible avec la survie des organismes (c'est-à-dire en dehors de l'intervalle de tolérance 6 à 9). Dans ce cas, l'essai peut être répété avec le pH qui aura été ajusté par ajout de HCl ou de NaOH (généralement utilisation d'une solution 1 M ; veiller à ce que la fraction volumique ajoutée ne dépasse pas 5 %). Attention que l'ajustement de pH peut dénaturer l'échantillon. C'est pour cette raison qu'il est important de d'abord réaliser l'essai sur échantillon non ajusté. Si l'ajustement de pH donne lieu à l'apparition de matières en suspension, il convient de réaliser une nouvelle décantation. Tout ajustement de pH doit être consigné dans le rapport d'essai.

13. Préparation des dilutions d'échantillons

13.1. Essais sur effluents

La procédure décrite ci-dessous pour l'essai sur effluents (ou déchets liquides) peut également être appliquée à n'importe quel autre type de liquide contaminé tel que, par exemple, eaux de surface, eaux souterraines, eaux interstitielles de sédiments, de sol ou de déchets, lixiviats, etc.

Figure 2 **:** éclosion des éphippies (d'après la *standard operational procedure* du Daphtoxkit de MicroBio Tests).



Préparation des dilutions de l'échantillon (voir **figure 3**).

Pour les échantillons environnementaux, le facteur de dilution est généralement de 2.
Pour les substances chimiques, les gammes de dilution sont préparées avec une raison ne dépassant pas 3.2.

Une série de dilutions (ici exemple de : 100 % - 50 % - 25 % - 12.5 % et 6.25 %) de l'échantillon d'effluent est préparée par dilution de 1:1 avec de l'eau douce de référence :

1. Prendre cinq ballons jaugés de 100 ml et les marquer de C1 à C5.
   C1 est l'effluent non-dilué et C5 est la dilution la plus élevée (voir **tableau 1**).
2. Remplir le flacon C1 jusqu'au trait avec 100 ml d'effluent.
3. Mettre 50 ml d'eau douce de référence dans les flacons C2, C3, C4, et C5.
4. Transférer 50 ml à partir du flacon C1 dans le flacon C2. Boucher et bien agiter le flacon C2.
5. Répéter cette opération (étape 4) pour les dilutions suivantes c'est-à-dire 50 ml de C2 dans C3 ; 50 ml de C3 dans C4 et 50 ml de C4 dans C5
6. Voir **point 14 : Remplissage de la plaque d'essai**.

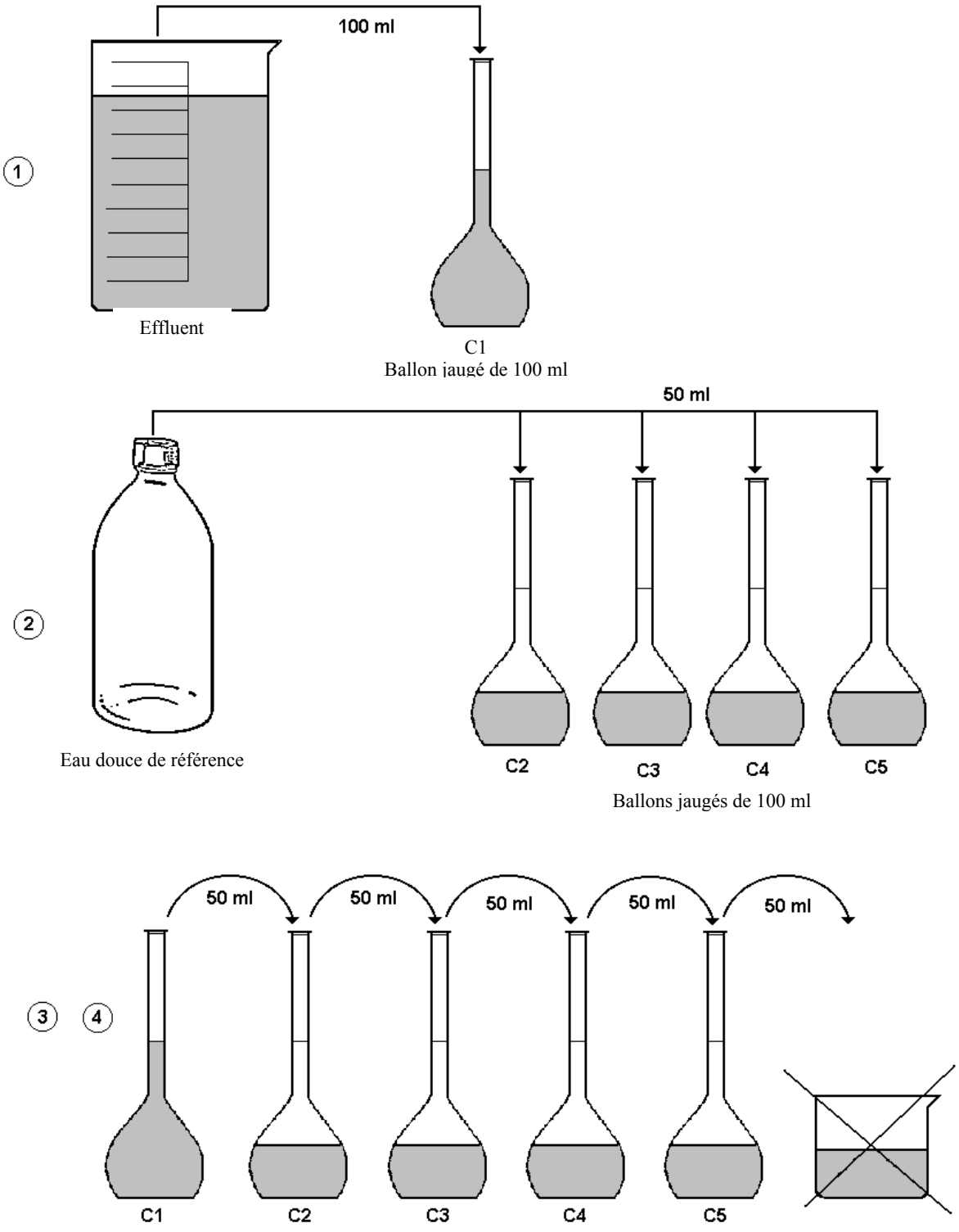
Tableau 1: série de dilutions de l'effluent

Flacon	**Concentration d'effluent** (en %)
C1	100
C2	50
C3	25
C4	12,5
C5	6,25

ORIGINAL 2016

Remarque importante : la gamme de dilutions préparée est fonction de la toxicité de l'échantillon et du paramètre d'effet ciblé (EC_{50}-24h ou EC_{50}-48h). Un test préliminaire peut être nécessaire pour déterminer la gamme de concentrations utile.
Si le test se déroule en deux étapes (préliminaire + définitif), il est souhaitable que la gamme de dilution choisie pour le test définitif résulte d'au moins trois pourcentages d'immobilisation compris entre 10 et 90 %.

Figure 3 : essais sur effluents, préparation des séries de dilution 1 : 1 (d'après la *standard operational procedure* du Daphtoxkit de MicroBio Tests).
Design de test : 100 – 50 – 25 – 12.5 – 6.25 %



13.2. Essais sur la substance de référence ($K_2Cr_2O_7$)

Afin de vérifier la bonne exécution de la procédure d'essai et la sensibilité des organismes d'essai, il est indispensable d'effectuer un test sur la substance de référence, le dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$).

L'essai de contrôle avec la substance de référence est réalisé chaque semaine d'essai et à chaque fois qu'un élément du mode opératoire de l'essai ou de l'élevage est modifié.

Attention à la manipulation de cette substance cancérigène ! : porter tablier, gants et éviter toute inhalation de cette poudre toxique.
Pour plus d'information, la fiche de sécurité de cette substance est disponible sur le lien suivant (fiche INRS FT-180) :
http://www.inrs.fr/publications/bdd/doc/fichetox.html?refINRS=FT%20180.

Procédure:

Une série de dilutions allant de 3,2 mg/l à 0,32 mg/l doit être préparée .

1. Prendre sept jaugés calibrés de 100 ml. Noter le premier jaugé «stock 1 », le deuxième flacon « stock 2 » et les autres C1 - C2 - C3 - C4 - C5.

2. Peser 100 mg de dichromate de potassium sur une balance analytique, les transférer dans le flacon « stock 1 » et remplir jusqu'au trait avec de l'eau déionisée. Cette solution peut se conserver 4 mois au frigo (4°C) et à l'obscurité.

3. Transférer 1 ml de solution « stock 1 » dans le flacon « stock 2 » et remplir ce flacon jusqu'au trait de façon à obtenir une concentration de substance de référence de 10 mg/l.

4. Transférer les volumes suivants de solution de substance de référence du flacon « stock 2 » dans les autres flacons de 100 ml:

   - 32 ml dans le flacon C1 (3,2 mg/l)
   - 18 ml dans le flacon C2 (1,8 mg/l)
   - 10 ml dans le flacon C3 (1 mg/l)
   - 5,6 ml dans le flacon C4 (0,56 mg/l)
   - 3,2 ml dans le flacon C5 (0,32 mg/l)

5. Pour chaque flacon, ajouter de l'eau douce de référence jusqu'au trait, boucher les flacons et les agiter pour homogénéiser les solutions.

6. Remplir la plaque multipuits avec les solutions de substance de référence, comme indiqué au **point 14. Remplissage de la plaque d'essai.**

ORIGINAL 2016

14. Pré-alimentation des organismes d'essai

Les néonates utilisés pour les essais Daphnies "classiques" sont nés dans des élevages où ils peuvent se nourrir jusqu'à ce qu'ils soient recueillis pour les essais. Cette absorption alimentaire leur fournit une «réserve énergétique» et empêche la mortalité résultant d'un manque de nourriture (ce qui fausserait les résultats des essais) durant les 48 heures d'essai au cours desquelles les organismes ne sont pas nourris.
Dans ce but, les néonates éclos à partir des éphippies sont pré-nourris avec une suspension de micro-algues spiruline avant le test lors d'une "pré-alimentation" de 2 heures.

Procédure:

1. Prendre un flacon de poudre de spiruline et le remplir avec l'eau douce de référence.
2. Agiter vigoureusement le flacon pour homogénéiser le contenu.
   N.B. : l'utilisation d'un Vortex est conseillée pour obtenir une suspension très homogène des particules de spiruline.
3. Deux heures avant la collecte des néonates pour l'essai, verser la suspension d'algues dans la boîte de Pétri d'éclosion et mélanger doucement le contenu pour distribuer uniformément la nourriture.

15. Remplissage de la plaque d'essai

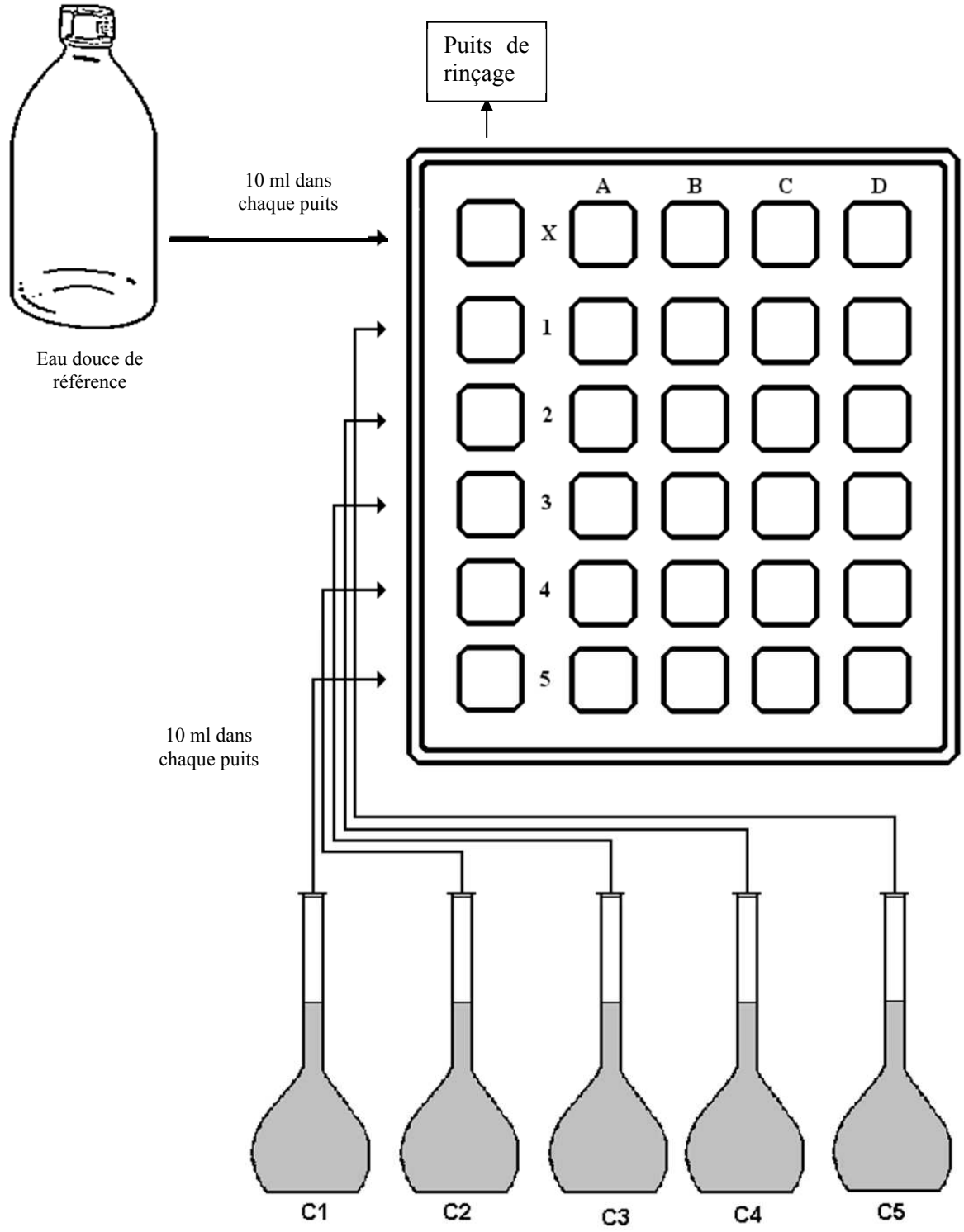
Pour une évaluation statistiquement acceptable des effets, chaque concentration d'essai ainsi que le contrôle doivent être testés en 4 répétitions.
Chaque plaque multipuits est fournie avec 4 puits d'essai pour les contrôles et 4 puits d'essai pour chaque concentration de l'échantillon (voir **figure 4**).
En outre, une colonne de "puits de rinçage" se trouve sur le côté gauche des plaques d'essai fournies avec le Daphtoxkit. Ces puits de rinçage servent à limiter la dilution de l'échantillon dans les coupelles multipuits pendant le transfert des organismes d'essai de la boîte de Pétri d'éclosion à la plaque d'essai.
Les colonnes de puits d'essai sont étiquetées A, B, C et D (répliquats) et les lignes sont appelées X (contrôle), 1, 2, 3, 4 et 5 pour les cinq dilutions des échantillons.
Tous les puits de chaque rangée doivent être remplis avec une dilution de l'échantillon (ou avec le milieu de dilution dans la ligne de contrôle).

Procédure (voir **figure 4**):

Transférer 10 ml d'eau de dilution dans chaque puits de la rangée de contrôle et 10 ml de chaque concentration d'échantillon dans chaque puits des lignes correspondantes, dans l'ordre des concentrations des échantillons croissantes.

ORIGINAL 2016

Figure 4 **:** remplissage de la plaque d'essai (d'après la *standard operational procedure* du Daphtoxkit de MicroBio Tests).

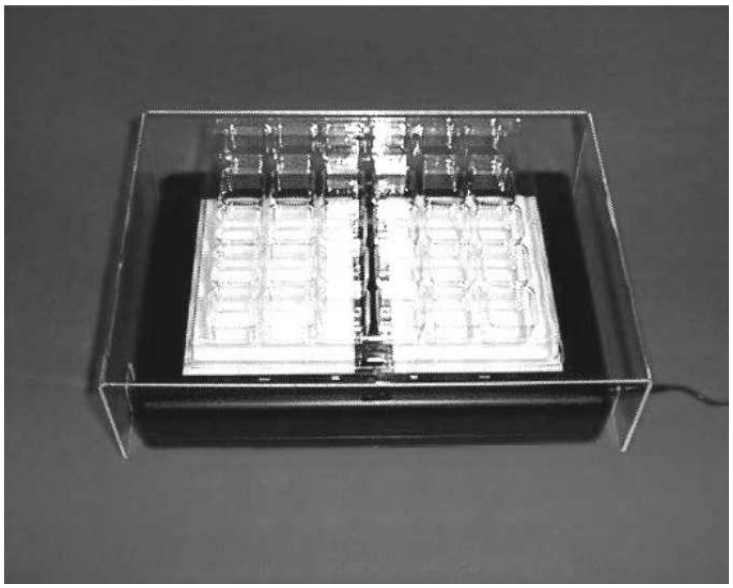


16. Transfert des néonates dans les puits d'essai

Le transfert des néonates de daphnies dans les puits d'essai est effectué à l'aide d'une micropipette. En raison de la petite taille des jeunes daphnies, ce transfert est habituellement effectué sous une loupe binoculaire à faible grossissement (par exemple 10X). On peut aussi utiliser une table lumineuse munie d'une bande sombre et surmontée d'une plaque transparente (voir **figure 5**). L'utilisation d'une bande de papier noir et du plateau transparent améliore considérablement le contraste entre les organismes d'essai et le fond blanc de la table lumineuse, ce qui facilite considérablement la visibilité des organismes d'essai.

Figure 5 **:** table lumineuse avec support transparent

Le plateau transparent, qui peut facilement être confectionné avec n'importe quel type de plastique transparent, doit être à une distance d'environ 3 cm de la table lumineuse. La largeur de la bande noire doit être d'environ 3 cm.



Le transfert des daphnies dans la plaque multipuits se fait en deux étapes :

1. le transfert des néonates de la boîte de Pétri dans les puits de rinçage de la plaque multipuits (première colonne à gauche – figure 4).
2. le transfert des néonates à partir des puits de rinçage vers les 4 puits d'essai des lignes correspondantes.

Procédure (voir **figure 6**):

1. Mettre la boîte de Pétri avec les néonates pré-nourris sur le plateau d'une loupe binoculaire ou sur le plateau transparent de la table lumineuse avec la bande de lumière noire.

2. Transférer au moins 20 néonates (nageant activement) dans chaque puits de rinçage dans l'ordre suivant: ligne X (contrôle), ligne 1, ligne 2, ligne 3, ligne 4 et ligne 5 (c'est-à-dire dans l'ordre croissant des concentrations d'échantillon et ce afin de minimiser la concentration du milieu d'essai). Afin de minimiser la dilution du milieu d'essai, essayer de transférer aussi peu de liquide que possible de la boîte de Pétri vers les puits au cours de ce transfert et rincer minutieusement la micropipette après chaque transfert.

3. Mettre la plaque multipuits sur le plateau du microscope à dissection ou sur le plateau transparent de la table lumineuse et transférer exactement 5 néonates de chaque puits de rinçage dans les 4 puits de chaque rangée.
   Ce transfert doit également être effectué dans l'ordre des concentrations d'essai croissantes.
   N.B. Compter les néonates à leur sortie de la micropipette pour être sûr d'avoir transféré exactement 5 organismes d'essai par puits.

Remarque importante

IMMOBILISATION DES ORGANISMES D'ESSAI FLOTTANT EN SURFACE

Les daphnies sont susceptibles d'être retenues à la surface du milieu liquide dans les puits d'essai, par le phénomène de « tension de surface ».
Lorsqu'ils flottent en surface, certains organismes d'essai peuvent ne pas être en mesure de se libérer et risquent de mourir.
Afin d'éviter ce phénomène d'immobilisation en surface, qui peut sérieusement compromettre les résultats des bioessais, il est d'une importance capitale, lors du transfert des néonates dans les puits d'essai, de mettre la pointe de la micropipette dans le milieu, et de ne pas laisser tomber les organismes sur la surface du milieu.

ORIGINAL 2016

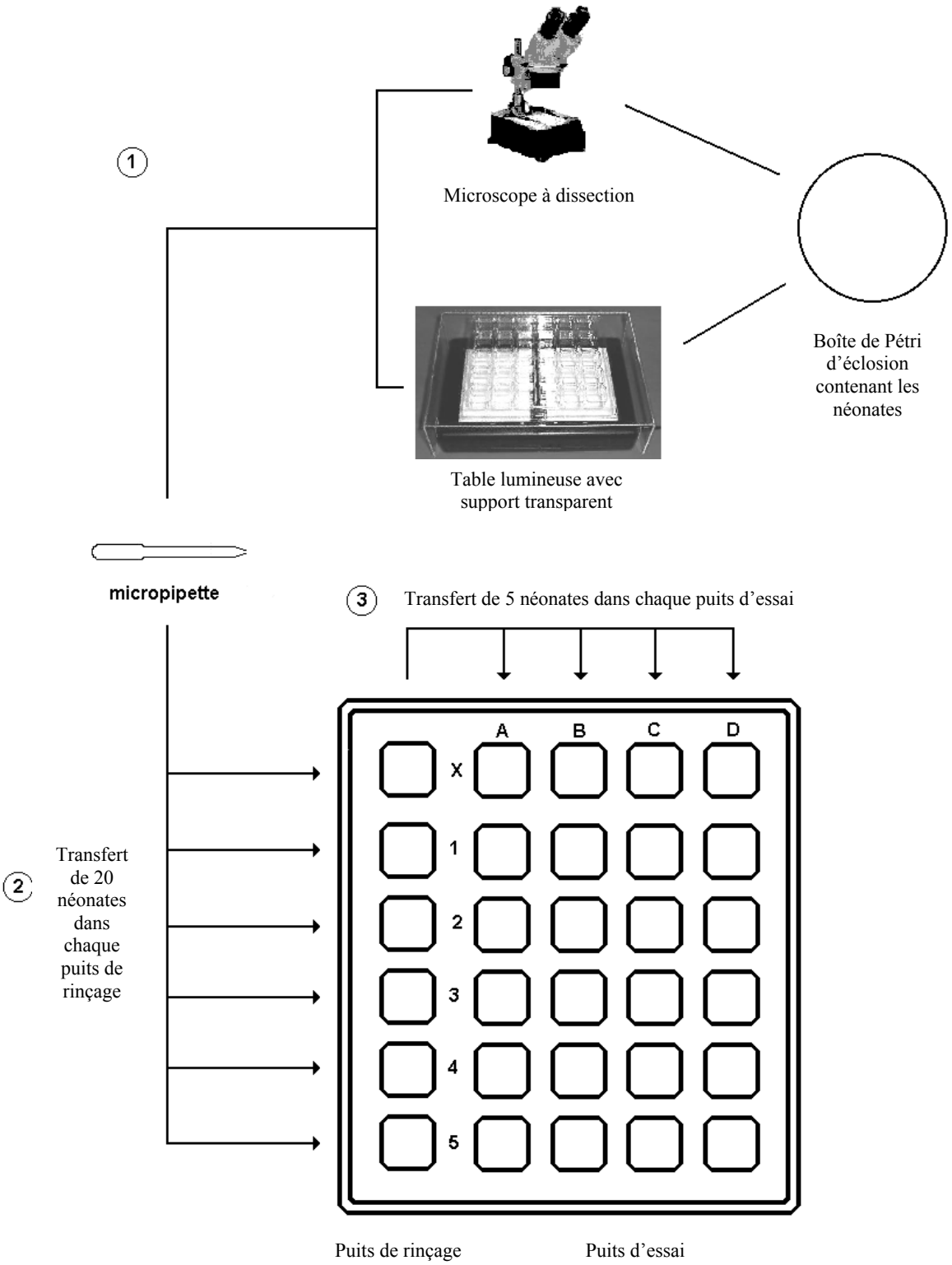
17. Incubation de la plaque d'essai

Procédure:

1. Mettre la bande de Parafilm sur la plaque multipuits et poser hermétiquement le couvercle sur la plaque.

2. Mettre la plaque dans l'incubateur à 20 ± 2 °C, dans l'obscurité.

Figure 6 : transfert des néonates dans les puits de la plaque d'essai (d'après la *standard operational procedure* du Daphtoxkit de MicroBio Tests).



18. Lecture des plaques d'essais

Dénombrement des daphnies :

1. Après 24 h et/ou 48 h d'incubation, mettre la plaque multipuits sous le microscope à dissection ou sur le plateau de la table lumineuse.

2. Noter le nombre de néonates morts et immobilisés[3], par rapport au nombre d'organismes d'essai nageant activement dans chaque puits.

3. Reporter les comptages sur la feuille de résultats. Un exemple de feuille de résultats est donné **en annexe I**.

4. Calculer la somme des néonates morts et immobiles pour chaque concentration de l'échantillon et calculer la moyenne et le pourcentage d'effet.

Mesure O_2, pH et conductivité :

- Si la mise en contact est limitée à 24 h : mesurer la concentration en oxygène dissous immédiatement après le comptage dans les récipients du lot témoin et du lot d'essai le plus concentré. Si la concentration en oxygène dissous du lot d'essai le plus concentré passe en dessous de 2mg/l, la concentration en oxygène dissous doit être mesurée dans les autres lots d'essai afin de vérifier si leur concentration est conforme à la concentration minimale requise de 2 mg/l. **Tous les lots d'essai dont la concentration en oxygène dissous est inférieure à 2 mg/l doivent être exclus du calcul final.** Le pH et la conductivité des lots d'essai sont également mesurés de la même manière (limites : 6-9 pour le pH et 6500 µS/cm pour la conductivité). Ces mesures sont consignées dans le rapport d'essai.
- Si la mise en contact totale est de 48 h :
  - Apres le dénombrement de 24h : mesurer la concentration en oxygène dissous dans la plus faible concentration pour laquelle toutes les daphnies sont immobilisées (1 réplique).
  - Après le dénombrement de 48h : mesurer la concentration en oxygène dissous immédiatement après le comptage dans les récipients du lot témoin et du lot d'essai le plus concentré. Si la concentration en oxygène dissous du lot d'essai le plus concentré passe en dessous de 2mg/l, la concentration en oxygène dissous doit être mesurée dans les autres lots d'essai afin de vérifier si leur concentration est conforme à la concentration minimale requise de 2 mg/l. **Tous les lots d'essai dont la concentration en oxygène dissous est inférieure à 2 mg/l doivent être exclus du calcul final.** Le pH et la conductivité des lots d'essai sont également mesurés de la même manière (limites : 6-9 pour le pH et 6500 µS/cm pour la conductivité). Ces mesures sont consignées dans le rapport d'essai.

19. Essai de contrôle

Les valeurs des essais de contrôle sont reportées en carte de contrôle d'acceptation, la EC_{50}-24h du dichromate de potassium devant être comprise entre 0,6 et 2,1 mg/l. En cas de dépassement

[3] *Les néonates qui ne sont pas en mesure de nager après une légère agitation du liquide pendant 15 secondes doivent être considérés comme immobilisés, même s'ils peuvent encore bouger leurs antennes.*

des limites d'action (3s), la fiabilité des résultats devra être évaluée et, le cas échéant, l'essai devra être recommencé dans la mesure du possible (selon la disponibilité de l'échantillon).

20. Validité de l'essai

Les résultats sont considérés comme valables si les conditions suivantes sont satisfaites:

- le pourcentage d'immobilisation observé dans les récipients témoins est inférieur ou égal à 10 % ;
- la EC_{50}-24h du dichromate de potassium de l'essai de contrôle (**point 13.2**) est comprise entre 0,6 mg/l et 2,1 mg/l.

21. Estimation de l'EC50

Important : les taux d'immobilisation des lots d'essai dont la concentration en oxygène dissous est inférieure à 2 mg/l doivent être exclus du calcul.

Bien que le protocole du Daphtoxkit mette en avant la méthode graphique, il est préférable de déterminer la EC_{50}-24h et, le cas échéant, la EC_{50}-48h par traitement informatique utilisant des méthodes statistiques. Cette méthode présente l'avantage, notamment, de déterminer les intervalles de confiance.

Les logiciels suivants sont disponibles sur simple demande chez Microbiotests :
- « LC50.exe » de l'US-EPA (méthode statistique binomiale, moyenne mobile et probit).
- REGTOX adapté au Daphtoxkit[4] (choix entre les modèles Hill, Weibull et Log-normal).

En ce qui concerne l'analyse d'une substance chimique, il convient de mesurer sa concentration au minimum à la plus faible et à la plus forte concentration, au début et à la fin d'essai. Il est recommandé de baser les résultats sur les concentrations mesurées. Cependant, s'il est prouvé que la concentration de la substance chimique ne s'est jamais écartée de ± 20 % de la concentration initiale nominale ou mesurée tout au long de l'essai, les résultats peuvent être basés sur les valeurs initiales nominales ou mesurées.

Sur la feuille d'essai, la EC_{50}-24h, EC_{50}-48h ainsi que les limites correspondant à 0% et à 100% d'immobilisation sont exprimées :
- en pourcentage dans le cas des effluents ou d'autres échantillons aqueux de composition inconnue ;
- en milligrammes par litre dans le cas des substances chimiques.

22. Rapport d'essai

Les informations que doit contenir le rapport d'essai sont présentées en **annexe II**.

23. Références

- **DAPHTOXKIT F_{TM}** *MAGNA*: Crustacean Toxicity Screening Test for Freshwater, standard operational procedure.

[4] Il s'agit d'une adaptation du programme statistique « open access » développé par E. Vindimian. Plus d'information sur le lien suivant : http://www.normalesup.org/~vindimian/fr_index.html

ORIGINAL 2016

- Norme belge enregistrée **NBN EN ISO 6341 (2012)** : Qualité de l'eau – Détermination de l'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* Straus (*Cladocera, Crustacea*) – Essai de toxicité aiguë.

ORIGINAL 2016

ANNEXE I

DAPHTOXKIT F

FEUILLE DE RESULTATS

Nom de l'opérateur: .....
Date de l'essai de performance: .....
Echantillon testé: .....
Type d'essai:

- Essai préliminaire
- Essai définitif

Espèce utilisée:

- *Daphnia magna*
- *Daphnia pulex*

Série de dilutions:

Concentration 1 : .....
Concentration 2 : .....
Concentration 3 : .....
Concentration 4 : .....
Concentration 5 : .....

ORIGINAL 2016

	Contrôle		Conc. 5		Conc. 4		Conc. 3		Conc. 2		Conc. 1	
Exposition (h)	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48
A												
B												
C												
D												
Total	/20	/20	/20	/20	/20	/20	/20	/20	/20	/20	/20	/20
% Effet												

Effets observés:
24h EC_{50}: .....
48h EC_{50}: .....

ANNEXE II

Intitulé de la méthode d'essai	Détermination de la toxicité aiguë par *Daphnia magna* (inhibition de la mobilité)
Référence de la méthode utilisée	ISO 6341 (2012) + référence méthode CWEA (élevage ou kit)
Identification du client	
Identification complète de l'échantillon	Référence échantillon du client + référence interne Date de réception Prélèvement réalisé par le client ou par le laboratoire + date de prélèvement Méthode de conservation de l'échantillon
Identification du laboratoire effectuant l'analyse	Nom et adresse du laboratoire, nom du technicien, nom de la personne qui valide le rapport
Méthode(s) de préparation de l'échantillon	Présicez si il y a eu congélation, décantation, filtration, centrifugation, ajustement (pH, O2) Présicez le pH, l'oxygène dissous et la conductivité sur l'échantillon initial Précisez l'aspect de l'échantillon initial Rem: s'il y a lieu d'ajuster le pH, celui-ci sera ajusté lors d'un 2ème essai. Le 1er essai étant réalisé sur échantillon non ajusté.
Daphnies utilisées pour l'essai	Précisez l'origine des daphnies utilisées (élevages + souche, kit) et leur âge
Eau de dilution	Précisez le type d'eau utilisé (ex : eau synthétique selon ISO6341), sa date de préparation et ses pH, dureté et O2 dissous
Conditions d'essai	Précisez les dilutions utilisées, le nombre de répliques et le nombre de daphnies utilisées par réplique Précisez la date et la durée de l'essai (24h-48h)
Expression des résultats	Précisez sous forme de tableau et pour chaque concentration testée le dénombrement des daphnies immobiles, le pourcentage d'immobilisation et les teneurs en O2, le pH et la conductivité tel que préconisé (cf. point 18). Exemple de tableau :

Concentration	Nbre daphnies immobiles/nbre total daphnies					Pourcentage d'immobilisation	O2 dissous (mg/l)	pH	Conductivité (µS/cm)
	1	2	3	4	Total				
0 % (témoin)	./.	./.	./.	./.	./.	-	-	-	-
100	./.	./.	./.	./.	./.	-	-	-	-
50	./.	./.	./.	./.	./.	-	-	-	-
25	./.	./.	./.	./.	./.	-	-	-	-
12.5	./.	./.	./.	./.	./.	-	-	-	-
…	./.	./.	./.	./.	./.	-	-	-	-

ORIGINAL 2016

Notez tout comportement anormal des daphnies dans les conditions d'essai (ex : léthargie, flottaison, mouvement anormal,…).
Rapportez la EC50-24h et, si il y a lieu, la EC50-48h, la méthode de calcul employée (manuelle, nom du logiciel, méthode statistique utilisée), si possible les intervalles de confiance à 95 %
Précisez si il y a eu lieu de ne pas employer certaines concentrations dans le calcul de le EC50 (car O2 < 2mg/l en fin d'essai). Précisez lesquelles.
Rapportez la concentration minimale soumise à l'essai correspondant à 100 % d'immobilisation et la concentration maximale soumise à l'essai correspondant à 0 % d'immobilisation (à 24h et, le cas échéant, à 48h)
Précisez si les critères de validité sont respectés, à savoir :
- pourcentage d'immobilisation des témoins ≤ 10 %
- CE50-24h du dichromate de potassium compris entre 0.6 et 2.1 mg/l (précisez la date de l'essai et la valeur de la EC50-24)

Rapporter la valeur des TU (unités de toxicité) calculées de la sorte : $TU50_{24h} = 100/EC50\text{-}24h$ et, le cas échéant, $TU50_{48h} = 100/EC50\text{-}48h$.

Remarque	Présicez toutes les informations relatives aux opérations non spécifiées dans la méthode et/ou tout incident susceptible d'avoir influencé les résultats

E-V-5 - Détermination de la toxicité chronique par *Daphnia magna Straus* - Méthode 21 jours

1. Objet

Cette procédure décrit une méthode de détermination de la toxicité à long terme d'échantillons liquides vis-à-vis de *Daphnia magna* Straus *(Cladocera, Crustacea*). Les paramètres d'effet étudiés sont la survie et l'inhibition de la capacité reproductrice au cours d'un essai de 21 jours.

2. Domaine d'application

La présente procédure s'applique aux substances chimiques solubles dans les conditions de l'essai ou pouvant être maintenues en suspension ou en dispersion stable dans les conditions de l'essai, aux effluents industriels ou urbains, épurés ou non, s'il y a lieu après décantation, filtration ou centrifugation, aux eaux de surface ou eaux souterraines ainsi qu'aux extraits aqueux (eau interstitielle, lixiviats,…).

3. Définitions et abréviations

Daphnia magna : microcrustacé d'eau douce de l'ordre des cladocères.

Parthénogenèse acyclique : reproduction asexuée (pas d'intervention de gamète mâle) sans alternance avec une phase de reproduction sexuée normale. Dans ce cas, les femelles donnent naissance uniquement à des femelles. L'apparition de mâles dans l'élevage est le signe de perturbations dans celui-ci.

EC_{XX} (21j) : concentration ou dilution effective estimée qui inhibe à XX% la capacité reproductrice pour une exposition de 21 jours.

NOEC : concentration d'essai la plus haute qui ne provoque pas d'effet observé au cours de l'essai réalisé (plus forte concentration d'essai qui fournit une réponse statistiquement similaire à celle du témoin).

LOEC : concentration d'essai la plus faible pour laquelle un effet peut être observé au cours de l'essai réalisé (plus faible concentration d'essai qui fournit une réponse statistiquement différente de la réponse des témoins).

4. Principe

La survie et l'inhibition de la capacité reproductrice de *Daphnia magna* sont utilisées comme mesure de la toxicité chronique des substances et des échantillons aqueux soumis à l'essai.

Pendant l'essai, des daphnies femelles âgées de moins de 24 heures sont exposées pendant 21 jours, dans les conditions définies par la norme ISO 10706 et détaillées dans le protocole expérimental ci-dessous (**paragraphe 10**), à une gamme de concentrations ou de dilutions de la substance ou de l'échantillon dont la toxicité doit être déterminée dans un système semi-statique ou à renouvellement continu. Le nombre de parents survivants ainsi que le nombre de descendants vivants issus de parents vivants à la fin de l'essai sont consignés. La survie est notée et la capacité reproductrice des parents mis en expérimentation, vivants en fin d'essai (exprimée en nombre d'individus) est comparée à celle des parents témoins. La relation

ORIGINAL 2014

concentration-effet est déterminée par analyse statistique. L'eau de dilution sert de milieu témoin.

5. Conditionnement et conservation de l'échantillon

Les échantillons d'eaux ou d'effluents doivent être prélevés conformément à la procédure générale définie dans l'ISO 5667-2. Les flacons en verre ou en matériau chimiquement inerte doivent être complètement remplis pour ne plus contenir d'air. L'essai de toxicité doit être effectué dès que possible et dans les 12 heures qui suivent le prélèvement. Si ce délai ne peut être respecté, l'échantillon doit être refroidi à 4 ± 2 °C sur le lieu du prélèvement et conservé à cette température afin d'être analysé dans les 48 heures qui suivent le prélèvement. Remarquons que l'échantillon peut éventuellement être congelé afin d'être analysé dans les 2 mois qui suivent le prélèvement.

Lorsque l'échantillon est un prélèvement d'eau ou d'effluent, toutes les portions (sous-échantillons) doivent être prétraitées de la même manière (c'est-à-dire que lorsqu'il est nécessaire de congeler de l'eau instable, toutes les portions, y compris celles utilisées le premier jour, doivent être congelées avant les essais).

En raison de la durée de cet essai (21 jours) et de la nécessité de renouveler périodiquement les solutions, un nombre suffisant de portions d'échantillon doit être congelé afin de renouveler les solutions d'essai et de répéter l'essai si nécessaire (échantillons de réserve). Le volume minimal de portions congelées dépend de la toxicité de l'échantillon à analyser. Le volume d'échantillon nécessaire pour un essai semi-statique avec mise en expérimentation individuelle de dix daphnies dans 100 ml d'échantillon non dilué est de 9 litres ; des prélèvements supplémentaires seront nécessaires pour des échantillons dilués.

Lorsque l'essai est réalisé sur le site ou à proximité du lieu de prélèvement, il est admis d'utiliser des échantillons frais pour remplacer les solutions d'essai. Dans ce cas, les variations existantes sur le lieu de prélèvement sont intégrées dans la méthode d'essai.

6. Appareillages et matériels utilisés

6.1 Appareillage

- Pièce ou enceinte climatisée à 20 ± 2 °C permettant le respect de l'environnement de l'essai préconisé au **paragraphe 10.3.** ainsi que le contrôle du cycle jour/nuit et de l'intensité lumineuse
- Incubateur réfrigéré (4 °C)
- Congélateur (< -18 °C)
- Balance analytique de sensibilité 0,1 mg
- pH-mètre
- Oxymètre
- Luxmètre
- Conductivimètre
- Thermomètre ou sonde de température
- Kits de dureté, NH_4^+ et NO_2^-
- Spectrophotomètre

ORIGINAL 2014

6.2. Petit matériel

Récipients d'essai, en matériau chimiquement inerte et de capacité suffisante pour les essais (par exemple tubes à essais ou béchers en verre de 50 ml ou 100 ml), propres et non contaminés. Les récipients d'essai doivent être préalablement rincés à l'eau déionisée et ensuite séchés. Dans tous les cas, l'utilisation d'un matériel autre que le verre sera mentionnée dans le rapport d'essai.

7. Matériel biologique

Cet essai est basé sur l'utilisation de *Daphnia magna* Straus (*Cladocera, Crustacea*) notée *D. magna* dans la suite du texte, de troisième génération au moins, obtenue par parthénogenèse acyclique dans des conditions d'élevage définies (**voir paragraphe 10.5.**).

Les animaux utilisés pour l'essai doivent être âgés de moins de 24h (=néonates) et provenir de la seconde à la cinquième portée. Les daphnies doivent provenir d'un lot sain ne présentant aucun signe de stress tel que, par exemple, un taux de mortalité supérieur à 20 %, la présence de mâles, d'éphippies ou d'animaux décolorés, et doivent produire sans retard (à l'âge de 11 jours maximum) la première génération.

Le lot d'animaux doit être maintenu dans des conditions d'élevage (lumière, température, milieu, alimentation et nombre par unité de volume) similaires à celles de l'essai. Si les conditions d'élevage diffèrent de celles de l'essai, il est recommandé d'acclimater une génération aux conditions d'essai pendant environ trois semaines afin d'éviter toute source de stress aux animaux parents.

8. Eau de dilution

Le milieu M4 préconisé par l'OCDE et détaillé dans la norme ISO 10706, Annexe A (voir ci-dessous) est utilisé pour la réalisation de cet essai. Pour ce milieu, la teneur en COT (Carbone organique total) n'est pas mesurée. Remarquons qu'une autre eau de dilution peut être utilisée. Sa composition ainsi que ses principales caractéristiques (par exemple, pH, dureté, COT, DCO) seront systématiquement mentionnées sur la feuille d'essai. Il n'est par exemple pas recommandé d'utiliser de l'eau de dilution contenant de l'EDTA (comme dans le M4) pour analyser la toxicité de composés contenant des métaux (chélation et donc diminution de la toxicité).

Le milieu doit être aéré jusqu'à 95 % de saturation en oxygène et le pH stabilisé à 7,8 ± 0,2. Si nécessaire, ce dernier peut être ajusté par ajout d'une solution de NaOH ou de HCl.

Préparation du milieu M4 :

Des solutions mères (solutions mères 1) séparées contenant chacune un des éléments traces nécessaires sont d'abord préparées dans de l'eau déionisée pour être ensuite combinées en une solution mère 2. Cette solution 2 contient tous les éléments traces nécessaires à la préparation du milieu (voir **tableau 1**).

Le milieu M4 est ensuite préparé en utilisant la solution mère 2 ainsi que les macro-nutriments et les vitamines dans les quantités présentées dans le **tableau 2**.

ORIGINAL 2014

La préparation de la solution mère de vitamines se fait selon le **tableau 3** en ajoutant les 3 vitamines à 1 l d'eau déionisée. La solution de vitamines doit être ajoutée au milieu juste avant l'emploi. Elle peut être conservée congelée en petites portions aliquotes.

Pour éviter toute précipitation des sels lors de la préparation complète du milieu, ajouter les aliquotes des solutions mères à environ 800 ml d'eau déionisée et compléter à 1 l.

Tableau 1 : préparation des solutions mères des éléments traces individuels.

Solution(s) mère(s) 1 (substance unique)	Concentration dans l'eau déionisée (mg/l)	Concentration (en fonction du milieu M4)	Pour préparer la solution mère 2, ajouter à l'eau déionisée le volume suivant de solution mère 1 (ml/l)
H_3BO_3	57 190	20 000 fois	1
$MnCl_2.4H_2O$	7 210	20 000 fois	1
LiCl	6 120	20 000 fois	1
RbCl	1 420	20 000 fois	1
$SrCl_2.6H_2O$	3 040	20 000 fois	1
NaBr	320	20 000 fois	1
$Na_2MoO_4.2H_2O$	1 260	20 000 fois	1
$CuCl_2.2H_2O$	335	20 000 fois	1
$ZnCl_2$	260	20 000 fois	1
$CoCl_2.6H_2O$	200	20 000 fois	1
KI	65	20 000 fois	1
Na_2SeO_3	43,8	20 000 fois	1
NH_4VO_3	11,5	20 000 fois	1
$Na_2EDTA.2H_2O$ (a)	5 000	2 000 fois	
$FeSO_4.7H_2O$ (a)	1 991	2 000 fois	
(a) Les solutions Na2EDTA et FeSO4 sont préparées séparément, puis rassemblées et immédiatement mises en autoclave. Ce qui donne :			
Solution Fe-EDTA		1 000 fois	20

Tableau 2 : préparation du milieu M4.

Solutions mères	Concentration dans l'eau déionisée (mg/l)	Concentration (en fonction du milieu M4)	Volume de solution mère ajouté pour préparer le milieu (ml/l)
Solution mère 2 (éléments trace combinés)		20 fois	50
Solutions mères de macronutriment (une seule substance) :			
$CaCl_2.2H_2O$	293 800	1 000 fois	1
$MgSO_4.7H_2O$	246 600	2 000 fois	0,5
KCl	58 000	10 000 fois	0,1
$NaHCO_3$	64 800	1 000 fois	1
$Na_2SiO_3.9H_2O$	50 000	5 000 fois	0,2
$NaNO_3$	2 740	10 000 fois	0,1
KH_2PO_4	1 430	10 000 fois	0,1
K_2HPO_4	1 840	10 000 fois	0,1
Solution mère de vitamines combinée	/	10 000 fois	0,1

ORIGINAL 2014

Tableau 3 : préparation de la solution mère de vitamines.

Vitamine	Concentration (mg/l)	Concentration (en fonction du milieu M4)
Chlorhydrate de thiamine	750	10 000 fois
Cyanocobalamine (B12)	10	10 000 fois
Biotine	7,5	10 000 fois

9. Préparation des solutions des substances à expérimenter

9.1. Préparation des solutions mères

Si les composés à analyser se présentent sous forme de substances chimiques solubles, la solution mère de la ou des substances à expérimenter doit être préparée par dissolution d'une quantité connue de la ou des substances considérées dans un volume défini d'eau de dilution, d'eau déionisée ou d'eau distillée dans un récipient en verre. La solution mère doit être préparée juste avant la préparation des solutions d'essai à moins que la (les) substance(s) soit (soient) réputée(s) stable(s) dans des conditions de conservation définies, auquel cas la solution mère peut être préparée avant l'essai et conservée dans ces conditions.

Les solutions mères ou les suspensions de substance(s) de faible solubilité aqueuse peuvent être solubilisées ou dispersées directement dans le milieu par des dispositifs à ultrasons, et/ou des agitateurs ou des solvants ou des dispersants de faible toxicité vis-à-vis de *D. magna.* Si un solvant est utilisé, la concentration du solvant dans la solution mère doit être telle que la concentration dans la plus forte solution d'essai ne dépasse pas 0,1 ml/l.

Il convient d'éviter l'utilisation de solvants organiques. Si ceux-ci sont nécessaires, des solvants organiques tels que acétone, éthanol, méthanol, diméthylformamide, triéthylèneglycol ou des dispersants tels que Cremophor RH40, méthylcellulose 0,1 % et HCO-40 peuvent être utilisés pour obtenir une solution mère convenablement concentrée. Ils ne sont pas toxiques vis-à-vis de *D. magna* à des concentrations de 0,1 ml/l. En raison des différences de nature des substances chimiques, aucune procédure unique ne peut être conseillée pour la préparation des solutions mères de substances de faible solubilité aqueuse.

9.2. Préparation des solutions d'essai

Les solutions d'essai doivent être préparées par ajout des solutions mères ou des échantillons d'effluents à l'eau de dilution en quantités définies.

Lorsque les solutions mères sont préparées dans de l'eau déionisée ou distillée, il ne faut pas ajouter plus de 100 ml de solution mère par litre d'eau de dilution.

Les concentrations choisies peuvent également être préparées séparément par ajout direct de la substance d'essai à l'eau de dilution lorsque les quantités à ajouter peuvent être pesées, ou introduites à l'aide d'une pipette dans le cas des liquides, de manière précise.

Si le pH de l'échantillon n'est pas compris entre 6 et 9, l'essai doit être effectué après ajustement du pH à la valeur la plus proche (6 ou 9) à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique ou d'hydroxyde de sodium.

N.B. : l'analyse d'échantillons d'eau à des concentrations supérieures à 100 ml/l peut réduire la reproduction et la survie des daphnies en raison d'insuffisances dans le milieu (par exemple, la dureté). Il peut s'avérer nécessaire, pour déterminer les effets de ces insuffisances, d'ajouter à l'échantillon les mêmes sels que ceux de l'eau de dilution.

10. Mode opératoire

10.1. Témoins

Chaque essai doit comporter un témoin ne contenant aucune substance d'essai.
Lorsqu'un solvant ou un dispersant est utilisé, deux témoins sont nécessaires : l'un ne doit contenir aucun solvant ou dispersant, l'autre doit contenir le solvant ou le dispersant utilisé à une concentration égale à celle de la plus forte concentration d'essai.

10.2. Sélection des concentrations d'essai

Pour les eaux de surface et les eaux souterraines à priori peu toxiques, un test limite (10 répliques avec une concentration de 100 % de l'échantillon) peut être réalisé.

Pour les substances d'essai, les effluents industriels ou urbains et les extraits aqueux (eaux interstitielles, lixiviats, ….), au moins cinq concentrations d'essai disposées en une série géométrique avec un facteur de séparation ne dépassant pas 3,2 doivent être utilisées.

Lors de l'établissement de la gamme des concentrations, les points suivants doivent être pris en compte :

a) Si l'objectif est d'obtenir la NOEC (concentration d'essai la plus haute sans effet observé), la gamme de concentration doit inclure au moins une concentration produisant un effet significatif par rapport au témoin (LOEC : concentration d'essai la plus faible avec effet observé), précédée d'une NOEC. Si ce n'est pas le cas, l'essai doit être répété avec une concentration plus faible.

b) Si l'objectif est d'obtenir la ECp (concentration produisant une réponse en pourcentage, généralement 20 % et/ou 50 %, p étant le pourcentage de réponse choisi) relative à l'effet sur la reproduction et la survie, il est souhaitable que deux concentrations d'essai soient supérieures à cette concentration ECp. Dans le cas contraire, bien qu'il soit possible d'estimer la ECp, l'intervalle de confiance obtenu sera très large et il peut s'avérer impossible d'évaluer de manière satisfaisante l'adéquation du modèle établi.

10.3. Environnement de l'essai

L'environnement de l'essai doit être exempt de poussières ou de vapeurs toxiques pour *D. magna.* Les solutions d'essai ne doivent pas être aérées.

La concentration en oxygène dissous dans les solutions d'essai doit être supérieure à 3 mg/l et le pH doit se situer dans la gamme comprise entre 6 et 9 et ne doit pas varier de plus de 1.5 unités au cours de l'essai. La dureté doit avoir une valeur supérieure à 140 mg/l (exprimée en $CaCO_3$).
La température des solutions d'essai doit être maintenue dans une gamme comprise entre 18 et 22 °C et ne pas varier de plus de 2 °C pendant toute la durée de l'essai.

ORIGINAL 2014

Le cycle d'essai doit être de 16 h de lumière et de 8 h d'obscurité. L'intensité lumineuse doit de préférence être comprise entre 600 lux et 800 lux à la surface du récipient d'essai, mais ne pas excéder 1200 lux.

10.4. Fréquence de renouvellement des solutions d'essai

Le renouvellement des solutions se fait au moins deux fois par semaine (par exemple : mardi et vendredi ou lundi et jeudi).

10.5. Introduction des animaux dans le système d'essai

Pour l'essai, seules les daphnies âgées de moins de 24 heures peuvent être utilisées. Afin d'obtenir les jeunes d'âge désiré, il est nécessaire de sélectionner les daphnies productrices au plus tôt 24 heures avant le début de l'essai.

Les daphnies utilisées lors des essais proviennent au minimum de la troisième génération par parthénogenèse acyclique des daphnies. Afin d'assurer la production de jeunes de deuxième à cinquième portée, le système d'élevage suit l'âge des daphnies mères. Par exemple, les daphnies passent par 3 « niveaux » : le niveau des « jeunes » (daphnies âgées de 1 à 2 j. jusque 7 à 8 j.), le niveau des « productrices première semaine » (daphnies âgées de 8 à 9 j. jusque 14 à 15 j.) et le niveau des « productrices deuxième et/ou troisième semaine » (daphnies âgées de 15 à 16 j. jusque 28 à 29 j.). Seuls les niveaux des productrices (première, deuxième et/ou troisième semaine) sont utilisés pour produire les jeunes de moins de 24 h. servant aux essais.

Dix répliques par concentration et dix répliques témoins, contenant environ 50ml de solution d'essai et une daphnie de moins de 24 heures, sont lancés.
La durée d'exposition des organismes doit être de 21 jours.

10.6. Alimentation des organismes

Les animaux parents sont nourris avec des cellules vivantes de deux espèces différentes parmi les espèces suivantes : *Chlorella* spp, *Pseudokirchneriella subcapitata* ou *Scenedesmus subspicatus*.

La ration de nourriture donnée est de 0,1 mg C_{org}/daphnie/jour du jour 0 au jour 5 de l'essai puis de 0,15 mg C_{org}/daphnie/jour à partir du jour 6 jusqu'à la fin de l'essai.

Les algues sont données sous forme de suspensions algales. Celles-ci sont obtenues à partir de cultures d'algues centrifugées deux fois à 4000 tr/min. durant 20 minutes. Elles sont remises en suspension dans du milieu M4 frais après chaque centrifugation.

10.7. Observations et mesures

Chaque jour ouvrable pour lequel une production est observée, les descendants vivants sont dénombrés et retirés du récipient contenant la mère.

Le nombre de parents, de descendants, de mâles ou d'ephippia sont consignés.

Les facteurs confondants tels que mesures de pH, O_2, NO_2^-, NH_4^+ sont mesurés en début et en fin de test dans le contrôle et la plus forte concentration et au jour 7 et au jour 14 dans l'ancien et le nouveau milieu de ces solutions.

ORIGINAL ISSeP

Si les valeurs de la plus forte concentration sont significativement différentes de celles du contrôle, les mesures doivent être effectuées dans les dilutions.

La conductivité est mesurée sur l'échantillon ou toute portion d'échantillon.

La mesure de salinité est applicable à des cas spécifiques (par exemple, eau interstitielle de sédiments salins).

11. Analyse des données et expression des résultats

Dans le cas d'essais sur produits chimiques, lorsque la concentration effective de la substance d'essai se situe à moins de 20 % de la concentration nominale ou initiale, les résultats doivent être exprimés en termes de concentration nominale ou initiale.

Lorsque l'écart de la concentration effective de la substance d'essai est supérieur à ± 20 % de la concentration nominale ou initiale, il est recommandé d'exprimer les résultats en termes de concentration moyenne pondérée dans le temps.

Lorsque l'un des parents s'avère être un mâle, les répliques considérées ne doivent pas être considérées pour l'analyse des données de reproduction.

Compter le nombre total de descendants issus de chaque parent et calculer le nombre moyen (à la décimale la plus proche) de descendants vivants issus de chaque parent vivant par concentration d'essai.

La capacité reproductrice doit être exprimée comme le nombre total de descendants vivants par parent vivant (pour chaque répétition) à la fin de l'essai. Si les animaux parents sont exposés individuellement, la capacité reproductrice peut seulement être exprimée comme le nombre moyen de descendants vivants par parent vivant à la fin de l'essai. Lorsque plusieurs organismes ont été exposés dans un récipient donné, la capacité reproductrice doit être exprimée en « nombre total de descendants vivants par parent vivant ».

Comparer le nombre moyen de descendants vivants par parent dans chaque concentration d'essai à celui des témoins par des tests de Dunnett ou Williams à condition que l'homogénéité de la variance entre les concentrations d'essai soit montrée par l'analyse ANOVA (analyse de la variance). Si les variances ne sont pas homogènes, les transformer et procéder à une nouvelle évaluation des données.

La plus faible concentration d'essai qui fournit une réponse statistiquement différente de la réponse des témoins est la LOEC (concentration d'essai minimale pour laquelle un effet est observé).

La plus forte concentration d'essai inférieure à la LOEC qui fournit une réponse statistiquement similaire à celle des témoins est la NOEC (concentration d'essai la plus haute sans effet observé).

La concentration d'essai produisant différents niveaux d'inhibition de production de descendants plus des limites de confiance à 95 % peut être estimée en réalisant différentes analyses de régression comme par exemple les méthodes des probits, logit, weibul, des moyennes mobiles, Spearman-Karber. Les concentrations d'inhibition de 10 %, 20 % et 50 % (par exemple EC10, EC20, EC50), ou les concentrations létales (LCx), peuvent être calculées au moyen de ces méthodes qui sont également disponibles sous forme de programmes

ORIGINAL 2014

informatiques. Les données obtenues doivent également être reportées et tracées sur des axes log-probit afin de représenter les résultats informatiques.

12. Validité des résultats

Pour considérer les résultats comme valides, les conditions suivantes doivent être réalisées :

Le nombre total d'adultes morts et de mâles dans les témoins doit être inférieur ou égal à 20 % en fin d'essai. Le nombre moyen de descendants vivants par parent vivant dans les récipients témoins doit être de minimum 60 individus à la fin de l'essai. Pour que ce critère soit atteint, il convient que les individus témoins aient atteint leur maturité sexuelle et aient produit leur première couvée dans les 11 jours à partir du début de l'essai.

Le coefficient de variation (CV) de la reproduction dans les témoins doit être inférieur ou égal à 20 %.

Le critère de validité « nombre moyen de descendants vivants par parent vivant » est vérifié par une carte de contrôle basée sur la moyenne et avec affichage des limites d'acceptation. En cas de non atteinte de la limite d'acceptation (nombre moyen de descendants vivants par parent vivant dans les récipients témoins inférieur à 60 individus en fin d'essai), les résultats des échantillons ne pourront être validés et l'essai devra être recommencé dans la mesure du possible (disponibilité de l'échantillon).

ORIGINAL 2014

13. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- une référence à la présente méthode de la Région wallonne et éventuellement à la méthode normalisée ;
- l'identification complète de l'échantillon ;
- la date de prélèvement ; ceci qu'il ait été réalisé par le laboratoire ou par le client ;
- la date d'analyse ;
- les résultats du dénombrement conformément au **paragraphe 10** ;
- les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

14. Références

Basé sur la **Norme internationale ISO 10706:2000(F) :** Qualité de l'eau – Détermination de la toxicité à long terme de substances vis-à-vis de *Daphnia magna* Straus (*Cladocera, Crustacea*).

E-V- 6 - Détermination de la toxicité chronique par *Daphnia magna Straus* – Méthode simplifiée (14 – 16 j.)

1. Objet

Cette procédure décrit une méthode de détermination de la toxicité à long terme d'échantillons liquides vis-à-vis de *Daphnia magna* Straus *(Cladocera, Crustacea*). Les paramètres d'effet étudiés sont la survie et l'inhibition de la capacité reproductrice au cours d'un essai de 14 à 16 jours.

2. Domaine d'application

La présente procédure s'applique aux substances chimiques solubles dans les conditions de l'essai ou pouvant être maintenues en suspension ou en dispersion stable dans les conditions de l'essai, aux effluents industriels ou urbains, épurés ou non, s'il y a lieu après décantation, filtration ou centrifugation, aux eaux de surface ou eaux souterraines ainsi qu'aux extraits aqueux (eau interstitielle, lixiviats,…).

3. Définitions et abréviations

Daphnia magna : microcrustacé d'eau douce de l'ordre des cladocères.

Parthénogenèse acyclique : reproduction asexuée (pas d'intervention de gamète mâle) sans alternance avec une phase de reproduction sexuée normale. Dans ce cas, les femelles donnent naissance uniquement à des femelles. L'apparition de mâles dans l'élevage est le signe de perturbations dans celui-ci.

EC_{XX} (14j) ou EC_{XX} (16j) : concentration ou dilution effective estimée qui inhibe à XX% la capacité reproductrice pour une exposition de 14 ou 16 jours.

NOEC : concentration d'essai la plus haute qui ne provoque pas d'effet observé au cours de l'essai réalisé (plus forte concentration d'essai qui fournit une réponse statistiquement similaire à celle du témoin).

LOEC : concentration d'essai la plus faible pour laquelle un effet peut être observé au cours de l'essai réalisé (plus faible concentration d'essai qui fournit une réponse statistiquement différente de la réponse des témoins).

4. Principe

La survie et l'inhibition de la capacité reproductrice de *Daphnia magna* sont utilisées comme mesure de la toxicité chronique des substances et des échantillons aqueux soumis à l'essai.

Pendant l'essai, des daphnies femelles âgées de moins de 24 heures sont exposées pendant 14 à 16 jours, dans les conditions définies par la norme ISO 10706 et détaillées dans le protocole expérimental ci-dessous (**paragraphe 10**), à une gamme de concentrations ou de dilutions de la substance ou de l'échantillon dont la toxicité doit être déterminée dans un système semi-statique ou à renouvellement continu. Le nombre de parents survivants ainsi que le nombre de descendants vivants issus de parents vivants à la fin de l'essai sont consignés. La survie est notée et la capacité reproductrice des parents mis en expérimentation, vivants en fin d'essai

ORIGINAL 2014

(exprimée en nombre d'individus) est comparée à celle des parents témoins. La relation concentration-effet est déterminée par analyse statistique. L'eau de dilution sert de milieu témoin.

5. Conditionnement et conservation de l'échantillon

Les échantillons d'eaux ou d'effluents doivent être prélevés conformément à la procédure générale définie dans l'ISO 5667-2. Les flacons en verre ou en matériau chimiquement inerte doivent être complètement remplis pour ne plus contenir d'air. L'essai de toxicité doit être effectué dès que possible et dans les 12 heures qui suivent le prélèvement. Si ce délai ne peut être respecté, l'échantillon doit être refroidi à 4 ± 2 °C sur le lieu du prélèvement et conservé à cette température afin d'être analysé dans les 48 heures qui suivent le prélèvement. Remarquons que l'échantillon peut éventuellement être congelé afin d'être analysé dans les 2 mois qui suivent le prélèvement.

Lorsque l'échantillon est un prélèvement d'eau ou d'effluent, toutes les portions (sous-échantillons) doivent être prétraitées de la même manière (c'est-à-dire que lorsqu'il est nécessaire de congeler de l'eau instable, toutes les portions, y compris celles utilisées le premier jour, doivent être congelées avant les essais).

En raison de la durée de cet essai (14 à 16 jours) et de la nécessité de renouveler périodiquement les solutions, un nombre suffisant de portions d'échantillon doit être congelé afin de renouveler les solutions d'essai et de répéter l'essai si nécessaire (échantillons de réserve). Le volume minimal de portions congelées dépend de la toxicité de l'échantillon à analyser. Le volume d'échantillon nécessaire pour un essai semi-statique avec mise en expérimentation individuelle de dix daphnies dans 100 ml d'échantillon non dilué est de 9 litres ; des prélèvements supplémentaires seront nécessaires pour des échantillons dilués.

Lorsque l'essai est réalisé sur le site ou à proximité du lieu de prélèvement, il est admis d'utiliser des échantillons frais pour remplacer les solutions d'essai. Dans ce cas, les variations existantes sur le lieu de prélèvement sont intégrées dans la méthode d'essai.

ORIGINAL 2014

6. Appareillages et matériels utilisés

6.1 Appareillage

- Pièce ou enceinte climatisée à 20 ± 2 °C permettant le respect de l'environnement de l'essai préconisé au **paragraphe 10.3** ainsi que le contrôle du cycle jour/nuit et de l'intensité lumineuse
- Incubateur réfrigéré (4 °C)
- Congélateur (< -18 °C)
- Balance analytique de sensibilité 0,1 mg
- pH-mètre
- Oxymètre
- Luxmètre
- Conductivimètre
- Thermomètre ou sonde de température
- Kits de dureté, NH_4^+ et NO_2^-
- Spectrophotomètre

6.2. Petit matériel

Récipients d'essai, en matériau chimiquement inerte et de capacité suffisante pour les essais (par exemple tubes à essais ou béchers en verre de 50 ml ou 100 ml), propres et non contaminés. Les récipients d'essai doivent être préalablement rincés à l'eau déionisée et ensuite séchés. Dans tous les cas, l'utilisation d'un matériel autre que le verre sera mentionnée dans le rapport d'essai.

7. Matériel biologique

Cet essai est basé sur l'utilisation de *Daphnia magna* Straus (*Cladocera, Crustacea*) notée *D. magna* dans la suite du texte, de troisième génération au moins, obtenue par parthénogenèse acyclique dans des conditions d'élevage définies (**voir paragraphe 10.5.**).

Les animaux utilisés pour l'essai doivent être âgés de moins de 24 h (=néonates) et provenir de la seconde à la cinquième portée. Les daphnies doivent provenir d'un lot sain ne présentant aucun signe de stress tel que, par exemple, un taux de mortalité supérieur à 20 %, la présence de mâles, d'éphippies ou d'animaux décolorés, et doivent produire sans retard (à l'âge de 11 jours maximum) la première génération.

Le lot d'animaux doit être maintenu dans des conditions d'élevage (lumière, température, milieu, alimentation et nombre par unité de volume) similaires à celles de l'essai. Si les conditions d'élevage diffèrent de celles de l'essai, il est recommandé d'acclimater une génération aux conditions d'essai pendant environ trois semaines afin d'éviter toute source de stress aux animaux parents.

8. Eau de dilution

Le milieu M4 préconisé par l'OCDE et détaillé dans la norme ISO 10706, Annexe A (voir ci-dessous) est utilisé pour la réalisation de cet essai. Pour ce milieu, la teneur en COT (Carbone organique total) n'est pas mesurée. Remarquons qu'une autre eau de dilution peut être utilisée. Sa composition ainsi que ses principales caractéristiques (par exemple, pH, dureté, COT, DCO) seront systématiquement mentionnées sur la feuille d'essai. Il n'est par exemple pas recommandé d'utiliser de l'eau de dilution contenant de l'EDTA (comme dans le M4) pour analyser la toxicité de composés contenant des métaux (chélation et donc diminution de la toxicité).

Le milieu doit être aéré jusqu'à 95 % de saturation en oxygène et le pH stabilisé à 7,8 ± 0,2. Si nécessaire, ce dernier peut être ajusté par ajout d'une solution de NaOH ou de HCl.

Préparation du milieu M4 :

Des solutions mères (solutions mères 1) séparées contenant chacune un des éléments traces nécessaires sont d'abord préparées dans de l'eau déionisée pour être ensuite combinées en une solution mère 2. Cette solution 2 contient tous les éléments traces nécessaires à la préparation du milieu (voir **tableau 1**).

Le milieu M4 est ensuite préparé en utilisant la solution mère 2 ainsi que les macro-nutriments et les vitamines dans les quantités présentées dans le **tableau 2**.

ORIGINAL 2014

La préparation de la solution mère de vitamines se fait selon le **tableau 3** en ajoutant les 3 vitamines à 1 l d'eau déionisée. La solution de vitamines doit être ajoutée au milieu juste avant l'emploi. Elle peut être conservée congelée en petites portions aliquotes.

Pour éviter toute précipitation des sels lors de la préparation complète du milieu, ajouter les aliquotes des solutions mères à environ 800 ml d'eau déionisée et compléter à 1 l.

Tableau 1 : préparation des solutions mères des éléments traces individuels.

Solution(s) mère(s) 1 (substance unique)	Concentration dans l'eau déionisée (mg/l)	Concentration (en fonction du milieu M4)	Pour préparer la solution mère 2, ajouter à l'eau déionisée le volume suivant de solution mère 1 (ml/l)
H_3BO_3	57 190	20 000 fois	1
$MnCl_2.4H_2O$	7 210	20 000 fois	1
LiCl	6 120	20 000 fois	1
RbCl	1 420	20 000 fois	1
$SrCl_2.6H_2O$	3 040	20 000 fois	1
NaBr	320	20 000 fois	1
$Na_2MoO_4.2H_2O$	1 260	20 000 fois	1
$CuCl_2.2H_2O$	335	20 000 fois	1
$ZnCl_2$	260	20 000 fois	1
$CoCl_2.6H_2O$	200	20 000 fois	1
KI	65	20 000 fois	1
Na_2SeO_3	43,8	20 000 fois	1
NH_4VO_3	11,5	20 000 fois	1
$Na_2EDTA.2H_2O$ (a)	5 000	2 000 fois	
$FeSO_4.7H_2O$ (a)	1 991	2 000 fois	
(a) Les solutions Na2EDTA et FeSO4 sont préparées séparément, puis rassemblées et immédiatement mises en autoclave. Ce qui donne :			
Solution Fe-EDTA		1 000 fois	20

Tableau 2 : préparation du milieu M4.

Solutions mères	Concentration dans l'eau déionisée (mg/l)	Concentration (en fonction du milieu M4)	Volume de solution mère ajouté pour préparer le milieu (ml/l)
Solution mère 2 (éléments trace combinés)		20 fois	50
Solutions mères de macronutriment (une seule substance) :			
$CaCl_2.2H_2O$	293 800	1 000 fois	1
$MgSO_4.7H_2O$	246 600	2 000 fois	0,5
KCl	58 000	10 000 fois	0,1
$NaHCO_3$	64 800	1 000 fois	1
$Na_2SiO_3.9H_2O$	50 000	5 000 fois	0,2
$NaNO_3$	2 740	10 000 fois	0,1
KH_2PO_4	1 430	10 000 fois	0,1
K_2HPO_4	1 840	10 000 fois	0,1
Solution mère de vitamines combinée	/	10 000 fois	0,1

ORIGINAL 2014

Tableau 3 : préparation de la solution mère de vitamines.

Vitamine	Concentration (mg/l)	Concentration (en fonction du milieu M4)
Chlorhydrate de thiamine	750	10 000 fois
Cyanocobalamine (B12)	10	10 000 fois
Biotine	7,5	10 000 fois

9. Préparation des solutions des substances à expérimenter

9.1. Préparation des solutions mères

Si les composés à analyser se présentent sous forme de substances chimiques solubles, la solution mère de la ou des substances à expérimenter doit être préparée par dissolution d'une quantité connue de la ou des substances considérées dans un volume défini d'eau de dilution, d'eau déionisée ou d'eau distillée dans un récipient en verre. La solution mère doit être préparée juste avant la préparation des solutions d'essai à moins que la (les) substance(s) soit (soient) réputée(s) stable(s) dans des conditions de conservation définies, auquel cas la solution mère peut être préparée avant l'essai et conservée dans ces conditions.

Les solutions mères ou les suspensions de substance(s) de faible solubilité aqueuse peuvent être solubilisées ou dispersées directement dans le milieu par des dispositifs à ultrasons, et/ou des agitateurs ou des solvants ou des dispersants de faible toxicité vis-à-vis de *D. magna.* Si un solvant est utilisé, la concentration du solvant dans la solution mère doit être telle que la concentration dans la plus forte solution d'essai ne dépasse pas 0,1 ml/l.

Il convient d'éviter l'utilisation de solvants organiques. Si ceux-ci sont nécessaires, des solvants organiques tels que acétone, éthanol, méthanol, diméthylformamide, triéthylèneglycol ou des dispersants tels que Cremophor RH40, méthylcellulose 0,1 % et HCO-40 peuvent être utilisés pour obtenir une solution mère convenablement concentrée. Ils ne sont pas toxiques vis-à-vis de *D. magna* à des concentrations de 0,1 ml/l. En raison des différences de nature des substances chimiques, aucune procédure unique ne peut être conseillée pour la préparation des solutions mères de substances de faible solubilité aqueuse.

9.2. Préparation des solutions d'essai

Les solutions d'essai doivent être préparées par ajout des solutions mères ou des échantillons d'effluents à l'eau de dilution en quantités définies.

Lorsque les solutions mères sont préparées dans de l'eau déionisée ou distillée, il ne faut pas ajouter plus de 100 ml de solution mère par litre d'eau de dilution.

Les concentrations choisies peuvent également être préparées séparément par ajout direct de la substance d'essai à l'eau de dilution lorsque les quantités à ajouter peuvent être pesées, ou introduites à l'aide d'une pipette dans le cas des liquides, de manière précise.

Si le pH de l'échantillon n'est pas compris entre 6 et 9, l'essai doit être effectué après ajustement du pH à la valeur la plus proche (6 ou 9) à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique ou d'hydroxyde de sodium.

N.B. : l'analyse d'échantillons d'eau à des concentrations supérieures à 100 ml/l peut réduire la reproduction et la survie des daphnies en raison d'insuffisances dans le milieu (par exemple, la dureté). Il peut s'avérer nécessaire, pour déterminer les effets de ces insuffisances, d'ajouter à l'échantillon les mêmes sels que ceux de l'eau de dilution.

10. Mode opératoire

10.1. Témoins

Chaque essai doit comporter un témoin ne contenant aucune substance d'essai.
Lorsqu'un solvant ou un dispersant est utilisé, deux témoins sont nécessaires : l'un ne doit contenir aucun solvant ou dispersant, l'autre doit contenir le solvant ou le dispersant utilisé à une concentration égale à celle de la plus forte concentration d'essai.

10.2. Sélection des concentrations d'essai

Pour les eaux de surface et les eaux souterraines a priori peu toxiques, un test limite (10 répliques avec une concentration de 100 % de l'échantillon) peut être réalisé.

Pour les substances d'essai, les effluents industriels ou urbains et les extraits aqueux (eaux interstitielles, lixiviats, ….), au moins cinq concentrations d'essai disposées en une série géométrique avec un facteur de séparation ne dépassant pas 3,2 doivent être utilisées.
Lors de l'établissement de la gamme des concentrations, les points suivants doivent être pris en compte :

a) Si l'objectif est d'obtenir la NOEC (concentration d'essai la plus haute sans effet observé), la gamme de concentration doit inclure au moins une concentration produisant un effet significatif par rapport au témoin (LOEC : concentration d'essai la plus faible avec effet observé), précédée d'une NOEC. Si ce n'est pas le cas, l'essai doit être répété avec une concentration plus faible.

b) Si l'objectif est d'obtenir la ECp (concentration produisant une réponse en pourcentage, généralement 20 % et/ou 50 %, p étant le pourcentage de réponse choisi) relative à l'effet sur la reproduction et la survie, il est souhaitable que deux concentrations d'essai soient supérieures à cette concentration ECp. Dans le cas contraire, bien qu'il soit possible d'estimer la ECp, l'intervalle de confiance obtenu sera très large et il peut s'avérer impossible d'évaluer de manière satisfaisante l'adéquation du modèle établi.

10.3. Environnement de l'essai

L'environnement de l'essai doit être exempt de poussières ou de vapeurs toxiques pour *D. magna*. Les solutions d'essai ne doivent pas être aérées.

La concentration en oxygène dissous dans les solutions d'essai doit être supérieure à 3 mg/l et le pH doit se situer dans la gamme comprise entre 6 et 9 et ne doit pas varier de plus de 1.5 unités au cours de l'essai. La dureté doit avoir une valeur supérieure à 140 mg/l (exprimée en $CaCO_3$).
La température des solutions d'essai doit être maintenue dans une gamme comprise entre 18 et 22 °C et ne pas varier de plus de 2 °C pendant toute la durée de l'essai.

Le cycle d'essai doit être de 16 h de lumière et de 8 h d'obscurité. L'intensité lumineuse doit de préférence être comprise entre 600 lux et 800 lux à la surface du récipient d'essai, mais ne pas excéder 1200 lux.

ORIGINAL 2014

10.4. Fréquence de renouvellement des solutions d'essai

Le renouvellement des solutions se fait au moins deux fois par semaine (par exemple mardi et vendredi ou lundi et jeudi).

10.5. Introduction des animaux dans le système d'essai

Pour l'essai, seules les daphnies âgées de moins de 24 heures peuvent être utilisées. Afin d'obtenir les jeunes d'âge désiré, il est nécessaire de sélectionner les daphnies productrices au plus tôt 24 heures avant le début de l'essai.

Les daphnies utilisées lors des essais proviennent au minimum de la troisième génération par parthénogenèse acyclique des daphnies. Afin d'assurer la production de jeunes de deuxième à cinquième portée, le système d'élevage suit l'âge des daphnies mères. Par exemple, les daphnies passent par 3 « niveaux » : le niveau des « jeunes » (daphnies âgées de 1 à 2 j. jusque 7 à 8 j.), le niveau des « productrices première semaine » (daphnies âgées de 8 à 9 j. jusque 14 à 15 j.) et le niveau des « productrices deuxième et/ou troisième semaine » (daphnies âgées de 15 à 16 j. jusque 28 à 29 j.). Seuls les niveaux des productrices (première, deuxième et/ou troisième semaine) sont utilisés pour produire les jeunes de moins de 24 h. servant aux essais.

Dix répliques par concentration et dix répliques témoins, contenant environ 50 ml de solution d'essai et une daphnie de moins de 24 heures, sont lancés.

La durée d'exposition des organismes doit être de 14 à 16 jours. Le test s'arrête lorsque les organismes témoins ont produit une descendance de plus de 30 individus avec un minimum de 3 portées. Si ces conditions ne sont pas respectées après 16 jours, la durée du test est prolongée jusque 21 jours. (cf. procédure E-V-5.1v1 : Détermination de la toxicité chronique par *Daphnia magna* Straus).

10.6. Alimentation des organismes

Les animaux parents sont nourris avec des cellules vivantes de deux espèces différentes parmi les espèces suivantes : *Chlorella* spp, *Pseudokirchneriella subcapitata* ou *Scenedesmus subspicatus*.

La ration de nourriture donnée est de 0,1 mg C_{org}/daphnie/jour du jour 0 au jour 5 de l'essai puis de 0,15 mg C_{org}/daphnie/jour à partir du jour 6 jusqu'à la fin de l'essai.

Les algues sont données sous forme de suspensions algales. Celles-ci sont obtenues à partir de cultures d'algues centrifugées deux fois à 4000 tr/min. durant 20 minutes. Elles sont remises en suspension dans du milieu M4 frais après chaque centrifugation.

10.7. Observations et mesures

Chaque jour ouvrable pour lequel une production est observée, les descendants vivants sont dénombrés et retirés du récipient contenant la mère.

Le nombre de parents, de descendants, de mâles ou d'ephippia sont consignés.

ORIGINAL 2014

Les facteurs confondants tels que mesures de pH, O_2, NO_2^-, NH_4^+ sont mesurés en début et en fin de test dans le contrôle et la plus forte concentration et au jour 7 et au jour 14 dans l'ancien et le nouveau milieu de ces solutions.

Si les valeurs de la plus forte concentration sont significativement différentes de celles du contrôle, les mesures doivent être effectuées dans les dilutions.

La conductivité est mesurée sur l'échantillon ou toute portion d'échantillon.

La mesure de salinité est applicable à des cas spécifiques (par exemple, eau interstitielle de sédiments salins).

11. Analyse des données et expression des résultats

Dans le cas d'essais sur produits chimiques, lorsque la concentration effective de la substance d'essai se situe à moins de 20% de la concentration nominale ou initiale, les résultats doivent être exprimés en termes de concentration nominale ou initiale.

Lorsque l'écart de la concentration effective de la substance d'essai est supérieur à ± 20% de la concentration nominale ou initiale, il est recommandé d'exprimer les résultats en termes de concentration moyenne pondérée dans le temps.

Lorsque l'un des parents s'avère être un mâle, les répliques considérées ne doivent pas être considérées pour l'analyse des données de reproduction.

Compter le nombre total de descendants issus de chaque parent et calculer le nombre moyen (à la décimale la plus proche) de descendants vivants issus de chaque parent vivant par concentration d'essai.

La capacité reproductrice doit être exprimée comme le nombre total de descendants vivants par parent vivant (pour chaque répétition) à la fin de l'essai. Si les animaux parents sont exposés individuellement, la capacité reproductrice peut seulement être exprimée comme le nombre moyen de descendants vivants par parent vivant à la fin de l'essai. Lorsque plusieurs organismes ont été exposés dans un récipient donné, la capacité reproductrice doit être exprimée en « nombre total de descendants vivants par parent vivant ».

Comparer le nombre moyen de descendants vivants par parent dans chaque concentration d'essai à celui des témoins par des tests de Dunnett ou Williams à condition que l'homogénéité de la variance entre les concentrations d'essai soit montrée par l'analyse ANOVA (analyse de la variance). Si les variances ne sont pas homogènes, les transformer et procéder à une nouvelle évaluation des données.

La plus faible concentration d'essai qui fournit une réponse statistiquement différente de la réponse des témoins est la LOEC (concentration d'essai minimale pour laquelle un effet est observé).

La plus forte concentration d'essai inférieure à la LOEC qui fournit une réponse statistiquement similaire à celle des témoins est la NOEC (concentration d'essai la plus haute sans effet observé).

La concentration d'essai produisant différents niveaux d'inhibition de production de descendants plus des limites de confiance à 95% peut être estimée en réalisant différentes

ORIGINAL 2014

analyses de régression comme par exemple les méthodes des probits, logit, weibul, des moyennes mobiles, Spearman-Karber. Les concentrations d'inhibition de 10%, 20% et 50% (par exemple EC10, EC20, EC50), ou les concentrations létales (LCx), peuvent être calculées au moyen de ces méthodes qui sont également disponibles sous forme de programmes informatiques. Les données obtenues doivent également être reportées et tracées sur des axes log-probit afin de représenter les résultats informatiques.

12. Validité des résultats

Pour considérer les résultats comme valides, les conditions suivantes doivent être réalisées :

Le nombre total d'adultes morts et de mâles dans les témoins doit être inférieur ou égal à 20% en fin d'essai. Le nombre moyen de descendants vivants par parent vivant dans les récipients témoins doit être de minimum 30 individus après un minimum de 3 productions. Pour que ce critère soit atteint, il convient que les individus témoins aient atteint leur maturité sexuelle et aient produit leur première couvée dans les 11 jours à partir du début de l'essai.

Le coefficient de variation (CV) de la reproduction dans les témoins doit être inférieur ou égal à 25%.

Le critère de validité « nombre moyen de descendants vivants par parent vivant » est vérifié par une carte de contrôle basée sur la moyenne et avec affichage des limites d'acceptation. En cas de non atteinte de la limite d'acceptation (nombre moyen de descendants vivants par parent vivant dans les récipients témoins inférieur à 30 individus en fin d'essai), les résultats des échantillons ne pourront être validés et l'essai devra être recommencé dans la mesure du possible (disponibilité de l'échantillon).

Si la durée de l'essai a dû être prolongée à 21 jours (cf. 10.5), se référer à la méthode E-V-5.1v1 : « Détermination de la toxicité chronique par *Daphnia magna* Straus ».

13. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- une référence à la présente méthode de la Région wallonne et éventuellement à la méthode normalisée ;
- l'identification complète de l'échantillon ;
- la date de prélèvement ; ceci qu'il ait été réalisé par le laboratoire ou par le client ;
- la date d'analyse ;
- les résultats du dénombrement conformément au **paragraphe 10** ;
- les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

14. Références

Basé sur Norme internationale ISO 10706:2000(F) : Qualité de l'eau – Détermination de la toxicité à long terme de substances vis-à-vis de *Daphnia magna* Straus (*Cladocera, Crustacea*).
RIZA notanr.93.027 (Juli 1993) : Methodebeschrijving voor beoordeling van verontreinigde waterbodems volgens de TRIADE benadering.
Procédure CWEA E-V-5v1 : Détermination de la toxicité chronique par *Daphnia magna* Straus – Méthode conventionnelle (daphnies issues d'élevage).

ORIGINAL 2014

A-I-1V1 – GENERALITES SUR LES TECHNIQUES DE PRELEVEMENT ET D'ANALYSE DES EMISSIONS ATMOSPHERIQUES INDUSTRIELLES

1 Objet

Cette fiche décrit les instructions générales sur les techniques de prélèvement et d'analyse des émissions atmosphériques.

2 Domaine d'application

Ceci s'applique aux installations industrielles dont les émissions sont canalisées dans un conduit. Elle ne s'applique pas aux émissions diffuses non canalisées, aux installations de ventilation, de climatisation et aux salles blanches.

3 Introduction

La connaissance des rejets de polluants dans l'atmosphère est indispensable à la prise en considération de nombreux aspects de la pollution atmosphérique. On peut citer en particulier :

- le respect des valeurs limites d'émission
- la surveillance ou le contrôle du process de l'installation d'épuration
- les inventaires et autres bilans environnementaux
- les quotas CO_2
- l'émission trading
- la modélisation du transport des polluants à distance
- la modélisation de la physico-chimique de l'atmosphère
- les études de risque et d'impact

Cette connaissance est accessible au travers de diverses méthodes de mesure décrites dans des normes de prélèvement et d'analyse.
En fonction du type et des flux de polluant, l'autorisation appliquée au point d'émission impose des mesures en continu et/ou des mesures ponctuelles.

4 Types de contrôle

4.1 Autosurveillance

L'autosurveillance que l'on appelle également autocontrôle ou contrôle en continu (CEM : Continuous Emission Monitoring) ou encore contrôle automatique (AMS : Automatic Monitoring System) est réalisée par l'exploitant en utilisant des équipements installés à demeure sur le conduit.

Original 2016

L'autosurveillance a comme objectifs :

- le contrôle du respect des limites d'émission,
- la responsabilisation de l'exploitant vis-à-vis de ses rejets atmosphériques,
- la possibilité d'une meilleure maîtrise de ses rejets.

L'autosurveillance doit en particulier conduire à une amélioration de la prévention des pollutions par un meilleur suivi du système de traitement des effluents. Elle aide également l'exploitant à améliorer la conduite de son procédé et a pour conséquence de réduire les rejets des polluants.

Les techniques actuelles ne permettent cependant pas de mesurer tous les paramètres en continu principalement en raison du manque de sensibilité des systèmes d'analyse existants ou de l'impossibilité d'implanter les systèmes d'analyse de haute technologie (par exemple un spectromètre de masse à haute résolution) en milieu industriel.

Les éléments qui peuvent être contrôlés en continu sont donc les plus "faciles" au point de vue analytique. Dans la majorité des cas, les analyseurs indiquent une valeur instantanée de la concentration des polluants dans les fumées. On peut citer comme paramètres qui peuvent être mesurés en continu de manière fiable : les poussières, l'humidité, l'oxygène, le monoxyde de carbone, le dioxyde de carbone, le dioxyde de soufre, les oxydes d'azote, les hydrocarbures totaux.

Les systèmes automatiques ne permettent cependant pas de prélever en plusieurs points du conduit. Cela est particulièrement vrai pour les systèmes extractifs réalisant la détermination de la concentration en poussières.

Un cas particulier de l'autosurveillance est l'échantillonnage en continu des dioxines et furanes: un échantillonneur prélève en continu une partie des fumées et les dioxines et furanes sont captés sur une cartouche d'adsorption pendant une période pouvant aller jusqu'à un mois. Cette cartouche d'adsorption est ensuite traitée et analysée au laboratoire. On obtient ainsi une valeur moyenne de la concentration pendant la période de prélèvement.

4.2 Mesures ponctuelles

Les mesures ponctuelles que l'on appelle aussi mesures périodiques sont réalisées par un laboratoire qui installe ses propres équipements. Il mesure la concentration des différents analytes directement en continu (comme pour l'autocontrôle) ou bien il prélève des échantillons pendant une durée de quelques minutes à quelques heures. Ces derniers échantillons sont analysés à posteriori par un laboratoire d'analyse.

Le désavantage de ces échantillons ponctuels est qu'ils ne reflètent donc qu'un cliché de la situation au moment du prélèvement.

Ils permettent cependant d'atteindre des limites de quantification beaucoup plus faibles : l'analyte recherché est accumulé sur un système de captation pendant un temps plus ou moins long. Au plus le temps de prélèvement va être long et au plus le volume prélevé va être important, au plus la limite de quantification sera abaissée.

Original 2016

Ce type de mesure nécessite la présence permanente de techniciens qui réalisent les manipulations nécessaires au bon déroulement des différents types de prélèvements.

5 Type de mesures

Les mesures peuvent être réalisées directement dans la cheminée (in situ) ou à l'extérieur de celle-ci (extractif) en prélevant un échantillon de fumée. Dans ce cas, il est primordial que l'échantillon soit représentatif des fumées.

5.1 Mesures in situ

Le terme "mesures in situ" est utilisé pour indiquer que l'échantillon n'est pas extrait du conduit mais que l'analyte est directement mesuré dans le flux de gaz. Ces mesures peuvent être réalisées en installant directement le capteur dans le flux.

Cette technique permet notamment la détermination des paramètres physiques des fumées : température, pression et débit.

On peut également citer l'exploitation de phénomènes physiques (zircone, induction,…) permettant de déterminer la composition chimique des fumées. Celle-ci est cependant, le plus souvent, déterminée in situ par des techniques optiques. Un rayon lumineux traverse le conduit entre un émetteur et un récepteur et l'absorption (ou la réflexion) de ce rayon est proportionnelle à la concentration de l'analyte recherché.

La concentration des poussières présente dans les fumées peut également être déterminée par des appareils in-situ tels les opacimètres.

L'avantage majeur de la technique in situ est que les instruments sont relativement simples.

Parmi les désavantages, on peut citer :

- le problème de l'étalonnage : il est difficile (et parfois impossible) d'utiliser des étalons de référence directement sans manipulation parfois longues et fastidieuses.
- La mesure en un point (ou diamètre pour les systèmes optiques) qui ne tient pas pleinement compte de la non homogénéité des fumées.
- La présence de gouttelettes ou vésicules qui peuvent perturber l'absorption ou la diffusion de la lumière.

5.2 Mesures extractives

Les mesures extractives sont réalisées au moyen d'un système de prélèvement. Une sonde est utilisée pour extraire un échantillon représentatif des fumées du flux principal. On peut dans ce cas parler de prélèvement. En général, les mesures extractives sont utilisées pour déterminer la composition chimique des fumées et la concentration en poussières.

Il existe deux types de mesures extractives suivant qu'elles soient continues ou non.

Original 2016

Lorsque l'on réalise des prélèvements en continu, une portion des fumées est prélevée de la cheminée et est injectée dans un analyseur qui indique directement la concentration de l'analyte.
Lorsque l'on réalise des prélèvements en discontinu, une portion des fumées est prélevée et l'analyte est fixé par un système de captation (filtre, solution d'absorption, solide d'adsorption,…) dans lequel il s'accumule. L'échantillon est ensuite analysé au laboratoire. Dans ce cas, le volume de gaz prélevé doit être mesuré précisément afin de ramener la masse d'analyte capté déterminée par le laboratoire à une concentration volumique.

Les avantages des mesures extractives sont :
- la simplicité de l'étalonnage au moyen de matériel de référence par rapport aux mesures in situ
- la possibilité de réaliser les prélèvements en plusieurs points afin de s'affranchir de l'inhomogénéité des fumées dans le conduit
- les limites de quantification plus basses car fonction de la durée et du volume de prélèvement.

Parmi les désavantages, on peut citer :
- la complexité du matériel à mettre en œuvre
- les problèmes inhérents au système de prélèvement : étanchéité, inertie chimique, adsorption

6 Représentativité

6.1 Ecoulement laminaire

Il est faux de croire que le flux de fumée est homogène partout dans le conduit et que l'on peut réaliser les mesures en un point pris au hasard dans la cheminée. Les faibles températures, l'absence de brassage des fumées par un ventilateur à faible consommation électrique (qui ne fait que faire "avancer" les fumées), la réunion de plusieurs brûleurs dans une seule chaudière, la présence de système de traitement des fumées sont des éléments contribuant à l'inhomogénéité des fumées.

L'influence de l'inhomogénéité des fumées peut être fortement réduite en choisissant convenablement le plan de mesure. Celui-ci doit être caractérisé par un écoulement laminaire, sans giration, ni turbulence. Il doit être situé dans une zone de conduit droit ayant une forme et une section constante. Ce plan de mesure doit être situé le plus loin possible tant en aval qu'en amont de tout élément (coude, ventilateur, silencieux, registre,…) qui pourrait perturber l'écoulement.

Ces prescriptions sont, en général, satisfaites dans des zones de conduit avec au moins cinq diamètres hydrauliques de conduit droit en amont du plan de mesure et deux diamètres en aval (cinq diamètres hydrauliques lorsque le conduit débouche à l'air).
On choisit de préférence une conduite verticale à une conduite horizontale (problèmes de sédimentation, surtout lorsque les concentrations en poussières sont élevées).

Pour rappel, le diamètre hydraulique correspond à 4 x section/périmètre.

Original 2016

6.2 Poussières et vésicules

Les particules en suspension dans un flux gazeux sont soumises à la pesanteur mais aussi aux forces d'entraînement du flux gazeux et à leur inertie propre.
L'influence de la pesanteur est fonction de la densité des particules mais surtout de leur taille.

Dans les installations actuelles, les poussières sont, en général, de petite taille (< 50 µ) et leur comportement sera surtout dicté par les forces d'inertie et d'entraînement.

L'empoussièrement peut donc être très différent d'un endroit à l'autre du conduit. Et le prélèvement ne doit pas induire de perturbation de l'écoulement.

De par leur masse propre, les gouttelettes aérosols ou vésicules sont assimilables à des particules et en possèdent donc le même comportement. On rencontre généralement des aérosols dans des conduits dont la température est inférieure à 100 °C, principalement après un laveur humide. Des précautions particulières doivent donc être prises lors des prélèvements lorsque des vésicules sont présentes dans les fumées.

6.2.1 Isocinétisme

Les poussières se caractérisent par leur spectre granulométrique, leur forme, leur couleur, leur densité,… Les poussières captées dans le train de prélèvement doivent posséder les mêmes caractéristiques afin de constituer un échantillon représentatif des fumées.

La méthode pour obtenir cette exigence est de réaliser un prélèvement en isocinétisme : la vitesse à l'entrée de la sonde de prélèvement doit être la même que celle dans le conduit en ce point.

6.2.2 Découpage du plan de mesure

Le plan de mesure est divisé en surfaces partielles de même aire. C'est au centre de gravité de chacune de ces surfaces qu'il faut effectuer les prélèvements.
Le nombre de ces surfaces est fonction du diamètre hydraulique du conduit. Il varie de 1 pour les cheminées de moins de 0.35 m à 17 pour les conduits de plus de 2 m de diamètre. Ce nombre peut être augmenté, notamment si les conditions décrites au paragraphe 6.1 ne sont pas respectées.

6.2.3 Prélèvement

Pour réaliser le prélèvement sur le conduit, il faut réaliser en chacun des points un prélèvement en isocinétisme. La durée du prélèvement en chacun des points doit être la même.

Original 2016

6.2.4 Remarque

Une description détaillée des conditions nécessaires à la réalisation de prélèvements représentatifs est donnée dans la fiche A-I-2 relative à l'aménagement des conduits industriels pour les mesures à l'émission des sources fixes.

6.3 Homogénéité du plan de mesure

Afin de vérifier l'homogénéité des fumées au niveau du plan de mesure, il est possible de réaliser un profil d'homogénéité (paramètres physiques et chimiques des fumées).

Idéalement, il faudrait réaliser ce profil pour tous les types d'analytes, ce qui est totalement impossible (problème de l'incertitude sur le résultat obtenu, équipement du conduit,…).

6.3.1 Valeur moyenne

Le contrôle de l'homogénéité du plan de mesure peut être réalisé en effectuant, en une série de points de ce plan, la mesure de la concentration d'un paramètre "facile" (par exemple la concentration en oxygène). Le prélèvement final est alors réalisé en un point "moyen".

Cette méthode ne tient cependant pas compte des variations de concentration de l'analyte pendant la réalisation du spectre de concentration.

6.3.2 Mesure de référence

Lorsque la concentration des analytes varie fortement, il est possible d'effectuer deux prélèvements simultanés d'un même analyte (par exemple la concentration en oxygène) : un des prélèvements est réalisé en un point fixe tandis qu'un second prélèvement est réalisé en une série de points. On calcule alors la moyenne après l'avoir ramenée par rapport au point fixe de référence.

6.4 En pratique

Dans la pratique, lorsque la concentration massique et des analyses de spéciation (métaux lourds, dioxines et furanes, PCB, halogénés particulaires,…), doivent être réalisées sur ces poussières les prélèvements doivent être réalisés en plusieurs points et en isocinétisme.

Il en va de même en présence de vésicules pour les paramètres très solubles tels HCl, HF, formaldéhyde, NH_3,…

Lorsqu'on réalise des prélèvements sur des analytes présents uniquement sous forme gazeuse (principalement O_2, CO_2, CO, SO_2, NO, NO_x, N_2O, COT), on considère, en général, qu'ils sont répartis de manière homogène dans le conduit et le prélèvement est réalisé en un point fixe à débit constant.

Original 2016

Il faut noter que ces différentes mesures nécessitent un nombre suffisant de brides au niveau du plan de mesure (voir A-I-2) pour réaliser les différents essais. Ce n'est cependant pas toujours le cas.

7 Conditionnement de l'échantillon

Pour toutes les mesures extractives et afin d'éviter des interférences et/ou des pertes dans la composition de l'échantillon de fumées, celui-ci doit être conditionné en tenant compte des poussières et de la vapeur d'eau.

7.1 Les particules

Pour les mesures extractives, le système de prélèvement doit être protégé d'une accumulation de poussières qui induirait un colmatage du système ou une adsorption de certains analytes sur les particules accumulées.

Pour les analyseurs optiques, la filtration est nécessaire afin d'éviter une contamination de la cellule de mesure.

Pour les échantillonnages ponctuels par barbotage, une filtration est également nécessaire afin d'éviter des perturbations lors de l'analyse de la solution d'absorption. Cette filtration permet également de séparer la fraction gazeuse de l'analyte de la fraction particulaire.

Un filtre doit être placé en tête de sonde ou directement après la sonde afin de limiter au maximum la partie du train de prélèvement non filtrée. Ce filtre ne doit pas réagir avec les composants des fumées. Le filtre doit être chauffé avant de commencer le prélèvement et doit être maintenu à une température supérieure au point de rosée. Si le filtre n'est pas chauffé à une température suffisante, de l'eau va se condenser sur le filtre et le colmater. A plus long terme, une "boue" va également se former avec les poussières sur le filtre et va également colmater celui-ci. Cette accumulation d'eau et de boue va, de plus, adsorber une partie des composés des fumées et fausser le résultat de la mesure.

On considère qu'une température de 110 à 120 °C est suffisante sauf pour la détermination de la concentration en hydrocarbures totaux pour laquelle une température de 180 °C est nécessaire.

7.2 La vapeur d'eau

Il existe deux types d'instruments analytiques pour la mesure en continu de type extractive : les analyseurs "à chaud" et les analyseurs "à froid".

7.2.1 Analyseurs à chaud

Dans ces analyseurs, les fumées sont maintenues à une température supérieure au point de rosée. L'ensemble de la chaîne d'analyse (filtre, ligne de transport, pompe, détecteur) est maintenu à haute température (par exemple 180 °C).

Original 2016

L'ensemble de la ligne de prélèvement doit être conçu de manière à éviter tous les points froids qui pourraient amener une condensation et une perte d'analyte. Cela est particulièrement vrai au niveau des jonctions entre les différentes parties (filtre↔ligne chauffante↔pompe↔analyseur).
Ces analyseurs déterminent la concentration de l'analyte dans des conditions de gaz humides puisque l'eau est toujours présente dans les fumées lorsqu'elles traversent le détecteur. Vu que les valeurs des autorisations sont généralement exprimées sur gaz secs, il est nécessaire, avec ce type d'analyseurs, de déterminer la concentration en vapeur d'eau dans les fumées afin de pouvoir ramener le résultat dans des conditions de gaz secs.

Un exemple de ceux-ci est l'analyseur équipé d'un détecteur à ionisation de flamme - FID - qui mesure la concentration en hydrocarbures totaux.

7.2.2 Analyseurs à froid

Dans ce type d'analyseur, le détecteur est maintenu à basse température (par exemple 40 °C). Cela permet de s'affranchir des variations de température ambiante. Cette température est cependant trop faible pour éviter la condensation dans l'analyseur et ce type d'appareillage doit être précédé d'un système qui va abaisser le point de rosée.
En amont de ce système, il faut éviter tous les points froids qui pourraient amener une condensation et une perte d'analyte.

La diminution du point de rosée consiste principalement à éliminer l'eau présente dans les fumées. La méthode pour diminuer ce point de rosée va être fonction de l'analyte. Les différentes techniques pour abaisser le point de rosée sont reprises dans la fiche spécifique concernant les analyseurs (A-I-3).

Suivant le technique de séchage, le point de rosée peut être abaissé à une valeur comprise entre 4 et -40 °C. On considère alors que le gaz est sec et aucune correction de la teneur en humidité ne doit être apportée.

7.2.3 Remarques

L'élimination de l'eau dans l'échantillon est également nécessaire lors des prélèvements de composés organiques sur charbon actif et autres agents d'adsorption. En effet la présence d'eau diminue les capacités d'adsorption de ces systèmes.

Dans certains cas, les fumées peuvent être considérées comme sèches. Il n'est, dès lors pas nécessaire de sécher ces fumées. Cela est notamment le cas pour les systèmes d'évacuation des fumées sur des installations où il n'y a pas de combustion : cabines de peinture, mécanisation (tour, sablage, soudure,…) imprimerie offset, décapage,…

8 Les techniques d'analyse des fumées

Les analyseurs permettant la détermination de la concentration en poussières dans les fumées s'appuient sur différentes techniques basées sur les propriétés physico-chimiques des poussières et suivant des méthodes in situ ou extractives. Ils font l'objet d'une fiche spécifique (A-I-3).

Original 2016

Les analyseurs de gaz en continu se différencient par leur principe de fonctionnement (in-situ ou extractif, à froid ou à chaud) et les propriétés physiques de l'analyte (absorption IR, absorption UV, susceptibilité magnétique, ionisation,…). Ils font également l'objet d'une fiche spécifique (A-I-4).

9 Durée et nombre de prélèvements

La durée et le nombre de prélèvements ne sont que rarement imposés par les normes de prélèvement ou les permis d'environnement excepté pour la détermination de la concentration en dioxines et furanes pour laquelle une durée de 6 à 8 heures est généralement imposée.
Il s'agit cependant de paramètres importants. Suivant le permis d'environnement, la fréquence de contrôle des émissions varie de plusieurs fois par an à une fois tous les 2-3 ans. Ces prélèvements vont donc représenter les émissions d'une installation parfois pour plusieurs années.
La durée de chaque type d'essai devrait être d'une heure minimum.
Idéalement, le nombre d'essais pour un même analyte devrait être de 3 au minimum.

Plusieurs facteurs interviennent pour définir la durée minimale du prélèvement.

9.1 Le diamètre hydraulique du conduit.

Pour les prélèvements réalisés en isocinétisme, il est nécessaire de prélever les fumées en une série de points dans le conduit. Le nombre de points varie de 1 à 17 suivant les dimensions du conduit et la durée en chacun des points doit toujours être la même.
En chaque point du conduit, la durée de prélèvement devrait être de 10 minutes au minimum
Pour les conduits de moins de 2 mètres de diamètre, la durée totale du prélèvement devrait être de 2 heures au minimum et de 3 heures au minimum pour les conduits de plus de 2 mètres.
Il s'agit ici de la durée réelle du prélèvement. Il faut y ajouter le temps nécessaire pour déplacer le train de prélèvement d'un axe à l'autre.
Pendant toute la durée de l'essai, les concentrations en O_2 et CO_2 doivent être mesurées (sauf s'il s'agit d'air) afin de s'affranchir des variations de la composition des fumées.
Ces impositions concernent tous les essais destinés à la détermination des poussières et tous les essais pour lesquels les poussières doivent être analysées (métaux lourds, halogénés particulaires, PCB,…).

9.2 La valeur limite d'émission

La durée de prélèvement doit être adaptée afin d'obtenir un volume de gaz aspiré suffisant pour atteindre des limites de quantification adéquates par rapport aux valeurs limites d'émission tout en respectant les débits maximum de prélèvement imposés par les normes.
Plus la durée du prélèvement sera longue, plus le volume de gaz prélevé sera important et plus basse sera la limite de quantification.
Ces impositions s'appliquent à tous les prélèvements pour lesquels l'analyte va s'accumuler (par filtration, absorption, adsorption) au niveau du système de prélèvement avant d'être analysé.

Original 2016

9.3 Les paramètres de process

Le processus de fabrication doit également être pris en compte.
La durée de l'essai doit couvrir un nombre entier de cycles afin d'être représentatif de la totalité des émissions générées par les différentes phases de ce cycle. Dans ce cas, la communication entre la salle de commande de l'usine et le laboratoire réalisant les essais est essentielle.

9.4 En pratique

Le coût de la réalisation des prélèvements et des analyses reste cependant un facteur de détermination du nombre et de la durée des essais.
On peut différencier les prélèvements peu coûteux (halogénés, gaz majeurs,…) des prélèvements coûteux (poussières, métaux lourds, dioxines, PCB,…) qui demandent plus de matériel et de personnel.
Pour les premiers, il est préférable de réaliser plusieurs essais (3 par exemple) de courtes durées (1 heure par exemple) ou d'enregistrer le paramètre en continu..
Pour les seconds un seul essai peut être réalisé mais il doit être suffisamment long (2 à 6 heures).

10 Expression des résultats

Selon les méthodes d'analyse, les résultats bruts obtenus sont exprimés de différentes manières dans des unités et des conditions différentes Afin d'être uniformisés entre eux suivant le type d'installation industrielle et les permis d'environnement, les résultats sont ramenés à des valeurs de références.

10.1 Conditions de pression et de température

A l'émission, on exprime les concentrations par rapport à une température de 273 K (soit 0 °C) et à pression atmosphérique (101.3 kPa soit 1013 mbar), les gaz étant supposés suivre la loi des gaz parfaits.
On rencontre dans des documents les concentrations exprimées en "Nm³" soit Normal mètre cube ou encore m³ ramené à 273 K et 101.3 kPa.
La formule ci-après permet d'effectuer les corrections en concentration :

$$C(T_r,P_r) = C(T,P)\cdot\frac{T}{P}\cdot\frac{P_r}{T_r} = C(T,P)\cdot 0.371\cdot\frac{T}{P} \qquad \text{(Equation 1)}$$

Avec :
C : concentration massique dans les conditions précisées entre parenthèses
T_r : température de référence : 273 K (soit 0 °C)
P_r : pression de référence : 101.3 kPa (soit 1013 mbar)
T : température réelle de mesure de $C(T,P)$ en K
P : pression réelle de mesure de $C(T,P)$ en kPa

Original 2016

10.2 Conditions humides-sèches

Le plus souvent, en Wallonie, les permis d'environnement prévoient d'exprimer les résultats sur gaz secs. La formule suivante permet d'effectuer la conversion de concentration exprimée en conditions humides vers sèches:

$$C_S = C_H \cdot \frac{100}{100 - H} \qquad \text{(Equation 2)}$$

Avec :
C_S : concentration exprimée en conditions sèches
C_H : concentration exprimée en conditions humides
H : humidité des gaz exprimée en %

On rencontre dans des documents les concentrations exprimées en "m³sec" soit mètre cube exprimés sur gaz sec...

10.3 Conversion ppm-mg/Nm³

Les analyseurs de gaz, de par leur principe de fonctionnement, fournissent des concentrations volumiques en % ou en ppm (part par million : 10^{-6}) ou plus rarement en ppb (part par billion : 10^{-9}). D'autre part, les valeurs dans les permis d'environnement sont indiquées en concentration massique (mg, µg…) par unité de volume (le plus souvent m³).
La conversion entre les valeurs en ppm et en mg/Nm³ est réalisée au moyen de la formule suivante :

$$C_m = C_v \cdot \frac{M}{V} = C_v \cdot \frac{M}{22.4} \qquad \text{(Equation 3)}$$

Avec :
C_m : concentration massique en mg/Nm³
C_v : concentration en volume (ppm)
M : masse molaire de l'analyte
V : volume molaire dans les conditions normales (22.4 l)

Le tableau suivant reprend le coefficient de conversion ppm↔mg/Nm³ de quelques composés.

Original 2016

Gaz	Coefficient
CO	1.250
SO_2	2.858
NO	1.339
NO_2	2.058
NOx (exprimé en NO_2)	2.058
HCl	1.626
C_xH_y (exprimé en C) Étalon C_3H_8	1.608
C_xH_y (exprimé en C) Étalon CH_4	0.536

Tableau 1 : coefficient ppm↔mg/Nm³sec

10.4 Référence oxygène

Pour toutes les installations pour lesquelles les émissions proviennent de la combustion de combustibles liquides, solides ou gazeux, la concentration des différents polluants dans les fumées est évidemment fonction de l'excès d'air dans la cheminée.

Ainsi si l'on considère deux fours identiques débitant 50 000 Nm³/h et débouchant sur deux systèmes d'épuration des fumées. Si l'on ajoute de l'air de dilution (50 000 Nm³/h) au niveau d'un des 2 systèmes d'épuration, les concentrations en polluants à la sortie de ce dernier seront divisées par 2.

Afin d'éviter ce type de dilution, la réglementation prévoit d'exprimer les rejets par rapport à une concentration conventionnelle en oxygène. Ainsi, quelle que soit la dilution, les valeurs seront comparables.

Cette concentration va être fonction du type d'installation. Le tableau ci-après reprend quelques concentrations de référence en oxygène dans différents domaines industriels.

Installations	Taux d'O_2 de référence
Incinérateur de déchets ménagers	11 %
Cimenteries	10 %
Moteurs de CET (biogaz)	5 %
Cogénération	6 ou 11 %
Turbines à gaz	15 %

Tableau 2 : exemple de taux de référence O_2

Original2016

La formule qui permet d'exprimer la concentration en fonction d'un taux d'oxygène de référence est donnée ci-après.

$$C_r = C_{mes} \cdot \frac{21 - [O_{2,ref}]}{21 - [O_{2,mes}]} \qquad \text{(Equation 4)}$$

Avec :

C_r : concentration au taux d'oxygène de référence $[O_{2,ref}]$

C_{mes} : concentration brute mesurée

$[O_{2,ref}]$: concentration de référence en oxygène en %

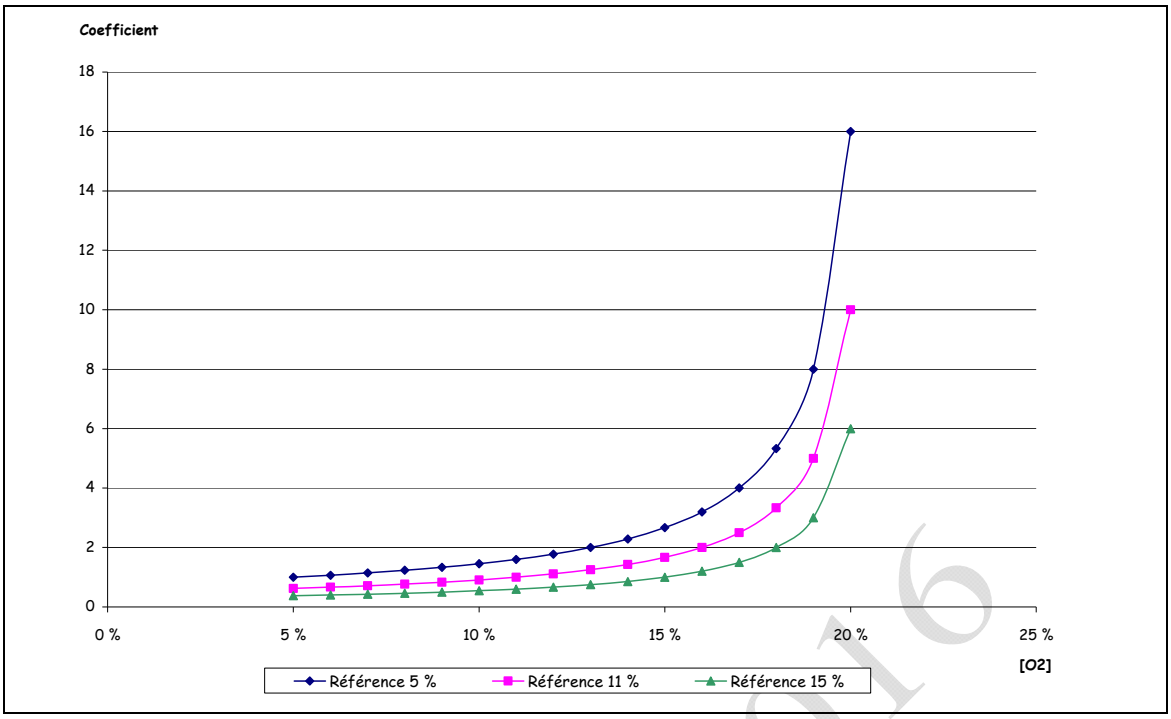
$[O_{2,mes}]$: concentration mesurée en oxygène en %

Le tableau suivant indique le coefficient de correction à appliquer en fonction de la concentration mesurée en oxygène. Il montre l'importance de mesurer la concentration en oxygène le plus exactement possible.

Valeur mesurée	Taux de référence		
	5 %	11 %	15 %
5 %	1	0.63	0.38
6 %	1.07	0.67	0.40
7 %	1.14	0.71	0.43
8 %	1.23	0.77	0.46
9 %	1.33	0.83	0.50
10 %	1.45	0.91	0.55
11 %	1.60	1	0.60
12 %	1.78	1.11	0.67
13 %	2.00	1.25	0.75
14 %	2.29	1.43	0.86
15 %	2.67	1.67	1
16 %	3.20	2.00	1.20
17 %	4.00	2.50	1.50
18 %	5.33	3.33	2.00
19 %	8.00	5.00	3.00
20 %	16.00	10.00	6.00

Tableau 3 : coefficient de correction référence O_2

Original 2016



Graphique 1 : coefficient de correction référence O_2

Vu l'importance de cette correction, il est évident que la concentration en O_2 doit être déterminée chaque fois que la concentration en analyte doit être ramenée à un taux d'oxygène de référence. Il est proscrit d'utiliser la concentration en oxygène obtenue pendant quelques heures lors d'une mesure et d'utiliser cette valeur comme référence pour corriger tous les résultats obtenus au cours de la campagne d'essais.

10.5 Référence dioxyde de carbone

Dans certains cas plus rares, la concentration des polluants doit être exprimée suivant une concentration de référence en CO_2.
La formule qui permet d'exprimer la concentration en fonction d'un taux de CO_2 de référence est donnée ci-après.

$$C_r = C_{mes} \cdot \frac{[CO_{2,ref}]}{[CO_{2,mes}]} \qquad \text{(Equation 5)}$$

Avec :

C_r : concentration au taux de CO_2 de référence $[CO_{2,ref}]$

C_{mes} : concentration brute mesurée

$[CO_{2,ref}]$: concentration de référence en dioxyde de carbone en %

$[CO_{2,mes}]$: concentration mesurée en dioxyde de carbone en %

Original 2016

10.6 Remarque

De la combinaison de ces différents points, on exprime le plus souvent les concentrations des polluants gazeux en "mg/Nm³.sec à θ % d'O_2" soit une concentration massique par mètre cube de gaz sec ramené à la pression atmosphérique (1013 mbar – 101.3 kPa) et à une température de 273 K (0 °C) et exprimé par rapport à un taux de référence en oxygène de θ %.

Original 2016

11 Références

NBN EN 15259: Qualité de l'air – Mesurage des émissions de sources fixes – Exigences relatives aux sections et aux sites de mesurage et relatives à l'objectif, au plan et au rapport de mesurage.

ISO/DIN 9096: Air Quality-Stationary source emission. Determination of concentration and mass flow rate of particulate material in gas ducts.

ISO 10780: Emissions des sources fixes- Mesurage de la vitesse et du débit-volume des courants gazeux dans des conduites.

EN 13284-1: Emissions de sources fixes – Détermination manuelle de la concentration en masse de poussières

EN 1948: Emissions de source fixes - Détermination de la concentration massique en PCDDs/PCDFs et PCB de type dioxine

EN 14385: Emissions de sources fixes – Détermination de l'émissions totale de As, Cd, Cr, Co, Cu, Mn, Ni, Pb, Tl et V

EN 13211: Qualité de l'air – Emissions de sources fixes – Méthode manuelle de détermination de la concentration en mercure total.

EN 14789: Émissions de sources fixes – Détermination de la concentration massique en oxygène (O2) – Méthode de référence.

EN 15058: Émissions de sources fixes – Détermination de la concentration massique en monoxyde de carbone (CO) – Méthode de référence : spectrométrie infrarouge non-dispersive.

NBN EN 14792: Émissions de sources fixes – Détermination de la concentration massique en oxydes d'azote (NOx) – Méthode de référence : chimiluminescence.

EN 13526: Emission de sources fixes – Détermination de la concentration massique en carbone organique total à de fortes concentrations dans les effluents gazeux

EN 1911: Emissions de sources fixes – Détermination de la concentration massique des chlorures exprimés en HCl

ISO 15713: Emissions de sources fixes – Echantillonnage et détermination de la teneur en fluorure gazeux

NBN-X-44-002: Prélèvement de poussières dans une veine gazeuse et détermination de la teneur en poussières de gaz.

EPA Method 3A: Determination of oxygen and carbon dioxide concentrations in emissions from stationary sources.

EPA Method 6C: Determination of sulfur dioxide emissions from stationary sources (Instrumental analyzer procedure)

Original 2016

EPA Method 7E: Determination of nitrogen oxide emissions from stationary sources (Instrumental analyze procedure

EPA Method 25A: Determination of total organic concentration using a flame ionization analyzer

EPA Method 108: Determination of particulate and gaseous arsenic emissions

EPA Method 101A: Determination of particulate and gaseous mercury emissions from sewage incinerators.

EPA Method 29: Determination of metal emission from stationary sources

EPA Method 23: Determination of Polyclorinated Dibenzo-p-Dioxins and Polychlorinated Dibenzofurans from Stationary Sources.

Original 2016

A-I-1V1 – GENERALITES SUR LES TECHNIQUES DE PRELEVEMENT ET D'ANALYSE DES EMISSIONS ATMOSPHERIQUES INDUSTRIELLES 1
1 Objet 1
2 Domaine d'application 1
3 Introduction 1
4 Types de contrôle 1
4.1 Autosurveillance 1
4.2 Mesures ponctuelles 2
5 Type de mesures 3
5.1 Mesures in situ 3
5.2 Mesures extractives 3
6 Représentativité 4
6.1 Ecoulement laminaire 4
6.2 Poussières et vésicules 5
6.2.1 Isocinétisme 5
6.2.2 Découpage du plan de mesure 5
6.2.3 Prélèvement 5
6.2.4 Remarque 6
6.3 Homogénéité du plan de mesure 6
6.3.1 Valeur moyenne 6
6.3.2 Mesure de référence 6
6.4 En pratique 6
7 Conditionnement de l'échantillon 7
7.1 Les particules 7
7.2 La vapeur d'eau 7
7.2.1 Analyseurs à chaud 7
7.2.2 Analyseurs à froid 8
7.2.3 Remarques 8
8 Les techniques d'analyse des fumées 8
9 Durée et nombre de prélèvements 9
9.1 Le diamètre hydraulique du conduit. 9
9.2 La valeur limite d'émission 9
9.3 Les paramètres de process 10
9.4 En pratique 10
10 Expression des résultats 10
10.1 Conditions de pression et de température 10
10.2 Conditions humides-sèches 11
10.3 Conversion ppm-mg/Nm^3 11
10.4 Référence oxygène 12
10.5 Référence dioxyde de carbone 14
10.6 Remarque 15
11 Références 16

Original 2016

A-I-2V1 – AMENAGEMENT DES CONDUITS INDUSTRIELS POUR LES MESURES À L'EMISSION DES SOURCES FIXES

1 Objet

Cette fiche décrit les aménagements des conduits industriels nécessaires à la réalisation des contrôles à l'émission dans le cadre de la lutte contre la pollution atmosphérique.
Il est en effet nécessaire de disposer de zones aménagées sur les conduits industriels afin d'effectuer des mesures à l'émission qui soient fiables et comparables.

2 Domaine d'application

Ceci s'applique aux installations industrielles dont les émissions sont canalisées dans un conduit. Elle ne s'applique pas aux émissions diffuses non canalisées, aux installations de ventilation, de climatisation et aux salles blanches.

3 Remarque générale

Trop souvent, les laboratoires accrédités et/ou agréés dans le cadre de la lutte contre la pollution atmosphérique sont confrontés à de nombreux problèmes d'accès et d'aménagement des conduits industriels lorsqu'ils sont amenés à réaliser des prélèvements à l'émission.
C' est pourquoi il est préférable d'exiger, dès le départ dans le permis d'environnement, les aménagements à réaliser au niveau du conduit pour les nouvelles installations et ce en fonction des paramètres à mesurer. En effet, il sera toujours plus facile (et moins coûteux) pour l'industriel de réaliser les aménagements à la construction que par après.
Les normes décrivant les méthodes de prélèvements évoluant constamment, des précautions ont été prises (nombre et taille des brides) afin de tenter de prévoir cette évolution.
Des brides accessibles, bien placées et en nombre suffisant permettent aux laboratoires accrédités et/ou agrées de réaliser des prélèvements représentatifs conformément aux normes en application.

4 Principe

L'aspect primordial des mesures à l'émission est le soin à apporter aux prélèvements sur site. Il faut réaliser un prélèvement représentatif de la composition des fumées dans la cheminée.
L'application d'une série d'exigences, décrites dans des normes, fournira un résultat fiable et comparable.
Les techniques de prélèvement vont donc varier en fonction de l'analyte et de l'installation.

Original 2016

Le problème majeur des prélèvements à l'émission est lié aux particules et aérosols (gouttelettes) qui par leur masse propre ont tendance à présenter un comportement hétérogène dans le conduit.
Lorsqu'on réalise des prélèvements sur des analytes présents uniquement sous forme gazeuse (principalement O_2, CO_2, CO, SO_2, NO, NO_x, N_2O, C_xH_y), on considère, en général qu'ils sont répartis de manière homogène dans le conduit.

4.1 Le problème des particules et autres aérosols

Le prélèvement, principalement des particules contenues dans les fumées s'écoulant dans un conduit, serait simple s'il était possible d'intercepter quantitativement la poussière sur la totalité de la surface d'écoulement pendant un temps déterminé, ce qui n'est généralement pas possible, en raison des dimensions des conduits.

La représentativité de cet échantillonnage est ainsi lié au comportement (et notamment l'inertie) des particules solides :
. Répartition hétérogène
. Ecoulement giratoire
. Sédimentation.

Afin de minimiser au maximum ces problèmes, le prélèvement doit satisfaire à trois grands critères de base :
. Choix de l'emplacement du plan de mesure.
. Découpage du plan de mesure.
. Prélèvement isocinétique (non lié à l'aménagement des installations).

De par leur masse propre, les gouttelettes aérosols sont assimilables à des particules et en possèdent donc le même comportement. On rencontre généralement des aérosols dans des conduits dont la température est inférieure à 100 °C, principalement après un laveur humide.

4.2 La mesure du débit

Pour déterminer la vitesse dans le conduit ou le débit volumique, il est nécessaire de respecter également les deux premiers critères applicables aux prélèvements poussières :

. Choix de l'emplacement du plan de mesure.
. Découpage du plan de mesure.

5 Exigences des normes

5.1 Choix du plan de mesure

Le plan de mesure doit être caractérisé par un écoulement laminaire, sans giration, ni turbulence. Il doit être située dans une zone de conduit droit ayant une forme et une section constante et le plus loin possible tant en aval qu'en amont de tout élément (coude, ventilateur, silencieux, registre,…) qui pourrait perturber l'écoulement.

Original 2016

Ces prescriptions sont, en général, satisfaites dans des zones de conduit avec au moins cinq diamètres hydrauliques de conduit droit en amont du plan de mesure et deux diamètres hydrauliques en aval (cinq diamètres hydrauliques lorsque le conduit débouche à l'air) – voir figure 1.
On choisit de préférence une conduite verticale à une conduite horizontale (problèmes de sédimentation).
Pour rappel, le diamètre hydraulique correspond à 4 x section/périmètre.

5.2 Nombre minimum et emplacement des brides de prélèvement poussières

5.2.1 Découpage du plan de mesure

Le plan de mesure est divisé en surfaces partielles d'aire identique. Le nombre de ces surfaces est fonction du diamètre hydraulique du conduit.
C'est au centre de gravité de chacune de ces surfaces partielles qu'il faut effectuer les différents prélèvements ponctuels des poussières.

5.2.2 Conduit de section circulaire

Excepté pour les très petits conduits (< 0,35 m), les prélèvements sont réalisés suivant deux axes (lignes d'échantillonnage) perpendiculaires. Ces deux axes correspondent à deux diamètres perpendiculaires du plan de mesure.
La table 1 reprend le nombre minimum de points de prélèvement. Le nombre de points explorés peut être augmenté, notamment si les conditions décrites au paragraphe 5.1 ne sont pas respectées.
La réalisation d'un prélèvement au centre du conduit est laissée à l'appréciation du laboratoire d'essais.

Diamètre du conduit (m)	Nombre minimum de lignes d'échantillonnage	Nombre minimum de points par ligne		Nombre minimum de points de prélèvement	
		y compris le centre	à l'exclusion du centre	y compris le centre	à l'exclusion du centre
< 0,35	-	1	1	1	-
0,35 à 0,70	2	3	2	5	4
> 0,70 à 1,00	2	5	4	9	8
> 1,00 à 2,00	2	7	6	13	12
> 2,00	2	9	8	17	16

Table 1: nombre minimum de points de prélèvement – conduit circulaire

Original 2016

5.2.3 Conduit de section rectangulaire

Les prélèvements sont réalisés suivant plusieurs axes parallèles (lignes d'échantillonnage) dans les conduits rectangulaires

Surface du conduit (m^2)	Nombre minimum de lignes d'échantillonnage	Nombre minimum de points de prélèvement
< 0,09	-	1
> 0,09 à 0,38	2	4
> 0,38 à 1,50	3	9
> 1,50	4	16

Table 2: nombre minimum de points de prélèvement – conduit rectangulaire

D'autres lignes d'échantillonnage peuvent être ajoutées lorsque la longueur de la section du conduit est supérieure à deux fois sa largeur.

5.2.4 Taille et type de brides

Les brides permettant de réaliser des prélèvements poussières doivent permettre l'introduction et le retrait de l'équipement de prélèvement et des dispositifs associés. Elles doivent également permettre une obturation (partielle) de l'orifice une fois que le matériel est en place.

5.2.5 Type de prélèvements

Ce type de brides qu'on pourrait qualifier de brides "poussières" doit être utilisé pour tous les prélèvements nécessitant de respecter l'isocinétisme au cours desquels la concentration massique ou la composition des poussières doit être déterminée. Ce type de prélèvements comprend notamment les métaux lourds et volatils, les dioxines et furanes, les PCB dioxin like, les PAH, les "marqueurs" PCB (ou PCB totaux), les composés halogénés particulaires,…
Ces brides doivent également être utilisées dès que des aérosols sont présents dans les fumées (fumées saturées en eau), pour les polluants susceptibles d'être présents dans ces gouttelettes. On peut citer les composés halogénés volatils, le formaldéhyde,…

5.3 Autres brides

En fonction des prélèvements et analyses à réaliser, il est nécessaire d'équiper le conduit d'autres brides afin de pouvoir réaliser un plus grand nombre de prélèvements simultanément. On peut par exemple citer la mesure des gaz majeurs (O_2 et CO_2) pour déterminer la masse volumique du gaz et exprimer le résultat à un taux d'oxygène de référence.
Ces brides "gaz" par opposition aux brides "poussières" n'ont pas les mêmes exigences de positionnement. Il est plus pratique qu'elles soient situées au même niveau que les brides poussières, sans pour autant interférer entre elles. De plus, le plus souvent, de simples piquages (diamètre 3/4" ou 1.5" par exemple) sont suffisants.

Original 2016

5.3.1 Remarques

- Dans le cas de certaines cheminées de très grand diamètre ou avec des parois très épaisse (briques, béton), il n'est pas possible, vu la longueur des sondes de prélèvement disponibles dans le commerce (3 m maximum), de couvrir toute la ligne depuis la même bride. Dans ce cas, il est nécessaire d'installer 2 x 2 brides face à face.
- La vitesse des gaz dans le conduit étudié doit être suffisante pour permettre un prélèvement représentatif. La pression différentielle minimale de référence est de 5 Pa, ce qui correspond à une vitesse des gaz minimale de 3 m/s. Le diamètre du conduit doit donc être choisi, si possible, en fonction de cette exigence. Il est évident qu'une vitesse plus importante (de l'ordre de 10 m/s au minimum) est toujours préférable.

5.4 Plateforme de travail

Les normes spécifient une série d'exigences au point de vue sécurité et accès aux plateformes de travail. Pour réaliser des prélèvements à l'émission, il faut y ajouter quelques besoins spécifiques :

- Support de charge suffisant (400 kg)
- Surface adaptée (strict minimum de 5 m²)
- Dégagement suffisant en face de chaque bride (fonction du diamètre du conduit)
- Hauteur du plancher par rapport aux brides

Les caractéristiques détaillées de la plateforme de travail sont données au paragraphe 6.3.

Original 2016

6 Aménagement du conduit

6.1 Le plan de mesure

Le positionnement de la zone de mesure est indiqué dans les schémas ci-après :

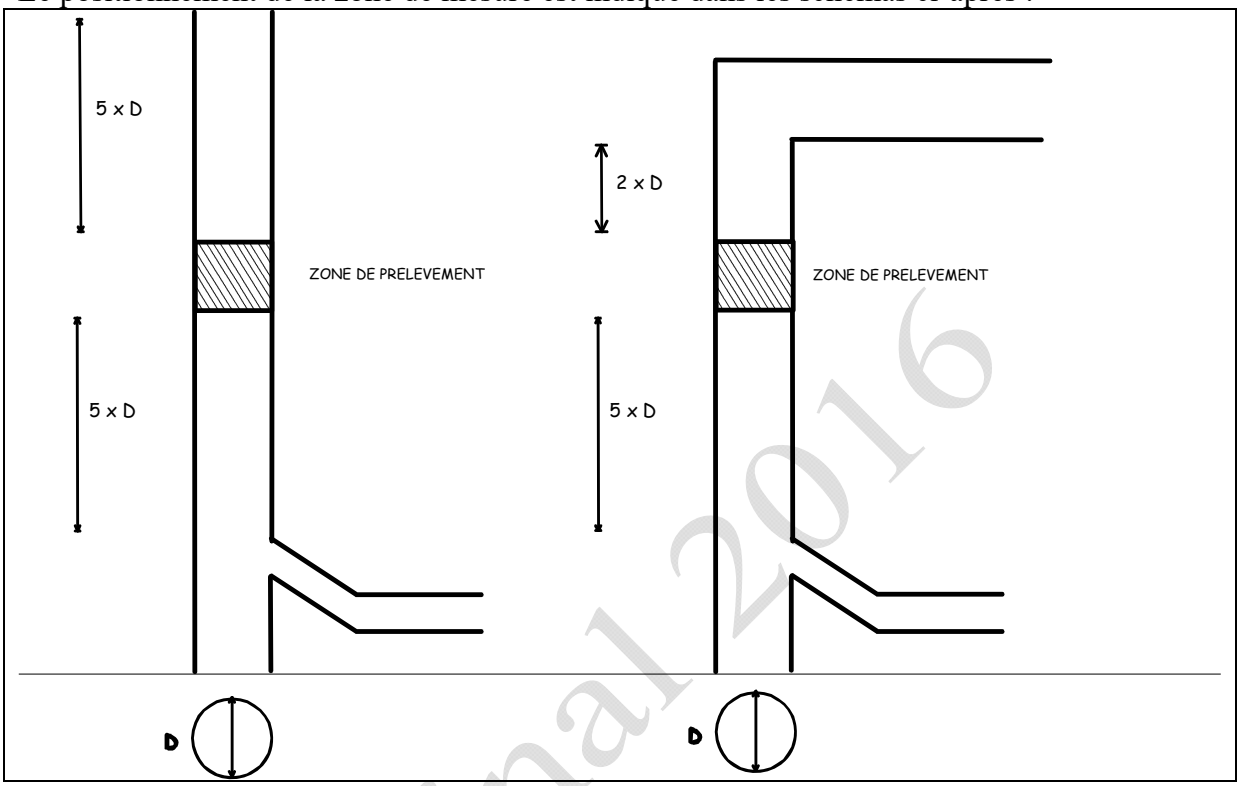


Figure 1 : positionnement du point de mesure

L'exigence de 5 fois le diamètre hydraulique en amont de la zone de prélèvement est une valeur minimale. L'expérience montre qu'il est toujours préférable d'augmenter cette distance (tout en respectant l'exigence minimale pour l'aval).
En fonction de la configuration de l'installation, l'industriel peut utiliser une infrastructure déjà existante tant pour l'accès à la passerelle que pour son positionnement. On peut citer :

- Utilisation du toit d'un bâtiment existant
- Utilisation d'escaliers dans l'installation pour accéder à la passerelle

6.2 Les brides de prélèvements

6.2.1 Brides poussières

Ainsi qu'indiqué dans les normes, le nombre et la position de brides "poussières" sont fonction du diamètre hydraulique du conduit et éventuellement de l'épaisseur de la paroi pour les grosses cheminées.

Original 2016

Les brides poussières doivent présenter les caractéristiques suivantes :

- être situées à une hauteur comprise entre 1,2 et 1,6 m par rapport au sol du plan de travail, l'idéal étant de 1,5 m. Si les brides poussières sont situées trop bas, il est difficile de déplacer le matériel de prélèvement pour balayer les différents points et de plus pour les passerelles, le matériel peut être bloqué par les mains courantes. Si la bride est située trop haut, l'accès en est difficile et dangereux.
- la taille minimale des brides poussières est du 3" gaz filet extérieur.
- pour les conduits de petits diamètres (< 0,5 m), il est préférable de se limiter à ce type de bride afin de diminuer les perturbations du flux dues aux brides.
- pour des conduits de plus grands diamètres, des brides de type DIN 125 ou des brides rectangulaires peuvent être installées. Dans ce cas, le laboratoire réalisant les prélèvements adaptera son matériel aux brides proposées par l'industriel.
- pour les conduits ayant des parois épaisses (conduit isolé, briques, béton), des brides de type DN 150 (diamètre de passage utile > 150 mm) ou des brides rectangulaires (voir figure 2) doivent être installées. Il n'est en effet pas possible d'introduite des sondes ou des pitots courbés à 90° dans de longs embouts 3".

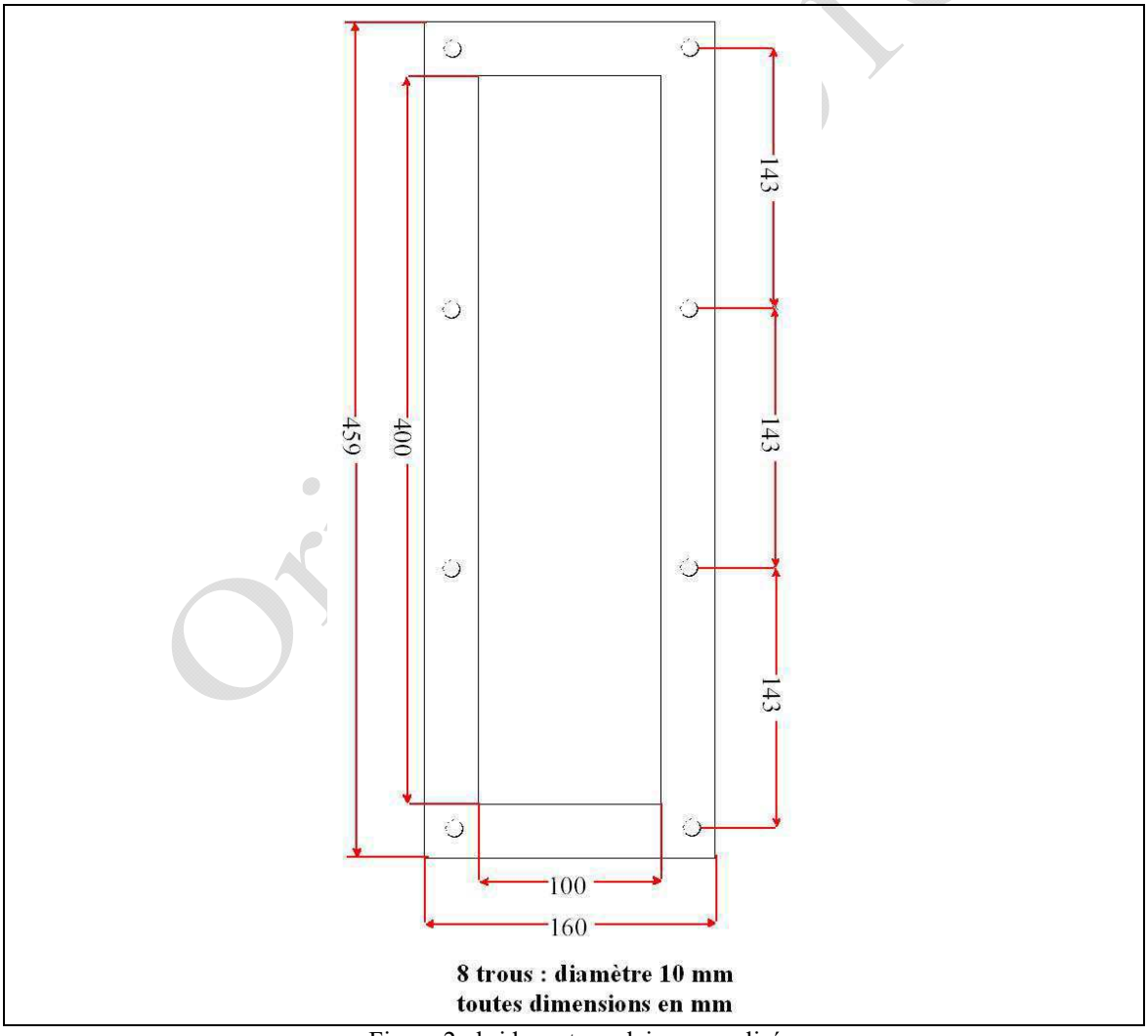


Figure 2 : bride rectangulaire normalisée

Brides 3 pouces

Brides normalisées

6.2.2 Brides gaz

Le nombre et la position des brides "gaz" sont définis par l'aspect pratique et par les analyses à réaliser :

- En fonction du nombre de paramètres (autorisation et engineering): plus le laboratoire réalise de prélèvements simultanés de différents paramètres, moins la campagne d'essais est coûteuse, donc, plus il y a de brides, mieux c'est. Le plus souvent, il est nécessaire de prélever simultanément plusieurs analytes ainsi, l'oxygène et le dioxyde de carbone doivent être connus en permanence dès que l'on réalise un prélèvement en isocinétique. Dès que les résultats doivent être corrigés à un taux de référence en oxygène, la concentration de ce gaz doit être mesurée simultanément à tous les autres analytes.
- Elles peuvent être situées plus bas (0,5 m suffisent) car on y installe, en général, uniquement un tube et un filtre peu encombrant.
- Le tube qu'on y introduit ne doit pas interférer avec les brides poussières.
- On peut utiliser les brides poussières comme brides gaz, mais il y aura alors plus de matériel à déplacer pour balayer chaque ligne d'échantillonnage, cela est moins pratique pour réaliser les prélèvements.

6.2.3 Conduits circulaires

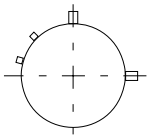
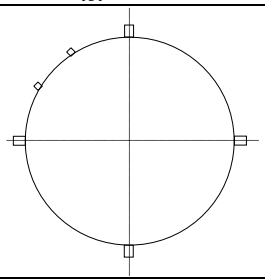
$D_{int} < 0.35$ m	$D_{tot} < 3.0$ m	$D_{tot} > 3.0$ m
		
1 bride "poussières"	2 brides "poussières"	4 brides "poussières"
D_{int}: ø int. (hydr) du conduit	D_{tot} : ø extérieur du conduit, y compris l'isolant et la paroi	
2 brides 3/4" et 1 bride 1.5" (position donnée à titre indicatif)		

Figure 3 : position des brides – conduit circulaire

Original 2016

6.2.4 Conduits rectangulaires

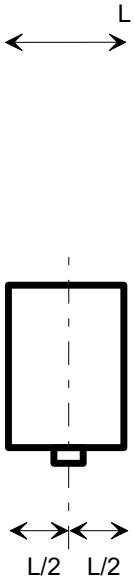
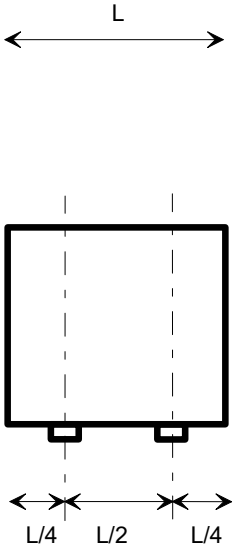
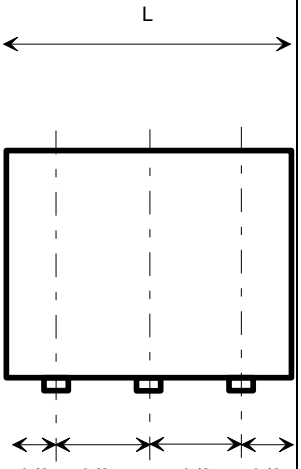
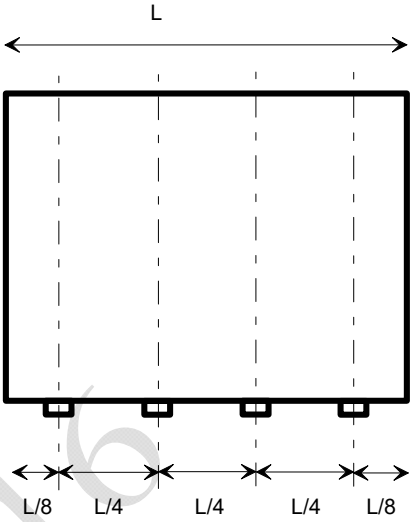
S < 0.09 m²	S > 0.09 à 0.38 m²	S > 0.38 à 1.50 m²	S > 1.50 m²
			
1 bride "poussières"	2 brides "poussières"	3 brides "poussières"	4 brides "poussières"
L : longueur/largeur intérieure du conduit			
2 brides 3/4" et 1 bride 1.5"			

Figure 4 : position des brides – conduit rectangulaire

6.3 La plateforme de travail

La plateforme de travail permet l'accès au plan de mesure pour les techniciens qui y installent le matériel nécessaire aux différents prélèvements. Plusieurs cas peuvent se présenter en fonction des installations.

6.3.1 Toit plat

C'est la plateforme de travail la plus facile pour les laboratoires agréés : il y a beaucoup de place disponible et un accès en général aisé.
Le laboratoire doit pouvoir installer facilement et en toute sécurité (balustrade au bord du toit) des liaisons (électriques et pneumatiques) vers le sol : en effet, le plus souvent, l'analyse de paramètres tels les gaz majeurs est réalisée dans le camion laboratoire et les fumées sont transportées par des tubes depuis le conduit jusqu'à ce laboratoire mobile.

6.3.2 Passerelle

On rencontre un grand nombre de passerelles différentes suivant les installations. Elles sont pratiquement toujours trop petites et non conçues pour réaliser des prélèvements à l'émission de manière efficace et en toute sécurité.
Leurs caractéristiques majeures théoriques sont :

- Construite sur tout le tour du conduit
- De largeur égale au diamètre extérieur du conduit + 1 m pour les cheminées de moins de 3 mètres de diamètre

Original 2016

- De largeur égale à la moitié du diamètre du conduit + 1 m pour les cheminées de plus de trois mètres de diamètre.

La première condition est, en général, facile à remplir sauf pour les conduits de très petite section

La seconde est beaucoup plus difficile à remplir : cela imposerait la construction de passerelle jusqu'à 4 mètres de large.

Passerelle de prélèvement

Pour contourner ce problème, 2 solutions sont possibles:

- La première, de loin préférable, est de réaliser des avancées en face de chaque bride poussières. Pour un diamètre supérieur à 3 m, 4 avancées sont nécessaires (Figure 5). Elle est cependant plus coûteuse et difficile à mettre en œuvre.

Original 2016

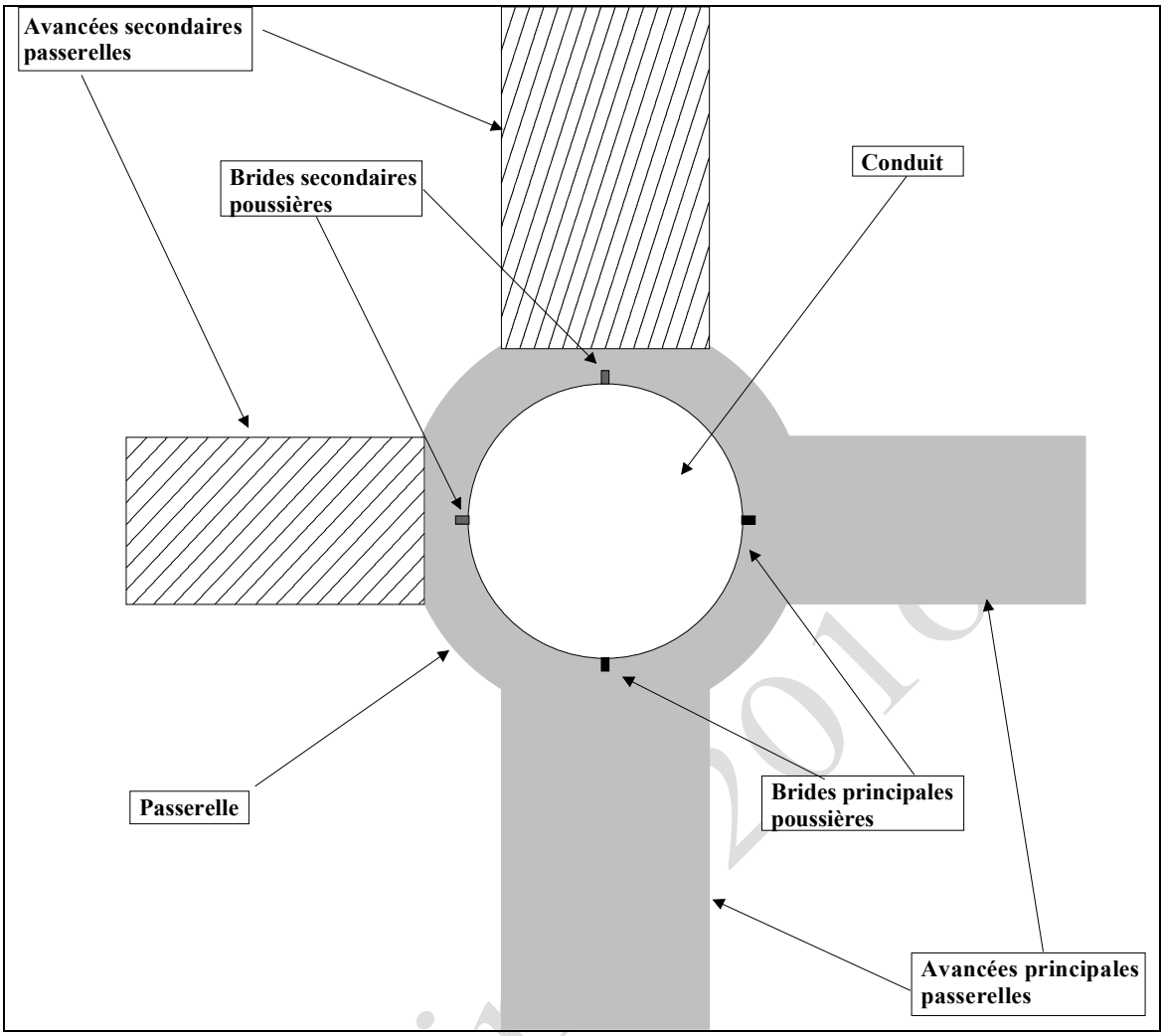


Figure 5 : schéma passerelle

- La seconde solution est d'installer des lisses amovibles en face de chaque bride poussières et un crochet de maintien à la verticale de chacune d'elles. L'ensemble du système de prélèvement est alors suspendu à un rail et pend à l'extérieur de la passerelle. Il faut que le laboratoire agréé possède le matériel adapté à ce type de configuration (Figure 6).

Original 2016

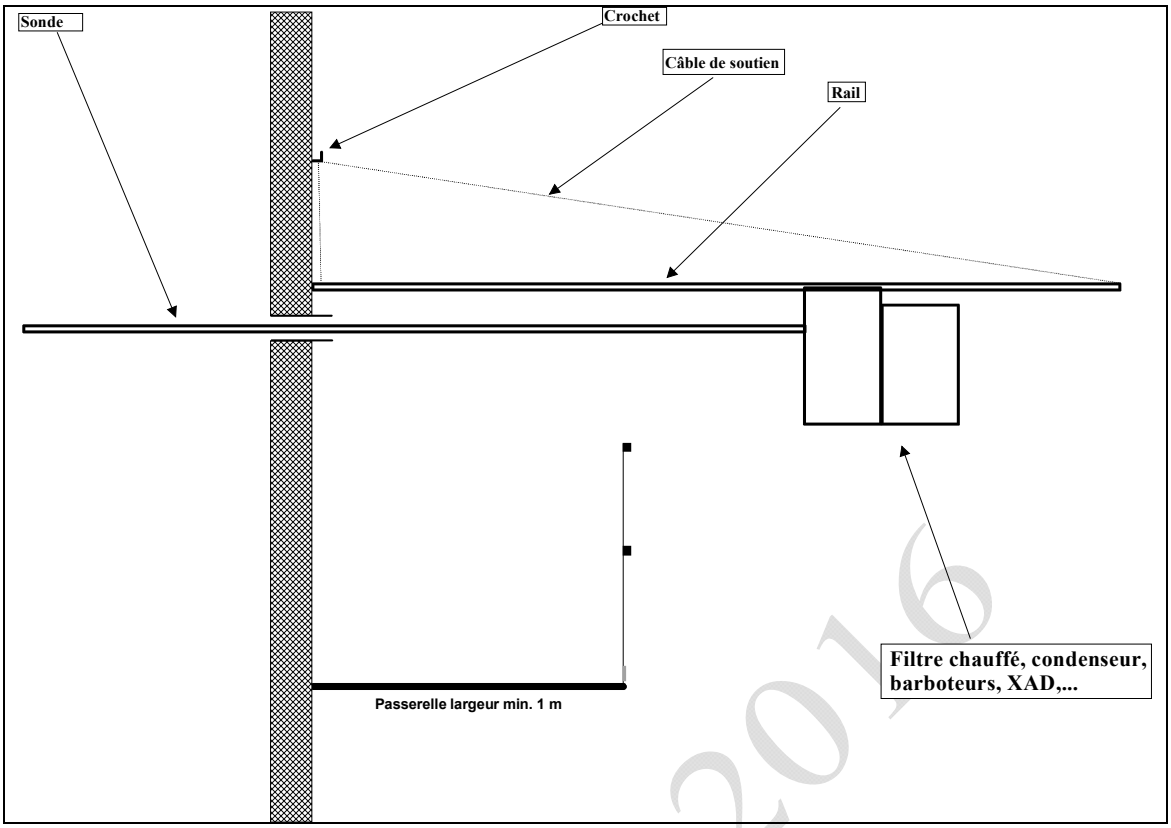


Figure 6 : schéma train de prélèvement

Train de prélèvement et lisse amovible

6.3.3 Accès et sécurité

L'accès à la plateforme de travail doit être aisé et sécurisé. On peut citer par ordre de préférence : escaliers, échelles à crinoline, rail et chariot antichute.
Pour les échelles à crinoline, elles doivent être équipées de paliers intermédiaires écartés de 6 m maximum afin de permettre une période de repos lors de la montée. Cela est particulièrement vrai pour les cheminées de grande hauteur.
Dans le cas de rail et chariot antichute, le chariot doit être fourni par l'industriel. En effet, chaque chariot est spécifique à un type de rail. Il faut au minimum 2 chariots.
Si l'accès à la plateforme de travail se fait par le plancher de celle-ci, un trapillon fermant cet accès doit être prévu.
L'ensemble du matériel de prélèvement doit être acheminé jusque la plateforme de mesure. Il est en général hissé par les techniciens réalisant les essais. La présence d'un système de levage (potence, poulie de renvoi, palan électrique,…) permet une manutention plus aisée de ce matériel. Il faut cependant veiller à avoir un accès vertical direct du sol vers la plateforme afin de pouvoir hisser directement le matériel sans étape intermédiaire.

6.3.4 Absence de plateforme fixe

On rencontre ce cas plus rarement et notamment sur les torchères et moteurs des CET.
Dans ce cas, il ne reste que deux solutions :

- Utiliser un échafaudage provisoire. Celui-ci doit répondre aux mêmes caractéristiques qu'une passerelle.
- Utiliser une nacelle pour accéder aux brides de prélèvements. Dans ce cas, il est nécessaire d'équiper le conduit de manière à ce que tout le matériel puisse être pendu (crochets de soutien) ou déposer sur des supports fixes.

6.4 Divers

6.4.1 Puissance électrique

Ce type de prélèvement nécessite une alimentation électrique. En effet, outre l'alimentation du camion laboratoire (analyseurs, pompes, acquisition de données), les systèmes de prélèvement nécessitent des pompes, chauffages, lignes de transfert chauffées, compresseur,…
Un boîtier électrique (équipé au minimum d'une ligne 380 V, 32A (3P+N) ou de 6 lignes 220V, 16A) doit être disponible à proximité immédiate du pied du conduit.
Il est souhaitable d'avoir à disposition des boitiers électriques (lignes indépendantes en 220 V, 16A) au niveau de la plateforme de travail fixe pour brancher directement les appareils de mesure sans tirer des allonges depuis le pied de la cheminée.

6.4.2 Eclairage

Il est également souhaitable d'avoir un éclairage au niveau de la passerelle car il peut arriver que pour certains longs prélèvements (p.ex. dioxines), ceux-ci se terminent après la tombée de la nuit. Il en va de même pour les passerelles situées à l'intérieur des bâtiments et dans des cheminées contenant plusieurs conduits intérieurs.

Original 2016

6.4.3 Eau de refroidissement

Si le laboratoire agréé réalise le prélèvement par "sonde refroidie", une arrivée d'eau de refroidissement (eau alimentaire ou eau industrielle) au niveau de la passerelle est nécessaire.

7 Schéma d'aménagement

Le schéma d'aménagement ci-après reprend les exigences à respecter pour implanter une bride "poussières" sur un conduit vertical. Le nombre de ces brides est donné au point 6.2.

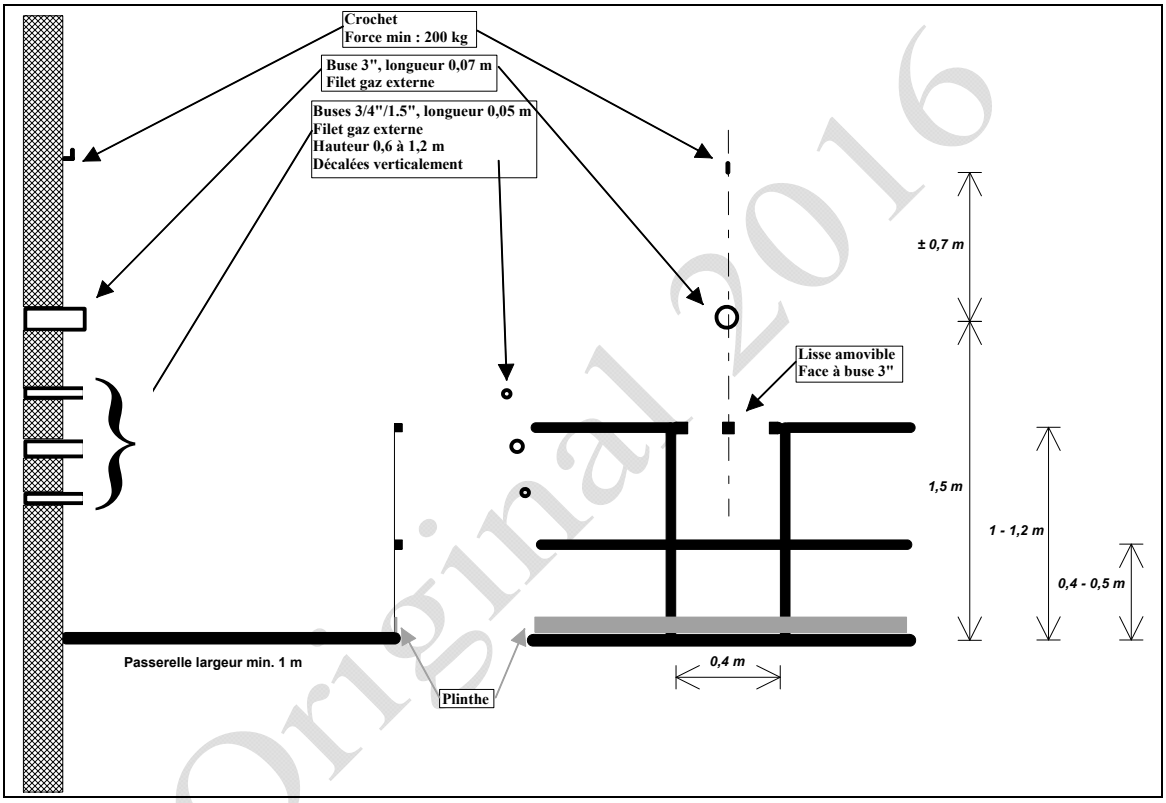


Figure 7 : schéma passerelle

Original 2016

8 Cas particuliers

8.1 Plusieurs conduits dans un seul fût

Dans ce type d'installation, le problème majeur rencontré est le manque de recul pour insérer la sonde et le matériel annexe dans le conduit du fait de la multiplication des conduits et de l'étroitesse du fût. Pour rappel, il faut au minimum un recul égal au diamètre du conduit + 1m.
De plus ce type d'installation ne possède en général qu'une seule passerelle intérieure.

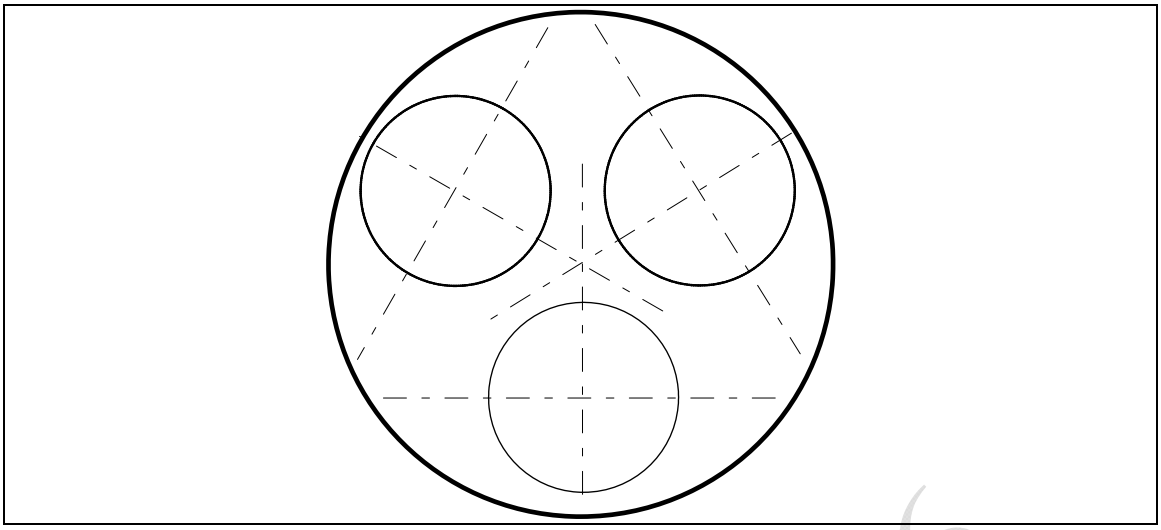


Figure 8 : conduits multiples

Dans cet exemple avec 3 conduits installés dans un fût unique, on constate qu'il n'est pas possible d'insérer le matériel de prélèvement dans le conduit : le recul disponible est inférieur au diamètre du conduit. La seule solution est d'avoir des "fenêtres" ou "trappes" pour permettre le passage du matériel ainsi qu'une passerelle extérieure au fût.

8.2 Les torchères des CET

Une torchère de CET est un cas particulier pour les mesures à l'émission. En effet, il n'y a pas de conduit canalisant les fumées : il arrive même que la flamme sorte de la torchère.
Il n'est donc pas possible de déterminer la concentration en poussières ni le débit (par mesure directe) sur une torchère. Il n'est pratiquement pas possible d'analyser d'autres paramètres tels les dioxines et furannes ou les métaux lourds et volatils.

9 Avertissement

Tous les aménagements et accès doivent respecter les consignes de sécurité et le Code du bien être au travail. Les techniciens réalisant les prélèvements doivent pouvoir travailler en toute sécurité sur les installations étudiées.

Original 2016

10 Références

NBN EN 15259: Qualité de l'air – Mesurage des émissions de sources fixes – Exigences relatives aux sections et aux sites de mesurage et relatives à l'objectif, au plan et au rapport de mesurage.

ISO/DIN 9096: Air Quality-Stationary source emission. Determination of concentration and mass flow rate of particulate material in gas ducts.

ISO 10780: Emissions des sources fixes- Mesurage de la vitesse et du débit-volume des courants gazeux dans des conduites.

EN 13284-1: Emissions de sources fixes – Détermination manuelle de la concentration en masse de poussières

EN 1948: Emissions de source fixes - Détermination de la concentration massique en PCDDs/PCDFs et PCB de type dioxine

EN 14385: Emissions de sources fixes – Détermination de l'émissions totale de As, Cd, Cr, Co, Cu, Mn, Ni, Pb, Tl et V

EN 13211: Qualité de l'air – Emissions de sources fixes – Méthode manuelle de détermination de la concentration en mercure total.

EN 14789: Émissions de sources fixes – Détermination de la concentration massique en oxygène (O2) – Méthode de référence.

EN 15058: Émissions de sources fixes – Détermination de la concentration massique en monoxyde de carbone (CO) – Méthode de référence : spectrométrie infrarouge non-dispersive.
NBN EN 14792: Émissions de sources fixes – Détermination de la concentration massique en oxydes d' azote (NOx) – Méthode de référence : chimiluminescence.

EN 13526: Emission de sources fixes – Détermination de la concentration massique en carbone organique total à de fortes concentrations dans les effluents gazeux

EN 1911: Emissions de sources fixes – Détermination de la concentration massique des chlorures exprimés en HCl

ISO 15713: Emissions de sources fixes – Echantillonnage et détermination de la teneur en fluorure gazeux

NBN-X-44-002: Prélèvement de poussières dans une veine gazeuse et détermination de la teneur en poussières de gaz.

EPA Method 3A: Determination of oxygen and carbon dioxide concentrations in emissions from stationary sources.

EPA Method 6C: Determination of sulfur dioxide emissions from stationary sources (Instrumental analyzer procedure)

Original 2016

EPA Method 7E: Determination of nitrogen oxide emissions from stationary sources (Instrumental analyze procedure)

EPA Method 25A: Determination of total organic concentration using a flame ionization analyzer

EPA Method 108: Determination of particulate and gaseous arsenic emissions

EPA Method 101A: Determination of particulate and gaseous mercury emissions from sewage incinerators.

EPA Method 29: Determination of metal emission from stationary sources

EPA Method 23: Determination of Polyclorinated Dibenzo-p-Dioxins and Polychlorinated Dibenzofurans from Stationary Sources.

Original 2016

A-I-2V1 – AMENAGEMENT DES CONDUITS INDUSTRIELS POUR LES MESURES À L'EMISSION DES SOURCES FIXES 1
1 Objet 1
2 Domaine d'application 1
3 Remarque générale 1
4 Principe 1
4.1 Le problème des particules et autres aérosols 2
4.2 La mesure du débit 2
5 Exigences des normes 2
5.1 Choix du plan de mesure 2
5.2 Nombre minimum et emplacement des brides de prélèvement poussières 3
5.2.1 Découpage du plan de mesure 3
5.2.2 Conduit de section circulaire 3
5.2.3 Conduit de section rectangulaire 4
5.2.4 Taille et type de brides 4
5.2.5 Type de prélèvements 4
5.3 Autres brides 4
5.3.1 Remarques 5
5.4 Plateforme de travail 5
6 Aménagement du conduit 6
6.1 Le plan de mesure 6
6.2 Les brides de prélèvements 6
6.2.1 Brides poussières 6
6.2.2 Brides gaz 8
6.2.3 Conduits circulaires 8
6.2.4 Conduits rectangulaires 9
6.3 La plateforme de travail 9
6.3.1 Toit plat 9
6.3.2 Passerelle 9
6.3.3 Accès et sécurité 13
6.3.4 Absence de plateforme fixe 13
6.4 Divers 13
6.4.1 Puissance électrique 13
6.4.2 Eclairage 13
6.4.3 Eau de refroidissement 14
7 Schéma d'aménagement 14
8 Cas particuliers 14
8.1 Plusieurs conduits dans un seul fût 14
8.2 Les torchères des CET 15
9 Avertissement 15
10 Références 16

Original 2016

A-I-3V2 –EMISSIONS ATMOSPHERIQUES : LES TECHNIQUES DE PRELEVEMENT ET D'ANALYSE DES GAZ MAJEURS

1 Objet

Cette fiche décrit les techniques de prélèvement et d'analyse des gaz majeurs dans le domaine des émissions atmosphériques. Elle traite des principales techniques extractives utilisées par les laboratoires pour la réalisation de contrôles ponctuels.

2 Domaine d'application

Ceci s'applique aux installations industrielles dont les émissions sont canalisées dans un conduit. Elle ne s'applique pas aux émissions diffuses non canalisées, aux installations de ventilation, de climatisation et aux salles blanches.

3 Introduction

On considère comme gaz majeurs dans le domaine des émissions atmosphériques l'O_2, le CO_2, le CO, le SO_2, les NOx (NO + NO_2) et les COT (composés organiques volatils totaux).
Ces gaz sont ceux qui sont le plus souvent soumis à autorisation.
Leur concentration peut être déterminée en continu au moyen d'analyseurs in-situ ou extractifs.
La cellule de mesure des analyseurs in-situ est placée dans le conduit. Ils mesurent directement la concentration en gaz dans le conduit. Ils sont utilisés pour les mesures de l'autocontrôle mais pas par les laboratoires agréés qui réalisent des prélèvements ponctuels.
Les analyseurs extractifs sont placés à l'extérieur du conduit et nécessite une préparation du gaz avant l'analyse. Les laboratoires agréés/accrédités ne peuvent utiliser que des analyseurs extractifs. Ceux-ci sont également utilisés pour l'autocontrôle.
Il est à noter que la concentration en azote n'est jamais mesurée, elle est calculée par différence.

4 Conditionnement de l'échantillon

Avant de passer dans la cellule de mesure de l'analyseur extractif, l'échantillon de fumée doit être conditionné afin d'éviter des pertes et/ou des interférences de mesures. Les particules et l'eau (sauf pour les analyseurs à chaud) présentes dans les fumées doivent être éliminées Ceci n'est pas le cas pour les analyseurs in-situ.

Original 2020

4.1 Les particules

Il est indispensable d'éliminer les poussières présentent dans les fumées avant d'injecter celles-ci dans un analyseur extractif afin d'éviter une contamination de la cellule de mesure.

Un filtre doit être placé en tête de sonde ou directement après la sonde afin de limiter au maximum la partie du train de prélèvement non filtrée. Ce filtre ne doit pas réagir avec les composants des fumées et doit être maintenu à une température supérieure au point de rosée. Si le filtre n'est pas chauffé à une température suffisante, de l'eau va se condenser sur le filtre et le colmater. A plus long terme, une "boue" va se former avec les poussières sur le filtre et va également colmater celui-ci. Cette accumulation d'eau et de boue va, de plus, adsorber une partie des composés des fumées et entrainer une erreur de mesure.
On rencontre principalement 2 configurations suivant que le filtre soit dans la cheminée ou à l'extérieur de celle-ci.

4.1.1 Filtre externe

Si le filtre est situé à l'extérieur du conduit, il doit être chauffé à une température supérieure au point de rosée des fumées. Les filtres chauffés que l'on rencontre dans le commerce sont en général régulés à une température de minimum 180 °C afin de toujours se situer largement au-dessus du point de rosée.

4.1.2 Filtre interne

Le filtre peut être placé en tête de sonde directement dans la cheminée. On considère alors qu'il est à la même température que les fumées et qu'il n'est pas nécessaire de le chauffer. Il doit toutefois être chauffé s'il est utilisé dans des conduits où les fumées sont saturées en eau. Cela est notamment le cas à la sortie de laveur ou de sécheur.

4.2 La vapeur d'eau

Il existe deux types d'analyseurs en continu de type extractif : les analyseurs "à chaud" et les analyseurs "à froid".

4.2.1 Analyseurs à chaud

Dans ces analyseurs, les fumées sont maintenues à une température supérieure au point de rosée. L'ensemble de la chaîne d'analyse après le filtre, (ligne de transport, pompe, détecteur) est maintenu à haute température (par exemple 180 °C).

L'ensemble de la ligne de prélèvement doit être conçu de manière à éviter tous les points froids qui pourraient amener une condensation et une perte d'analyte. Cela est particulièrement vrai au niveau des jonctions entre les différentes parties (filtre ↔ ligne chauffante ↔ pompe ↔ analyseur).

Un exemple de ceux-ci est l'analyseur équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) qui mesure la concentration en hydrocarbures totaux.

Original 2020

4.2.2 Analyseurs à froid

Dans ce type d'analyseur, le détecteur est maintenu à basse température (par exemple 40 °C). Cela permet de s'affranchir des variations de température ambiante. Cette température est cependant trop faible pour éviter la condensation dans l'analyseur et ce type d'appareillage doit être précédé d'un système qui va abaisser le point de rosée.
En amont de ce système, il faut éviter tous les points froids qui pourraient amener une condensation et une perte d'analyte.
La diminution du point de rosée consiste principalement à éliminer l'eau présente dans les fumées.

4.2.2.1 Les refroidisseurs

Les refroidisseurs sont de loin les systèmes les plus utilisés pour diminuer le point de rosée des échantillons de fumées.
Le refroidissement est assuré par un compresseur ou par système basé sur l'effet Peltier.
La forme de l'échangeur est conçue de manière à limiter au maximum le contact entre les fumées et l'eau condensée et donc à éviter au maximum la dissolution des analytes (surtout NO_2 et SO_2) dans le condensat. Ils maintiennent un point de rosée de l'ordre de 4 °C, et l'on peut donc considérer que le gaz sortant de ces refroidisseurs est "sec". L'humidité résiduelle est inférieure à 1 % dans ce cas.
L'efficacité de ces refroidisseurs est assurée pour autant que la pompe prélevant l'échantillon soit située après celui-ci afin que le gaz dans le refroidisseur soit en dépression.
Certain fabricant propose une injection d'acide phosphorique à l'entrée du refroidisseur afin d'accroître l'acidité de l'eau condensée et d'éviter la mise en solution du NO_2 et du SO_2.

4.2.2.2 La perméation

La perméation est basée sur le principe du transport sélectif (osmose) de l'eau à travers une membrane en polymère (Nafion®). La membrane est perméable à l'eau mais imperméable aux autres composés des fumées. Ce système est constitué de 2 tubes insérés l'un dans l'autre : le gaz humide circule dans le tube intérieur et de l'air sec circule à contre-courant dans le tube extérieur. Les molécules d'eau traversent la membrane depuis les fumées humides qui sont progressivement séchées vers l'air sec qui se charge d'eau.
Les désavantages de cette technique sont sa faible capacité et la diminution de l'efficacité d'échange due au vieillissement et à l'encrassement de la membrane.

4.2.2.3 La dilution

En réalité, la technique de dilution n'élimine pas l'eau mais la dilution du gaz par de l'azote ou de l'air sec garantit qu'il n'y aura pas de condensation à température ambiante dans l'analyseur. Cette technique n'est utilisée que pour des analyses en continu et on applique en général des facteurs de dilution de 10 à 100 fois.

Original 2020

Cette technique présente l'avantage de ne contaminer que très faiblement les analyseurs. Cependant elle n'est pas applicable pour tous les analytes en raison du manque de sensibilité pour certains d'entre eux. Les concentrations en oxygène (si on utilise l'air sec comme gaz de dilution) et en eau doivent également être déterminées par une autre méthode.
Le facteur de dilution reste cependant le point crucial. Il doit être connu et maintenu constant pendant toute la durée des essais.

4.2.2.4 Remarque

Les techniques des refroidisseurs et de la perméation peuvent être combinées afin d'obtenir un séchage plus efficace des fumées

5 La validation des analyseurs

Les normes d'analyses à l'émission imposent la réalisation d'une série de contrôles des analyseurs. Deux types de contrôles doivent être réalisés :

- les tests de validation à réaliser à la réception d'un nouvel analyseur et/ou une fois par an. Ces tests sont réalisés au laboratoire.
- les tests à réaliser lors de chaque prélèvement sur site.

5.1 Les tests au laboratoire

Avant toute utilisation d'un analyseur une série de paramètres doivent être contrôlés au moins une fois afin de s'assurer de la fiabilité de celui-ci.
Parmi les principaux paramètres, on peut citer :

- Les interférents
- Les dérives de zéro et de span
- Le temps de réponse
- La répétabilité
- La linéarité qui, elle, doit être contrôlée annuellement

Ces tests doivent être recommencés sur un analyseur après une réparation telle que le changement de la cellule de mesure.

D'autres paramètres sont cités par les normes mais ceux-ci sont plus difficiles à contrôler

- L'influence de la pression atmosphérique et de la température ambiante
- L'influence de la tension électrique d'alimentation
- Les vibrations

5.2 Les tests sur le terrain

5.2.1 L'étalonnage

Lors de chaque essai, les valeurs du zéro et du fond d'échelle (span) doivent être vérifiées à l'aide de gaz de référence certifiés. Ces vérifications doivent se faire au début et à la fin de chaque essai.

Original 2020

Avant l'essai, les gaz de référence de zéro et de span doivent être injectés dans l'analyseur afin de vérifier sa réponse. Un ajustement des valeurs de zéro et de span doit être réalisé si nécessaire.

Après l'essai, les mêmes gaz de référence doivent être injectés dans l'analyseur afin de s'assurer que l'analyseur n'a pas dérivé pendant l'essai.

Les tolérances admises sont fixées par les normes et dépendent de l'analyte et de la gamme de mesure.

En général, la valeur de l'étalon de span correspond à 80-90 % du calibre de l'analyseur. Cette valeur doit obligatoirement être supérieure ou égale aux valeurs mesurées dans les fumées.

5.2.2 Le contrôle de la ligne de prélèvement

Il faut également s'assurer de la qualité de la ligne de prélèvement (filtre, sécheur, ligne de transport). Celle-ci ne doit pas comporter de fuite et ne doit pas induire de perte d'analyte.

Pour cela, les gaz étalons de zéro et de span doivent être injectés en tête de ligne, à l'entrée de la sonde ou éventuellement à l'entrée du filtre.

Pour vérifier l'étanchéité de l'ensemble du train de prélèvement, il faut injecter un gaz exempt d'oxygène (par exemple de l'azote) en tête de ligne et vérifier l'absence de réponse de l'analyseur oxygène. Ceci permet également de vérifier le zéro des autres analyseurs présents dans la ligne d'analyse.

Les autres gaz étalons de référence injectés lors de l'étalonnage de l'analyseur doivent également être injectés en tête de ligne afin de connaître la perte éventuelle dans la ligne de prélèvement.

Les tolérances admises sont fixées par les normes et dépendent de l'analyte et de la gamme de mesure.

Ces tests doivent être réalisés au début de chaque campagne d'essais ou lorsque la ligne de prélèvement est modifiée.

5.3 Remarques

Beaucoup d'analyseurs sont basés sur une méthode de mesure optique, et sont sensibles à la pression de l'échantillon dans la chambre d'analyse.

Certains de ces analyseurs possèdent un capteur qui mesure la pression dans la chambre d'analyse afin de corriger directement les valeurs.

Si ce n'est pas le cas, des précautions doivent être prises afin de s'assurer que la pression dans la chambre d'analyse est la même lors de l'étalonnage et lors des essais. Une solution est de mesurer la pression en entrée de l'analyseur et de régler les débits de prélèvement et d'étalonnage de manière à maintenir une pression constante.

Original 2020

6 Les analyseurs des gaz majeurs

On différencie les analyseurs des gaz majeurs en fonction de leur principe de fonctionnement (technique de mesure, type de détecteur, propriété physique de l'analyte,…). Le tableau 1 ci-après reprend ces différentes catégories suivant leurs dénominations usuelles

	SO_2	NOx	CO	CO_2	O_2	COT
Absorption IR	X	X	X	X		X
FTIR	X	X	X	X		X
Absorption UV	X	X				
Corrélation par filtre gazeux	X	X	X	X		X
Diode laser	X		X	X	X	
Fluorescence UV	X					
Chimiluminescence		X				
Ionisation de flamme						X
Paramagnétisme					X	
Sonde zircone					X	
Cellules électrochimiques	X	X	X		X	

Tableau 1

6.1 Absorption IR

6.1.1 Principe

Certaines molécules hétéroatomiques (CO, CO_2, SO_2, NO, H_2O, COT,…) absorbent le rayonnement infrarouge à des longueurs d'onde bien précises. Les spectres d'absorption des gaz se présentent sous forme de "bandes" qui correspondent en fait à une succession de raies fines séparées chacune par un écart de longueur d'onde identique (Figure 1). Pour un polluant et un domaine de longueurs d'onde donné, l'intensité de l'absorption est fonction de la concentration en polluant (loi de Beer-Lambert).

Original 2020

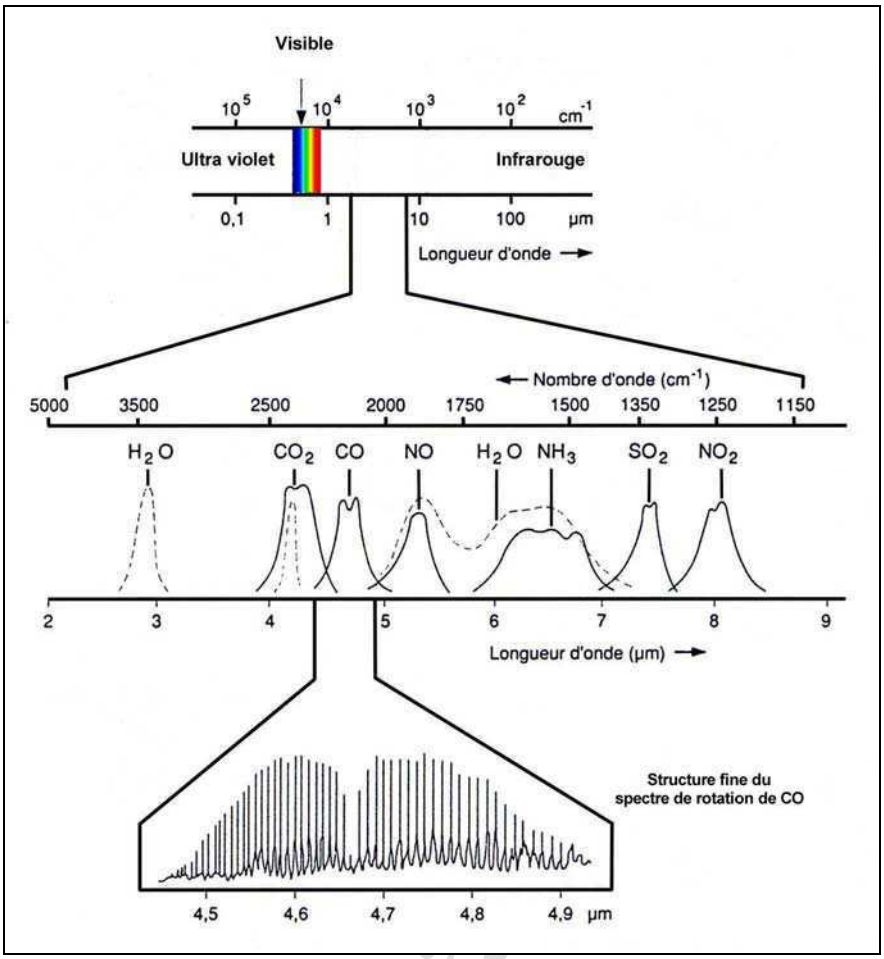


Figure 1

La figure 2 montre un exemple de réalisation très classique d'un analyseur infrarouge non dispersif (NDIR). Le faisceau IR traverse 2 cuves en parallèle dont l'une est remplie par le mélange à analyser et l'autre est remplie par un gaz de référence. Les deux faisceaux, inégalement absorbés sont reçus dans un récepteur à deux compartiments, qui sont remplis du composé à doser et absorbent donc l'énergie IR résiduelle. Ceci se traduit par un échauffement différent du gaz de chaque compartiment, donc par une pression différentielle dont le signal est amplifié et traduit en concentration. L'ajout d'un "chopper" (roue munie de trous) qui obture périodiquement les faisceaux permet d'obtenir un signal alternatif, plus facile à traiter qu'un signal continu. La longueur de la cuve varie de quelques millimètres à ± 30 cm en fonction du composé à doser et de la gamme de l'analyseur.

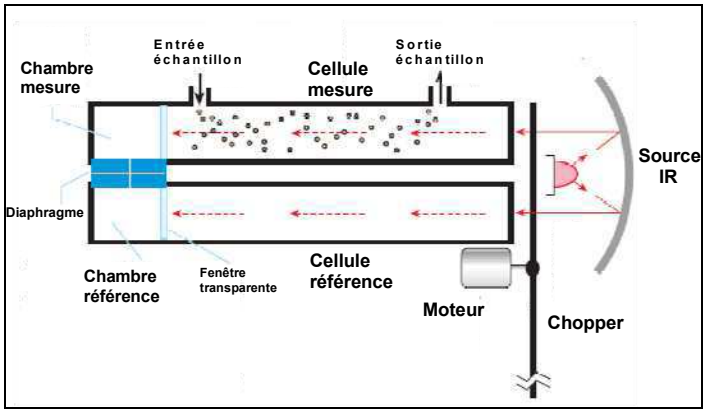


Figure 2

Il existe d'autres types de détecteur tel celui basé sur la mesure d'un micro débit entre la chambre de mesure et la chambre de référence.

6.1.2 Paramètres mesurés

Cette méthode est couramment utilisée pour doser le CO, le CO_2, le SO_2, le NO, le N_2O et les COT.

6.1.3 Remarques

Cette méthode n'est pas totalement spécifique puisque les composés qui absorbent à la même longueur d'onde que le composé à mesurer vont interférer. C'est le cas de la vapeur d'eau (large spectre d'absorption – voir figure 1) et des particules. Deux techniques permettent de pallier cet inconvénient :

- interposition sur les faisceaux IR de filtre optiques interférentiels ou de filtre gazeux qui vont absorber totalement les longueurs d'onde pour lesquelles une interférence est redoutée.
- mesure de la concentration du composé interférent à une autre longueur d'onde et correction électronique de la valeur du composé à doser.

Concernant les hydrocarbures totaux, la méthode donne un indice de la concentration qui peut être différent du résultat obtenu pas l'analyseur à ionisation de flamme (voir 6.8).

6.2 FTIR

6.2.1 Principe

Les structures fines des bandes d'absorption IR ou UV sont caractérisées par une succession de raies séparées par un écart de longueur d'onde constant (Figure 1). Il est donc possible moyennant un dispositif optique adéquat, de créer des franges d'interférence optique entre ces raies.
Un analyseur FTIR exploite ce principe : un faisceau lumineux couvrant toutes les longueurs d'onde IR est transformé par un système optique (interféromètre) avant de traverser la cellule contenant l'échantillon à analyser. Le signal obtenu au niveau du détecteur se présente donc sous la forme d'un interférogramme.

Original 2020

Celui-ci est transformé par une opération mathématique appelée "transformée de Fourier" en un spectre infrarouge de l'échantillon. Chaque composé peut alors être identifié qualitativement et quantitativement en fonction de la longueur d'onde et de l'intensité d'absorption.
Ceci a été rendu possible grâce aux progrès de l'informatique réalisés ces dernières années. En effet, par rapport à un spectromètre dispersif qui balaie séquentiellement les longueurs d'onde, le FTIR balaie toutes les longueurs d'onde simultanément. Alors qu'il faut 30 minutes à un spectromètre dispersif pour balayer le spectre IR de 800 à 8000 cm^{-1} avec une résolution de 2 cm^{-1}, le FTIR le fait en 1 seconde, toutes autres conditions égales. L'interprétation de l'interféromètre nécessite donc une puissance de calcul très importante

6.2.2 Paramètres mesurés

Ce type d'analyseur permet de doser les composés absorbants dans le spectre IR tels que CO, CO_2, SO_2, NO, H_2O, HCl, NH_3, COT,…

6.2.3 Remarques

L'avantage majeur de ce principe est que l'on réalise une analyse multigaz avec un seul appareil. Tous les composés absorbant dans l'IR peuvent donc théoriquement être dosé. La sensibilité et la résolution sont très bonnes.
Une telle méthode est pratiquement totalement spécifique, car chaque composé est repéré à la fois par la longueur d'onde de la bande d'absorption et par l'écart entre les raies dans cette bande.
Le coût de ce type d'analyseur reste élevé.

6.3 Absorption UV

6.3.1 Principe

Les principes de cette méthode sont très voisins de l'absorption IR à la différence que les spectres d'absorption sont dans la gamme des UV.

6.3.2 Paramètres mesurés

Le SO_2 et le NO sont les 2 principaux composés dosés par cette technique.

6.3.3 Remarque

La spécificité pour ces composés est meilleure que dans le cas du NDIR car la vapeur d'eau et le méthane n'interfère pas dans la gamme UV.

Original 2020

6.4 Analyse à corrélation par filtre gazeux

6.4.1 Principe

Cette méthode est également basée sur la loi de Beer-Lambert. Elle se différencie des méthodes d'absorption décrites précédemment par l'utilisation d'une seule chambre de mesure. Le faisceau émis par la source (IR ou UV) est haché séquentiellement par un disque tournant à grande vitesse (disque de corrélation) avant de traverser la chambre de mesure.
Ce disque est composé au minimum:

- d'un secteur opaque
- d'un secteur avec une cuve remplie du gaz à doser à forte concentration
- d'un secteur avec une cuve remplie d'azote

En fonction de la position du disque, le détecteur situé après la cuve de mesure voit successivement :

- un signal zéro
- un signal correspondant au faisceau dont toutes les radiations absorbables par le composé à doser et par le mélange de gaz à doser ont été éliminées
- un signal correspondant au faisceau dont toutes les radiations absorbables par le mélange à analyser ont été éliminées

La différence entre les différents signaux permet de calculer la concentration du composé à doser. (Figure 3)

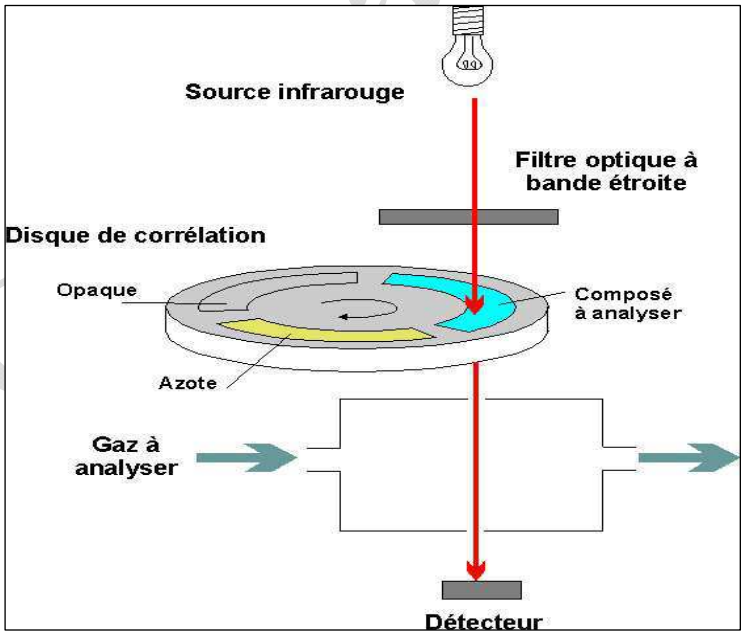


Figure 3

6.4.2 Paramètres mesurés

Ce type d'analyseur permet de doser les composés absorbants dans le spectre IR ou UV (suivant la source émettrice) tels que CO, CO_2, SO_2, NO, H_2O, HCl, NH_3, COT,…

6.4.3 Avantages

Si l'on ajoute sur le disque d'autres secteurs avec des cellules remplies avec d'autres composés à doser, on obtient un analyseur multi-composant.

L'ajout de secteur avec des cellules remplies de composés interférents permet également de réaliser des corrections électroniques de ces interférents.

6.5 DIODE LASER

6.5.1 Principe

La technique TDLAS (Tunable Diode Laser Spectroscopy) est basée, comme d'autres méthodes d'absorption optique, sur la loi de Beer-Lambert.
La source est une diode laser qui émet à une longueur d'onde bien précise. La largeur de la bande d'émission du laser est de 0.1 nm. On parle ici de spectre mono-raie.

6.5.2 Paramètres mesurés

Ce type d'analyseur permet de doser les composés tels que CO, CO_2, O_2, SO_2, H_2O, HCl, HF, NH_3, H_2S…

6.5.3 Remarques

Cette méthode est totalement spécifique d'un polluant. La longueur d'onde choisie permet de s'affranchir des interférents.
Cette technique permet également de couvrir une large étendue de mesure avec un même appareil.
Le coût de ce type d'analyseur est plus élevé que le NDIR, le paramagnétisme, l'UV et autres.

Original 2020

6.6 Fluorescence UV

Cette méthode est utilisée pour le dosage du SO_2.

6.6.1 Principe

La fluorescence UV est basée sur l'émission de lumière par une molécule dans un état excité lors de son retour rapide à l'état stable. L'excitation initiale est obtenue par un rayonnement UV. La lumière émise est directement proportionnelle à la concentration de l'analyte à doser. Le rayonnement émis est d'une longueur d'onde supérieure au rayonnement initial.

Cette technique est appliquée au dosage de SO_2.

6.6.1.1 Première étape : excitation de la molécule de SO2

$SO_2 + h\upsilon \rightarrow SO_2^*$ hυ : énergie lumineuse de la source
SO_2^* : molécule dans un état excité

6.6.1.2 Deuxième étape : retour à l'état initial

$SO_2^* \rightarrow SO_2 + h\upsilon'$ hυ' : rayonnement de fluorescence émis lors du retour à l'état initial et directement proportionnel à la concentration en SO_2 dans le gaz traversant la cellule d'analyse.

6.6.2 Remarques

Vu la très grande sensibilité et de sa dynamique, cette méthode est utilisée après dilution pour les mesures à l'émission (voir 4.2.2.3). Ceci permet également de limiter les effets de CO_2, O_2 et H_2O qui peuvent atténuer l'intensité de la fluorescence et donc interférer.

6.7 Chimiluminescence

Cette méthode est utilisée pour la détermination de la concentration en NO et NO_2

6.7.1 Principe

La chimiluminescence est une émission d'énergie lumineuse résultant d'une réaction chimique lorsqu'une molécule excitée revient à son état fondamental. Elle est très largement utilisée pour le dosage du NO qui réagit avec l'ozone :

6.7.1.1 Première étape : excitation de la molécule de NO

$NO + O_3 \rightarrow NO_2^* + O_2$ NO_2^* : NO_2 excité

6.7.1.2 Deuxième étape : retour à l'état initial

$NO_2^* \rightarrow NO_2 + h\upsilon$ hυ : énergie lumineuse

L'énergie lumineuse émise est directement proportionnelle à la concentration en NO dans le gaz analysé. (Figure 4).

Original 2020

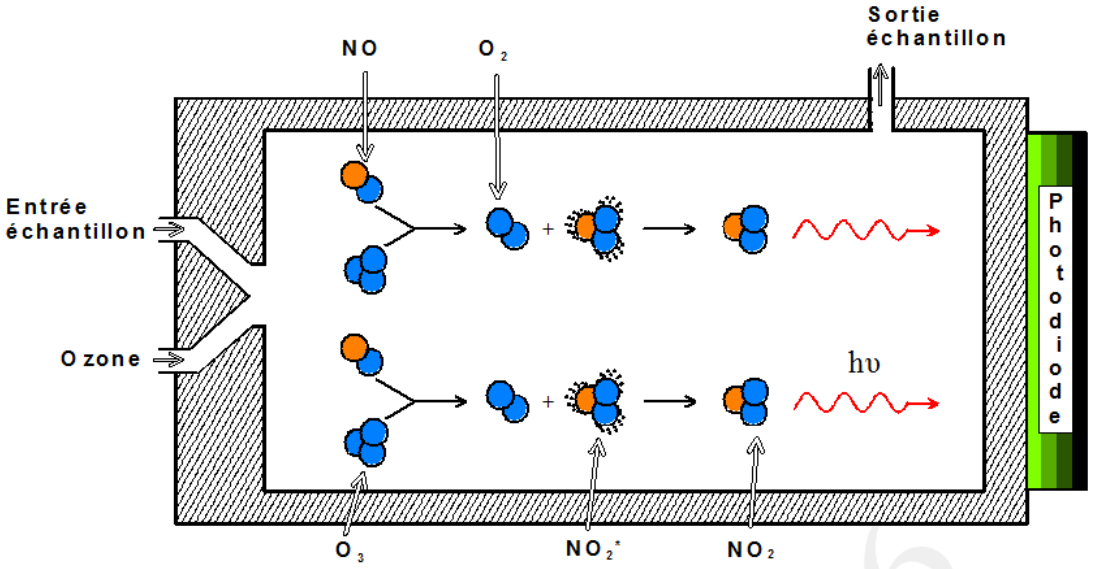


Figure 4

Pour mesurer NO_2, celui-ci est préalable transformé en NO au moyen d'un convertisseur (en général catalyseur chauffé à haute température).

Les analyseurs mesurent donc alternativement NO et NOx ($NO + NO_2$). La concentration en NO_2 est obtenue par différence.

6.7.2 Remarque

Cette méthode est très sensible et très spécifique. L'efficacité du convertisseur catalytique doit être régulièrement vérifiée.

6.8 Analyse par détecteur à ionisation de flamme

Cette méthode est utilisée pour mesurer la concentration en carbone organique dans les gaz.

6.8.1 Principe

La quasi-totalité des composés organiques, lorsqu'ils brûlent dans une flamme air-hydrogène émettent des ions en nombre quasi proportionnel au nombre d'atomes de carbone brûlés. Dans le détecteur à ionisation de flamme, ces ions sont collectés et la quantité d'électricité correspondante est mesurée au moyen d'un électromètre. (Figure 5)

Original 2020

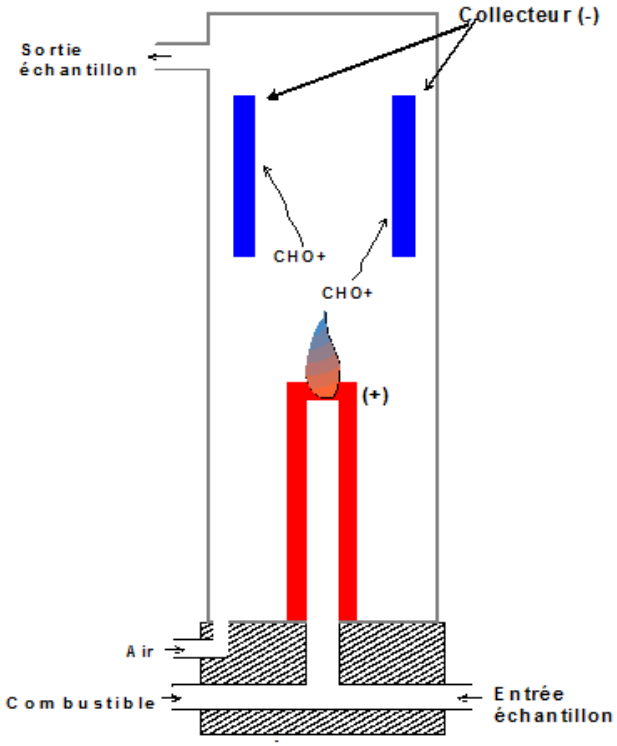


Figure 5

6.8.2 Remarques

Ce détecteur n'est pas spécifique et répond à la totalité des composés organiques présentant des liaisons carbone-hydrogène (à l'exception du formaldéhyde) : c'est pourquoi on parle souvent d'analyseurs d'hydrocarbures totaux.
Les coefficients de réponse des produits organiques diffèrent selon les groupements fonctionnels des molécules, et également selon la géométrie de la flamme et sa température. Le résultat est donc à considérer comme un indice relatif des teneurs en composés organiques totaux. L'étalonnage des appareils est généralement effectué au moyen de mélange air-méthane ou air-propane.
La réponse est également sensible à la teneur en oxygène du mélange à analyser et l'on devrait utiliser des gaz de calibration avec une teneur en oxygène proche de celle présente dans le gaz à analyser, ce qui implique l'utilisation de nombreux mélanges de calibration.
L'utilisation d'un mélange 40% H_2/60 % He comme combustible permet de s'affranchir pratiquement totalement de cette influence de l'oxygène.

6.9 Analyse par application du paramagnétisme

Cette méthode est utilisée pour la détermination de la concentration en O_2.

6.9.1 Principe

Parmi tous les gaz, seul l'oxygène a une forte sensibilité paramagnétique: sous l'effet d'un champ magnétique, un courant de circulation des molécules paramagnétiques se créent. Elles sont attirées dans la région ou le champ est le plus fort. La force du courant est fonction de la concentration du gaz. La détection est réalisée de différentes manières:

Original 2.0

- détection magnétodynamique : un balancier (en forme d'haltère) constitué de deux sphères en verre remplies d'azote et d'un miroir est suspendu dans un champ magnétique variable. Lorsque le gaz pénètre dans le détecteur, l'oxygène est attiré vers le champ magnétique le plus intense et fait dévier le balancier dont on mesure le déplacement par une méthode optique (Figure 6). D'autres appareils mesurent l'énergie nécessaire à fournir pour maintenir l'haltère à sa position d'équilibre.

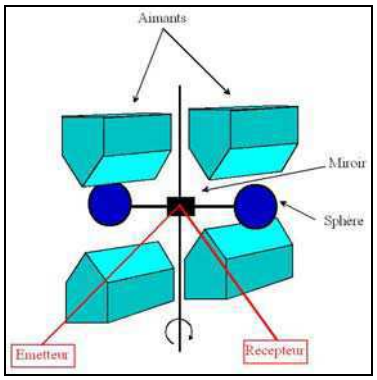


Figure 6

- détection par modification d'un débit gazeux (effet Quincke) dans laquelle la dissymétrie entraîne une variation de pression et donc de débit entre 2 capillaires injectant de l'azote dans la cellule de mesure.

6.9.2 Remarque

Seuls le NO et le NO_2 présentent les mêmes caractéristiques diélectriques mais vu que leur concentration est en général 100 à 1000 fois inférieure à celle de l'oxygène, on considère que leur influence est négligeable.

6.10 Analyse de la teneur en O_2 : sonde zircone

Cette méthode est utilisée pour la détermination de la concentration en O_2.

6.10.1 Principe

Le principe de fonctionnement est celui d'une pile à électrolyte solide : le zircone (ZrO_2), qui a la particularité d'être bon conducteur des ions oxygène à des températures supérieures à 650 °C, est recouvert d'électrodes de platine qui catalysent la transformation de l'oxygène en ions. Ces derniers migrent au travers de l'électrolyte pour se combiner sur l'électrode opposée, ce qui se traduit par une différence de potentiel fonction de la concentration en oxygène.

6.10.2 Remarques

Les interférents sont les gaz réducteurs (CO, …) qui s'oxydent au niveau du capteur et influencent la mesure quand ils sont dans des concentrations du même ordre.

Original 2020

6.11 Cellules électrochimiques

6.11.1 Principe

Ce titre générique recouvre en fait des méthodes très différentes qui ont pour seul point commun de procéder par une étape d'ionisation plus ou moins complète du polluant ou d'un de ses produits d'oxydo-réduction.

Le capteur est constitué habituellement de trois électrodes (indicatrice, auxiliaire et référence) séparées par une mince couche d'électrolyte. Le gaz à doser se diffuse dans la cellule et il est oxydé par l'électrode détectrice alors que l'oxygène est réduit en eau à l'électrode auxiliaire. Le courant produit est comparé à celui de l'électrode de référence et la différence entre les deux est transposée en une concentration de l'analyte recherché.

6.11.2 Paramètres mesurés

Cette technique permet de doser les composés suivants aux émissions atmosphériques: CO, O_2, NO, NO_2, O_3, H_2S, COT et SO_2.

6.11.3 Remarques

Les avantages des cellules électrochimiques sont leur faible coût et leur faible encombrement.

Cette technique est cependant sensible aux interférents soit directement lors de la mesure, soit sous la forme d'un "empoisonnement" progressif du système de détection. Leur durée de vie est également limitée (en général 2 ans) du fait de la technique d'analyse qui consomme du réactif.

Cette méthode ne doit pas être utilisée sur des installations pour lesquelles des interférents sont susceptibles d'être présents (cimenteries, incinérateurs de déchets, chaudières à bois, papeteries, verreries,…). Elle est adaptée aux chaudières au gaz naturel ou au mazout.

Original 2020

A-I-3V1 –EMISSIONS ATMOSPHERIQUES : LES TECHNIQUES DE PRELEVEMENT ET D'ANALYSE DES GAZ MAJEURS 1
1 Objet 1
2 Domaine d'application 1
3 Introduction 1
4 Conditionnement de l'échantillon 1
4.1 Les particules 2
4.1.1 Filtre externe 2
4.1.2 Filtre interne 2
4.2 La vapeur d'eau 2
4.2.1 Analyseurs à chaud 2
4.2.2 Analyseurs à froid 3
5 La validation des analyseurs 4
5.1 Les tests au laboratoire 4
5.2 Les tests sur le terrain 4
5.2.1 L'étalonnage 4
5.2.2 Le contrôle de la ligne de prélèvement 5
5.3 Remarques 5
6 Les analyseurs des gaz majeurs 6
6.1 Absorption IR 6
6.1.1 Principe 6
6.1.2 Paramètres mesurés 8
6.1.3 Remarques 8
6.2 FTIR 8
6.2.1 Principe 8
6.2.2 Paramètres mesurés 9
6.2.3 Remarques 9
6.3 Absorption UV 9
6.3.1 Principe 9
6.3.2 Paramètres mesurés 9
6.3.3 Remarque 9
6.4 Analyse à corrélation par filtre gazeux 10
6.4.1 Principe 10
6.4.2 Paramètres mesurés 10
6.4.3 Avantages 11
6.5 DIODE LASER 11
6.5.1 Principe 11
6.5.2 Paramètres mesurés 11
6.5.3 Remarques 11
6.6 Fluorescence UV 12
6.6.1 Principe 12
6.6.2 Remarques 12
6.7 Chimiluminescence 12
6.7.1 Principe 12
6.7.2 Remarque 13
6.8 Analyse par détecteur à ionisation de flamme 13
6.8.1 Principe 13
6.8.2 Remarques 14
6.9 Analyse par application du paramagnétisme 14
6.9.1 Principe 14
6.9.2 Remarque 15
6.10 Analyse de la teneur en O_2 : sonde zircone 15
6.10.1 Principe 15
6.10.2 Remarques 15

Original 2020

6.11 Cellules électrochimiques 16
6.11.1 Principe 16
6.11.2 Paramètres mesurés 16
6.11.3 Remarques 16

Original 2020

A-I-4V1 –EMISSIONS ATMOSPHERIQUES : LES ANALYSEURS DE POUSSIERES EN CONTINU

1 Objet

Cette fiche décrit les techniques de détermination de la concentration en poussières dans le domaine des émissions atmosphériques par des analyseurs en continu.

2 Domaine d'application

Ceci s'applique aux installations industrielles dont les émissions sont canalisées dans un conduit. Elle ne s'applique pas aux émissions diffuses non canalisées, aux installations de ventilation, de climatisation et aux salles blanches.

3 Introduction

La méthode de référence pour la détermination de la concentration en poussières dans les fumées est une méthode extractive ponctuelle. Elle consiste en un prélèvement en isocinétisme en différents points du conduit d'un volume connu de fumées. Les poussières sont captées sur un filtre qui est pesé. La masse de poussières est alors rapportée au volume de gaz prélevé.

Cette technique ne permet cependant pas de suivre l'évolution de la concentration en poussières dans le temps et des analyseurs en continu ont été développés à cette fin.

Une série de précautions doivent être prises sur le positionnement des analyseurs dans le conduit afin de tenir compte du comportement des particules dans le flux qui sont soumises principalement à leur propre inertie et aux forces d'entraînement du flux. Ceci a été développé dans les fiches A-I-1 et A-I-2.

4 Type de mesures

Les mesures peuvent être réalisées directement dans la cheminée (in situ) ou à l'extérieur de celle-ci (extractif) en prélevant un échantillon de fumée. Dans ce cas, il est primordial que l'échantillon soit représentatif des fumées.

4.1 Mesures in situ

Le terme "mesures in situ" est utilisé pour indiquer que l'échantillon n'est pas extrait du conduit mais que la concentration en poussières est directement mesurée dans le flux de gaz.

L'avantage majeur de la technique in situ est la relative simplicité des instruments de mesures.

Original 2016

Dans tous les cas, il est nécessaire de réaliser un calibrage du signal fourni par l'analyseur en continu par rapport à la méthode de référence. En effet, le signal fourni est fonction de la taille, de la couleur et de la forme des particules présente dans les fumées.
Les méthodes in-situ ne peuvent être utilisées en cas de présence de gouttelettes ou vésicules dans les fumées.

4.2 Mesures extractives

Les mesures extractives sont réalisées au moyen d'un système de prélèvement. Une sonde est utilisée pour extraire un échantillon représentatif des fumées du flux principal.

Le système de prélèvement est complexe et difficile à mettre en œuvre. Le prélèvement doit être réalisé en isocinétisme et la ligne de prélèvement jusqu'au détecteur doit être maintenue à une température supérieure au point de rosée des fumées afin d'éviter toute condensation (cf. fiche A-I-3)

Le prélèvement n'est réalisé qu'en un seul point du conduit car contrairement aux prélèvements manuels où un opérateur va déplacer la sonde et balayer la cheminée manuellement, il n'est pas possible techniquement de parcourir le plan de mesure avec un appareillage de mesure automatique.

Un échantillonneur extractif doit être utilisé en cas de présence de gouttelettes ou de vésicules dans les fumées.

5 Les techniques d'analyse

Les analyseurs de poussières réalisent une pesée directe de la masse de poussières ou se basent sur des propriétés physiques des poussières. Le tableau 1 ci-après reprend ces différentes catégories suivant leurs dénominations usuelles

	Opacimétrie	Scintillation	Diffusion	Dépression	Absorption β	Triboélectrique	Electrodynamique
In-situ	X	X	X			X	X
Extractif			X	X	X	X	
LD (mg/m³)	20	2	< 0.05	< 0.1	< 0.3	0.1	0.1
Gamme (mg/Nm³)	> 1000	-	0-100		0-1000	0-200	

Tableau 1

5.1 Opacimétrie

L'opacimètre a été et reste le système le plus utilisé pour la détermination de la concentration en poussières dans les fumées.

Original 2016

5.1.1 Principe

L'intensité d'un faisceau lumineux est atténuée par les poussières présentent dans le chemin optique (Figure 1). L'atténuation subie est une mesure de la concentration en poussières présente dans les fumées.

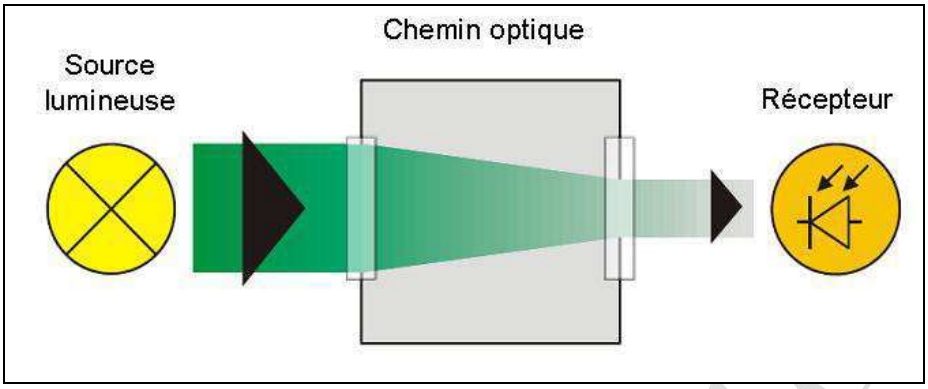


Figure 1 : Principe d'un opacimètre

5.1.2 Remarques

Ce type d'instrument doit être étalonné en réalisant une série de mesures par la méthode de référence. De plus, vu qu'il est sensible aux paramètres physiques des poussières (forme couleur et taille), la réponse de l'analyseur est modifiée si le type de poussières change et un nouvel étalonnage est nécessaire.
L'accumulation des poussières sur les fenêtres de l'émetteur et du récepteur entraîne également des interférences.
Cette technique ne peut être utilisée que dans des installations émettant des concentrations élevées en poussières (20 mg/Nm³), ce qui est de plus en plus rare de nos jours.
Les opacimètres ne peuvent pas être utilisés dans les installations pour lesquels les fumées sont saturées en eau (présence de gouttelettes ou de vésicules)

5.2 Scintillation

Ce type d'analyseurs de poussières se base sur la scintillation du rayon lumineux. On les appelle également opacimètres dynamiques ou analyseurs de poussières à transmission dynamique.

5.2.1 Principe

Tout comme les opacimètres, ces analyseurs exploitent le passage d'un faisceau lumineux au travers du conduit des fumées. Dans ce cas, on mesure la variation dans le temps de l'intensité du rayon lumineux, la scintillation étant définie comme le rapport entre la variation en intensité et l'opacité. Plus la concentration en poussières est élevée, plus la variation d'intensité, et donc la scintillation, est grande (Figure 2).

Original 2016

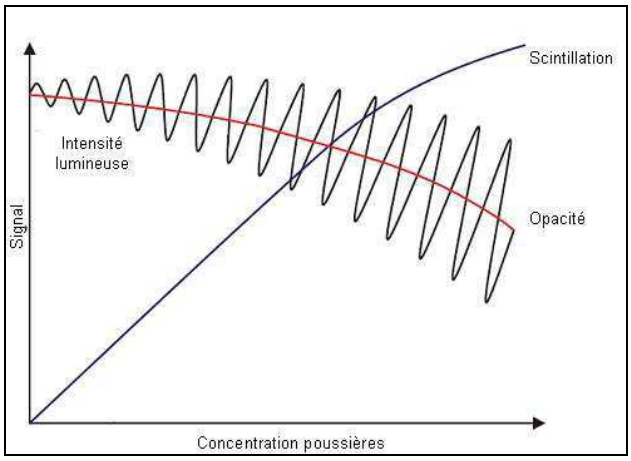


Figure 2 : Principe de mesure par scintillation

5.2.2 Remarques

Ce type d'instrument doit être étalonné en réalisant une série de mesures par la méthode de référence. De plus, vu qu'il est sensible aux paramètres physiques des poussières (forme couleur et taille), la réponse de l'analyseur est modifiée si le type de poussières change et un nouvel étalonnage est nécessaire.
L'accumulation des poussières sur les fenêtres de l'émetteur et du récepteur n'a que très peu d'influence sur la mesure puisqu'elle est indépendante de l'intensité du faisceau lumineux. L'instrument peut donner des mesures correctes même avec les fenêtres obscurcies à 90 %.
Cette technique peut être utilisée dans des installations émettant des concentrations plus faibles en poussières (2 mg/Nm³) que les opacimètres.
Les opacimètres dynamiques ne peuvent pas être utilisés dans les installations pour lesquels les fumées sont saturées en eau (présence de gouttelettes ou de vésicules).

5.3 Diffusion

La technique de la diffusion d'un rayon lumineux est utilisée pour la détermination de la concentration en poussières dans les fumées tant en mode in-situ qu'en mode extractif.

5.3.1 Principe

Les particules touchées par un rayon lumineux diffusent par réflexion la lumière dans toutes les directions (Figure 3).

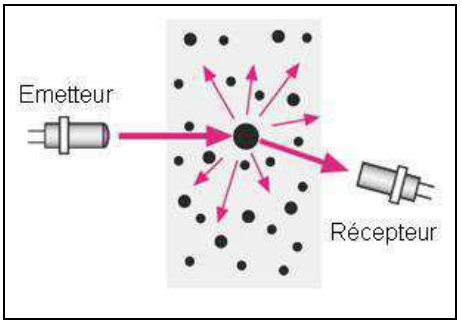


Figure 3 : Principe de la mesure par diffusion

Original 2016

5.3.2 Analyseurs in-situ

Le principe de fonctionnement pour les analyseurs in-situ est présenté à la figure 4. La source lumineuse éclaire les particules présentes dans le conduit. La lumière diffusée est renvoyée par les particules et collectée par un capteur optique spécifique suivant un angle défini. Deux absorbeurs de lumière sont placés sur la paroi opposée du conduit face à l'émetteur et au récepteur afin d'éviter les interférences dues à cette paroi.

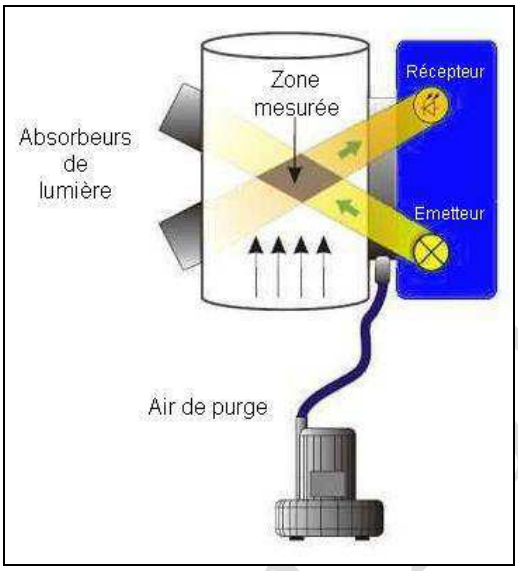


Figure 4 : Analyseur de poussières in-situ par diffusion

Ce système est sensible à l'accumulation de poussières sur les fenêtres des émetteur et récepteur. Une variante mettant en œuvre 2 détecteurs permet de s'affranchir de ce problème (figure 5).

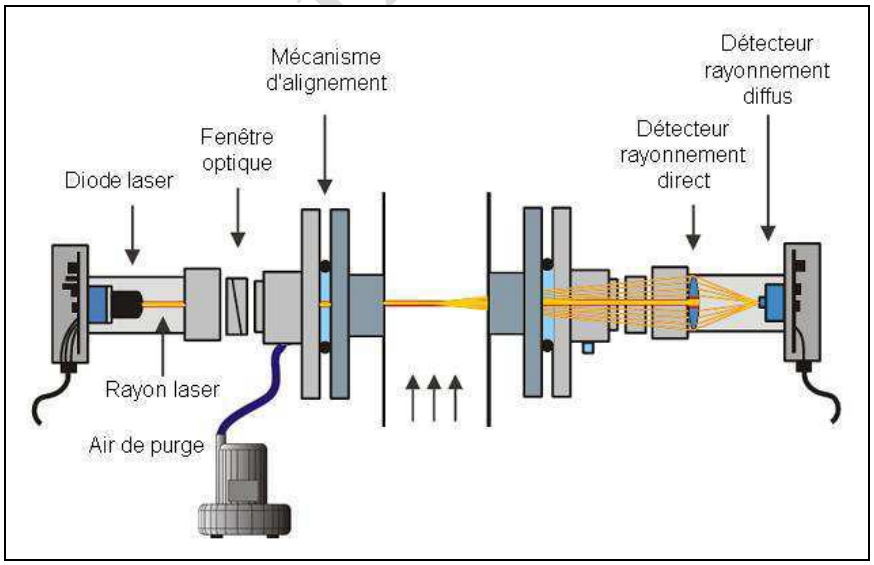


Figure 5 : Analyseur de poussières par diffusion à deux détecteurs

Le détecteur de rayonnement direct sert de référence et tient compte de l'empoussièrement des fenêtres.

Il existe aussi des systèmes in-situ où la mesure est réalisée par diffusion dans une sonde placée dans la cheminée (Figure 6) On parle dans ce cas de "diffusion en avant" Cette dernière technique est plus facile à mettre en œuvre.

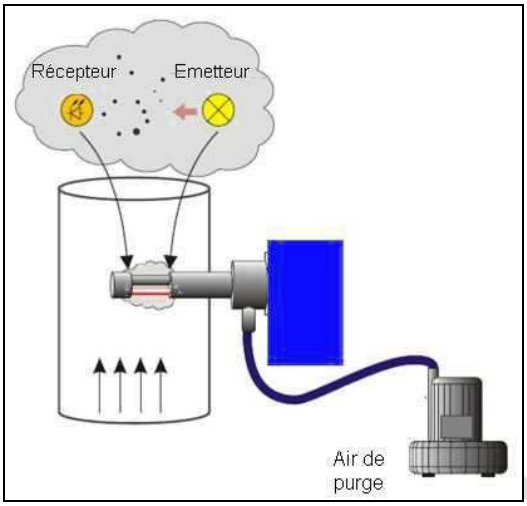


Figure 6 : Analyseur de poussières par "diffusion en avant"

5.3.3 Analyseurs extractifs

Le principe de la diffusion de la lumière est aussi exploité pour des analyseurs extractifs (Figure 7).
Une portion du flux est extraite vers le photomètre avant d'être rejetée dans le conduit. L'ensemble du système de prélèvement est maintenu à une température supérieure au point de rosée des gaz.

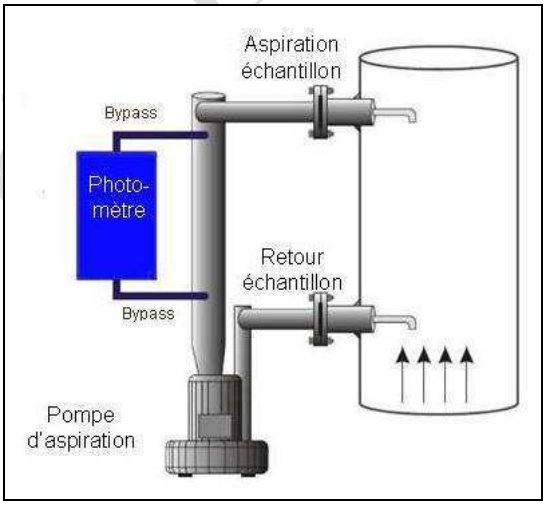


Figure 7 : Analyseur de poussières extractif par diffusion

5.3.4 Remarques

Ce type d'instrument doit être étalonné en réalisant une série de mesures par la méthode de référence. De plus, vu qu'il est sensible aux paramètres physiques des poussières (forme couleur et taille), la réponse de l'analyseur est modifiée si le type de poussières change et un nouvel étalonnage sera nécessaire.

Original 2016

Cette technique permet de mesurer des fumées faiblement chargées (< 1 mg/Nm³).
Seuls les instruments extractifs utilisant le principe de la diffusion peuvent être utilisés dans les installations pour lesquels les fumées sont saturées en eau (présence de gouttelettes ou de vésicules).

5.4 Dépression

Ce système n'est que rarement utilisé car il est notamment lourd à mettre en œuvre

5.4.1 Principe

Les poussières, prélevées en isocinétisme, sont captées sur un filtre. La perte de charge (ou dépression) au niveau de ce filtre est proportionnelle à la quantité de poussières retenue par celui-ci (Figure 8).

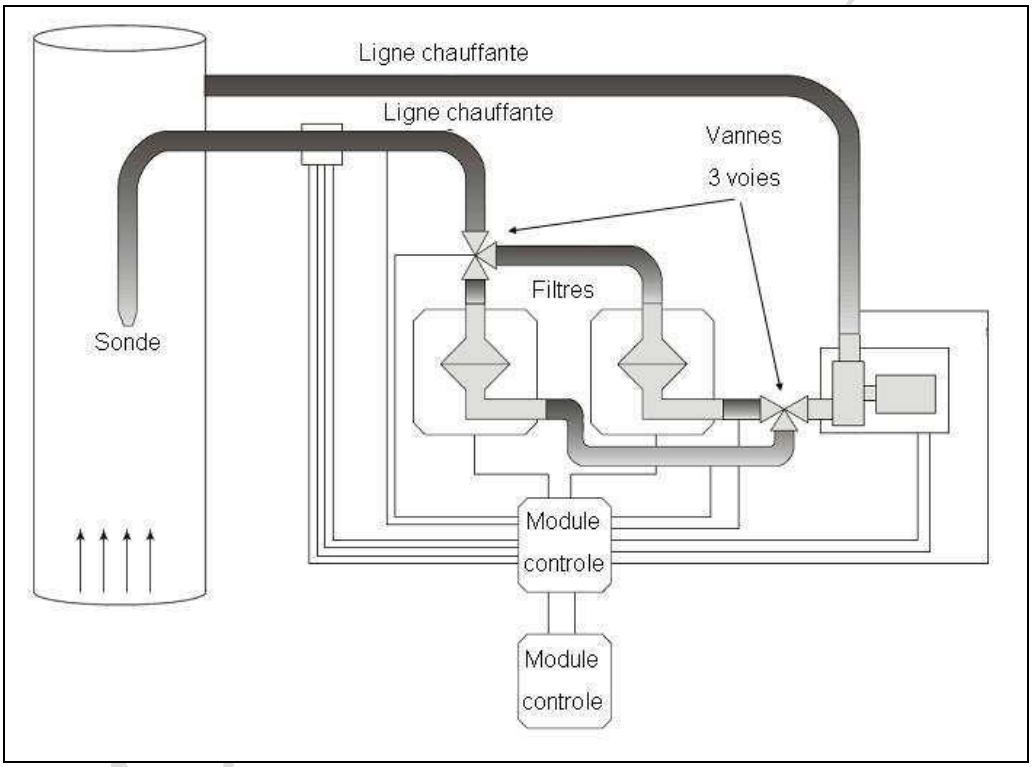


Figure 8 : Schéma d'un appareillage de mesure des poussières par dépression

Ce système extractif nécessite une sonde chauffée. Le filtre est également chauffé afin d'éviter toute condensation.

5.4.2 Remarques

Le prélèvement n'est réalisé qu'en un seul point du conduit jugé représentatif de la concentration en poussières dans les fumées.
Il est possible de récupérer les poussières sur les filtres afin de réaliser des analyses complémentaires sur celles-ci (par exemple métaux lourds).
Ce système est lourd et contraignant à mettre en œuvre.

5.5 Absorption β

L'absorption β est la méthode extractive la plus utilisée pour la détermination de la concentration en poussière dans les fumées.

5.5.1 Principe

Les poussières, prélevées en isocinétisme, sont captées sur un filtre. La concentration en particules est déterminée par la quantité d'énergie absorbée par l'échantillon exposé à une source radioactive. (Figure 9)

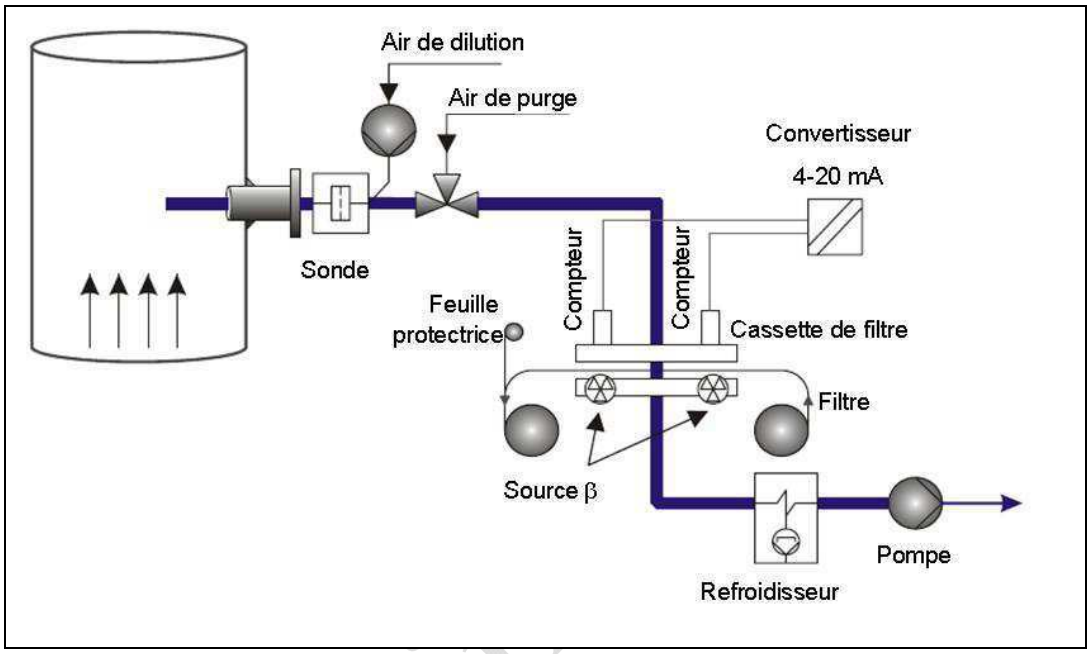


Figure 9 Schéma d'un appareillage de mesure des poussières par absorption **β**

Les rayons **β** de faible énergie sont absorbés par collision avec les électrons, dont le nombre est proportionnel à la densité. L'absorption est ainsi directement fonction de la masse de matière traversée par les rayons, indépendamment de la nature physico-chimique des poussières.
Le filtre se présente sous forme de ruban qui avance progressivement en fonction de son niveau d'empoussièrement.
Ce système extractif nécessite une sonde chauffée. La chambre de mesure est également chauffée afin d'éviter toute condensation.
Si les fumées sont suffisamment diluées au niveau de la sonde, la chambre de mesure ne doit pas être chauffée.

5.5.2 Remarques

Le prélèvement n'est réalisé qu'en un seul point du conduit jugé représentatif de la concentration en poussières dans les fumées.
Vu que le principe de mesure est cumulatif, la gamme de mesure est très faible (domaine du $\mu g/m^3$).
La présence d'une source radioactive, même de très faible intensité impose une série de contraintes due à la législation sur ce type de rayonnement.

5.6 Triboélectricité

5.6.1 Principe

Lorsque des particules de poussières chargées entrent en collision avec la sonde, il se produit un transfert de charge électrique qui génère un courant électrique continu. Le signal est directement proportionnel à la concentration en particules. (Figure 10)

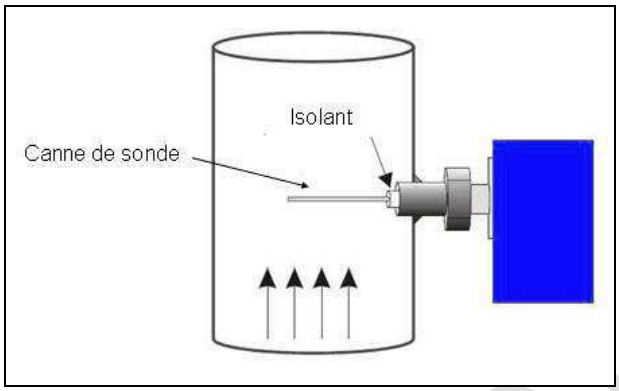


Figure 10 : Analyseur de poussières triboélectrique

5.6.2 Remarques

Cette technique n'est pas utilisable directement à la sortie d'électrofiltres en raison de la charge des particules à la sortie de celui-ci. En effet, dans ce cas, l'intensité du courant électrique générée dans le détecteur sera fonction, non seulement du nombre de particules mais également de la charge résiduelle sur ces particules après leur passage dans l'électrofiltre.

Cette technique ne peut pas non plus être utilisée lorsque d'importantes variations de la vitesse des fumées sont observées. En effet, dans ce cas, l'intensité du courant électrique générée dans le détecteur sera fonction du nombre de particules mais également de la charge électrostatique des particules or cette dernière varie en fonction de la vitesse des fumées (notamment par les forces de frottement).

L'accumulation des poussières sur la sonde induit une modification de leur comportement électrique.

Cette technique ne peut pas être utilisée dans les installations pour lesquels les fumées sont saturées en eau: les gouttelettes entrant en contact avec la sonde vont également générer un courant.

5.7 Electrodynamique

5.7.1 Principe

Les particules chargées passant à proximité de la sonde, génère un courant alternatif proportionnel à leur concentration dans les fumées.

Cette technique s'affranchit du problème d'accumulation des poussières sur la sonde puisque celles-ci ne sont pas prises en compte.

5.7.2 Remarques

Cette technique présente les mêmes inconvénients que la triboélectricité.

Original 2016

A-I-4V1 –EMISSIONS ATMOSPHERIQUES : LES ANALYSEURS DE POUSSIERES EN CONTINU 1
1 Objet 1
2 Domaine d'application 1
3 Introduction 1
4 Type de mesures 1
4.1 Mesures in situ 1
4.2 Mesures extractives 2
5 Les techniques d'analyse 2
5.1 Opacimétrie 2
5.1.1 Principe 3
5.1.2 Remarques 3
5.2 Scintillation 3
5.2.1 Principe 3
5.2.2 Remarques 4
5.3 Diffusion 4
5.3.1 Principe 4
5.3.2 Analyseurs in-situ 5
5.3.3 Analyseurs extractifs 6
5.3.4 Remarques 6
5.4 Dépression 7
5.4.1 Principe 7
5.4.2 Remarques 7
5.5 Absorption β 8
5.5.1 Principe 8
5.5.2 Remarques 8
5.6 Triboélectricité 9
5.6.1 Principe 9
5.6.2 Remarques 9
5.7 Electrodynamique 9
5.7.1 Principe 9
5.7.2 Remarques 9

Original 2016

A-I-6V1 – EMISSIONS ATMOSPHERIQUES : PRELEVEMENT ET ANALYSE DU FORMALDEHYDE

1 OBJET

Cette méthode a pour objet de décrire la méthode d'échantillonnage (prélèvement ponctuel) et les méthodes de détermination (méthode à la pararosaniline ou méthode AHMT) du formaldéhyde dans les veines gazeuses.

2 DOMAINE D'APPLICATION

Tout prélèvement ponctuel du formaldéhyde dans les veines gazeuses (cheminées, tuyauteries, …).
Elle est applicable dans des conditions normales et en régime stable de fonctionnement de l'installation industrielle pour autant que le processus le permette.
Cette procédure ne s'applique pas aux installations de ventilation et climatisation des locaux, ni aux salles blanches.

3 ECHANTILLONNAGE

3.1 Principe général

Le formaldéhyde étant très soluble dans l'eau, le prélèvement du formaldéhyde est donc assimilable à celui de HCl (norme EN 1911).
Les fumées sont filtrées à chaud puis le formaldéhyde est capté dans des barboteurs contenant de l'eau distillée.
La concentration en formaldéhyde présent dans les barboteurs est ensuite déterminée par la méthode à la pararosaniline (4.1) ou par la méthode AHMT (4.2).
Des exigences complémentaires par rapport au prélèvement du HCl doivent être respectées :

- au minimum, trois barboteurs doivent être placés en série dans le train de prélèvement ;
- le dernier barboteur doit être analysé séparément afin de vérifier l'efficacité de l'absorption, et ce pour chaque essai ;
- le débit de passage dans les barboteurs doit être compris entre 0.2 et 2 litres par minute. Le laboratoire devra adapter ce débit en fonction des limites de quantification de la méthode, de la durée de prélèvement, du volume de solution, et de la valeur limite d'émission ;
- la sonde et le filtre sont chauffés à une température de 120 à 130 °C.

3.2 Solution d'absorption

La solution d'absorption est de l'eau ultra-pure de type milli-Q.

3.3 Méthodes de prélèvement

Il faut choisir entre deux méthodes de prélèvements différentes liées aux caractéristiques des fumées. Un prélèvement à un débit fixe est suffisant lorsque les fumées ne sont pas saturées en eau. Par contre, il est nécessaire de réaliser un prélèvement en isocinétisme lorsque les fumées sont saturées en eau. C'est notamment le cas pour l'étude des émissions de sécheurs (panneaux de particules, biomasse, produits agricoles) ou d'installations équipées de traitement de fumées humide.

3.4 Prélèvement à débit fixe

3.4.1 Principe général

Les techniques générales du prélèvement à un débit fixe doivent être respectées :

- la répartition des gaz au niveau de la section de mesure doit être homogène (voir EN 15259)
- le prélèvement est réalisé en un point fixe représentatif

A cela s'ajoute :

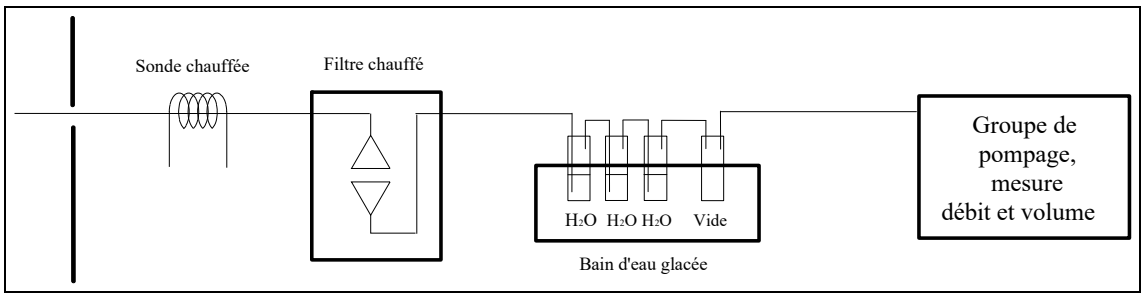
- les barboteurs destinés à capter le formaldéhyde sont placés dans la ligne de prélèvement et le débit maximum au travers de ceux-ci est de maximum 2 litres par minute.

3.4.2 Train de prélèvement

Le train de prélèvement est composé de :

- une sonde chauffée à une température de 120 à 130 °C
- un filtre chauffé à une température de 120 à 130 °C
- au minimum 3 barboteurs contenant la solution d'absorption. Ces barboteurs sont placés dans un bain d'eau glacée.
- un système destiné à éliminer l'eau résiduelle (option)
- un système de pompage et de mesure de volume réglé à un débit fixe

Schéma du train de prélèvement (débit fixe):



3.4.3 Matériau

Les matériaux en contact avec les fumées doivent être exclusivement composés de pyrex, titane, PTFE, PFA ou monel et ce jusqu'aux barboteurs inclus.

3.4.4 Prélèvement

Les règles de bonne pratique et les exigences du prélèvement HCl à débit fixe s'appliquent et plus particulièrement :

- vérification de l'étanchéité du train de prélèvement avant et après l'essai
- le train de prélèvement est conçu de telle manière à éviter les points froids au niveau des éléments qui ne sont pas rincés.

3.4.5 Durée de l'échantillonnage

Si la durée de prélèvement n'est pas indiquée dans le permis d'environnement, celle-ci doit être de 30 minutes au minimum.
La durée de prélèvement doit également être suffisante afin d'atteindre une limite de quantification du résultat final (en mg/Nm³sec) de 10 fois inférieure à la valeur du permis d'environnement. En cas de fonctionnement cyclique (moins de 30 minutes), la durée du prélèvement, doit correspondre à un nombre entier de cycles.

3.4.6 Récupération des échantillons

A la fin du prélèvement, la (les) pièce(s) de verrerie située(s) entre le filtre chauffé et le premier barboteur doi(ven)t être rincée(s) à l'eau distillée (qualité milli-Q). Ce rinçage est ajouté au premier barboteur.
Les différents barboteurs sont transférés dans deux flacons de stockage :

- le premier reprend les premiers barboteurs et le rinçage verrerie
- le second reprend le dernier barboteur

Ceci représente un échantillon.
Afin d'éviter toute contamination, il est toujours préférable que cette opération soit réalisée au laboratoire que sur site.

3.5 Prélèvement en isocinétisme

3.5.1 Principe général

Les techniques générales du prélèvement en isocinétisme doivent être respectées :

- la position de la section de mesure doit respecter les exigences des normes concernant les sections droites en amont et en aval
- le prélèvement doit être réalisé en plusieurs points suivant 2 axes perpendiculaires
- le débit total de prélèvement doit être réglé de manière à ce que la vitesse dans le nez de sonde soit égale à la vitesse dans la cheminée en ce point

A cela s'ajoute :

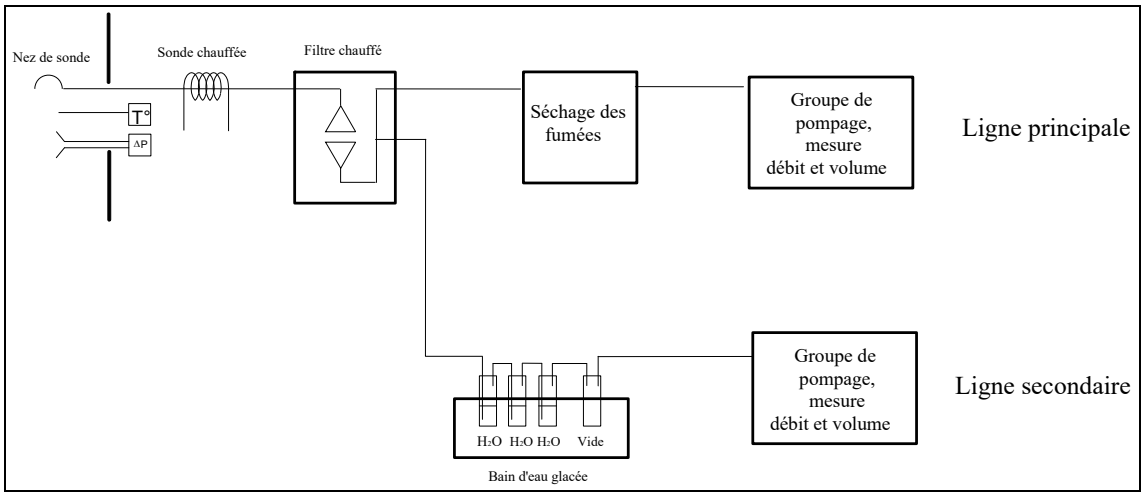
- les barboteurs destinés à capter le formaldéhyde doivent être placés en dérivation du flux principal afin de limiter le débit au travers de ceux-ci à 2 litres par minute.

3.5.2 Train de prélèvement

Le train de prélèvement est constitué de :

- un nez de sonde de diamètre connu (résolution 0.1 mm)
- une sonde chauffée à une température de 120 à 130 °C
- un filtre chauffé à une température de 120 à 130 °C
- un T permettant une division de débit chauffé à une température de 120 à 130 °C
- la ligne principale est ensuite composée de :
  - un système destiné à éliminer l'humidité des fumées
  - un système de pompage et de mesure de débit et de volume destiné à régler l'isocinétisme
- la ligne secondaire est composée de :
  - au minimum 3 barboteurs contenant la solution d'absorption. Ces barboteurs sont placés dans un bain d'eau glacée
  - un système destiné à éliminer l'eau résiduelle (option)
  - un système de pompage et de mesure de volume réglé à un débit fixe

Exemple de train de prélèvement (isocinétisme)



3.5.3 Matériau

Les matériaux en contact avec les fumées doivent être exclusivement composés de pyrex, titane, téflon ou monel et ce jusqu'aux barboteurs inclus.

3.5.4 Prélèvement

Les règles de bonne pratique et les exigences du prélèvement HCl en isocinétisme s'appliquent et plus particulièrement :

- vérification de l'étanchéité du train de prélèvement (principal et secondaire) avant et après l'essai
- réalisation du prélèvement en plusieurs points/axes en fonction du diamètre du conduit, la durée du prélèvement étant identique en chaque point
- maintien de l'isocinétisme avec une tolérance de -5 à +15 %

3.5.5 Durée de l'échantillonnage

Si la durée de prélèvement n'est pas indiquée dans le permis d'environnement, celle-ci doit être de 30 minutes au minimum.
La durée de prélèvement en chacun des points doit être de 5 minutes au minimum.
La durée de prélèvement doit également être suffisante afin d'atteindre une limite de quantification du résultat final (en mg/Nm³sec) de 10 fois inférieure à la valeur du permis d'environnement.
En cas de fonctionnement cyclique (moins de 30 minutes), la durée du prélèvement, doit correspondre à un nombre entier de cycles.

3.5.6 Récupération des échantillons

A la fin du prélèvement, la (les) pièce(s) de verrerie située(s) entre le T et le premier barboteur doi(ven)t être rincée(s) à l'eau distillée (qualité milli-Q). Ce rinçage est ajouté au premier barboteur.
Les différents barboteurs sont transférés dans deux flacons de stockage :

- le premier reprend les premiers barboteurs et le rinçage verrerie
- le second reprend le dernier barboteur

Ceci représente un échantillon.
Afin d'éviter toute contamination, il est toujours préférable que cette opération soit réalisée au laboratoire que sur site.

3.6 Assurance qualité

3.6.1 Blanc de site

Pour chaque campagne, un blanc est réalisé. Il consiste à monter le train de prélèvement, réaliser le test d'étanchéité et rincer la (les) pièce(s) de verrerie située(s) entre le filtre chauffé ou le T du train de prélèvement et le premier barboteur. Il n'est pas nécessaire de placer la sonde dans le conduit.
La valeur de ce blanc, exprimée en mg/Nm³sec, doit être dix fois inférieure à la valeur limite du permis d'environnement. Si la valeur mesurée est inférieure au blanc, le résultat final doit être exprimé comme étant inférieur ou égal à ce blanc.

3.6.2 Rendement d'absorption

Pour chaque essai, le dernier barboteur doit être analysé séparément afin de s'assurer de l'efficacité de l'absorption dans le train de prélèvement. La valeur (en mg/Nm³sec) dans le dernier barboteur doit être inférieure à 5% de la valeur totale mesurée.
Si le résultat obtenu est loin de la valeur limite imposée par le permis, le résultat peut être accepté ; par contre, s'il est proche, le fonctionnaire dirigeant (chargé de la surveillance au Département de la Police et des Contrôles) ou son délégué, peut prendre la décision de faire recommencer l'essai.

3.7 Remarques

- L'eau contenue dans les fumées va se condenser dans le premier barboteur. En fonction de l'humidité des fumées et du volume de prélèvement, il peut être nécessaire d'ajouter un barboteur supplémentaire vide en première position (on aura alors 4 barboteurs en série). Cela va permettre de capter l'eau de condensation au niveau du premier barboteur et d'éviter que les barboteurs contenant la solution d'absorption ne soient trop remplis et débordent.
- Entre 2 prélèvements consécutifs sur un même conduit, seuls les barboteurs sont échangés.
- Le choix des volumes et type de barboteurs reste libre. Il faut cependant veiller à ce que la tige plonge suffisamment dans la solution (minimum 2 cm) afin d'assurer une bonne absorption
- L'utilisation du filtre non-chauffé dans la cheminée (in-stack) est proscrite lorsque les fumées sont saturées en eau.
- Les exigences lors du prélèvement pour le HCl et le formaldéhyde étant les mêmes, il est possible de réaliser l'analyse du HCl et du formaldéhyde sur un même échantillon pour autant que les exigences par rapport à la valeur limite d'émission puissent être satisfaites lors de la division de la solution d'absorption.

3.8 Cas particuliers

Il n'est pas toujours possible de respecter l'ensemble des exigences des normes de prélèvement notamment en fonction de la configuration des conduits dans certaines installations.

- Afin d'éviter les vibrations, certaines cheminées ont été équipées d'un noyau plein. La section de mesure a donc la forme d'une couronne. S'il faut réaliser un prélèvement en isocinétisme, il n'est pas possible de réaliser un balayage en différents points suivant 2 axes. Dans ce cas, le prélèvement peut être réalisé en un point fixe au centre de la couronne mais évidemment en respectant l'isocinétisme.
- La norme EN 15259 exige de vérifier l'absence de giration ou autre dans le conduit en faisant varier l'inclinaison du pitot lors de l'établissement du spectre de vitesse. Si un flux oblique est constaté (par exemple 45 °C), un prélèvement en isocinétisme doit être réalisé en inclinant le nez de sonde à 45 °C de manière à ce que la surface interceptée par le nez soit perpendiculaire au flux.

4 ANALYSE

4.1 Méthode à la pararosaniline

4.1.1 Principe général

Les gaz sont collectés dans 3 barboteurs contenant de l'eau de haute pureté. Le formaldéhyde présent dans les émissions est très soluble dans l'eau pure. L'eau contenant le formaldéhyde est alors analysée par la méthode à la pararosaniline.
Le formaldéhyde présent dans l'eau réagit avec la pararosaniline acide, puis avec le sulfite de sodium pour former un chromophore de couleur pourpre. L'intensité de la couleur, mesurée par spectrophotométrie à 570 nm permet d'établir la concentration précise de formaldéhyde dans l'échantillon. La limite de quantification de la méthode est de 0.1 µg/ml
La présence de sulfites et de cyanures dans la solution à analyser interfèrent sur la méthode.
De même que celle de l'hexaméthylènetétramine car cette substance libère du formaldéhyde par hydrolyse

4.1.2 Conservation

Les échantillons doivent être analysés dans la semaine qui suit l'échantillonnage. Ils sont conservés à 4 °C avant l'analyse.

4.1.3 Appareillage et matériels utilisés

- Balance analytique, permettent de peser avec une précision de 0.1 mg
- Spectrophotomètre UV-Vis
- Cuvettes de 1 cm
- Verrerie courante de laboratoire (pipettes, jaugés,…)

4.1.4 Réactifs utilisés

- Eau ultra-pure de type eau milliQ
- Acide chlorhydrique à 37%, pour analyse
- Formaldéhyde, solution à ~37 % dans l'eau (ex. Sigma-Aldrich réf. 25-254-9)
- Formaldéhyde certifié, ~37 % dans l'eau, stabilisé avec du méthanol (ex. Sigma-Aldrich réf. 47083-U)
- Solution de Na_2SO_3 (1 g/l) : placer 0,1g dans un jaugé de 100 ml et porter au trait avec de l'eau milliQ. Utiliser une solution neuve chaque jour.
- Solution de pararosaniline : peser 0.16 ± 0.001 g de pararosaniline (95 %). Ajouter 25 ml d'eau milliQ. Ajouter lentement 20 ml d'HCl, puis agiter 4 heures avec un barreau magnétique. Jauger alors à 100 ml avec de l'eau milliQ. La solution se garde 6 mois à température ambiante dans un flacon hermétique.

4.1.5 Solutions d'étalonnage et de contrôle qualité

- Solution mère de formaldéhyde à 1000 ppm. Cette solution doit être titrée par la méthode au sulfite de sodium afin de déterminer sa concentration exacte (cfr point 4.1.6.)

  Prélever 680µl de solution de formaldéhyde à 37 % et jauger à 250 ml avec de l'eau milliQ. La solution est stable 1 an à t° ambiante pour autant que le récipient soit hermétique.
- Solution fille de formaldéhyde à 100ppm : diluer 0,5ml de solution mère dans un jaugé de 5 ml et mettre à niveau avec de l'eau milliQ. La solution est stable 4 semaines au frigo.
- Solution mère de formaldéhyde certifié à 1000 ppm.

  Prélever 680 µl de solution de formaldéhyde certifié et jauger à 250 ml avec de l'eau milliQ. La solution est stable 1 an à t° ambiante pour autant que le récipient soit hermétique.
- Solution fille de formaldéhyde certifié à 100 ppm : diluer 0.5 ml de solution mère dans un jaugé de 5 ml et mettre à niveau avec de l'eau milliQ. La solution est stable 4 semaines au frigo.

4.1.6 Titrage de la solution mère de formaldéhyde

La concentration exacte de la solution mère de formaldéhyde est déterminée par la méthode écrite par Walker J. F. Cette méthode est basée sur la réaction suivante :

$CH_2O(aq) + Na_2SO_3 + H_2O \rightarrow NaOH + CH_2(NaSO_3)OH$
Le NaOH formé est titré par HCl.

4.1.6.1 Réactifs

- Na_2SO_3 0.1 M : Peser 12.6 g de Na_2SO_3 anhydre et compléter à 1 litre avec de l'eau milliQ.
- Ethanol 50 % : Placer 62.5 ml d'éthanol à 96 % dans une burette et ajouter 57.5 ml d'eau milliQ.
- Indicateur thymolphtaléine : Peser 0.1 g d'indicateur et l'amener à 100 ml avec une solution d'éthanol à 50 %.
- HCl 0.1 N : utiliser une solution Titrisol toute faite.

4.1.6.2 Procédure de titration

- Placer 25 ml de la solution Na_2SO_3 0.1 M dans un berlin ; ajouter quelques gouttes d'indicateur jusqu'à ce que la solution devienne bleue ; ajouter quelques gouttes de HCl 1 M pour que la solution redevienne incolore.
- Prélever 25 ml de la solution mère de formaldéhyde et les ajouter au sulfite de sodium. Attendre 5 minutes
- Titrer en retour avec HCl 0.1 N jusqu'à ce que la solution devienne bleue en agitant le berlin.
- Noter le volume d'HCl utilisé

4.1.6.3 Détermination de la concentration de la solution mère

La concentration en formaldéhyde est calculée comme suit :

Concentration en formaldéhyde (mg/l) :
(molarité HCl x ml de HCl x MMformaldéhyde/25) x 1000

4.1.7 Mode opératoire

4.1.7.1 Préparation des solutions étalons

Dans des jaugés de 10 ml, introduire respectivement 0, 25, 50, 100 et 200µl de la solution fille de formaldéhyde à 100 ppm et mettre au trait de jauge avec de l'eau milliQ.
Ces solutions étalons correspondent respectivement à 0 - 0.25 - 0.50 - 1 et 2 µg/ml en formaldéhyde. Ces solutions sont préparées à chaque jour d'analyse.

4.1.7.2 Préparation de la solution QC

Dans un jaugé de 10 ml, introduire 50 µl de la solution fille de formaldéhyde certifié (4.1.5) et mettre au trait de jauge avec de l'eau MilliQ. Cette solution correspond à une concentration en formaldéhyde de 0.5 µg/ml. Cette solution est préparée à chaque jour d'analyse. Porter la valeur du QC en carte de contrôle

4.1.7.3 Mesure

Dans une cuvette de 1 cm, placer 2.5 ml d'échantillon suivi de 0.25 ml de pararosaniline. Boucher la cuvette et agiter la cuvette en la retournant une dizaine de fois (au moins 30 secondes).
Ajouter alors 250 µl de la solution de sulfite de sodium (4.1.6.1.), boucher à nouveau la cuvette et l'agiter pendant au moins 30 secondes.

Laisser la coloration se développer pendant 1 heure.

Mesurer alors l'absorbance à 570 nm (le 0 de l'appareillage doit être ajusté avec de l'eau milliQ au préalable).
Si le résultat ne se situe pas dans le domaine de la droite d'étalonnage, diluer l'échantillon en conséquence et recommencer l'extraction.

Pour la courbe d'étalonnage, procéder comme ci-dessus en remplaçant l'échantillon par les solutions étalons (4.1.7.1).
Passer la solution QC (4.1.7.2) tous les 10 ou 12 échantillons.

4.1.8 Calcul

Après les 60 minutes de développement de la couleur, lire les absorbances des standards et des échantillons au spectrophotomètre. La courbe d'étalonnage est calculée en régression linéaire.

Dans une feuille Excel, porter en ordonnées les concentrations des solutions étalons et en abscisses les valeurs d'absorbance correspondantes. Calculer les différents paramètres de la régression (pente, ordonnée, coefficient de corrélation,...).
Déterminer ensuite la teneur en formaldéhyde (en µg/ml) sur des échantillons inconnus à partir des valeurs d'absorbance obtenues.
Introduire également le point du contrôle qualité du jour.

Dans le cadre des émissions de source fixe, les volumes des deux premiers barboteurs du train de prélèvement sont rassemblés en un échantillon dans un jaugé. Le 3ème barboteur est analysé séparément de façon à s'assurer que l'efficacité de l'absorption est supérieure à 95 % dans les 2 premiers barboteurs.
Si le résultat obtenu est loin de la valeur limite imposée par le permis, le résultat peut être accepté ; par contre, s'il est proche, le fonctionnaire dirigeant (chargé de la surveillance au Département de la Police et des Contrôles) ou son délégué, peut prendre la décision de faire recommencer l'essai.

La concentration de formaldéhyde dans les barboteurs est calculée par la formule :
Concentration totale (mg) :
Conc. (µg/ml) x volume du jaugé x facteur de dilution x 0.001
Les concentrations des 2 jaugés sont additionnées.

La concentration en formaldéhyde dans le gaz de cheminée est calculée par la formule :
Concentration (mg/Nm^3sec) : conc. totale (mg)/ volume gaz sec

4.1.9 Avertissement

Des protections adéquates, par exemple gants de protection, masque ou lunettes de sécurité et blouse de laboratoire sont indispensables pour manipuler l'acide chlorhydrique concentré.

4.2 Méthode AHMT

4.2.1 Principe général

Les gaz sont collectés dans 3 barboteurs contenant de l'eau de haute pureté. Le formaldéhyde présent dans les émissions est très soluble dans l'eau pure. L'eau contenant le formaldéhyde est alors analysée par la méthode AHMT (4-amino-3-hydrazino-5-mercapto-1,2,4-triazole)
L'AHMT réagit spécifiquement avec les aldéhydes en milieu aqueux très alcalin pour former un intermédiaire non coloré qui est oxydé immédiatement par l'oxygène atmosphérique pour donner un dérivé tétrazine pourpre.
L'intensité de la couleur, mesurée par spectrophotométrie à 550 nm permet d'établir la concentration précise en formaldéhyde dans l'échantillon.
Il n'y a pas d'interférence constatée avec les constituants habituels des gaz de cheminées tels que l'acide formique, les amines, l'ammoniac, l'acide acétique, le phénol, l'oxyde d'azote, le dioxyde de soufre et l'urotropine.
La limite de quantification de la méthode est de 0.1 µg/ml

Les autres aldéhydes peuvent réagir aussi avec l'AHMT mais, à la longueur d'onde de mesure, leur réponse est beaucoup plus faible que celle du formaldéhyde.
Toutefois cette méthode est à éviter en présence de teneurs importantes en autres aldéhydes.

4.2.2 Conservation

Les échantillons doivent être analysés dans la semaine qui suit l'échantillonnage. Ils sont conservés à 4 °C avant l'analyse.

4.2.3 Appareillage et matériels utilisés

- Balance analytique, permettent de peser avec une précision de 0.1 mg
- Spectrophotomètre UV-Vis
- Cuvettes de 1 cm
- Verrerie courante de laboratoire (pipettes, jaugés,…)

4.2.4 Réactifs utilisés

Utiliser exclusivement des réactifs de qualité analytique reconnue.

- Eau ultra-pure de type eau milliQ
- Formaldéhyde, solution à ~37 % dans l'eau (ex. Sigma-Aldrich réf. 25-254-9)
- Formaldéhyde certifié, ~37 % dans l'eau, stabilisé avec du méthanol (ex. Sigma-Aldrich réf. 47083-U)
- Solution de NaOH 2 N : 40 g de pastilles de NaOH sont placés dans un jaugé de 500ml et la mise au trait se fait avec de l'eau milliQ
- Solution d'AHMT : peser 0.5 g d'AHMT dans 100 ml de NaOH 2 N. La solution se garde 2 heures maximum.

4.2.5 Solutions d'étalonnage et de contrôle qualité

- Solution mère de formaldéhyde à 1000 ppm. Cette solution doit être titrée par la méthode au sulfite de sodium afin de déterminer sa concentration exacte (cfr point 4.2.6.)

  Prélever 680µl de solution de formaldéhyde à 37 % et jauger à 250 ml avec de l'eau milliQ. La solution est stable 1 an à t° ambiante pour autant que le récipient soit hermétique.
- Solution fille de formaldéhyde à 2 ppm : diluer 1 ml de solution mère ci-dessus dans un jaugé de 500 ml et mettre à niveau avec de l'eau milliQ. La solution est stable 1 semaine au frigo.
- Solution mère de formaldéhyde certifié à 1000 ppm.

  Prélever 680 µl de solution de formaldéhyde certifié et jauger à 250 ml avec de l'eau milliQ. La solution est stable 1 an à t° ambiante pour autant que le récipient soit hermétique.
- Solution fille de formaldéhyde certifié à 2 ppm : diluer 1 ml de solution mère ci-dessus dans un jaugé de 500 ml et mettre à niveau avec de l'eau milliQ. La solution est stable 1 semaine au frigo.

4.2.6 Titrage de la solution mère de formaldéhyde

La concentration exacte de la solution mère de formaldéhyde est déterminée par la méthode reprise au paragraphe 4.1.6.

4.2.7 Mode opératoire

4.2.7.1 Préparation des solutions étalons

Dans des jaugés de 100 ml, introduire respectivement 5, 10, 20 et 50 ml de la solution fille de formaldéhyde à 2 mg/l et jauger avec de l'eau milliQ. Ces solutions correspondent respectivement à des concentrations de 0.1 – 0.2 – 0.4 et 1.0 µg/ml. Ces solutions sont préparées à chaque jour d'analyse.

4.2.7.2 Préparation de la solution QC

Dans un jaugé de 100 ml, introduire 10 ml de la solution fille de formaldéhyde certifié et mettre au trait de jauge avec de l'eau milliQ. Cette solution correspond à une concentration en formaldéhyde de 0.2 µg/ml. Cette solution est préparée à chaque jour d'analyse.
Porter la valeur du QC en carte de contrôle

4.2.7.3 Mesures (oxydation à l'air)

Pour la courbe.
Prendre une série de 8 petits barboteurs.
Dans le 1er barboteur, mettre 30 ml d'eau milliQ qui va servir à tester l'air entrant dans le circuit.
Dans le 2ème barboteur, mettre 15 ml d'eau milliQ qui va servir de point 0 de la courbe.
Dans les 3,4,5 et 6ème barboteurs, introduire respectivement 15 ml de chacune des solutions de formaldéhyde préparées (4.2.7.1.).

Dans le 7ème barboteur, mettre 15 ml de la solution fille de formaldéhyde à 2 mg/l.
Dans le 8ème barboteur : remplir de silicagel sec pour protéger la pompe.
Les concentrations en formaldéhyde au niveau de la courbe sont donc : 0 – 0.1 – 0.2 - 0.4 - 1.0 et 2.0 µg/ml.

Ajouter aux barboteurs n°2 à n°7, 15 ml de solution d'AHMT
Relier les barboteurs entre eux à l'aide de ponts en verre et de pinces Rotulex.

A l'aide d'une pompe de type Gillair3 ajustée à un débit de 2 l/min, faire un test d'étanchéité du circuit en bouchant l'entrée du 1er barboteur et mettre la pompe en route ; le test est bon s'il n'y a pas de bullage dans les barboteurs et qu'on entend la pompe s'arrêter.

Si le test de fuite est bon, procéder à l'oxydation. A l'aide de la même pompe, pomper pendant 30 minutes à 2 l/min.

Immédiatement après la réaction, transférer le blanc et les échantillons dans des cuvettes de 1 cm et lire les absorbances des standards au spectrophotomètre à 550 nm.

Pour les échantillons.

Procéder de la même manière que pour la courbe, en remplaçant les 15 ml de solution étalon par 15 ml d'échantillon. Il faut oxyder maximum 8 échantillons à la fois pour limiter la perte de charge sur la pompe (cela peut être ajusté en fonction du type de pompe).
Placer un QC (4.2.7.2.) dans chaque série d'échantillons.

4.2.8 Calcul

La courbe d'étalonnage est calculée en régression linéaire.

Dans une feuille Excel, porter en ordonnées les concentrations des solutions étalons et en abscisses les valeurs d'absorbance correspondantes. Calculer les différents paramètres de la régression (pente, ordonnée, coefficient de corrélation,...).
Déterminer ensuite la teneur en formaldéhyde (en µg/ml) sur des échantillons inconnus à partir des valeurs d'absorbance obtenues.
Introduire également le point du contrôle qualité du jour.

Si le résultat ne se situe pas dans le domaine de la droite d'étalonnage, diluer l'échantillon en conséquence et recommencer la réaction.

Dans le cadre des émissions de source fixe, les volumes des deux premiers barboteurs du train de prélèvement sont rassemblés en un échantillon. Le 3ème barboteur est analysé séparément de façon à s'assurer que l'efficacité de l'absorption est supérieure à 95 % dans les 2 premiers barboteurs.
Si le résultat obtenu est loin de la valeur limite imposée par le permis, le résultat peut être accepté ; par contre, s'il est proche, le fonctionnaire dirigeant (chargé de la surveillance au Département de la Police et des Contrôles) ou son délégué, peut prendre la décision de faire recommencer l'essai.

La concentration de formaldéhyde dans les barboteurs est calculée par la formule :
Concentration totale (mg) :
Conc. (µg/ml) x volume du jaugé x facteur de dilution x 0.001
Les concentrations des 2 jaugés sont additionnées.

La concentration en formaldéhyde dans le gaz de cheminée est calculée par la formule :
Concentration (mg/Nm^3sec) : conc. totale (mg)/ volume gaz sec

5 RAPPORT D'ESSAIS

Le contenu du rapport devra, outre le résultat final, reprendre notamment:

- La référence à la présente méthode
- l'identification de l'installation
- l'identification complète de l'échantillon
- la date de prélèvement
- la période de prélèvement
- le volume de gaz prélevé
- la concentration (ramenée en mg/Nm^3sec) dans le dernier barboteur
- la valeur du blanc
- la concentration en oxygène dans le conduit lorsque le résultat doit être exprimé à un taux d'oxygène de référence
- tout écart aux prescriptions des normes et à la présente méthode
- le coefficient de correction au taux d'oxygène de référence (si une correction est appliquée)
- les détails opératoires non prévus dans la norme, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

Et en cas de prélèvement en isocinétisme :

- le nombre de points/axes sur lesquels le prélèvement a été effectué
- la durée effective de prélèvement
- le volume prélevé au niveau de la ligne principale
- le diamètre du nez de sonde
- le rapport d'isocinétisme
- la vitesse des gaz dans le conduit
- la température du conduit
- le taux d'humidité

6 RÉFÉRENCES

NBN EN 15259 : Qualité de l'air – Mesurage des émissions de sources fixes – Exigences relatives aux sections et aux sites de mesurage et relatives à l'objectif, au plan et au rapport de mesurage.

ISO/DIN 9096 : Air Quality-Stationary source emission. Determination of concentration and mass flow rate of particulate material in gas ducts.

ISO 10780 : Emissions des sources fixes- Mesurage de la vitesse et du débit-volume des courants gazeux dans des conduites.

EN 13284-1 : Emissions de sources fixes – Détermination manuelle de la concentration en masse de poussières

EN 1911 : Emissions de sources fixes – Détermination de la concentration massique des chlorures exprimés en HCl

EPA 316 : Sampling and Analysis for Formaldehyde emissions from Stationary Sources in the Mineral Wool and Wool Fiberglass Industrie

https://www3.epa.gov/ttn/emc/promgate/m-316.pdf

CMA- LUC/III/004 (2012) : Bepaling van het gehalte gasvormig formaldehyde in het gaskanaal
https://esites.vito.be/sites/reflabos/2015/Online%20documenten/LUC_III_004.pdf

CEN/TC 264/WG 40 : Stationary Source Emissions- Determination of the Mass Concentration of Formaldehyde – Manual Method (2017)

VDI 3862-4 : Gaseous emission measurement. Measurement of formaldehyde by the AHMT method

A-1-6 – EMISSIONS ATMOSPHERIQUES : PRELEVEMENT ET ANALYSE DU FORMALDEHYDE 1
1 OBJET 1
2 DOMAINE D'APPLICATION 1
3 ECHANTILLONNAGE 1
3.1 Principe général 1
3.2 Solution d'absorption 1
3.3 Méthodes de prélèvement 2
3.4 Prélèvement à débit fixe 2
3.4.1 Principe général 2
3.4.2 Train de prélèvement 2
3.4.3 Matériau 3
3.4.4 Prélèvement 3
3.4.5 Durée de l'échantillonnage 3
3.4.6 Récupération des échantillons 3
3.5 Prélèvement en isocinétisme 3
3.5.1 Principe général 3
3.5.2 Train de prélèvement 4
3.5.3 Matériau 4
3.5.4 Prélèvement 4
3.5.5 Durée de l'échantillonnage 5
3.5.6 Récupération des échantillons 5
3.6 Assurance qualité 5
3.6.1 Blanc de site 5
3.6.2 Rendement d'absorption 5
3.7 Remarques 6
3.8 Cas particuliers 6
4 ANALYSE 7
4.1 Méthode à la pararosaniline 7
4.1.1 Principe général 7
4.1.2 Conservation 7
4.1.3 Appareillage et matériels utilisés 7
4.1.4 Réactifs utilisés 7
4.1.5 Solutions d'étalonnage et de contrôle qualité 8
4.1.6 Titrage de la solution mère de formaldéhyde 8
4.1.7 Mode opératoire 9
4.1.8 Calcul 10
4.1.9 Avertissement 10
4.2 Méthode AHMT 11
4.2.1 Principe général 11
4.2.2 Conservation 11
4.2.3 Appareillage et matériels utilisés 11
4.2.4 Réactifs utilisés 11
4.2.5 Solutions d'étalonnage et de contrôle qualité 12
4.2.6 Titrage de la solution mère de formaldéhyde 12
4.2.7 Mode opératoire 12
4.2.8 Calcul 13
5 RAPPORT D'ESSAIS 14
6 RÉFÉRENCES 15

A-III-1 : DÉTERMINATION DU LEVOGLUCOSAN ET DE SES ISOMÈRES PAR CHROMATOGRAPHIE GAZEUSE ET DÉTECTION PAR SPECTROMETRIE DE MASSE

1. Objet

La présente méthode de référence spécifie une procédure pour la détermination quantitative par chromatographie gazeuse à détection par spectrométrie de masse du levoglucosan, galactosan et mannosan dans les particules de type PM10.

2. Domaine d'application

La présente méthode de référence est applicable aux particules de type PM10.

La gamme de mesure applicable à l'appareil est de 0.05 à 50 µg/ml par composé ce qui correspond à 1 ng/m^3 pour 55 m^3 prélevé.

3. Définitions et abréviations

GC-MS : Chromatographie gazeuse – détection par un spectromètre de masse

TMCS : Chlorure de triméthylsilyle

BSTFA : N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide

SI : Standard interne

4. Interférences

Aucune interférence à mentionner.

5. Principe

Après addition d'un étalon interne, les filtres sont extraits au moyen d'un mélange dichlorométhane-méthanol. Une portion de l'extrait est concentrée à sec sous flux d'azote. Après dérivatisation à l'aide de TMCS, évaporation presqu'à sec et reprise dans le cyclohexane. L'étalonnage interne corrige les rendements d'extraction, la prise d'essai et les fluctuations à l'injection. Les calculs sont basés sur la détermination préalable de facteurs de réponse moyens.

6. Conditionnement et conservation de l'échantillon

Les échantillons sont prélevés sur des filtres en quartz et placés dans des boîtes de pétri. Ils sont stockés au congélateur à -18°C et à l'abri de la lumière.

7. Appareillages et matériels utilisés

- Chromatographe en phase gazeuse, muni d'un détecteur de masse de type simple quadripôle. Un autre type de détecteur, notamment un triple quadripôle, peut être utilisé à condition de démontrer des performances au moins égales.
- Colonne chromatographique capillaire de faible polarité (type DB-5ms).
- Propipettes (volumes variables de 10 à 1000 µl)
- Seringues 10 µl
- Tube à centrifuger de 15 ml
- Pied gradué de 25 ml
- Rampe de concentration sous flux d'azote chauffé
- Flaconnages en verre, hermétiques, silanisés avec bouchons à face téflonée pour GC/MS
- Etuve
- Bain ultrason chauffant
- Petit matériel divers de laboratoire

8. Réactifs utilisés

8.1. Méthanol, dichlorométhane, dodécane et cyclohexane p.a., résidus de pesticides

8.2. Pyridine anhydre

8.3. BSTFA + 1% TMCS

8.4. Levoglucosan, galactosan et mannosan, Levoglucosan-d7 (SI), Methyl-β-L-Arabinopyranoside (SID), min 96% de pureté

8.4.1. **Solutions mères** : Dissoudre 30 mg de chaque standard ou de standard interne dans 3 ml de méthanol soit une concentration de 10 mg/ml (S0).

8.4.2. **Solution fille :**

- SF1 : Ajouter 100 µl de chaque solution mère de standard non marqué dans 10 ml de méthanol. Soit une solution à 100 µg/ml notée SF1.
- SF2 : Ajouter 25 µl de chaque solution mère de standard non marqué dans 10 ml de méthanol. Soit une solution à 25 µg/ml notée SF2.
- SF3 : Ajouter 100 µl de la solution SF1 dans 10 ml. Soit une solution à 1 µg/ml notée SF3.
- SF-SID : Ajouter 100 µl de la solution mère de standard de méthyl-β-L-Arabinopyranoside dans 10 ml de méthanol. Soit une solution à 100 µg/ml notée SF-SID.
- SF-SI : Ajouter 100 µl de la solution mère de standard interne Levoglucosan-D7 dans 1 ml de méthanol. Soit une solution à 1000 µg/ml notée SF-SI.

8.4.3. **Courbe de calibration :**

Pour la courbe de calibration procéder, par exemple, comme suite dans un volume de 1 ml :

	[Théorique] (µg/ml)	SF1 (µl)	SF2 (µl)	SF3 (µl)	SF-SI (µl)	SF-SID (µl)
S1	50	500			25	10
S2	10	100			25	10
S3	5	50			25	10
S4	1		40		25	10
S5	0,75		30		25	10
S6	0,5		20		25	10
S7	0,1			100	25	10
S8	0,05			50	25	10

8.4.4. **QC :** Dopé un filtre à une concentration type S4. Soit 40 µl de SF2 et 25 µl de SF-SI déposé sur un filtre.

9. Préparation de l'échantillon

L'échantillon est amené à température ambiante.

10. Mode opératoire

10.1 Extraction :

Plier le filtre et le mettre dans un tube à centrifuger de 15 ml. Ajouter 25 µl de SF-SI. Ajouter environ 5 ml d'un mélange 80/20 (V/V) dichlorométhane/méthanol et reboucher le tube. Placer ce dernier dans le bain à ultrason chauffé à 60°C pendant 2 fois 15 minutes. Laisser s'échapper la surpression entre les deux périodes.

Prendre 1 ml de l'extrait et le placer dans un vial silanisé, ajouter 10 µl de SF-SID (β-L) puis évaporer à sec à 40°C. Une quantité plus grande d'extrait peut être prise afin de diminuer la limite de quantification à condition de s'assurer que la réaction de dérivatisation est complète.

Faire la même chose avec le QC.

Essai à blanc : effectuer une extraction dans les mêmes conditions sur un filtre vierge. La valeur du blanc ne doit pas être supérieur à 10% de la valeur mesurée la plus faible.

10.2 Dérivatisation :

Ajouter dans le vial 100 µl de la solution de BSTFA à 1% de TMCS puis 100 µl de pyridine anhydre. Boucher le vial et incuber à 80°C pendant minimum 1 heure. Après ce temps de réaction ajouter 50 µl de dodécane. Evaporer gentiment (40°C) à 50 µl et reprendre avec 1 ml de cyclohexane.

10.4 Analyse par chromatographie en phase gazeuse (GC-MS)

10.4.1 Préparation du système d'analyse :

Avant analyse, contrôler l'approvisionnement en gaz.
Contrôler le spectromètre de masse.
Au besoin, remplir les flacons de rinçage. Vérifier l'état de la seringue.
Utiliser une colonne capillaire répondant à la spécification.
Vérifier les programmations en température. Par exemple:

- injecteur à 250°C en mode splitless
- source à 250°C
- ligne de transfert à 250°C
- la rampe de température : 100 (2.00) 10/240 (0.00) 35/310 (5.00) pour une colonne de 30m et 110 (1.00) 20/220 (0.00) 40/280 (2.00) pour une colonne de 15m.

10.4.2 Quantification des composés (simple quad)

Nom du composé	Ion SIM	Ions de quantification	Dwell time (ms)
Levoglucosan	204-217-333	333	50
Mannosan	204-217-333	204	50
Galactosan	204-217-333	217	50
Levoglucosan-D7	220-339	220	50
Methyl-β-L-arabi.	204-217-333	217	50

10.4.4 Quantification des composés (triple quad)

Nom du composé	Ions précurseurs	Ions produits	Energie de collision (eV)
Mannosan-Levoglucosan	333	103	12
	333	143	8
	333	171	6
Galactosan	218	74	16
	218	143	10
	218	144	10
Levoglucosan-D7	339	105	12
	339	147	22
	339	149	8
	339	177	8
Methyl-β-L-arabi.	147	131	8
	204	189	6
	217	143	12

10.4.3 Etalonnage avec un standard interne

L'étalonnage en spectrométrie de masse se fait par la méthode de l'étalonnage interne (levoglucosan-d7). On injecte les différents étalons (minimum 5 – recommandé 8) de façon croissante. Un étalonnage linéaire 1/x est utilisé.
La dérivatisation est contrôlée par l'ajout d'un second standard interne (Methyl-β-L-arabinopyranoside).
L'étalonnage est réalisé à chaque séquence. Un QC est injecté tous les 20 échantillons et placé dans une carte de contrôle.

11. Calcul et expression des résultats

Les intégrations des chromatogrammes sont contrôlées. Les temps de rétention définis par l'analyse des solutions étalons et les abondances relatives caractéristiques sont utilisés pour la reconnaissance automatique des pics lors du traitement des résultats des inconnus. Le résultat est corrigé par le standard interne.

$$x = \frac{L * 1000}{D}$$

Où :

x est le résultat exprimé en ng/m^3 avec 3 chiffres significatifs.
L est la concentration en levoglucosan à l'appareil en µg/ml
D est la quantité d'air passée à travers le filtre en m^3.

12. Sécurité

- Le méthanol et le cyclohexane sont des solvants neurotoxiques. Travailler en atmosphère ventilée. Il convient de pratiquer les opérations d'extraction/concentration sous hotte.
- La pyridine est nocive par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. Travailler avec des gants et sous hotte.
- BSTFA + 1% TMCS est corrosif. Travailler avec des gants, des lunettes et sous hotte.
- Eviter toutes sources de chaleur et d'étincelles.

13. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne ;
- L'identification complète de l'échantillon ;
- Les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis ;
- Les références de date de prélèvement et de début de traitement de l'échantillon ;
- Les résultats du dosage conformément au point 11 ;
- Les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

14. Références

SIMONEIT B. R. T., Analysis of sugars in environmental samples by GC/MS, J. Chromatogr. A, 1141 (2007) 271-278

MONKS P. S., Validation of an assay for the determination of Levoglucosan and associated monosaccharide anhydrides for the quantification of wood smoke in atmospheric aerosol, Anal. Bioanal. Chem. (2014) 406:5283-5292

CLAYES M., Development of a gas chromatographic/ion trap mass spectrometric method for the determination of levoglucosan and saccharidic compounds in atmospheric aerosols. Application to urban aerosols, J. Mass Spectrom. (2002) 37:1249-1257

MAENHAUT W., Improved method for quantifying levoglucosan and related monosaccharide anhydrides in atmospheric aerosols and application to samples from urban and tropical locations, Environ. Sci. Technol. (2002) 36:747-753

WISE S. A., Determination of levoglucosan in particulate matter reference materials, Aerosol Sci. Tech. (2006) 40:781-787

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
D-I-3	1	20/01/2022
Calcul de la teneur en matière sèche par détermination du résidu sec ou de la teneur en eau		

Descriptif		
Paramètre	/	
Référence normative	NBN EN 15934	2012

Domaine d'application	
Matrice	Boues, bio-déchets traités, déchets

Critères de performance	
Limite de quantification (LQ)	Non-applicable
Incertitude (relative) de la mesure	Non-applicable
Gamme de travail	Non-applicable

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

Cette procédure permet de déterminer la teneur pondérale en eau et en matière sèche d'un solide dans le cas où il est nécessaire d'exprimer des résultats d'analyses par rapport à la matière sèche.

2. Procédure

Les prescriptions spécifiques à la Région wallonne sont reprises dans la norme de référence internationale NBN EN 15934 :2012.

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

Wallonie

D-II-1V1- DÉTERMINATION DU POUVOIR CALORIFIQUE SUPÉRIEUR PAR LA MÉTHODE DE LA BOMBE CALORIMÉTRIQUE ET CALCUL DU POUVOIR CALORIFIQUE INFÉRIEUR

1. Objet

La présente méthode de référence spécifie une procédure de détermination du pouvoir calorifique supérieur par la méthode de la bombe calorimétrique ainsi que le calcul du pouvoir calorifique inférieur.

2. Domaine d'application

La présente méthode de référence est applicable aux combustibles solides. C'est une méthode de détermination du pouvoir calorifique supérieur à volume constant à la température de référence de 25°C dans une bombe calorimétrique étalonnée par la combustion d'acide benzoïque certifié.
En pratique, l'échantillon est brûlé à pression (atmosphérique) constante et l'eau n'est pas condensée mais éliminé sous forme de vapeur avec les gaz de combustion
Sous ces conditions, la chaleur de combustion qui apparaît est le pouvoir calorifique inférieur à pression constante du combustible. Le pouvoir calorifique inférieur de l'échantillon à volume constant est aussi utilisée (cf. équations pour le calcul de ces 2 valeurs).

3. Définitions

Pouvoir calorifique supérieur à volume constant : quantité de chaleur dégagée par la combustion de l'unité de masse de combustible en présence d'oxygène dans une bombe calorimétrique sous certaines conditions spécifiques.

Remarque :
Les produits de la combustion sont présumés être de l'oxygène, de l'azote, du dioxyde de carbone, du dioxyde de soufre, de l'eau liquide en équilibre avec sa vapeur et saturée en CO_2 et des cendres, tous à une température de 25 °C.
Le pouvoir calorifique supérieur est exprimé dans le cas présent en joules/g

Pouvoir calorifique supérieur à pression constante : quantité de chaleur dégagée par la combustion de l'unité de masse de combustible en présence d'oxygène dans une bombe calorimétrique à pression constante.

Pouvoir calorifique inférieur à volume constant : quantité de chaleur qui se dégagerait par la combustion de l'unité de masse de combustible en présence d'oxygène à volume constant de telle sorte que toute l'eau des produits de réaction se retrouve sous forme de vapeur d'eau (état hypothétique à 0.1 MPa), les autres produits étant les mêmes que pour le PCS, tous à la température de référence de 25 °C.

CWEA 2017

Pouvoir calorifique inférieur à pression constante : quantité de chaleur qui se dégagerait par la combustion de l'unité de masse de combustible en présence d'oxygène à pression constante de telle sorte que toute l'eau des produits de réaction se retrouve sous forme de vapeur d'eau (état hypothétique à 0.1 MPa), les autres produits étant les mêmes que pour le PCS, tous à la température de référence de 25 °C.

Calorimètre adiabatique : dans ce système, la température de l'eau de l'enceinte calorimétrique est constamment ajustée de manière à toujours maintenir égale à la température de l'eau contenue dans le vase calorimétrique
NB : la chambre interne du calorimètre et son enveloppe n'échange pas d'énergie car la température dans les 2 est la même pendant le test. L'eau de l'enveloppe externe est chauffée ou refroidie en fonction de la variation de la température dans le calorimètre.

Calorimètre isopéribole : calorimètre « type isotherme » dont l'enceinte garde une température uniforme et constante, tandis que la température de l'eau contenue dans le vase calorimétrique augmente.

Calorimètre automatique : calorimètre sans fluide, où le vase calorimètrique, l'agitateur et de l'eau sont remplacés par un bloc métallique et la bombe de combustion elle-même constitue le calorimètre.

4. Principe

Pouvoir calorifique supérieur
Une masse connue de l'échantillon est brûlée en présence d'oxygène dans une bombe calorimétrique dans des conditions normalisées. La chaleur issue de la combustion de l'échantillon est comparée à la chaleur dégagée lors de la combustion d'une quantité similaire d'une substance étalon (l'acide benzoïque). Le pouvoir calorifique supérieur à volume constant est calculé d'après l'élévation de température de l'eau dans le vase calorimétrique et la capacité calorifique effective moyenne de l'appareillage. On tiendra compte dans le calcul de l'énergie d'allumage, des corrections de thermochimie et des différents échanges de chaleur.

Pouvoir calorifique inférieur
Le pouvoir calorifique inférieur à volume constant et le pouvoir calorifique inférieur à pression constante sont obtenus par calcul à partir du pouvoir calorifique supérieur à volume constant.
Le calcul du pouvoir calorifique inférieur à volume constant exige la connaissance de l'humidité et de la teneur en hydrogène de l'échantillon. En principe, le calcul du pouvoir calorifique inférieur à pression constante exige en plus de connaître la teneur en oxygène et en azote de l'échantillon.

CWEA 2017

5. Préparation de l'échantillon

Utiliser la fraction représentative des échantillons préparés selon la méthode S-I-1 relative au prétraitement des échantillons pour analyse physico-chimiques.
On se référera également à la méthode S-I-3 relative à la détermination de la teneur pondérale en matière sèche et en eau.

6. Appareillages et matériels utilisés

Les différents constituants du calorimètre sont :

La bombe : dans laquelle l'échantillon brûle, elle doit résister aux pressions apparaissant pendant la combustion. Sa construction doit permettre la récupération totale de tous les produits liquides. Les matériaux de construction de la bombe doivent résister aux vapeurs acides qui se forment lors de la combustion des échantillons contenant du soufre ou de l'azote.

Le vase calorimétrique : dans lequel la bombe calorimétrique est maintenue dans une quantité d'eau déterminée, auquel s'ajoute un détecteur thermique ainsi qu'un agitateur à vitesse constante il est en métal poli, pouvant contenir suffisamment d'eau pour recouvrir complètement la surface supérieure de la bombe lorsque l'eau est agitée

L'enceinte ou chemise d'eau protégeant le vase de toute transition thermique ayant lieu pendant la combustion, entourant complètement le calorimètre, avec un espace d'air de 10 mm environ entre le vase et l'enceinte. La quantité d'eau de l'enceinte en conditions isothermes (isopériboles) doit être suffisamment grande pour limiter les variations thermiques de l'eau qu'elle contient.

Le thermomètre, capable d'indiquer la température avec une résolution d'au moins 0.001 K et permettant de déterminer des intervalles de température de 2 à 3K avec une précision d'au moins 0.002 K.

Le creuset en silice, nickel-chrome, platine ou autre matériau similaire. Pour les charbons, le creuset doit être à fond plat, de profondeur inférieure à 20 mm et de diamètre 25 mm environ.

7. Réactifs utilisés

- **Oxygène** à une pression suffisamment élevée pour remplir la bombe à 3 MPa, pur (99.5 %) et exempt de matières combustibles.
- **Fil d'allumage** et additifs facilitant la combustion
- **Acide benzoïque**, de qualité calorimétrique, certifié

8. Mode opératoire

La détermination calorimétrique se base sur 2 tests séparés : combustion de l'étalon (acide benzoïque) et combustion de l'échantillon, dans les mêmes conditions spécifiques. Il est nécessaire que la procédure pour les 2 types de test soit similaire dans le but d'annuler les erreurs systématiques.

CWEA 2017

Certains échantillons moins réactifs laissent une quantité importante de résidus imbrûlés. En mélangeant ces échantillons avec une quantité connue de produit auxiliaire (l'acide benzoïque), une combustion complète peut être obtenue. La quantité d'acide benzoïque sera limitée au minimum requis pour permettre une combustion complète de l'échantillon.

Etalonnage de l'appareil

La combustion de l'acide benzoïque en dioxyde de carbone et en eau sous certaines conditions provoque un changement dans la température du calorimètre d'une unité interprétable en unité définie d'énergie.
Si le système analytique est évalué pour la première fois, il faut définir une fonction d'étalonnage à l'aide de l'acide benzoïque pour les mesures conformément aux instructions du fabricant.
Les performances de l'instrument sont vérifiées à chaque série analytique en réalisant les analyses en double et en analysant l'acide benzoïque comme échantillon inconnu à intervalle régulier.

Préparation de la combustion

Peser l'échantillon dans le creuset avec une précision d'au moins 0.01 % par rapport à la masse de l'échantillon. Déposer le creuset avec l'échantillon sur son support. Tendre entre les 2 électrodes de la bombe un fragment de fil métallique d'allumage. Attacher éventuellement une masse connue de coton au fil d'allumage et disposer les extrémités du fil de coton de manière à ce qu'elles touchent l'échantillon.
Ajouter la quantité d'eau recommandée dans la bombe, par exemple 1.0 ± 0.1 ml pour 1 g d'échantillon. Assembler la bombe et la charger lentement en oxygène jusqu'à une pression de 3.0 ± 0.2 MPa sans déplacer l'air initial. Si la bombe est chargée avec de l'oxygène à une pression supérieure à 3.3 MPa, l'essai doit être rejeté et il faut recommencer. La bombe est prête pour être placée dans le vase calorimétrique.

Utiliser un creuset de masse faible. Peser le matériel auxiliaire aussi précisément que possible pour que sa contribution puisse être prise en compte correctement. Mélanger les matériaux solides en prenant garde de ne pas en perdre, vérifier par pesée. Compacter le mélange en tapotant le creuset et à l'aide de la tige métallique aplatie.

Amener l'eau du calorimètre à moins de 0.3 K de la température initiale sélectionnée et remplir le vase calorimétrique avec la quantité d'eau nécessaire. La quantité d'eau dans le vase calorimétrique devra être la même à 0.5 g près pour tous les tests. Placer le vase calorimétrique dans l'enceinte, ensuite mettre la bombe sur son support dans le vase calorimétrique.
Placer suffisamment d'eau dans le vase pour recouvrir la surface supérieure plane du couvercle de la bombe. Vérifier que la bombe est bien étanche et si de l'oxygène s'échappe, l'essai doit être abandonné, la cause de la fuite identifiée et on doit recommencer l'essai.

Les systèmes pilotés par logiciel permettent le suivi de la réaction. Les corrections de températures et de réactions auxiliaires se font automatiquement. Se référer au manuel d'utilisation spécifique à l'appareil. Dans le cas d'un système manuel se référer à la norme ISO 1928 : 2009.

CWEA 2017

9. Pouvoir calorifique supérieur

Calcul du pouvoir calorifique supérieur

Le changement de l'énergie dans la bombe est donné par la capacité calorifique effective, ε, multipliée par l'élévation de température corrigée, θ. Pour déterminer l'énergie de combustion d'un échantillon, les contributions énergétiques de toutes les réactions auxiliaires doivent être soustraites de ε x θ. Par exemple, lorsqu'une aide à la combustion a été utlisée, sa contribution devra être prise en compte. Dans les systèmes pilotés par logiciel ces corrections se font automatiquement moyennant une programmation préalable, se référer au manuel d'utilisation de l'appareil. Dans le cas d'un système manuel se référer à la norme ISO 1928 : 2009.

Le pouvoir calorifique supérieur $q_{V,gr}$, exprimé en joules par gramme, à volume constant est calculé comme suit :

$$q_{V,gr} = \frac{\varepsilon_n \times \theta - Q_{fuse} - Q_{ign} - Q_N - m_2 \times q_{V,2}}{\mathrm{m}_1} - \frac{Q_S}{m_1}$$

où

$q_{V,gr}$ est le pouvoir calorifique supérieur
ε_n est la valeur moyenne de la capacité calorifique effective, exprimée en joules par kelvin du calorimètre comme déterminée par l'étalonnage
Q_S est la correction, exprimée en joules, pour la transformation du soufre de l'acide sulfurique en dioxyde de soufre gazeux.
m_1 est la masse, exprimée en grammes, de l'échantillon
m_2 est la masse, exprimée en grammes, de l'aide à la combustion, si pertinent
$q_{V,2}$ est le pouvoir calorifique, exprimé en joules par gramme, à volume constant de l'aide à la combustion, si pertinent
Q_{fuse} est la contribution, exprimée en joules, de la combustion du fusible
Q_{ign} est la contribution, exprimée en joules, de la combustion du fil d'allumage
Q_N est la contribution, exprimée en joules, suite à la formation d'acide nitrique à partir de l'eau liquide, d'oxygène et d'azote gazeux
θ est l'augmentation de température corrigée, exprimée en kelvins

Expression des résultats

.
Lorsque l'humidité de l'échantillon d'analyse est connue, il est recommandé de calculer le pouvoir calorifique supérieur à volume constant pour l'échantillon sec en se référant à l'équation suivante :

$$q_{V,gr,d} = q_{V,gr} \times \frac{100}{100 - M}$$

où

M est l'humidité, exprimée en %, de l'échantillon d'analyse
$q_{V,gr}$ est le pouvoir calorifique supérieur à volume constant

Le pouvoir calorifique supérieur à volume constant, $q_{V,gr,m}$, pour un taux d'humidité particulier est donné par l'équation :

$$q_{V,gr,m} = q_{V,gr,d} \times (1 - 0.01\, M_T)$$

CWEA 2017

M_T est l'humidité totale, exprimée en % de masse

Les résultats seront arrondis à 10J/g en mentionnant sans ambiguïté les conditions de détermination du pouvoir calorifique comme par exemple : volume constant, humidité, …

Précision

Les résultats des essais réalisés en double ne devront différer de plus de 10%.

10. Calcul du pouvoir calorifique inférieur

La différence principale entre le pouvoir calorifique supérieur et inférieur est liée à l'état physique de l'eau dans les produits de réaction. Le pouvoir calorifique inférieur à pression constante peut être calculé à partir du pouvoir calorifique supérieur à volume constant pour l'échantillon sec à condition que la teneur totale en hydrogène de l'échantillon exempt d'humidité soit déterminée.

Calcul du pouvoir calorifique inférieur à pression constante

La valeur du pouvoir calorifique inférieur à pression constante, reflétant les conditions réelles de combustion, est l'expression privilégiée pour exprimer le pouvoir calorifique inférieur.
Le pouvoir calorifique inférieur, $q_{p,net,m}$, exprimé en joules par gramme, à pression constante d'un combustible avec un taux d'humidité *m*, peut être calculée par l'équation ci-dessous :

$$q_{p,net,m} = \{q_{V,gr,d} \ -212\ w_{H,d} - 0.8[w_{O,d} + w_{N,d}]\} \times (1 - 0.01\ M_T) - 24.43 M_T$$

où
$q_{V,gr,d}$ est le pouvoir calorifique supérieur à volume constant, exprimé en joule par gramme, de l'échantillon sec
$W_{H,d}$ est la teneur en hydrogène, exprimée en pourcentage de masse, de l'échantillon sec, comprenant l'hydrogène de l'eau d'hydratation de la matière minérale ainsi que l'hydrogène de l'échantillon.
$W_{O,d}$ est la teneur en oxygène, exprimée en pourcentage de masse, de l'échantillon sec
$W_{N,d}$ est la teneur en azote, exprimée en pourcentage de masse, de l'échantillon sec
M_T est l'humidité totale, exprimée en % de masse

L'hydrogène et l'azote seront déterminés par des méthodes appropriées et l'oxygène n'est pas mesuré directement mais calculé par différence.

Calcul du pouvoir calorifique inférieur à volume constant

La valeur du pouvoir calorifique inférieur, $q_{V,net,m,}$, exprimé en joules par gramme, à volume constant d'un combustible avec un taux d'humidité M_T, peut être calculée par l'équation suivante :

$$q_{V,net,m} = [q_{V,gr,d} - 206 w_{H,d}\ ] \times (1 - 0.01\ M_T) - 23.05 M_T$$

Les teneurs en oxygène et azote ne sont pas nécessaires au calcul du pouvoir calorifique inférieur à volume constant.

CWEA 2017

11. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne ;
- L'identification complète de l' échantillon ;
- Les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis ;
- Les résultats obtenus ;
- Les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

12. Référence

ISO 1928 : 2009- Combustibles minéraux solides – Détermination du pouvoir calorifique supérieur par la méthode de la bombe calorimétrique et calcul du pouvoir calorifique inférieur

ISO 1716 : 2010- Essais de réaction au feu de produits– Détermination du pouvoir calorifique supérieur (valeur calorifique)

CWEA 2017

D-II-2V1 - CARACTÉRISATION DES DECHETS – ESSAIS DE COMPORTEMENT A LA LIXIVIATION – ESSAI DE CAPACITÉ DE NEUTRALISATION ACIDE ET BASIQUE

1. Objet

La présente méthode permet de déterminer la capacité de neutralisation acide et/ou basique d'un matériau.

2. Domaine d'application

La présente procédure permet de déterminer la capacité de neutralisation acide et/ou basique. Cette propriété est exprimée en mol/kg et permet d'évaluer le pH final des déchets mélangés ainsi que les conséquences des influences extérieures (carbonatation, oxydation) sur le pH de tout type de déchet destiné à la mise en CET.

3. Interférence

Néant

4. Principe

Différentes prises d'essai sont préparées selon un rapport liquide/solide défini, avec des lixiviants contenant des quantités prédéfinies d'acide ou de base, afin d'obtenir des valeurs de pH stationnaires au terme de la période d'extraction. Chaque lixiviant est ajouté en trois étapes, au début de l'essai. Au moins 8 valeurs de pH finales sont requises, couvrant au minimum la plage de pH de 4 à 12. A partir des quantités d'acides ou de base requises pour couvrir la plage de pH, on détermine la capacité de neutralisation acide ou basique (CNA, CNB) du matériau d'essai.

5. Conditionnement et conservation de l'échantillon

L'échantillon prélevé sur site sera conservé dans un récipient en verre ou en polyéthylène à 4°C et dans l'obscurité.

6. Appareillages et matériels utilisés

6.1. Dispositif d'agitation : agitateur à retournements (5tr/min à 10 tr/min) ou table à rouleaux ayant une vitesse de rotation d'environ 10 tr/min
6.2. Balance analytique d'une précision de 0.1g
6.3. Flacons ou récipients de capacité 250 ml en matériau inerte, tel que verre, polyéthylène haute densité ou polypropylène, munis d'un couvercle en matériau inerte.
6.4. Barreau magnétique
6.5. pH-mètre ayant une précision de mesure d'au moins ± 0,05 unité de pH.

N.B. : Avant toute manipulation, il est obligatoire de vérifier le bon état de l'appareillage utilisé.

CWEA 2017

7. Réactifs utilisés

7.1. Eau déminéralisée.
7.2. Acide nitrique 0.1 mol/l à 5 mol/l
7.3. Acide nitrique 1 mol/l
7.4. Hydroxyde de sodium 0,1 mol/l à 5 mol/l.

8. Préparation de l'échantillon

Afin d'obtenir 50g d'une granulométrie inférieure à 1 mm, on se référera à la méthode S-I-1 relative au prétraitement des échantillons pour analyse physico-chimiques.
On se référera également à la méthode S-I-3 relative à la détermination de la teneur en matière pondérale en matière sèche et en eau.

9. Mode opératoire

9.1. Temps de contact

Le mode opératoire de lixiviation comprend trois étapes définies :

- Période A (ajout d'acide ou de base) de t_0 à t_{0+4h} pour l'ajout d'acide et de base en trois étapes
- Période B (période d'équilibrage) de t_{0+4h} à t_{0+44h} pour l'équilibrage
- Période C (période de vérification) de t_{0+44h} à t_{0+48h}

9.2. Plage de pH

L'essai doit couvrir la plage de pH de 4 à 12 avec au moins 8 valeurs de pH mesurées, dont le pH naturel. La différence maximale entre deux valeurs de pH consécutives ne doit pas dépasser 1.5 unités de pH.

9.3. Symboles et abréviations :

Les symboles et abréviations mentionnées dans le texte et les formules de calcul sont reprises et définies ci-dessous :

V est le volume total de liquide utilisé durant l'essai (ml)
m_h est la masse non séchée de la prise d'essai (g)
m_s est la masse séchée de la prise d'essai (g)
M_s est la matière sèche du déchet, exprimé (%)
V_l est le volume de lixiviant à ajouter, (ml)
$V_{démi}$ est le volume d'eau déminéralisée utilisé (ml)
A est la consommation d'acide pour le pH (mol H+/kg de MS)
V_A est le volume d'acide nécessaire (ml)
C_A est la concentration de l'acide (mol/l)
B est la consommation de base pour le pH (mol H+/kg de MS)
V_B est le volume de base nécessaire (ml-)
C_B est la concentration de base (mol/l)

CWEA 2017

9.4. Essai de détermination de la capacité de neutralisation acide ou basique

9.4.1. Détermination préliminaire de la consommation d'acide/base

Estimer par A (mol H+/kg MS) ou B (-mol H+/kg MS), la consommation d'acide ou de base nécessaire pour atteindre les valeurs de pH appropriées.

Placer les prises d'essai dans des bouteilles rincées, l'une pour le titrage acide, l'autre pour le titrage alcalin. L'essai vise un rapport L/S final de 10 après ajout d'acide ou de base. En cas de rapport L/S supérieur à 11 en raison de la consommation trop élevée d'acide ou de base du matériau à un pH spécifique, il convient d'utiliser un acide ou une base plus fort pour ajuster le pH.

Ajouter un volume V d'eau déminéralisée dans les bouteilles, en établissant un rapport liquide/solide d'environ 9. Calculer le volume V d'après l'équation suivante, la masse volumique de l'eau étant égale à 1 g/ml :

$$\mathbf{V= 9 \times m_s - (m_h-m_s)}$$

Agiter le contenu des deux récipients pendant 1 h et mesurer le pH de l'éluat après un repos de 10 min afin de déterminer le pH naturel.

Pour le titrage acide, ajouter une portion d'acide dans une des deux bouteilles et laisser agiter 30 min, enregistrer la quantité et la concentration d'acide ajouté ainsi que le pH obtenu. Continuer d'ajouter des portions d'acide et mesurer le pH après avoir agité 30 min après chaque portion ajoutée. Répéter cette opération jusqu'à ce que l'intervalle entre le pH naturel et le pH 4 soit obtenu et que l'écart entre les valeurs de pH obtenues soit inférieur à 1.5 unit de pH. Enregistrer les quantités et concentrations d'acides ajoutées ainsi que les valeurs de pH obtenues.

Pour le titrage basique, faire de même afin d'obtenir un intervalle entre le pH naturel et le pH 12.

Tracer une courbe du pH en fonction des quantités d'acide et de base exprimées en mol H^+/kg et en mol OH^-/kg et estimer ainsi A (mol H+/kg MS) ou B (-mol H+/kg MS), la consommation d'acide ou de base nécessaire pour atteindre les valeurs de pH appropriées.

9.4.2. Préparation du lixiviant

Calculer le volume V de liquide nécessaire pour établir un rapport L/S = 10l/kg +/- 0.2 l/kg pour la taille réelle de la prise d'essai m_h (m_s/M_s x 100) y compris le volume d'acide ou de base.

$$\mathbf{V = 10 \times m_s}$$

Calculer le volume de lixiviant à ajouter à la taille réelle de la prise d'essai et compenser la teneur en humidité de la prise d'essai comme suit :

$$\mathbf{V_L = V - (100/M_s -1) \times m_s}$$

Préparer le lixiviant à partir d'eau déminéralisée et d'acide ou de base suivant la consommation nécessaire pour obtenir le pH approprié.

Préparer le lixiviant à acidité ajustée comme suit :

$$V_L = V_{démi} + V_A$$
$$V_A = A \times m_s / C_A$$

Préparer le lixiviant à basicité ajustée comme suit :

$$V_L = V_{démi} + V_B$$
$$V_B = B \times m_s / C_B$$

Diviser le V_l en 3 fractions égales

9.4.3. Mode opératoire

Effectuer l'essai à une température de 20°C +/- 5°C.
Pour une prise d'essai de 15 g utiliser une bouteille de 250 ml.
Avant usage, nettoyer la bouteille en la remplissant d'acide nitrique à 1mol/l en la laissant reposer au moins 24 h puis en la rinçant avec de l'eau déminéralisée.

Ajouter le volume de lixiviant en trois étapes distinctes :
- En t0
- En t0+30min
- En t0+2h

Refermer la bouteille et agiter la suspension entre chaque ajout de lixiviant. Mesurer et enregistrer le pH avant d'ajouter les fractions 2 et 3 et, si un écart de pH est alors constaté par rapport au pH prévu, préparer des bouteilles supplémentaires avec ajout d'acide/base modifiés.
Maintenir l'agitation après le dernier ajout de lixiviant jusqu'à t = t + 48h.

Mesurer et enregistrer le pH à t0+4h, à t0+44h, à t0+48h. Noter l'écart de pH entre t0+4h et t0+44h. L'écart ne doit pas dépasser 0.3 unité de pH (limite d'obtention de l'état d'équilibre). Lorsque cette condition n'est pas remplie, le rapport d'essai doit comporter la mention spéciale correspondante. Si un trop grand nombre de points expérimentaux présentent une divergence, le temps d'équilibrage est insuffisant et un temps de contact plus long est requis. Le temps de contact est prolongé de 24h et l'écart de pH entre t0+48h et t0+72h est vérifié.

9.4.4. pH naturel

Répéter le mode opératoire sans ajouter d'acide ni de base et mesurer le pH après 4h, 44h et 48h.

10. Sécurité

- Port obligatoire de gants, lunettes de sécurité et tablier de laboratoire lors de la manipulation d'acides et ce sous hotte.
- Chaque composé chimique utilisé doit être traité comme présentant un danger potentiel pour la santé, il est donc recommandé de réduire au minimum les temps d'exposition à ces composés.

CWEA 2017

11. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- une référence à la présente méthode du CWEA;
- l'identification complète de l'échantillon;
- préparation de l'échantillon (la date de la préparation de la prise d'essai, les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis) ;
- le tableau de résultats des essais (exemple repris ci-dessous)

	unité	numéro bouteille							
pH à atteindre		4	5,3	6,7	8	9,3	10,7	pH naturel	12
prise d'essai	g de mat. sèche								
prise d'essai en mat brut*	g de mat. Brut								
volume de lixiviant **	ml								
Volume de l'acide	ml								
Concentration de l'acide	mol/l								
Volume de la base	ml								
concentration de la base	mol/l								
quantité H3O+ ou OH- nécessaire pour atteindre pH voulu	mol/kg MS								
L/S résultant	l/kg								
pH final									

- les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

12. Référence

CEN/TS 15364 : 2006 : Caractérisation des déchets –Essais de comportement à la lixiviation – Essai de capacité de neutralisation acide et basique.

CWEA 2017

D-II-3V1 - DÉTERMINATION DE LA TENEUR TOTALE EN CARBONE, HYDROGÈNE, AZOTE ET SOUFRE

1. Objet

La présente méthode de référence spécifie une procédure de détermination des teneurs totales en carbone, hydrogène, azote et soufre dans les solides.

2. Domaine d'application

La présente méthode de référence est applicable aux *biocombustibles solides*. C'est une méthode d'analyse instrumentale du carbone, de l'hydrogène, de l'azote et du soufre.

3. Principe

L'analyseur élémentaire fonctionne sur le principe d'une combustion catalytique et une séparation des gaz libérés lors de cette combustion. Durant la combustion, les éléments C, H, N, S sont oxydés en CO_2, H_2O, NO_x, SO_2 et SO_3. Si des halogènes sont présents, ils sont aussi libérés. Les gaz libérés sont piégés sur des pièges spécifiques pour le CO_2, SO_2 et H_2O puis libérés les uns après les autres et mesurés par un détecteur thermoconductif afin d'éviter toute interférence de gaz non mesuré. Les NO_x libérés lors de cette oxydation sont réduits en N_2 et directement envoyés vers le système de détection, la différence de conductivité thermique due à la présence de l'azote sous forme de N_2 est comparée à celle du gaz vecteur (Hélium par exemple), cette différence étant proportionnelle à la teneur élémentaire en azote. Les composés soufrés sous forme de SO_3 sont réduits puis piégés sous forme de SO_2. Les halogènes volatils sont piégés sur la laine d'argent en sortie du tube de réduction. La quantité d'oxygène nécessaire pour assurer une combustion totale des gaz est gérée par la méthode d'analyse de l'appareil. Pour éviter la formation de H_2SO_4 à partir du SO_2 et H_2O ainsi que la condensation de la vapeur d'eau, tous les tubes sont chauffés.

4. Préparation de l'échantillon

Utiliser la fraction des particules des échantillons solides préparés selon la méthode S-I-1 relative au prétraitement des échantillons pour analyse physico-chimiques.
On se référera également à la méthode S-I-3 relative à la détermination de la teneur en matière pondérale en matière sèche et en eau.

5. Appareillage

L'appareillage doit répondre aux exigences fonctionnelles suivantes :
- les conditions de combustion de l'échantillon doivent être telles que l'ensemble du carbone, de l'hydrogène et de l'azote présents doit être converti en dioxyde de carbone, vapeur d'eau (sauf pour l'hydrogène associé à des oxyacides de soufre et des halogénures volatiles) et azote gazeux et/ou oxydes d'azote respectivement.

- les gaz de combustion doivent être traités de sorte à éliminer et/ou séparer tout composant qui interférerait ensuite avec la détection et la mesure du dioxyde de carbone, de la vapeur d'eau ou de l'azote dans le courant gazeux.
- l'hydrogène présent sous forme d'halogénures d'hydrogène ou d'oxyacides de soufre doit être libéré, sous forme de vapeur d'eau, dans le courant gazeux avant la détermination de la teneur en vapeur d'eau.
- tout oxyde d'azote produit par le processus de combustion doit être réduit en azote avant le passage au système de détection
- les systèmes de détection doivent fournir des réponses en corrélation directe avec les concentrations des gaz de combustion, sur toute la plage applicable, et de préférence de manière linéaire
- en cas de réponse non linéaire de la part d'un système de détection, il faut inclure des dispositions permettant d'évaluer cette réponse d'une manière se corrélant précisément avec la concentration du gaz de combustion
- il doit comprendre un moyen permettant d'afficher les réponses du détecteur ou de calculer et présenter les concentrations en carbone, hydrogène et azote dans l'échantillon après la saisie d'autres données le cas échéant

6. Réactifs utilisés

- Gaz vecteur : le gaz vecteur est l'hélium ou un autre gaz approprié selon les indications du fabricant de l'instrument.
- Oxygène
- Réactifs additionnels
- Substances d'étalonnages : substances organiques pures appropriées pour l'étalonnage (ex. : sulfanilamide). Les matériaux doivent être secs et de pureté élevée, à savoir, plus de 99.9%
- Matériaux de référence certifiés (MRC)

7. Mode opératoire

Etalonnage de l'appareil
Si le système analytique est évalué pour la première fois, définir une fonction d'étalonnage pour les mesures selon les instructions opératoires de l'instrument. Si nécessaire, ajuster la fonction d'étalonnage définie durant l'analyse.
Vérifier les performances de l'instrument en réalisant les analyses en double, en utilisant des MRC, des échantillons témoins et créer des graphes de contrôle.

Analyse des échantillons
Peser, à 0.1% près, une quantité d'échantillon d'essai entre 10 mg et 200 mg directement dans la capsule de l'échantillon et procéder à l'analyse en plusieurs répliques selon les instructions opératoires de l'instrument.
A intervalles réguliers entre les échantillons, analyser une substance d'étalonnage, un MRC ou un échantillon témoin interne du laboratoire.
L'échantillon témoin doit avoir une teneur en carbone, hydrogène et azote comparable à celle des échantillons.
Les contrôles d'étalonnage durant un cycle d'analyse peuvent être utilisés pour ajuster la fonction d'étalonnage établie. Il convient que les ajustements ne servent à compenser que de petites dérives en termes de performances de l'instrument.

CWEA 2017

Remarque : tous les échantillons ne s'oxydent pas de la même manière. Certains échantillons comme les hydrocarbures et produits dérivés ont besoin d'un maximum d'oxygène dès l'introduction dans le four car ils s'oxydent instantanément. Par conséquent, il convient d'adapter la quantité d'oxygène par échantillon et par prise d'essai.

8. Calcul

Les teneurs en carbone, hydrogène, azote et soufre de l'échantillon, telles qu'elles sont analysées, doivent être consignées sous forme d'un pourcentage en masse.
Consigner les résultats sur une base sèche en effectuant la moyenne des deux dosages ; Il est nécessaire d'utiliser les équations suivantes pour les calculs sur une base de matière sèche :

pour la teneur en carbone :

$$C_d = C_{ad} \times \frac{100}{100 - M_{ad}}$$

pour la teneur en azote :

$$N_d = N_{ad} \times \frac{100}{100 - M_{ad}}$$

pour la teneur en hydrogène :

$$H_d = \left(H_{ad} - \frac{M_{ad}}{8{,}937}\right) \times \frac{100}{100 - M_{ad}}$$

où

d est la valeur en matière sèche
ad est tel que déterminé lors de l'analyse
M_{ad} est la teneur en humidité de l'échantillon au moment de l'analyse

CWEA 2017

9. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne ;
- L'identification complète de l' échantillon ;
- Les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis ;
- La méthode de dosage ;
- Les résultats de l' essai incluant la basse sur laquelle ils ont été exprimés (cf. point 9);
- Les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

10. Référence

NBN EN 15104 : Biocombustibles solides – Détermination de la teneur totale en carbone, hydrogène et azote – Méthodes instrumentales

CWEA 2017
ORIGINAL 2012

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
D-II-4	3	20/01/2022
Détermination de la concentration en métaux dans les échantillons de bois		

Descriptif		
Paramètre	Eléments en trace métalliques (voir §1)	
Référence normative	NBN EN ISO 16968	2015

Domaine d'application	
Matrice	Déchets de bois (voir §1)

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)		
Incertitude (relative) de la mesure		
Gamme de travail		

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

La présente méthode spécifie la détermination de la concentration en éléments mineurs dans les déchets de bois entrant comme combustible dans une installation de cogénération.
La présente procédure est applicable aux éléments suivants :
Antimoine (Sb), arsenic (As), cadmium (Cd), chrome (Cr), cobalt (Co), cuivre (Cu), plomb (Pb), manganèse (Mn), mercure (Hg), molybdène (Mo), nickel (Ni), vanadium (V) et zinc (Zn).

Le but de cette procédure était de pouvoir classifier les déchets de bois en deux catégories. Cette classification est nécessaire dans le cadre de l'application de l'Arrêté du Gouvernement wallon du 21 février 2013 déterminant les conditions sectorielles relatives aux installations d'incinération et de co-incinération de déchets.

Les deux catégories de déchets de bois sont les suivantes :
- Déchets de bois de type A : biomasse naturelle ou bois non traité provenant de chutes de scieries, écorces d'arbres, palettes usagées, caissettes de fruits et légumes… Les installations utilisant ce type de déchets ne sont pas visées par les normes sectorielles relatives aux installations d'incinération et co-incinération de déchets selon l'AGW du 21 février 2013.
- Déchets de bois de type B : bois traité provenant essentiellement de la démolition des bâtiments et de la récolte d'encombrants (meubles, …), notamment dans les parcs à conteneurs. Ces déchets de bois sont susceptibles de contenir des composés organiques halogénés ou des métaux lourds à la suite d'un traitement avec des conservateurs du bois ou suite à un revêtement. Dès lors, les installations d'incinération ou de co-incinération utilisant ce type de déchets de bois sont soumises à l'AGW du 21 février 2013.

2. Procédure

L'ensemble des prescriptions de la norme de référence internationale NBN EN ISO 16968 :2015 sont d'application, à l'exception des prescriptions spécifiques à la Région wallonne. Ces prescriptions spécifiques s'écartent ou limitent le choix de celles de la norme de référence internationale. Elles sont reprises, en gras, dans le tableau ci-dessous au sein de la colonne « Prescriptions CWEA». Les prescriptions y relatives qui sont reprises dans la norme de référence sont listées, pour information au sein de la colonne « Prescription norme de référence ».

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Préparation de l'échantillon pour essai	
(§ 8 de la norme de référence) Les résultats doivent être calculés sur une base sèche. La teneur en humidité de l'échantillon pour essai doit, par conséquent, être déterminée conformément à l'ISO 18134-3.	Les résultats doivent être calculés sur une base sèche. **Le taux d'humidité est déterminé par titrage direct selon la méthode Karl Fisher (NBN EN 15934).**
Mode opératoire - Minéralisation	
(§ 9.1 de la norme de référence) Dans le récipient de minéralisation, peser entre 400 mg et 500 mg d'échantillon homogénéisé, à 1 mg près; — Ajouter 2,5 ml de peroxyde d'hydrogène (à 30 %) et attendre pendant 1 min à 5 min; — Ajouter 5 ml d'acide nitrique (à 65 %); — Ajouter 0,4 ml d'acide fluorhydrique (à 40 %) et fermer le récipient de minéralisation. Il est possible de ne pas ajouter d'acide fluorhydrique sous réserve qu'il soit possible de prouver que des résultats équivalents peuvent être obtenus pour le type de biocombustible solide concerné. En cas d'utilisation d'acide fluorhydrique, l'instrument utilisé pour l'analyse doit être équipé de composants résistant à cet acide. NOTE 1 Pour cette concentration relativement faible en acide fluorhydrique, la seule modification généralement nécessaire en cas d'utilisation d'instruments d'ICP-OES ou d'ICP-MS consiste à utiliser un nébuliseur résistant à l'acide fluorhydrique. Il est possible que des informations concernant l'utilisation de l'acide fluorhydrique soient données par le fabricant de l'instrument. Dans certains cas, il est possible d'utiliser de l'acide borique pour complexer l'acide fluorhydrique, notamment en cas d'utilisation de méthodes de GF-AAS ou d'ICP-OES. Ce point doit être validé pour l'instrument concerné. Une attention particulière doit être accordée à ce que l'acide borique utilisé présente la pureté nécessaire.	Dans le récipient de minéralisation, peser entre 400 mg et 500 mg d'échantillon homogénéisé, à 1 mg près; — Ajouter 2,5 ml de peroxyde d'hydrogène (à 30 %) et attendre pendant 1 min à 5 min; — Ajouter 5 ml d'acide nitrique (à 65 %); — Ajouter 0,4 ml d'acide fluorhydrique (à 40 %) et fermer le récipient de minéralisation. Il est possible de ne pas ajouter d'acide fluorhydrique sous réserve qu'il soit possible de prouver que des résultats équivalents peuvent être obtenus pour le type de biocombustible solide concerné. En cas d'utilisation d'acide fluorhydrique, l'instrument utilisé pour l'analyse doit être équipé de composants résistant à cet acide. **Après refroidissement, transvaser le minéralisat, ajouter 4 ml d'acide borique saturé (4 %), rincer le récipient de minéralisation et ajuster au volume avec de l'eau déminéralisée.**

Institut scientifique de service public

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

D-II-5V1 - : DÉTERMINATION DE LA PERTE AU FEU DES DÉCHETS, BOUES ET DES SEDIMENTS

1. Objet

La présente méthode de référence spécifie une procédure de détermination de la perte au feu dans des déchets, des boues et des sédiments.

2. Domaine d'application

La présente méthode de référence est applicable à tous les types de déchets, boues et sédiments. La perte au feu est souvent utilisé afin d'évaluer la teneur des déchets, des boues et des sédiments en matière organique non volatile. Il convient de noter que la teneur en carbone élémentaire et la volatilisation de matériaux organiques ou des réactions chimiques au sein de composés inorganiques sont comprises, dans le cas échéant, dans la perte au feu.

3. Définitions

Perte au feu : variation de masse résultant du chauffage d'un échantillon dans des conditions spécifiées. La perte au feu s'exprime en pourcentage en masse de la matière sèche.

Résidu calciné : masse restante après chauffage d'un échantillon dans des conditions spécifiées. Le résidu calciné s'exprime en pourcentage de la matière sèche.

Résidu sec (W_{dr}) : fraction massique d'un échantillon restant après séchage à 105 °C.

Teneur en eau (W_w) : fraction massique d'eau dans un échantillon, déterminé par titrage selon la méthode Karl-Fisher.

Matières sèches (W_{dm}) : fraction massique d'un échantillon, eau exclue, exprimée en pourcentage en masse, calculée à partir de la détermination du résidu sec ou de la teneur en eau.

Masse constante : masse obtenue lorsque la variation de masse au cours d'une période de chauffage supplémentaire d'une heure n'excède pas la plus grande des deux valeurs suivantes : 0.5% (m/m) ou 2 mg.

4. Principe

Une prise d'essais est chauffée dans un four jusqu'à 550 ± 25 °C. La différence de masse avant et après le processus de chauffage est utilisée pour calculer la perte au feu.
La détermination est effectuée sur un échantillon préalablement séché selon l'EN 16179 ou directement sur l'échantillon non séché après une étape de séchage intermédiaire, ou encore en se référant à la matière sèche.

5. Interférences

Il n'y a en principe aucune interférence liée à cette détermination, la perte au feu étant un paramètre empirique. Toutefois, dans de nombreux cas, la détermination est utilisée pour évaluer la teneur en matière organique des échantillons de déchets, de boues et de sédiments. Il convient de noter que toute présence de carbone élémentaire dans l'échantillon est comprise dans la valeur de la perte au feu. De plus, toute volatilisation ou réaction chimique des composés inorganiques est également incluse dans cette valeur :

- De l'eau chimiquement liée ou des métaux volatils (dans les hydroxydes formés au cours du processus d'épuration des gaz brûlés, par exemple) sont susceptibles de se dégager lors du chauffage, contribuant à une surévaluation de la perte au feu.
- Le fer ou autres métaux présents dans l'échantillon à l'état métallique sont susceptibles de s'oxyder lors du chauffage, contribuant à la diminution de la perte au feu.
- Les sulfures présents dans l'échantillon sont susceptibles de s'oxyder en sulfates lors du chauffage, contribuant à la diminution de la perte au feu.

6. Appareillages et matériels utilisés

Creuset : à fond plat, résistant à une température de chauffage pouvant atteindre 550 °C et fabriqué par exemple en porcelaine, silice, nickel ou platine.

Four : permettant le maintien d'une température de 550 ± 25 °C.

Dessiccateur : récipient fermé contenant un agent déshydratant.

Balance analytique : possédant une précision de 1 mg ou mieux.

Plaque métallique : qui permet de laisser refroidir les échantillons avant de les mettre dans le dessiccateur.

7. Réactifs utilisés

Sans objet dans cette procédure.

8. Préparation de l'échantillon

Les échantillons solides sont broyés (en évitant de les chauffer) et réduits à une granulométrie de 250 µm. En l'absence de volatils, les échantillons peuvent être séchés à l'air avant broyage. La température de séchage ne doit pas dépasser 40 °C.

Les échantillons liquides doivent être homogénéisés juste avant le pesage.

Il convient de séparer les corps étrangers ou matériaux non broyables (tels les composants métalliques comme les écrous, les boulons et la ferraille) de l'échantillon et de relever la masse et la nature de ces derniers.

9. Mode opératoire

Préparer un creuset, le placer dans le four et le chauffer à 550 ± 25 °C pendant au moins 20 min. Transférer le creuset du four au dessiccateur après une phase intermédiaire de refroidissement sur une plaque métallique, puis laisser le refroidissement se poursuivre à température ambiante. Peser le creuset vide jusqu'à masse constante au milligramme près (m(a)) sur une balance analytique.

Transférer 1 g de l'échantillon dans le creuset puis peser au milligramme près (m(b)). Des masses plus importantes peuvent être prises si nécessaire.

Introduire le creuset dans le four et le chauffer à 550 ± 25 °C pendant au moins 1 h.
Retirer le creuset très chaud du four et le laisser refroidir à température ambiante sur une tôle propre pendant quelques minutes. Transférer le creuset pendant qu'il est encore chaud dans le dessiccateur, et le laisser finir de refroidir à température ambiante. Peser le creuset contenant le résidu calciné au milligramme près (m(c)) dès que la température ambiante est atteinte.
La calcination peut être considérée comme complète à l'obtention d'une masse constante. Si tel n'est pas le cas à 550 ± 25 °C, noter la valeur déterminée au bout d'un troisième chauffage comme dernière mesure. Ce point doit être signalé dans le rapport d'essai.

Déterminer la matière sèche sur les échantillons exempts de volatils ou la teneur en eau pour les échantillons contenant des volatils selon la norme NBN EN 15934.

10. Expression des résultats

10.1 Perte au feu, échantillons exempts de matières volatiles

$$W_{\mathrm{IOI}} = \left(\frac{m(b) - m(c)}{m(b) - m(a)} X100 - (100 - Wd\mathrm{m}) \right) X \frac{100}{Wdm}$$

Wloi est la perte au feu de l'échantillon en pourcentage de l'échantillon de résidu sec ou exempt d'eau;

Wdm est la teneur en matière sèche de l'échantillon, en pourcentage

m(a) est la masse du creuset vide, en grammes ;

m(b) est la masse du creuset contenant l'échantillon non séché, en grammes;

m(c) est la masse du creuset contenant le résidu calciné, en grammes.

10.2 Perte au feu, échantillons contenant des matières volatiles

$$W_{\text{loi}} = \left(\frac{m(b) - m(c)}{m(b) - m(a)} X100 - Ww\right) X \frac{100}{100 - Ww}$$

Wloi est la perte au feu de l'échantillon en pourcentage de l'échantillon de résidu sec ou exempt d'eau;

Ww est la teneur en eau de l'échantillon, en pourcentage

m(a) est la masse du creuset vide, en grammes ;

m(b) est la masse du creuset contenant l'échantillon non séché, en grammes;

m(c) est la masse du creuset contenant le résidu calciné, en grammes.

11. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne ;
- L'identification complète de l' échantillon ;
- Les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis ;
- Les résultats obtenus ;
- Les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

12. Référence

NBN EN 15169 : Caractérisation des déchets - Détermination de la perte au feu des déchets, des boues et des sédiments.
NBN EN 15934 : Boues, bio-déchets traités, sols et déchets – Calcul de la teneur en matière sèche par détermination du résidu sec ou de la teneur en eau
NBN EN 16179 : Boues, bio-déchets et sols – Lignes directrices pour le prétraitement des échantillons

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
D-II-6.1	1	20/01/2022
Digestion des éléments solubles dans l'eau régale– Méthode à reflux		

Descriptif		
Paramètre	Eléments en trace métalliques (voir §1)	
Référence normative	NBN EN 16174 NBN EN 13657	2012 2002

Domaine d'application	
Matrice	Boues, bio-déchets traités (compost et boues compostées), déchets

Critères de performance	
Limite de quantification (LQ)	Non applicable
Incertitude (relative) de la mesure	Non applicable
Gamme de travail	Non applicable

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

La présente procédure spécifie la méthode de digestion par reflux des boues, biodéchets et déchets avec de l'eau régale comme solution de digestion.
La présente procédure est applicable aux éléments suivants :
Aluminium (Al), antimoine (Sb), arsenic (As), baryum (Ba), béryllium (Be), bismuth (Bi), bore (B), cadmium (Cd), calcium (Ca), cérium (Ce), césium (Cs), chrome (Cr), cobalt (Co), cuivre (Cu), dysprosium (Dy), erbium (Er), europium (Eu), gadolinium (Gd), gallium (Ga), germanium (Ge), or (Au), hafnium (Hf), holmium (Ho), indium (In), iridium (Ir), fer (Fe), lanthane (La), plomb (Pb), lithium (Li), lutétium (Lu), magnésium (Mg), manganèse (Mn), mercure (Hg), molybdène (Mo), néodyme (Nd), nickel (Ni), palladium (Pd), phosphore (P), platine (Pt), potassium (K), praséodyme (Pr), rubidium (Rb), rhénium (Re), rhodium (Rh), ruthénium (Ru), samarium (Sm), scandium (Sc), sélénium (Se), silicium (Si), argent (Ag), sodium (Na), strontium (Sr), soufre (S), tellure (Te), terbium (Tb), thallium (Tl), thorium (Th), thulium (Tm), étain (Sn), titane (Ti), tungstène (W), uranium (U), vanadium (V), ytterbium (Yb), yttrium (Y), zinc (Zn) et zirconium (Zr).

2. Procédure

Les prescriptions spécifiques à la Région wallonne sont reprises dans les normes de référence internationales citées ci-dessous.

Matrice	Norme de référence internationale
Boues	NBN EN 16174 :2012
Bio-déchets traités	
Déchets	NBN EN 13657 :2002

Wallonie

L'ensemble des prescriptions des normes de référence internationales NBN EN ISO 13657 :2002 et NBN EN 16174 :2012 sont d'application, à l'exception des prescriptions spécifiques à la Région wallonne. Ces prescriptions spécifiques s'écartent ou limitent le choix de celles des normes de référence internationales. Elles sont reprises, en gras, dans le tableau ci-dessous au sein de la colonne « Prescriptions CWEA ». Les prescriptions y relatives qui sont reprises dans la norme de référence sont listées, pour information au sein de la colonne « Prescription norme de référence ».

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Prétraitement des échantillons	
(§ 9 de la norme de référence NBN EN 13657 :2002)	**Peser, à 0.01g près, 3g d''échantillon pour essai et les transférer dans un récipient de réaction. Ajouter 22ml d'acide Chlorhydrique et 8 ml d'acide nitrique. Si une autre prise d'essai est utilisée, adapter les volumes des acides en fonction.**
(§ 8 de la norme de référence NBN EN 16174 :2012)	**Le prétraitement comprend la réduction en dessous d'une taille de particule de 250 µm prendre les précautions nécessaires pour éviter la perte d'éléments volatils.**

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
D-II-6.2	1	20/01/2022
Digestion des éléments solubles dans l'eau régale– Méthode assistée par micro-ondes		

Descriptif		
Paramètre	Eléments en trace métalliques (voir §1)	
Référence normative	NBN EN 16174 NBN EN 13657	2012 2002

Domaine d'application	
Matrice	Boues, bio-déchets traités (compost et boues compostées), déchets

Critères de performance	
Limite de quantification (LQ)	Non applicable
Incertitude (relative) de la mesure	Non applicable
Gamme de travail	Non applicable

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

La présente procédure spécifie la méthode de digestion par reflux des boues, biodéchets et déchets avec de l'eau régale comme solution de digestion.
La présente procédure est applicable aux éléments suivants :
Aluminium (Al), antimoine (Sb), arsenic (As), baryum (Ba), béryllium (Be), bismuth (Bi), bore (B), cadmium (Cd), calcium (Ca), cérium (Ce), césium (Cs), chrome (Cr), cobalt (Co), cuivre (Cu), dysprosium (Dy), erbium (Er), europium (Eu), gadolinium (Gd), gallium (Ga), germanium (Ge), or (Au), hafnium (Hf), holmium (Ho), indium (In), iridium (Ir), fer (Fe), lanthane (La), plomb (Pb), lithium (Li), lutétium (Lu), magnésium (Mg), manganèse (Mn), mercure (Hg), molybdène (Mo), néodyme (Nd), nickel (Ni), palladium (Pd), phosphore (P), platine (Pt), potassium (K), praséodyme (Pr), rubidium (Rb), rhénium (Re), rhodium (Rh), ruthénium (Ru), samarium (Sm), scandium (Sc), sélénium (Se), silicium (Si), argent (Ag), sodium (Na), strontium (Sr), soufre (S), tellure (Te), terbium (Tb), thallium (Tl), thorium (Th), thulium (Tm), étain (Sn), titane (Ti), tungstène (W), uranium (U), vanadium (V), ytterbium (Yb), yttrium (Y), zinc (Zn) et zirconium (Zr).

2. Procédure

Les prescriptions spécifiques à la Région wallonne sont reprises dans les normes de référence internationales citées ci-dessous.

Matrice	Norme de référence internationale
Boues	NBN EN 16174 :2012
Bio-déchets traités	
Déchets	NBN EN 13657 :2002

Wallonie

L'ensemble des prescriptions des normes de référence internationales NBN EN ISO 13657 :2002 et NBN EN 16174 :2012 sont d'application, à l'exception des prescriptions spécifiques à la Région wallonne. Ces prescriptions spécifiques s'écartent ou limitent le choix de celles des normes de référence internationales. Elles sont reprises, en gras, dans le tableau ci-dessous au sein de la colonne « Prescriptions CWEA ». Les prescriptions y relatives qui sont reprises dans la norme de référence sont listées, pour information au sein de la colonne « Prescription norme de référence ».

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Prétraitement des échantillons	
(§ 8 de la norme de référence NBN EN 16174 :2012)	**Le prétraitement comprend la réduction en dessous d'une taille de particule de 250 µm prendre les précautions nécessaires pour éviter la perte d'éléments volatils.**

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
D-II-7.1	1	20/01/2022

Dosage des éléments traces solubles dans l'eau régale présents dans les boues, bio-déchets traités par spectrométrie d'émission atomique avec plasma induit par haute fréquence (ICP MS)

Descriptif		
Paramètre	Voir §1	
Référence normative	NBN EN 16171	2016

Domaine d'application	
Matrice	Boues, bio-déchets traités (compost et boues compostées)

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)		mg/l
Incertitude (relative) de la mesure		%
Gamme de travail		mg/l

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

La présente procédure spécifie une méthode de dosage d'éléments traces dans des solutions de digestion du solide à l'eau régale obtenues conformément à la méthode **D-II-6.1 ou D-II-6.2** par ICP-MS.
La présente procédure est applicable aux éléments suivants :

Aluminium (Al), antimoine (Sb), arsenic (As), baryum (Ba), béryllium (Be), bismuth (Bi), bore (B), cadmium (Cd),calcium (Ca), cérium (Ce), chrome (Cr), cobalt (Co), cuivre (Cu), dysprosium (Dy), erbium (Er), europium (Eu), gadolinium (Gd), gallium (Ga), germanium (Ge), or (Au), hafnium (Hf), holmium (Ho), indium (In), iridium (Ir), fer(Fe), lanthane (La), plomb (Pb), lithium (Li), lutécium (Lu), magnésium (Mg), manganèse (Mn), mercure (Hg),molybdène (Mo), néodyme (Nd), nickel (Ni), palladium (Pd), phosphore (P), platine (Pt), potassium (K),praséodyme (Pr), rhénium (Re), rhodium (Rh), rubidium (Rb), ruthénium (Ru), samarium (Sm), scandium (Sc),sélénium (Se), silicium (Si), argent (Ag), sodium (Na), strontium (Sr), soufre (S), tellure (Te), terbium (Tb),thallium (Tl), thulium (Tm), étain (Sn), titane (Ti), tungstène (W), uranium (U), vanadium (V), ytterbium(Yb),yttrium (Y), zinc (Zn) et zirconium (Zr).

2. Procédure

Les prescriptions spécifiques à la Région wallonne sont reprises dans la norme de référence internationale :

Matrice	Norme de référence internationale
Boues	NBN EN 16171 :2016
Bio-déchets traités	

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
D-II-7.2	1	20/01/2022

Dosage des éléments traces solubles dans l'eau régale présents dans les boues, bio-déchets traités et les déchets par spectrométrie d'émission atomique avec plasma induit par haute fréquence (ICP AES)

Descriptif		
Paramètre	Eléments en trace métalliques (voir §1)	
Référence normative	NBN EN 16170	2016

Domaine d'application	
Matrice	Boues, bio-déchets traités (compost et boues compostées), déchets

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)		
Incertitude (relative) de la mesure		
Gamme de travail		

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

La présente procédure spécifie une méthode permettant de doser les éléments traces dans des solutions d'extraction de déchet par spectrométrie d'émission atomique avec plasma induit par haute fréquence (ICP-AES).
La présente procédure est applicable aux éléments suivants :
Aluminium (Al), antimoine (Sb), arsenic (As), baryum (Ba), béryllium (Be), bismuth (Bi), bore (B), cadmium (Cd), calcium (Ca), cérium (Ce), césium (Cs), chrome (Cr), cobalt (Co), cuivre (Cu), dysprosium (Dy), erbium (Er), europium (Eu), gadolinium (Gd), gallium (Ga), germanium (Ge), or (Au), hafnium (Hf), holmium (Ho), indium (In), iridium (Ir), fer (Fe), lanthane (La), plomb (Pb), lithium (Li), lutétium (Lu), magnésium (Mg), manganèse (Mn), mercure (Hg), molybdène (Mo), néodyme (Nd), nickel (Ni), palladium (Pd), phosphore (P), platine (Pt), potassium (K), praséodyme (Pr), rubidium (Rb), rhénium (Re), rhodium (Rh), ruthénium (Ru), samarium (Sm), scandium (Sc), sélénium (Se), silicium (Si), argent (Ag), sodium (Na), strontium (Sr), soufre (S), tellure (Te), terbium (Tb), thallium (Tl), thorium (Th), thulium (Tm), étain (Sn), titane (Ti), tungstène (W), uranium (U), vanadium (V), ytterbium (Yb), yttrium (Y), zinc (Zn) et zirconium (Zr).

2. Procédure

Les prescriptions spécifiques à la Région wallonne sont reprises dans les normes de référence internationales citées ci-dessous.

Matrice	Norme de référence internationale
Boues	NBN EN 16170 :2016
Bio-déchets traités	
Déchets	Pas de norme spécifique mais la NBN EN 16170 :2016 peut être appliquée

Wallonie

L'ensemble des prescriptions de la norme de référence internationale NBN EN 16170 :2016 sont d'application, à l'exception des prescriptions spécifiques à la Région wallonne. Ces prescriptions spécifiques s'écartent ou limitent le choix de celles de la norme de référence internationale. Elles sont reprises, en gras, dans le tableau ci-dessous au sein de la colonne « Prescriptions CWEA». Les prescriptions y relatives qui sont reprises dans la norme de référence sont listées, pour information au sein de la colonne « Prescription norme de référence ».

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Etalonnage	
(§ 7.4.1 de la norme de référence) **Fonction d'étalonnage linéaire** Si plus de deux niveaux de concentration sont utilisés, y compris le niveau zéro, appliquer la régression linéaire pondérée pour obtenir la fonction d'étalonnage linéaire. Si une régression linéaire pondérée est impossible, appliquer la régression linéaire passant par la valeur du blanc ou par zéro. Dans ce dernier cas, vérifier régulièrement en analysant un échantillon à blanc que l'hypothèse de l'absence d'une valeur de blanc est justifiée. Un étalonnage à deux points est admis si la fonction d'étalonnage est linéaire, ce qui est généralement le cas. Vérifier régulièrement la linéarité avec une solution d'étalonnage de dilution connue.	**Utiliser minimum 5 niveaux de concentration y compris le niveau zéro et appliquer la régression linéaire.**

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
D-II-8.1	1	20/01/2022

Dosage du mercure soluble dans l'eau régale présent dans les boues, bio-déchets traités et les déchets par Spectrométrie d'absorption atomique de vapeur froide (SAA-VP)

Descriptif		
Paramètre	Mercure (Hg)	
Référence normative	NBN EN 16175-1	2016

Domaine d'application	
Matrice	Boues, bio-déchets traités (compost et boues compostées), déchets

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)		
Incertitude (relative) de la mesure		
Gamme de travail		

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

La présente procédure spécifie une méthode permettant de doser le mercure (Hg) dans des solutions d'extraction de déchet par Spectrométrie d'absorption atomique de vapeur froide (SAA-VP).

2. Procédure

Les prescriptions spécifiques à la Région wallonne sont reprises dans les normes de référence internationales citées ci-dessous.

Matrice	Norme de référence internationale
Boues	NBN EN 16175-1 :2016
Bio-déchets traités	
Déchets	Pas de norme spécifique mais la NBN EN 16175-1 :2016 peut être appliquée

L'ensemble des prescriptions de la norme de référence internationale NBN EN 16175 :2016 sont d'application, à l'exception des prescriptions spécifiques à la Région wallonne. Ces prescriptions spécifiques s'écartent ou limitent le choix de celles de la norme de référence internationale. Elles sont reprises, en gras, dans le tableau ci-dessous au sein de la colonne « Prescriptions CWEA». Les prescriptions y relatives qui sont reprises dans la norme de référence sont listées, pour information au sein de la colonne « Prescription norme de référence ».

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Principe	
(§ 3 de la norme de référence) Le mercure monovalent et bivalent est réduit à l'état élémentaire par du chlorure d'étain(II) ou du borohydrure de sodium dans un milieu acide. Le mercure élémentaire est extrait de la solution dans un système fermé. La vapeur de mercure, sous forme d'un gaz atomique, traverse une cellule placée dans le trajet optique d'un spectromètre d'absorption atomique. Son absorbance à une longueur d'onde de 253,7 nm est mesurée. Le signal d'absorbance est fonction de la concentration en mercure et les concentrations sont calculées à l'aide d'une courbe d'étalonnage.	**Il est recommandé d'utiliser le chlorure d'étain (II) comme substance réductrice.**

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
D-II-8.2	1	20/01/2022

Dosage du mercure soluble dans l'eau régale présent dans les boues, bio-déchets traités et les déchets par Spectrométrie de fluorescence atomique de vapeur froide (SFA-VP)

Descriptif		
Paramètre	Mercure (Hg)	
Référence normative	NBN EN 16175-2	2016

Domaine d'application	
Matrice	Boues, bio-déchets traités (compost et boues compostées), déchets

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)		
Incertitude (relative) de la mesure		
Gamme de travail		

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

La présente procédure spécifie une méthode permettant de doser le mercure dans des solutions d'extraction de déchet par spectrométrie de fluorescence atomique de vapeur froide

2. Procédure

Les prescriptions spécifiques à la Région wallonne sont reprises dans les normes de référence internationales citées ci-dessous.

Matrice	Norme de référence internationale
Boues	NBN EN 16175-2 :2016
Bio-déchets traités	
Déchets	Pas de norme spécifique mais la NBN EN 16175-2 :2016 peut être appliquée

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
D-II-9.1	1	20/01/2022
Dosage des cyanures totaux		

Descriptif		
Paramètre	Cyanures totaux (CN)	
Référence normative	ISO 11262	2011

Domaine d'application	
Matrice	Déchets

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)		mg/kg
Incertitude (relative) de la mesure		%
Gamme de travail		m/kg

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

La présente procédure spécifie une méthode de dosage des cyanures totaux (CN).

2. Procédure

Les prescriptions spécifiques à la Région wallonne sont reprises dans la norme de référence internationale ISO 11262 :2011.

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

Méthode	Version	Date d'entrée en vigueur
D-II-9.2	1	20/01/2022

Dosage du des cyanures aisément libérables et totaux – Méthode d'analyse en flux continu

Descriptif		
Paramètre	Cyanures aisément libérables et totaux (CN)	
Référence normative	NBN EN ISO 17380	2013

Domaine d'application	
Matrice	Déchets

Critères de performance		
Limite de quantification (LQ)		mg/kg
Incertitude (relative) de la mesure		%
Gamme de travail		mg/kg

(a) source norme de référence
(b) source laboratoire ISSeP : incertitude élargie par combinaison de la reproductibilité intralaboratoire et du biais de la méthode selon la norme ISO 11352:2012
(c) source laboratoire ISSeP : Validation de la méthode

Wallonie

ISSeP
Institut scientifique de service public

1. Objet

La présente procédure spécifie une méthode de dosage des cyanures aisément libérables et totaux.

2. Procédure

L'ensemble des prescriptions de la norme de référence internationale NBN EN ISO 17380 :2013 sont d'application, à l'exception des prescriptions spécifiques à la Région wallonne. Ces prescriptions spécifiques s'écartent ou limitent le choix de celles de la norme de référence internationale. Elles sont reprises, en gras, dans le tableau ci-dessous au sein de la colonne « Prescriptions CWEA». Les prescriptions y relatives qui sont reprises dans la norme de référence sont listées, pour information au sein de la colonne « Prescription norme de référence ».

Prescriptions de la norme de référence	Prescriptions CWEA
Mode opératoire	
(§9 de la norme de référence)	**Un dopage est systématiquement utilisé pour confirmer les résultats (1 échantillon par type de matrice). Un ajout de dopage par rapport au dosage d'origine doit avoir un rendement de 80 à 120 %.**

3. Informations de révision

Les principales modifications apportées à cette procédure par rapport à la version précédente sont : /

Wallonie

GLOSSAIRE

Remarque préliminaire : les définitions des différents termes repris ci-dessous n'ont pas pour but d'être exhaustives mais de donner leurs significations dans l'optique du CWEA.

1. MATIERES / MATERIAUX

• 1.1. EAU

AQUIFERE : une ou plusieurs couches souterraines de roche ou d'autres couches géologiques d'une porosité et d'une perméabilité suffisantes pour permettre soit un courant significatif d'eau souterraine, soit le captage de quantités importantes d'eau souterraine. (Source : DCE)

BASSIN HYDROGRAPHIQUE : toute zone dans laquelle toutes les eaux de ruissellement convergent à travers un réseau de rivières, fleuves et éventuellement de lacs vers la mer, dans laquelle elles se déversent par une seule embouchure, estuaire ou delta. (Source : DCE)

BON ETAT CHIMIQUE D'UNE EAU DE SURFACE : l'état chimique requis pour atteindre les objectifs environnementaux fixés à l'article D.22, § 1er, 1°, pour les eaux de surface, c'est-à-dire l'état chimique atteint par une masse d'eau de surface dans laquelle les concentrations de polluants ne dépassent pas les normes de qualité environnementale fixées par le Gouvernement. (Source : DCE)

BON ETAT D'UNE EAU DE SURFACE : l'état atteint par une masse d'eau de surface lorsque son état écologique et son état chimique sont au moins "bons". (Source : DCE)

BON ETAT D'UNE EAU SOUTERRAINE : l'état atteint par une masse d'eau souterraine lorsque son état quantitatif et son état chimique sont au moins "bons" en vertu des dispositions du présent Code. (Source : DCE)

BON ETAT ECOLOGIQUE : l'état d'une masse d'eau de surface, classé conformément à l'annexe VI de la partie décrétale. (Source : DCE)

COLLECTEURS : conduites reliant les réseaux d'égouts aux emplacements prévus ou prévisibles pour réaliser l'épuration des eaux usées. (Source : DCE)

COURS D'EAU NON NAVIGABLES : les rivières et ruisseaux non classés par le Gouvernement parmi les voies navigables, en aval du point où la superficie de l'ensemble des terres dont l'évacuation des eaux est assurée par le cours d'eau atteint au moins 100 hectares. Ce point s'appelle origine du cours d'eau. (Source : DCE)

DEVERSEMENT D'EAUX USEES : introduction d'eaux usées dans une eau souterraine ou dans une eau de surface par canalisations ou par tout autre moyen à l'exception du ruissellement naturel des eaux pluviales. (Source : DCE)

DIRECTIVE CADRE SUR L'EAU (DCE) : désignée administrativement sous l'appellation de directive 2000/60/CE ; elle a pour but de doter l'Union européenne d'un ensemble législatif sur l'eau, cohérent en termes de protection et de gestion de la ressource dans le cadre d'un développement durable. (Source : http://www.futura-sciences.com/fr/definition/t/developpement-durable-2/d/directive-cadre-sur-leau_7215/)

ORIGINAL 2014

EAU DESTINEE A LA CONSOMMATION HUMAINE : les eaux, soit en l'état, soit après traitement, destinées à la boisson, à la cuisson, à la préparation d'aliments, ou à d'autres usages domestiques, quelle que soit leur origine, et qu'elles soient fournies par un réseau de distribution par canalisations ou à partir d'une prise d'eau privée, d'un camion-citerne ou d'un bateau-citerne **[**ou fournies en bouteilles ou en conteneurs lorsqu'elles sont destinées à être utilisées à des fins non commerciales**]**(4), ainsi que les eaux fournies aux établissements alimentaires à partir d'un réseau de distribution avant toute manipulation ou tout traitement dans ces établissements. (Source : DCE)

EAU DE PLUIE : eau provenant des précipitations atmosphériques et qui ne s'est pas encore chargée de substances solubles provenant de la terre. (Source : ISO 6107-1 :2004)

EAU DE REFROIDISSEMENT : les eaux qui sont utilisées dans l'industrie pour le refroidissement en circuit ouvert et qui ne sont pas entrées en contact avec les matières à refroidir. (Source : DCE)

EAUX DE SURFACE (EAU SUPERFICIELLE) :

- Les eaux intérieures, à l'exception des eaux souterraines, les eaux de transition et les eaux côtières, sauf en ce qui concerne leur état chimique, pour lequel les eaux territoriales sont également incluses. (Source : DCE)

- Toute eau située en surface incluant : lacs, baies, bassins, réservoirs accumulateurs, sources, fleuves, cours d'eau, ruisseaux, estuaires, terrains marécageux, goulets, canaux, océans dans les limites territoriales pertinentes, et toutes les autres masses d'eau, naturelles ou artificielles, intérieures ou côtières, douces ou salées. (Source : ISO 11074 :2005)
  Note 1 : cependant, le détail des définitions légales varie d'un pays à un autre et de plus, ce terme est utilisé pour différents concepts.
  Note 2 : en fonction des conditions climatiques, l'eau peut être liquide ou solide.

EAUX DE SURFACE ORDINAIRES : les eaux des voies navigables, les eaux des cours d'eau non navigables, y compris leurs parcours souterrains, les ruisseaux et rivières, même à débit intermittent en amont du point où ils sont classés comme cours d'eau non navigables, les eaux des lacs, des étangs et autres eaux courantes et stagnantes à l'exception des eaux des voies artificielles d'écoulement. (Source : DCE)

EAU INDUSTRIELLE : toute eau utilisée pour un procédé industriel ou au cours de celui-ci. (Source : ISO 6107-1 :2004)

EAUX POTILISABLES : toutes eaux souterraines ou de surface qui, naturellement ou après un traitement approprié physico-chimique ou microbiologique, est destinée à être distribuée pour être bue sans danger pour la santé. (Source : DCE)

EAU RESIDUAIRE DOMESTIQUE (EAU USEE) : eau provenant des rejets d'une collectivité. (Source : ISO 6107-1 :2004)

EAU RESIDUAIRE EPUREE (EAU USEE EPUREE) : eau usée (eau résiduaire) ayant subi une épuration partielle ou totale destinée à minéraliser les substances organiques ou autres qu'elle contient. (Source : ISO 6107-1 :2004)

EAU RESIDUAIRE INDUSTRIELLE : eau rejetée après son utilisation dans un procédé industriel ou après sa production au cours de ce procédé, et qui n'a aucune valeur immédiate en ce qui concerne ce procédé. (Source : ISO 6107-1 :2004)

ORIGINAL 2014

EAU SOUTERRAINE :

- Eau qui est retenue, et qui peut généralement être récupérée, au sein d'une formation souterraine. (Source : ISO 6107-1 :2004)
  Note : les eaux souterraines englobent généralement toute eau, à l'exception de l'eau capillaire, sous la surface du sol ou sous le lit de tout cours d'eau, lac, réservoir ou autre masse d'eau de surface, quelle que soit la formation ou la structure géologique comportant ladite eau ; l'eau constituant les lits des cours d'eau, etc. étant souvent exclue.

- Toutes les eaux se trouvant sous la surface du sol dans la zone de saturation et en contact direct avec le sol ou le sous-sol. (Source : DCE)

EAUX USEES :

- eaux polluées artificiellement ou ayant fait l'objet d'une utilisation, en ce compris les eaux de refroidissement;
- eaux de ruissellement artificiel d'origine pluviale;
- eaux épurées en vue de leur rejet. (Source : DCE)

EAU USEE BRUTE : eau usée non traitée. (Source : ISO 6107-1 :2004)

EAU USEE PLUVIALE : mélange d'eau usée et d'eau de surface provenant de fortes pluies ou de neige (glace) fondue. (Source : ISO 6107-1 :2004)

EFFLUENT : eau ou eau résiduaire provenant d'une enceinte fermée, telle qu'une station de traitement, un complexe industriel ou un étang d'épuration. (Source : ISO 6107-1 :2004)

EFFLUENT D'EAU RESIDUAIRE (EFFLUENT D'EAU USEE) : rejet d'eau usée épurée dans une station d'épuration. (Source : ISO 6107-1 :2004)

LogP : aussi appelé Log Kow, est une mesure de la solubilité différentielle de composés chimiques dans deux solvants (coefficient de partage octanol/eau).
Le LogP est égal au logarithme du rapport des concentrations de la substance étudiée dans l'octanol et dans l'eau.

$$LogP = Log\left(\frac{C_{oct}}{C_{eau}}\right)$$

Cette valeur permet d'appréhender le caractère hydrophile ou hydrophobe (lipophile) d'une molécule. En effet, si le LogP est positif et très élevé, cela exprime le fait que la molécule considérée est bien plus soluble dans l'octanol que dans l'eau, ce qui reflète son caractère lipophile, et inversement. Un logP nul signifie que la molécule est aussi soluble dans un solvant que dans un autre. Le log D est une mesure plus raffinée du LogP tenant compte de la modification de celui-ci en fonction du pH de la phase aqueuse et du pKa du composé étudié. (Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/LogP)

MASSE D'EAU DE SURFACE : une partie distincte et significative des eaux de surface telles qu'un lac, un réservoir, une rivière, un fleuve ou un canal, une partie de rivière, de fleuve ou de canal, une eau de transition ou une portion d'eaux côtières. (Source : DCE)

MASSE D'EAU SOUTERRAINE : un volume distinct d'eau souterraine à l'intérieur d'un ou de plusieurs aquifères. (Source : DCE)

NORME DE QUALITE ENVIRONNEMENTALE : d'un polluant ou d'un groupe de polluants dans l'eau, les sédiments ou le biote qui ne doit pas être dépassée, afin de protéger la santé humaine et l'environnement. (Source : Directive 2000/60/CE)

ORIGINAL 2014

OUVRAGES DE PRISES D'EAU : tous les puits, captages, drainages et, en général, tous les ouvrages et installations ayant pour objectif ou pour effet d'opérer une prise d'eau, y compris les captages de sources à l'émergence. (Source : DCE)

PNEC : est un acronyme signifiant « Predicted No Effect Concentration », valeur définissant le seuil utilisé en évaluation des risques environnementaux des substances chimiques. (Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/PNEC)

POLLUTION : l'introduction directe ou indirecte, par suite de l'activité humaine, de substances ou de chaleur dans l'air, l'eau ou le sol, susceptibles de porter atteinte à la santé humaine ou à la qualité des écosystèmes aquatiques ou des écosystèmes terrestres dépendant directement des écosystèmes aquatiques, qui entraînent des détériorations aux biens matériels, une détérioration ou une entrave à l'agrément de l'environnement ou à d'autres utilisations légitimes de ce dernier. (Source : DCE)

RACCORDEMENT : ensemble des canalisations et appareillages utilisés pour l'alimentation en eau d'un immeuble, depuis la prise effectuée sur la conduite mère du distributeur jusqu'au compteur inclus. (Source : DCE)

RIVIERE : une masse d'eau intérieure coulant en majeure partie sur la surface du sol mais qui peut couler en sous-sol sur une partie de son parcours. (Source : DCE)

VALEURS GUIDES : valeurs paramétriques auxquelles les eaux de surface, dans une zone déterminée, devront être conformes dans un délai qui n'est pas déterminé. (Source : DCE)

VALEURS IMPERATIVES : valeurs paramétriques auxquelles les eaux de surface, dans une zone déterminée, doivent être conformes soit immédiatement, soit dans un délai déterminé. (Source : DCE)

VALEURS LIMITES D'EMISSION : la masse, exprimée en fonction de certains paramètres spécifiques, la concentration et/ou le niveau d'une émission à ne pas dépasser au cours d'une ou de plusieurs périodes données. Les valeurs limites d'émission peuvent être fixées également pour certains groupes, familles ou catégories de substances. (Source : DCE)

VALEURS PARAMETRIQUES : mesures des différentes caractéristiques d'un paramètre. (Source : DCE)

VOIES HYDRAULIQUES : voies d'eau proprement dites, constituées par un cours d'eau classé par le Gouvernement parmi les voies navigables ou un canal, et ses dépendances, lesquelles comprennent les terrains, les ouvrages et les constructions destinés à en assurer le maintien, l'utilisation et l'exploitation, ainsi que celles qui contribuent au régime des eaux ou qui servent au passage des bateaux. Les voies hydrauliques comprennent également les barrages réservoirs et leurs dépendances. (Source : DCE)

ORIGINAL 2014

- **1.2. SOL**

CARACTERISATION DU SOL : détermination des propriétés physiques, chimiques et biologiques pertinentes du sol. (Source : ISO 11074 :2005)

CONTAMINANT : substance ou agent présent dans le sol du fait de l'activité humaine. (Source : ISO 11074 :2005)
Note : la présente définition ne présuppose pas de l'existence d'un danger dû à la présence du contaminant, voir également polluant.

CONTAMINATION CROISEE : résultat indésirable provenant :
- du mélange accidentel de matériaux provenant de différents horizons/couches de sol, lors du prélèvement de l'échantillon ;
- de l'adjonction de substances chimiques dans un échantillon de sol par les dispositifs d'échantillonnage, conteneurs, réactifs de conservation, conditions de transport, moyens de préparation ainsi qu'au cours de l'analyse. (Source : ISO 11074 :2005)

CONTAMINATION RESIDUELLE : quantité ou concentration de contaminant restant dans un milieu déterminé après remédiation. (Source : ISO 11074 :2005)

EXCAVATION : extraction de sol, remblais, sédiments, etc. pour traitement ou mise en décharge. (Source : ISO 11074 :2005)

Koc : coefficient de partage carbone organique/eau, donne une indication sur l'aptitude de la molécule à être adsorbée ou désorbée sur la matière organique. Il représente le potentiel de rétention de cette substance active sur la matière organique du sol. (Source : http://fr.wikipedia.org/wiki/Koc)

SOL :
- Couche supérieure de la croûte terrestre transformée par des processus climatiques, physico-chimiques et biologiques. Elle est composée de particules minérales, de matière organique, d'eau, d'air et d'organismes vivants organisés dans des horizons de sols génétiques. (Source : ISO 11074 :2005)
  Note : dans un sens plus large utilisée en génie civil, le terme « sol » inclut le sol superficiel et le sous-sol ; les dépôts tels que les argiles, limons, sables, graviers, gravillons, pierres ainsi que les dépôts organiques tels que la tourbe ; mais aussi les matériaux d'origine naturelle ou d'origine anthropique.

- Terrain considéré du point de vue de sa nature et de ses qualités productives. Le développement du sol se propage avec le temps en couches superposées appelées *horizons* formant un *profil pédologique*.
  Les différents types de sols sont caractérisés par différents types de profils, successions de ces horizons qui se développent différemment suivant le climat, le milieu, la nature de la roche sous-jacente et la végétation.

  La texture du sol est déterminée par le diamètre des particules :
  Argile ≤ 2microns
  Limon entre 2 microns et 63 microns
  Sable entre 63 microns et 2 millimètres
  Gravier >2 millimètres

  Le comportement de ces différentes textures de sols sera différent du point de vue de la rétention d'eau. Ainsi, avec 20% d'eau un sol sableux sera mouillé, un sol marneux sera humide et un sol argileux sera sec, autrement dit la perméabilité diminue avec le diamètre des grains.

ORIGINAL 2014

Les horizons organiques ou humus différent en fonction de la saturation en eau et de la litière végétale.

SOL ARTIFICIEL : sols constitués par de la terre excavée, des matériaux de dragage, des matériaux artificiels, et des matériaux de sols traités et de remblayage. (Source : ISO 11074 :2005)

SOL DEGRADE : sol dont les propriétés naturelles et les fonctions du sol ou les potentialités agronomiques ont été dégradées par une contamination, par des actions physiques ou autres. (Source : ISO 11074 :2005)

SOL TRAITE : sol soumis in situ à une méthode de traitement. (Source : ISO 11074 :2005)

SOL TYPE : sol prélevé sur le terrain dont les principales propriétés (par exemple pH, texture, teneur en matières organiques) se situent dans une gamme connue. (Source : ISO 11074 :2005)

TERRE AGRICOLE : C'est une zone où les principales activités sont issues de la culture de la terre, c'est-à-dire que la terre est utilisée pour la production d'aliments : végétaux ou animaux (culture et élevage). (Source : ISO 11074 :2005)

TERRE EXCAVEE : tout type de matériau naturel extrait du sol, mis au jour généralement lors de chantiers, incluant l'horizon superficiel, les horizons sous-jacents, la roche mère altérée et la roche mère elle-même. (Source : ISO 11074 :2005)

ORIGINAL 2014

- **1.3. DECHETS**

BOUE :

- Matières solides accumulées, après leur séparation, par des procédés naturels ou artificiels, des divers types d'eau qui les contiennent (ISO 6107 :2004)

- En sédimentologie, la **boue** est un mélange d'eau et de particules sédimentaires fines de limons et d'argiles.

BOUE DE CURAGE : Les ***boues de curage*** (ou de dragage) sont le produit de l'entretien des canaux ou des chenaux estuaires ou portuaires. (Source : NBN EN 13965-1 :2005)

Après le curage, par une drague, ou par suçage, ces boues sont généralement disposées sur des terrains de dépôt où elles sècheront lentement.

L'expression boue de curage peut aussi désigner les boues issues du curage des égouts ou fosses septiques. Ces dernières sont généralement plus polluées et plus à risque concernant le développement de micro-organismes provoquant diverses maladies.

BOUE D'EPURATION (urbaines ou industrielles) : Matières résiduaires générées lors de l'épuration des eaux usées domestiques ou industrielles.
On y retrouve en part relativement égale les micro-organismes de l'épuration, des matières organiques apportées par les eaux usées qui n'ont pas toutes été dégradées dans la station d'épuration et dela matière minérale de même origine.
On distingue différents types de boues selon les traitements appliqués pour épurer l'eau dans un milieu boueux.

CENDRE VOLANTE : matière solide entrainée par les fumées. (Source : NBN EN 13965-1 :2005)

COMPOST : matière résultant du compostage de matières organiques.

Le **compostage** peut être défini comme un processus de décomposition biologique autotherme et thermophile en présence d'oxygène et dans des conditions contrôlées de matières organiques sous l'action de micro- et de macro-organismes, afin de produire une matière humique stable hygiénisée, riche en matière organique et appelée compost**.**

DECHET : Usuellement, un déchet désigne la quantité perdue dans l'usage d'un produit, ce qui reste après l'utilisation.

La Convention de Bâle sur le contrôle transfrontaliers de déchets dangereux, entend par déchets « les substances ou objets qu'on élimine, qu'on a l'intention d'éliminer ou qu'on est tenu d'éliminer en vertu de dispositions du droit national ».

L'Union européenne, dans sa Directive 2006/12/CE effective jusqu'au 12 décembre 2010, définit le déchet comme « toute substance ou tout objet dont le détenteur se défait ou dont il a l'intention de se défaire ».

La Directive 2008/98/CE identifie trois types de déchets :

- les déchets, ou toute substance ou tout objet dont le détenteur se défait ou dont il a l'intention ou l'obligation de se défaire,

ORIGINAL 2014

- les déchets dangereux désignant tout déchet qui présente une ou plusieurs des propriétés dangereuses énumérées à l'annexe III de ladite directive,
- les biodéchets représentent les déchets biodégradables de jardin ou de parc, les déchets alimentaires ou de cuisine issus des ménages, des restaurants, des traiteurs ou des magasins de vente au détail, ainsi que les déchets comparables provenant des usines de transformation de denrées alimentaires.

DECHET AQUEUX (DECHET LIQUIDE) : déchet liquide composé principalement d'eau. (Source : NBN EN 13965-1 :2005)
Note : La norme NBN EN 12457 donne comme définition du déchet liquide : déchet qui s'écoule en totalité par un orifice calibré jusqu'au niveau du haut de l'orifice en une durée limitée, inférieure à 8 h (+ voir annexe B de cette norme « Essai permettant de déterminer si le déchet est à l'état liquide »).

DECHET BIODEGRADABLE : déchet pouvant subir une décomposition anaérobie ou aérobie. (Source : NBN EN 13965-1 :2005)
Exemple : les déchets de cuisine et les déchets de jardin, ainsi que le papier et le carton.

DECHET BOUEUX : déchet semi-solide mais qui reste fluide en raison de sa teneur en liquide. (Source : NBN EN 13965-1 :2005)

DECHET COMPOSTABLE : déchet pouvant être traité par compostage. (Source : NBN EN 13965-1 :2005)
Note : normalement, les matériaux organiques biodégradables sont compostables, mais il convient de prendre en considération d'autres aspects tels que la toxicité au regard de l'utilisation ultérieure.

DECHET DANGEREUX : - les déchets figurant sur une liste établie conformément à la procédure prévue à l'article 18 de la Directive 75/442/CEE et sur la base des annexes I et II de cette directive ;
- tout autre déchet dont un état membre estime qu'il possède l'une des caractéristiques énumérées à l'annexe III. (Voir l'annexe A.5, Directive du Conseil 91/689/CEE, Article 1.4.) (Source : NBN EN 13965-1 :2005)

DECHET D'AMIANTE : déchet contenant une quantité notable d'amiante. (Source : NBN EN 13965-1 :2005)
Note : la valeur de « notable » peut être définie par une réglementation.

DECHET DE BROYAGE : déchet provenant d'un broyage réalisé après récupération des éléments valorisables. (Source : NBN EN 13965-1 :2005)

DECHET DE FILTRATION : déchet solide ou semi-solide formé lors de l'élimination partielle ou totale de la phase liquide d'un fluide contenant des déchets en suspension ou un déchet boueux. (Source : NBN EN 13965-1 :2005)

DECHET DEGRADABLE : déchet composé principalement de matière organique dégradable par voie physique, chimique ou biologique. (Source : NBN EN 13965-1 :2005)

DECHET ELECTRIQUE ET ELECTRONIQUE : déchet d'équipements électriques ou électroniques en fin de vie. (Source : NBN EN 13965-1 :2005)
Note 1 : il est recommandé de consulter la Directive 2002/96/CE du Parlement européen et du Conseil sur les équipements électriques et électroniques en fin de vie.
Note 2 : cette notion comprend les déchets de produits bruns (hi-fi, vidéo, téléphonie), les déchets d'appareils ménagers et les déchets d'ordinateur.

ORIGINAL 2014

DECHET SOLIDE : déchet composé majoritairement d'un matériau possédant les propriétés d'un solide. (Source : NBN EN 13965-1 :2005)

DIGESTATS : matière qui résulte de la fermentation anaérobie de matières organiques dans un digsteur. Le digestat est constitué de bactéries excédentaires, de matières organiques non dégradées et de matières minéralisées.

La **Biotméthanisation** peut être définie comme un processus de décomposition biologique de matières organiques en l'absence d'oxygène – fermentation anaérobie – et dans des conditions contrôlées, sous l'action de micro-organismes.

EAU DE PERCOLATION : infiltration qui s'écoule dans le sol ou un autre milieu poreux sous l'action d'une pression ou d'une force matricielle, voire des deux. (Source : ISO 11074 :2005)

ESSAI DE LIXIVIATION : essai au cours duquel un matériau est mis en contact avec un lixiviant (généralement de l'eau) et certains constituants du matériau sont extraits. (Source : NBN EN 13965-1 :2005)

HUILE USAGEE : huile industrielle ou lubrifiante à base minérale, qui est devenue impropre à l'usage auquel elle était initialement destinée. (Voir annexe A.2, Directive du Conseil 81/101/CEE, Article 1.) (Source : NBN EN 13965-1 :2005)

LIXIVIAT : solution récupérée à l'issue d'un essai de lixiviation. (Source : NBN EN 13965-1 :2005)

PERCOLAT : liquide filtrant par percolation des déchets mis en décharge et s'écoulant d'une décharge ou contenu dans celle-ci. (Voir l'annexe A. 7, Directive du Conseil 1999/31/CE, Article 2.e.) (Source : NBN EN 13965-1 :2005)

MACHEFER : résidus de combustion recueillis à la sortie basse d'un four d'incinération. (Source : NBN EN 13965-1 :2005)

MATERIAU DE DRAGAGE : Matériaux du sol provenant de l'approfondissement et/ou de l'élargissement et/ou de l'entretien des cours d'eau navigables ou non navigables appartenant au réseau public d'hydrographie et/ou de la construction de nouvelle infrastructure de l'eau, y compris les canaux, les ports et les docks. (Source : ISO 11074 :2005)
Note : les matériaux de dragage peuvent se composer de :
- sédiments ou sols aquatiques
- sols et roches mères correspondantes situés en dessous de la surface des eaux.

MATIERES UTILISEES SUR OU DANS LES SOLS : c'est un terme générique qui est utilisé dans le cadre du CWEA, qui couvre les boues d'épuration, les composts, digestats, …

POLLUANT : substance ou agent présent dans le sol (ou les eaux souterraines) qui, du fait de ses propriétés, de sa quantité ou de sa concentration a des effets préjudiciables sur les fonctions du sol. (Source : ISO 11074 :2005)

RESIDU DE COMBUSTION : déchet solide restant après une combustion. (Source : NBN EN 13965-1 :2005)

RESIDU D'EPURATION DES FUMEES : déchet provenant de l'épuration des fumées. (Source : NBN EN 13965-1 :2005)

ORIGINAL 2014

SOL AQUATIQUE : sol ou roche mère correspondante situé en dessous de la surface des eaux. (Source : ISO 11074 :2005)

SEDIMENT : Une sédimentation est un processus dans lequel des particules de matière quelconque appelée sédiment cessent progressivement de se déplacer et se réunissent en couches. Les facteurs induisant la sédimentation peuvent être variés en nombre et en proportion. Ordinairement la mécanique des fluides joue un rôle prépondérant, ainsi la sédimentation est, elle, accrue dans les zones d'hydrodynamisme atténué, de même que les paramètres de viscosité interfèrent avec celles d'agglomération mécanique des particules. La granulométrie des particules en mouvement intervient également fortement dans la forme prise par le phénomène.

Un **sédiment** est une particule de taille et d'origine variable, détachée de sa matrice originelle par des phénomènes d'érosion et transportée par la gravité, l'eau, le vent ou la glace. Leur dépôt sur une superficie de taille variable est à l'origine de la formation de couches sédimentaires.

L'érosion des sols dégradés par l'agriculture et le lessivage des sols urbains sont une source croissante de sédiments dans les canaux
Les périodes de crue des rivières et des fleuves entraînent une plus grande quantité de sédiments, car les débits, plus forts, ont une plus importante force érosive et une plus grande énergie de transport. La baisse subséquente des niveaux d'eau crée souvent de vastes étendues de sol nouveau sur les plaines inondables.

SUBSTANCE DANGEREUSE : substance qui, à cause de ses propriétés, quantités ou concentrations, a un effet défavorable sur les fonctions et l'utilisation du sol. (Source : ISO 11074 :2005)

ORIGINAL 2014

- **1.4. AIR**

Directive EU/2008/50 : Directive du parlement européen et du conseil concernant la qualité de l'air ambiant et un air pur pour l'Europe

AEROSOL : Suspension, dans un milieu gazeux, de particules solides ou liquide, ou les deux, présentant une vitesse de chute négligeable. (Source : ISO 4225 :1994)

AIR AMBIANT : Air extérieur de la troposphère, à l'exclusion des lieux de travail tels que définis par la directive 89/654/CEE[1], auxquels s'appliquent les dispositions en matière de santé et de sécurité au travail et auxquels le public n'a normalement pas accès; (Source Directive EU/2008/50)

Ou en version simplifiée : l'air extérieur de la troposphère, à l'exclusion de l'air des lieux de travail

AIR INTERIEUR : Air se trouvant dans un espace clos, par exemple habitation ou bâtiment public. (Source : ISO 4225 :1994)

BARBOTEUR : Dispositif pour faire passer un échantillon de gaz au travers d'un milieu d'absorption liquide. Le tube d'admission du gaz arrive sous la surface du liquide et peut être équipé d'un distributeur pour disperser plus vigoureusement le gaz dans le liquide. (Source : ISO 4225 :1994)

BRUIT DE FOND (DE LA POLLUTION DE L'AIR) : Fraction de la qualité de l'air ambiant observé qui ne peut pas être directement imputée aux émissions étudiées. (Source : ISO 4225 :1994)

BRUIT DE FOND NATUREL : concentration d'une espèce donnée dans une masse d'air parfaite dans laquelle les émissions anthropogéniques sont négligeables. (Source : ISO 4225 :1994)

CENDRE : Résidu solide restant après combustion de matériaux carbonés. Les cendres peuvent contenir du combustible incomplètement brûlé, bien que pour les besoins analytiques, on supposera souvent qu'il y a eu combustion complète. (Source : ISO 4225 :1994)

CENDRE VOLANTE : Particules de cendre finement divisées et entraînées dans les fumées de combustion. (Source : ISO 4225 :1994)

CONCENTRATION DE L'EMISSION : Concentration de l'émission en polluants de l'air au point de rejet. (Source : ISO 4225 :1994)

CONTRÔLE : (1) Dans son sens le plus large, ce terme désigne des mesures répétées destinées à suivre l'évolution d'un paramètre pendant un intervalle de temps.
(2) Ce terme est également utilisé dans un sens plus restrictif et il s'applique alors à la mesure régulière de niveaux de polluants par rapport à une norme ou pour évaluer l'efficacité d'un système de régulation et de commande. (Source : ISO 4225 :1994)

[1] Directive 89/654/CEE du Conseil, du 30 novembre 1989, concernant les prescriptions minimales de sécurité et de santé pour les lieux de travail (JO L 393 du 30.12.1989, p. 1). Directive modifiée par la directive 2007/30/CE du Parlement européen et du Conseil (JO L 165 du 27.6.2007, p. 21).

ORIGINAL 2014

CYCLONE : (1) Dépoussiéreur ou dévésiculeur utilisant essentiellement la force centrifuge issue du mouvement propre du gaz.
(2) Phénomène de grands vents autour d'une zone à basse pression atmosphérique. (Météorologie) (Source : ISO 4225 :1994)

DEPOUSSIEREUR ELECTROSTATIQUE : Dispositif séparant les particules d'un écoulement de gaz. Le gaz circule entre des groupes d'électrodes entre lesquels est maintenue une tension très élevée. Les particules sont chargées, précipitées sous l'effet de la charge très élevée des électrodes et déposées sur les électrodes. (Source : ISO 4225 :1994)

DIAMETRE DE COUPURE : dimension des particules à partir de laquelle le rendement d'un séparateur devient inférieur à une valeur spécifiée dans des conditions données. (Source : ISO 4225 :1994)

DUREE D'ECHANTILLONNAGE : Intervalle de temps pendant lequel est prélevé un seul échantillon. (Source : ISO 4225 :1994)

ECHANTILLONNAGE CONTINU : Echantillonnage, sans interruption, pendant tout une opération ou un temps prédéterminé. (Source : ISO 4225 :1994)

ECHANTILLONNAGE ISOCINETIQUE : Méthode d'échantillonnage de matières particulaires, en suspension dans un écoulement de gaz de telle sorte que la vitesse d'échantillonnage (vitesse et direction) soit la même que celle de l'écoulement au point d'échantillonnage. (Source : ISO 4225 :1994)

EMISSION : rejet de substances dans l'atmosphère. Le point ou la surface d'où le rejet s'effectue s'appelle la « source ». Le terme est utilisé pour décrire le rejet et le débit de rejet. Ce terme peut également être employé pour le bruit, la chaleur, etc. (Source : ISO 4225 :1994)

FACTEUR D'EMISSION : Expression du rapport du taux auquel est émis un polluant de l'air résultant d'une activité, sur le taux de cette activité. Par exemple : les kilogrammes de dioxyde de soufre émis par tonne d'acier produit. (Source : ISO 4225 :1994)

FILTRE A MANCHES : Manche en tissus conçu pour retenir par filtration les particules d'un écoulement de gaz. (Source : ISO 4225 :1994)

FUMEE :

- Aérosol visible résultant d'une combustion. (Source : ISO 4225 :1994)
  Note 1 : Cette définition ne s'applique pas à la vapeur.
  Note 2 : Dans certains articles, on fait référence à la fumée de manière quantitative en termes de nombre de Ringelmann, d'opacité, d'indice de noircissement ou de masse de dépôt recueilli.

- Ensemble des gaz de combustion et des particules qu'ils entraînent (par extension, s'applique aussi aux gaz chargés de particules provenant d'un processus chimique ou d'une opération métallurgique). (Source : ISO 4225 :1994)
  Note : Il n'existe pas d'équivalent anglais (voir *fume*, *fumes* et surtout *smoke*)

GOUTTELETTE ; VESICULE : Petite particule de liquide, de dimension et de densité telles qu'elle tomberait dans une atmosphère immobile, mais peut rester en suspension en régime turbulent ; principalement dans la gamme de dimensions inférieure à 200 µm. (Source : ISO 4225 :1994)

ORIGINAL 2014

IMPACTEUR : Instrument d'échantillonnage fondé sur les effets d'impact et de rétention pour recueillir les particules et les gaz. (Source : ISO 4225 :1994)

IMPACTEUR EN CASCADE : Appareil qui prélève simultanément, par impact, des particules en les séparant en un certain nombre de classes granulométriques en fonction de leurs paramètres d'inertie. (Source : ISO 4225 :1994)

INTERFERENT : Tout composant de l'échantillon d'air, à l'exception des constituants mesurés, qui perturbe la lecture de l'instrument. (Source : ISO 4225 :1994)

LAVAGE : Procédé utilisé en échantillonnage ou en épuration de gaz par lequel les composants de l'écoulement gazeux sont éliminés par contact avec une surface liquide sur un garnissage humide, sur des gouttes pulvérisées ou dans un barboteur, etc. (Source : ISO 4225 :1994)

LAVEUR HUMIDE : Dispositif qui élimine des contaminants particulaires ou gazeux d'un flux de gaz par contact ou impact sur des surfaces humides, ou par emploi de pulvérisateurs de liquide. (Source : ISO 4225 :1994)

METAL-TRACE : Métaux typiquement présents en faible concentration dans l'atmosphère. (Source : ISO 4225 :1994)

NORME D'EMISSION : Taux d'émission spécifié possédant un statut légal. Il est souvent défini statistiquement par la fixation d'un taux limite d'émission, de concentration à un niveau de dilution défini ou d'opacité. (Source : ISO 4225 :1994)

NORME DE QUALITE DE L'AIR AMBIANT : Qualité de l'air ambiant spécifiée possédant un statut légal, souvent définie statistiquement par la fixation d'une limite à la concentration d'un polluant de l'air par rapport à une durée moyenne spécifiée. (Source : ISO 4225 :1994)

ODEUR : Propriété d'une substance stimulant le sens de l'odorat. (Source : ISO 4225 :1994)

PANACHE : Effluent (souvent visible) d'une sortie donnée telle qu'une cheminée ou un évent. (Source : ISO 4225 :1994)

PARTICULE : Petite partie de matière solide ou liquide. (Source : ISO 4225 :1994)

PERIODE DE MESURAGE : Intervalle de temps entre le premier et le dernier mesurage. (Source : ISO 4225 :1994)

"PM_{10}": les particules passant dans un orifice d'entrée calibré tel que défini dans la méthode de référence pour l'échantillonnage et la mesure du PM_{10}, norme EN 12341, avec un rendement de séparation de 50 % pour un diamètre aérodynamique de 10 µm.

"$PM_{2,5}$": les particules passant dans un orifice d'entrée calibré tel que défini dans la méthode de référence pour l'échantillonnage et la mesure du $PM_{2,5}$, norme EN 14907, avec un rendement de séparation de 50 % pour un diamètre aérodynamique de 2,5 µm.

POLLUANT DE L'AIR : Toute substance émise dans l'atmosphère, soit par une activité humaine, soit par un processus naturel, qui affecte l'homme ou l'environnement. (Source : ISO 4225 :1994)

POLLUANT PRIMAIRE : Polluant de l'air émis directement par une source par rapport au polluant secondaire qui est formé dans l'atmosphère. (Source : ISO 4225 :1994)

ORIGINAL 2014

POLLUANT SECONDAIRE : Polluant qui peut être produit dans l'atmosphère par des processus physique ou chimiques, à partir de polluants primaires ou d'autres substances, présents comme suite à des émissions de sources stationnaires ou mobiles. (Source : ISO 4225 :1994)

POLLUTION DE L'AIR : Signifie communément la présence, dans l'atmosphère, de substances résultantes de l'activité humaine ou de processus naturels, en concentration suffisante pendant un temps suffisant et dans des circonstances telles qu'elles affectent le confort, la santé ou le bien être des personnes ou l'environnement. (Source : ISO 4225 :1994)

POUSSIERE : Terme général désignant des particules solides de dimensions et de provenances diverses qui peuvent généralement rester un certain temps en suspension dans un gaz. (Source : ISO 4225 :1994)

QUALITE DE L'AIR AMBIANT : Etat de l'air ambiant comme indiqué par le degré de contamination. (Source : ISO 4225 :1994)

RENDEMENT D'UN SEPARATEUR : Rapport entre la quantité de particules retenues par un séparateur et celle qui y a pénétré (il est généralement exprimé en pourcentage). (Source : ISO 4225 :1994)

SEUIL D'ODEUR : Ceci peut être le seuil de détection d'odeur ou le seuil de perception d'odeur. (Source : ISO 4225 :1994)

SONDE : Dispositif, généralement en forme de tube, utilisé pour l'échantillonnage ou la mesure à l'intérieur de conduits ou de cheminées. (Source : ISO 4225 :1994)

SOURCE : voir *émission*. (Source : ISO 4225 :1994)

SUBSTANCE ODORANTE : Substance possédant une odeur distincte et caractéristique. (Source : ISO 4225 :1994)

SUIE : Particules fines de carbone formées au cours d'une combustion incomplète et déposées avant émission. (Source : ISO 4225 :1994)

VAPEUR : Phase gazeuse d'une matière qui peut exister simultanément à l'état liquide ou à l'état solide. (Source : ISO 4225 :1994)

ORIGINAL 2014

2. ECHANTILLONNAGE

BLANC DE TERRAIN : récipient préparé dans le laboratoire utilisant comme réactif de l'eau ou toute autre matrice de blanc, et destiné à être emporté par le personnel d'échantillonnage sur le terrain, pour être exposé à l'environnement dans lequel l'échantillonnage est effectué afin de vérifier l'absence de contamination au cours de l'échantillonnage. (Source : ISO 11074 :2005)

CAROTTAGE (FORAGE) : généralement, pénétration vertical dans le sol avec enlèvement de sol/roche par excavation à l'aide d'un matériel de forage à moteur. (Source : ISO 11074 :2005)
Note 1 : Deux types d'échantillons peuvent être obtenus par carottage : à savoir échantillon de boue et échantillon de carotte.
Note 2 : La distinction entre le terme carottage et sondage n'est pas clairement définie.

CAROTTE : section plus ou moins cylindrique de sol ou de roche dont le diamètre est généralement compris entre 4 cm et 10 cm et pouvant mesurer plusieurs mètres de long, obtenue par forage ou sondage. (Source : ISO 11074 :2005)
Note : la carotte complète peut également constituer l'échantillon.

DISPOSITIF (MATERIEL D'ECHANTILLONNAGE) : appareillage/outil permettant d'obtenir un échantillon de sol ou de matériau du sol. (Source : ISO 11074 :2005)

DIVISION D'UN ECHANTILLON – SOUS ECHANTILLONNAGE : procédé de séparation d'un ou de plusieurs sous-échantillons dans un échantillon d'une population. (Source : ISO 11074 :2005)

ECHANTILLON : partie de matériaux choisie dans une quantité de matériau plus grande. (Source : ISO 11074 :2005)
Note : Il convient que le plan d'échantillonnage décrive la méthode de choix de l'échantillon.

ECHANTILLON ALEATOIRE : portion individuelle de matériau recueillie grâce à un dispositif d'échantillonnage. (CMA/1/A.13)

ECHANTILLON DE BOUE : échantillon constitué par les boues et/ou les eaux de sondage résultant du forage dans un solide. (Source : ISO 11074 :2005)

ECHANTILLON DE TERRAIN : quantité (masse ou volume) de matière enlevée au cours de l'échantillonnage sans aucun prétraitement de l'échantillon. L'échantillon de terrain peut être constitué de plusieurs prises, mais ne subit pas de mélange ou d'homogénéisation. (CMA/1/A.13)

ECHANTILLON INDIVIDUEL : ensemble de prélèvements élémentaires effectués sur un même site constitué par un tronçon court de quelques mètres ou d'une aire de quelques mètres carrés. (CWEA – P 20)

ECHANTILLON MELANGE : mélange de plusieurs portions de matériau dans lequel l'identité de chaque partie est perdue. (CMA/1/A.13)

ECHANTILLON PONCTUEL : échantillon d'effectif ou de taille spécifiée, prélevé à un endroit spécifié dans un matériau ou en un lieu et à un moment spécifiés dans un écoulement et considéré comme représentatif de son environnement immédiat ou proche. (Source : ISO 3534-2 :1993)

ORIGINAL 2014

ECHANTILLON POUR ANALYSE (POUR ESSAI) : échantillon préparé à partir d'un échantillon pour laboratoire et sur lequel sont prélevées les prises d'essai destinées au contrôle ou à l'analyse. (Source : ISO 11074 :2005)

ECHANTILLON POUR LABORATOIRE : échantillon destiné à être utilisé pour un contrôle ou pour des essais en laboratoire. (Source : ISO 11074 :2005)
Note 1 : quand l'échantillon pour laboratoire est préparé (réduit) par subdivision, mélange, broyage ou par combinaison de ces opérations, on obtient un échantillon pour essai. En l'absence de toute préparation, l'échantillon pour laboratoire constitue l'échantillon pour essai. Pour effectuer l'essai ou l'analyse, prélever une prise d'essai dans cet échantillon.
Note 2 : l'échantillon pour laboratoire est l'échantillon final du point de vue de la collecte de l'échantillon mais du point de vue du laboratoire, il est l'échantillon initial.

ECHANTILLON REPRESENTATIF : échantillon résultant d'un plan d'échantillonnage et qui peut être considéré comme représentatif des propriétés étudiées de la population. (Source : ISO 11074 :2005)
Note : en fonction de l'objectif de l'échantillonnage et des caractéristiques de la population, l'échantillon représentatif peut être soit un échantillon aléatoire soit, par exemple, un échantillon stratifié. Le degré de représentativité de l'échantillon peut être limité par des raisons d'ordre financier ou pratique.

ECHANTILLONNAGE : processus de prélèvement ou de constitution d'un échantillon. (Source : ISO 3534-1 :1993)
Note : pour les besoins de l'étude des sols, le terme « échantillonnage » s'applique également au choix des emplacements auxquels des essais in situ seront effectués sur le terrain sans enlèvement de matériau.

ECHANTILLONNAGE PROBABILISTE : échantillonnage visant à s'assurer que chaque particule ou élément du dépôt (population) a la même probabilité de faire partie intégrante de l'échantillon. (Source : ISO 11074 :2005)

ECHANTILLONNEUR (EQUIPE D'ECHANTILLONNAGE) : personne ou groupe de personnes mettant en œuvre les procédures d'échantillonnage sur les lieux de l'échantillonnage. (Source : ISO 11074 :2005)
Note : Parfois, les outils et les dispositifs permettant d'obtenir des échantillons sont également désignés par le terme « échantillonneurs ». Dans ce cas, il convient d'écrire « matériel d'échantillonnage » ou « équipement d'échantillonnage ».

ENTITE (INDIVIDU) : tout ce qui peut être décrit et considéré séparément. (Source : ISO 3534-2 :1993)

ERREUR D'ECHANTILLONNAGE : partie de l'erreur totale (écart entre l'estimation à partir d'un échantillon et la valeur réelle de la population) associée à l'extrapolation, à l'ensemble d'une population, des résultats d'une étude portant sur une petite fraction de la population. (Source : ISO 11074 :2005)
Note : elle est due à un manque d'homogénéité de la population initiale.

FORMULAIRE D'ECHANTILLONNAGE : formulaire contenant les données d'échantillonnage et qui inclut la façon dont l'échantillonnage est réalisé. (CMA/1/A.13)

LOT : Partie définie d'une population constituée essentiellement dans les mêmes conditions que la population pour ce qui concerne l'échantillonnage. (Source : ISO 3534-2 :1993)

ORIGINAL 2014

POPULATION : totalité des individus pris en considération. (Source : ISO 11074 :2005)
Note : dans le cadre d'une variable aléatoire, la loi de probabilité est considérée comme définissant la population de cette variable.

PRELEVEMENT ELEMENTAIRE : quantité prélevée en un point du lot et en une seule fois. (CWEA – P 20)

PRISE D'ESSAI (PARTIE ANALYSEE) : quantité de matériau, prélevée dans l'échantillon pour analyse, suffisante pour permettre la mesure de concentration ou d'une autre propriété étudiée. (Source : ISO 11074 :2005)
Note 1 : en l'absence de toute préparation, la prise d'essai peut être prélevée dans l'échantillon primaire ou directement dans l'échantillon pour laboratoire (par exemple dans le cas de liquides), mais elle est généralement prélevée dans l'échantillon pour analyse préparé.
Note 2 : on peut considérer comme prise d'essai une unité ou un prélèvement élémentaire suffisamment homogène, important(e) et pur(e), et qui ne nécessite aucune autre préparation.

SICCITE : pourcentage massique de matière sèche sur échantillon brut. (CWEA – P 21)

SITE : zone délimitée. (Source : ISO 11074 :2005)

SITE D'ECHANTILLONNAGE : zone dans le sol de laquelle sont prélevés les échantillons. (Source : ISO 11074 :2005)

SITE CONTAMINE : site présentant des concentrations élevées de substances dangereuses pour le sol et les fonctions du sol. (Source : ISO 11074 :2005)
Note : dans de nombreux pays, les sols contaminés sont répertoriés publiquement conformément à une réglementation spécifique.

SITE DANGEREUX : site jugé dangereux pour la santé ou la sécurité humaine ou pour l'environnement, en raison des substances ou des produits qui y sont présents. (Source : ISO 11074 :2005)

SITE POTENTIELLEMENT DANGEREUX : site dont l'histoire ou toute autre information laisse penser qu'il est dangereux. (Source : ISO 11074 :2005)

SITE SUSPECT : site suspecté d'être dangereux vis-à-vis de l'environnement et particulièrement vis-à-vis de la santé humaine. (Source : ISO 11074 :2005)

SITE UNIFORMEMENT CONTAMINE : site présentant une concentration uniforme d'une substance dangereuse pour le sol. (Source : ISO 11074 :2005)
Note : l'étendue de la contamination est généralement grande et le gradient de concentration à l'intérieur du site est plutôt faible.

SOUS-ECHANTILLON : échantillon prélevé sur un échantillon d'une population donnée. (Source : ISO 11074 :2005)
Note 1 : un sous échantillon peut être :

a) une portion de l'échantillon obtenue par sélection ou division ;
b) une unité individuelle du lot considérée comme une partie de l'échantillon ;
c) le produit final d'un échantillonnage à plusieurs degrés.

Note 2 : Ce terme peut être utilisé à la fois dans le sens de « échantillon de l'échantillon » que comme synonyme « d'unité ». En pratique, le sens est déduit du contexte, à moins qu'il ne soit spécifiquement défini.

SOUS-LOT : partie définie d'un lot. (Source : ISO 3534-2 :1993)

ORIGINAL 2014

SOUS-POPULATION : partie d'une population. (Source : ISO 3534-2 :1993)

TAILLE D'ECHANTILLON : nombre d'individus ou quantité de matériau constituant un échantillon. (Source : ISO 11074 :2005)

TAILLE MINIMALE D'ECHANTILLON : quantité minimale de matériau dans un échantillon pour laquelle la variabilité due aux particules individuelles dudit matériau a un effet négligeable. (Source : ISO 11074 :2005)
Note : la taille minimale d'échantillon est estimée en utilisant une formule prenant en compte différents facteurs. L'un de ces facteurs est l'importance de la variabilité acceptée, due aux différences observées entre les particules individuelles. L'attribution d'une grande variabilité à ce facteur entraine l'élimination de tout « effet négligeables » tel que mentionné dans la définition. Toutefois, dans une situation normale, une valeur peu élevée est choisie, admettant uniquement une variabilité relativement peu importante

TAILLE MINIMALE D'UN PRELEVEMENT ELEMENTAIRE : quantité minimale de matériau dans un prélèvement élémentaire obtenue avec un dispositif d'échantillonnage pour lequel s'appliquent des conditions d'échantillonnage probabiliste. (Source : ISO 11074 :2005)
Note : le fait que chaque particule d'un matériau à échantillonner doit avoir la même probabilité de faire partie intégrante d'un échantillon entraine la formulation d'exigences relatives à la dimension du matériel d'échantillonnage.

TAILLE RELLE (EFFECTIVE) DE L'ECHANTILLON : quantité de matériau présent dans l'échantillon. (Source : ISO 11074 :2005)
Note : la taille réelle d'un échantillon est déterminée par la taille minimale de l'échantillon, la quantité de matériau requise pour les essais ou l'analyse, la dimension du matériel d'échantillonnage et, pour les échantillons composites, le nombre de prélèvements élémentaires et la taille réelle de ces derniers.

TECHNIQUE D'ECHANTILLONNAGE : toute procédure et tout dispositif d'échantillonnage permettant d'obtenir et de décrire des échantillons de sol ou de matériau du sol, que ce soit sur le terrain, au cours du transport ou en laboratoire. (Source : ISO 11074 :2005)
Note : il convient que le plan d'échantillonnage décrive la méthode de sélection de la technique d'échantillonnage.

TRANSPORT D'UN ECHANTILLON : action de transférer un échantillon du site d'échantillonnage à l'endroit où il va être traité (par exemple laboratoire, banque du sol, etc.). (Source : ISO 11074 :2005)

ORIGINAL 2014

3. TRAITEMENT

BIOREACTEUR : installation dans laquelle un traitement biologique est appliqué à un solide, à un liquide ou à une phase hétérogène. (Source : ISO 11074 :2005)

CARACTERISTATION DU SITE : collecte des données relatives à un site fournissant les informations appropriées pour l'évaluation concernée. (Source : ISO 11074 :2005)
Note : en lien avec l'évaluation du risque, cette caractérisation concerne spécialement l'identification de la source et la caractérisation de l'élément pour lequel est faite l'évaluation de l'exposition.

CHAINE DE TRAITEMENT : succession des opérations de traitement appliquées à un sol, à un matériau assimilable au sol ou à l'eau, pour en séparer les fractions granulométriques ou autres (dans le cas du sol, etc.) et pour éliminer, détruire, ou immobiliser les contaminants. (Source : ISO 11074 :2005)

CONCASSAGE, BROYAGE, ECRASEMENT : réduction mécanique de la granulométrie d'un échantillon par friction (frottement), choc ou coupe. (Source : ISO 11074 :2005)
Note : Selon la nature du matériel et du traitement, une de ces techniques est utilisée.

FLUX D'ENFOUISSEMENT: flux de matière tombant dans un point de décharge dans un système de convoyeur. (CMA/1/A.13)

HYDROLYSE : réaction avec l'eau entraînant l'incorporation d'oxygène, d'hydrogène et/ou d'un groupe hydroxyle dans le produit. (Source : ISO 11074 :2005)

METHODE DE TRAITEMENT EX SITU : méthode de traitement appliquée au milieu à traiter (par exemple sol, eaux souterraines) après déplacement préalable. (Source : ISO 11074 :2005)

METHODE DE TRAITEMENT IN SITU : méthode de traitement appliquée au milieu à traiter (par exemple sol, eaux souterraines) sans déplacement préalable. (Source : ISO 11074 :2005)

PRETRAITEMENT DE L'ECHANTILLON : nom générique regroupant toutes les procédures utilisées pour le conditionnement d'un échantillon de sol afin de l'amener à un état défini permettant de le soumettre à un examen, une analyse ou de le stocker pendant une longue durée. (Source : ISO 11074 :2005)
Note : le prétraitement d'un échantillon comprend, par exemple, le mélange, le fractionnement, le séchage, le broyage, la stabilisation.

PYROLYSE : modification chimique sous l'action de la chaleur (le terme est quelquefois employé dans une acceptation plus restreinte pour décrire les modifications chimiques résultantes du traitement thermique en l'absence d'oxygène). (Source : ISO 11074 :2005)

REDUCTION : diminution de la taille de l'échantillon pour laboratoire. (Source : ISO 11074 :2005 – 4.6.5)

REDUCTION : ajout d'un électron à un atome ou à un groupe d'atomes, y compris, par exemple, un changement d'état d'oxydation d'un atome (par exemple As^{V} devenant As^{III}). (Source : ISO 11074 :2005 – 6.4.34)

ORIGINAL 2014

REHOMOGENEISATION (« homogénéisé » ≠ homogène !) : processus d'homogénéisation des échantillons d'origine (dans le cas d'échantillons composites) ou de fractions prétraitées d'échantillons de sol afin de garantir une répartition égale des substances et des propriétés de l'échantillon du sol. (Source : ISO 11074 :2005)
Note : l'homogénéisation peut se faire par agitateur ou mélangeur mécanique.

STRATEGIE D'ANALYSE ET D'ESSAI : plan précisant les échantillons à analyser ou à soumettre à l'essai, les paramètres à mesurer, les méthodes de préparation des échantillons ainsi que les méthodes d'analyse ou d'essai à employer. (Source : ISO 11074 :2005)
Note : il convient d'y associer des méthodes d'assurance de la qualité.

SYSTÈME DE TRAITEMENT : combinaison de méthodes de traitement appliquées, à la suite les unes des autres ou en parallèle, à un sol, un matériau assimilable au sol ou à l'eau pour en séparer les fractions granulométriques ou autres (dans le cas du sol, etc.) et pour éliminer, détruire, ou immobiliser les contaminants. (Source : ISO 11074 :2005)

TRAITEMENT : processus physiques, thermiques, chimiques ou biologiques, y compris le tri, qui modifient les caractéristiques des déchets de manière à en réduire le volume ou le caractère dangereux, à en faciliter la manipulation ou à en favoriser la valorisation. (Source : NBN EN 13965-2 :2010)
Note : Voir l'annexe A.3, Directive du Conseil 1999/31/CE, Article 2.h.)

TRAITEMENT BIOLOGIQUE : méthodes utilisant l'activité naturelle de plantes ou de micro-organismes tels que les bactéries ou les champignons, pour transformer, détruire, fixer ou immobiliser les contaminants. (Source : ISO 11074 :2005)

TRAITEMENT BIOLOGIQUE AEROBIE : traitement biologique en présence d'oxygène. (Source : ISO 11074 :2005)

TRAITEMENT BIOLOGIQUE ANAEROBIE : traitement biologique en l'absence d'oxygène gazeux ou soluble. (Source : ISO 11074 :2005)

TRAITEMENT CHIMIQUE : traitement d'un sol, d'un sédiment, de l'eau ou d'un autre matériau contaminé dans lequel le mécanisme principal de dégradation ou de transformation en une forme moins nocive pour l'environnement correspond à une réaction chimique ou à une combinaison de réactions chimiques. (Source : ISO 11074 :2005)

TRAITEMENT FONGIQUE : traitement biologique reposant sur l'utilisation de champignons (par exemple pourriture sèche). (Source : ISO 11074 :2005)

TRAITEMENT MECANIQUE : traitement par des moyens mécaniques. (Source : NBN EN 13965-2 :2010)

TRAITEMENT PHYSIQUE : méthode de traitement reposant principalement sur des techniques physiques telle que la déshydratation, la séparation granulométrique, la séparation magnétique, la flottation, le lavage à l'eau, l'extraction aux solvants, le traitement thermique, l'extraction à la vapeur (des substances chimiques peuvent être utilisées pour améliorer l'efficacité de certaines techniques physiques). (Source : ISO 11074 :2005)

TRAITEMENT THERMIQUE : traitement utilisant la chaleur pour détruire, éliminer ou immobiliser des contaminants. (Source : ISO 11074 :2005)

ORIGINAL 2014

4. PARAMETRES ANALYTIQUES

AEROBIE : description d'un état se caractérisant par une libre disponibilité de l'oxygène moléculaire. (Source : ISO 11074 :2005)

ANAEROBIE : description d'un état se caractérisant par une absence d'oxygène moléculaire. (Source : ISO 11074 :2005)

BIODEGRADATION : altération par des organismes vivants. (Source : ISO 11074 :2005)

CAPACITE AU CHAMP : teneur en eau maximale, exprimée en pourcentage (m/m ou v/v), qu'un sol non saturé peut retenir contre l'entraînement par gravité, en conditions non perturbées (conventionnellement, cela correspond à la teneur en eau du sol restant 2 à 3 jours après une période de saturation). (Source : ISO 11074 :2005)

CARACTERISTIQUE : propriété ou attribut d'un matériau que l'on peut mesurer, comparer ou observer. (Source : ISO 11074 :2005)

COEFFICIENT DE REPARTION : rapport des concentrations d'une substance dans deux milieux différents et par exemple dans des compartiments environnementaux. (Source : ISO 11074 :2005)

D_{95} (GRANULOMETRIE MAXIMALE) : taille des particules correspondant à l'ouverture d'un tamis lorsque 5% (fraction massique) du matériau sont retenus. (Source : ISO 11074 :2005)

DECOMPOSITION : altération des substances organiques complexes en molécules plus simples ou en ions par des processus physiques, chimiques et/ou biologiques. (Source : ISO 11074 :2005)

DEGRADATION : altération physique ou chimique des substances. (Source : ISO 11074 :2005)

DENSITE APPARENTE : rapport de la masse d'une quantité de matériau (ou d'une phase) et du volume total occupé par ce matériau (comprenant d'autres phases). (Source : ISO 11074 :2005)
Note : il s'agit en toute rigueur de la masse volumique mais le terme communément usité est « densité ». La valeur numérique est identique ou divisée par la masse volumique de l'eau (habituellement exprimée en kg/m^3 ou g/cm^3 ou t/m^3).

DENSITE DES GRAINS (OU DENSITE DU MATERIAU) : masse spécifique ; densité spécifique du matériau en lui même, sans l'espace intermédiaire. (CMA/1/A.13)

GRANULOMETRIE : répartition des particules minérales du sol selon des classes de tailles prédéfinies. (Source : ISO 11074 :2005)
Note : la granulométrie des particules détermine la surface spécifique d'un sol, la fraction la plus fine ayant la surface spécifique la plus grande. La surface exerce une influence sur l'adsorption réelle des substances chimiques dans le sol.

HETEROGENE : entité dont les propriétés sont variables d'un point à l'autre lorsqu'elles sont analysées à une échelle adaptée à la tâche à exécuter. (Source : ISO 11074 :2005)
Note : contraire d'homogène

HOMOGENE : entité ayant les mêmes propriétés en tous points, lorsqu'elles sont analysées à une échelle adaptée à la tâche à exécuter. (Source : ISO 11074 :2005)

ORIGINAL 2014

LIXIVIATION : dissolution et déplacement de substances dissoutes par l'eau. (Source : ISO 11074 :2005)

PERSISTANCE : résistance d'une substance aux modifications chimiques. (Source : ISO 11074 :2005)
Note 1 : la persistance est toujours liée aux conditions environnementales. Ainsi, une substance peut être persistante dans un type de sol, mais non dans un autre.
Note 2 : la persistance peut être exprimée par la demi-vie d'une substance dans des conditions environnementales clairement définies.

POTENTIEL DE LIXIVIATION : potentiel de mouvement de substances, présentes dans le sol/matériau du sol, causé par le déplacement de l'eau. (Source : ISO 11074 :2005)

PROCESSUS DU SOL : mécanismes ou réactions géochimiques, physiques et biologiques pouvant atténuer, concentrer, immobiliser, libérer, dégrader voire transformer les substances du sol. (Source : ISO 11074 :2005)

SOURCE : lieu duquel est libéré un agent chimique ou dangereux pour une exposition potentielle de l'homme. (Source : ISO 11074 :2005)

TENEUR EN ARGILE : fraction de particules du sol de granulométrie < 2 µm. (Source : ISO 11074 :2005)
Note : la teneur en argile influe sur les propriétés réactives du sol du fait de la surface (pour l'adsorption) importante des particules d'argile et des propriétés électriques de cette surface. La charge est négative et variable selon le type minéralogique de l'argile et les conditions physico-chimiques du sol.

TENEUR EN EAU : quantité de matière par unité de masse (humidité massique) ou de volume (humidité volumique) du sol. (Source : ISO 11074 :2005)

a) Humidité massique (W_w) : masse d'eau qui s'évapore d'un échantillon de sol lorsqu'il est séché jusqu'à une masse constante à une température de 105 °C, divisée par la masse de l'échantillon sec. Si la valeur obtenue est multipliée par 100, il s'agit là de la teneur en eau pondérale.
b) Humidité volumique (W_v) : volume d'eau qui s'évapore du sol lorsqu'il est séché jusqu'à une masse constante à une température de 105 °C, divisé par le volume du sol non remanié.

VOLUME BRUT : volume, solides et pores compris, d'une masse de sol choisie arbitrairement. (Source : ISO 11074 :2005)

ORIGINAL 2014

5. ASSURANCE QUALITE

ANALYTE : objet de la méthode d'analyse. (Source : NF T 90-210)

BIAIS : Différence entre l'espérance mathématique d'un résultat d'essai ou résultat de mesure et une valeur vraie. (Source : ISO 3534-2 :2006)
Note 1: le biais est une erreur systématique totale par opposition à l'erreur aléatoire. Il peut y avoir une ou plusieurs composantes d'erreurs systématiques qui contribuent au biais. Une différence systématique importante par rapport à la valeur vraie est reflétée par une grande valeur du biais.
Note 2 : Dans la pratique, la valeur de référence acceptée remplace la valeur vraie.

CARTE DE CONTRÔLE : graphique sur lequel sont reportées les valeurs d'une mesure statistique faite sur une série d'échantillons dans un ordre particulier pour orienter le processus en fonction de cette mesure et pour contrôler et réduire la variation. (Source : ISO 3534-2 :2006)
Note 1 : l'ordre particulier est généralement fondé sur un ordre chronologique ou de numéro d'échantillon.
Note 2 : la carte de contrôle est plus efficace lorsque la mesure concerne une variable du processus corrélée à un produit final ou à une caractéristique de service.

CONDITIONS DE FIDELITE INTERMEDIAIRE : conditions où les résultats d'essai ou les résultats de mesure sont obtenus par la même méthode sur des individus d'essai/de mesure identiques sur la même installation d'essai ou de mesure, dans différentes conditions de fonctionnement données. (Source : ISO 3534-2 :2006)
Note 1 : les conditions de fonctionnement comprennent quatre éléments : temps, étalonnage, opérateur et équipement.
Note 2 : un banc d'essai est un exemple d'installation d'essai. Un laboratoire de métrologie est un exemple d'installation de mesure.

CONDITIONS DE REPETABILITE : conditions où les résultats d'essai/de mesure indépendants sont obtenus par la même méthode sur des individus d'essai/de mesure identiques sur la même installation d'essai ou de mesure, par le même opérateur, utilisant le même équipement et pendant un court intervalle de temps. (Source : ISO 3534-2 :2006)
Note : Les conditions de répétabilité comprennent :

a) le même mode opératoire ou procédure d'essai ;
b) le même opérateur ;
c) le même instrument de mesure ou d'essai utilisé dans les mêmes conditions ;
d) le même lieu ;
e) la répétition durant une courte période de temps.

CONDITIONS DE REPRODUCTIBILITE : condition où les résultats d'essai/de mesure indépendants sont obtenus par la même méthode sur des individus d'essai/de mesure identiques sur différentes installations d'essai ou de mesure avec différents opérateurs et utilisant des équipements différents. (Source : ISO 3534-2 :2006)

ERREUR ALEATOIRE DE RESULTAT : composante de l'erreur d'un résultat qui, lors d'un certain nombre de résultats d'essai ou résultats de mesure, pour la même caractéristique ou grandeur, varie de façon imprévisible. (Source : ISO 3534-2 :2006)
Note : il n'est pas possible de corriger une erreur aléatoire.

ERREUR SYSTEMATIQUE DE RESULTAT : composante de l'erreur d'un résultat qui, lors d'un certain nombre de résultats d'essai ou résultats de mesure, pour la même caractéristique ou grandeur, demeure constante ou varie de façon prévisible. (Source : ISO 3534-2 :2006)
Note : les erreurs systématiques et leurs causes peuvent être connues ou inconnues.

ORIGINAL 2014

ETALON : réalisation de la définition d'une grandeur donnée, avec une valeur déterminée et une incertitude de mesure associée, utilisée comme référence. (Source : ISO/IEC Guide 99 :2007)
Exemple 1 : étalon de masse de 1 kg avec une incertitude-type associée de 3 µg.
Exemple 2 : électrode de référence à hydrogène avec une valeur associée de 7.072 et une incertitude type associée de 0.006.

ETALON PRIMAIRE : étalon établi à l'aide d'une procédure de mesure primaire ou créé comme objet choisi par convention. (Source : ISO/IEC Guide 99 :2007)
Exemple : étalon primaire de concentration en quantité de matière préparé en dissolvant une quantité de matière connue d'une substance chimique dans un volume connu de solution.

ETALON SECONDAIRE : étalon établi par l'intermédiaire d'un étalonnage par rapport à un étalon primaire d'une grandeur de même nature. (Source : ISO/IEC Guide 99 :2007)

ETALON DE TRAVAIL : étalon qui est utilisé couramment pour étalonner ou contrôler des instruments de mesure ou des systèmes de mesure. (Source : ISO/IEC Guide 99 :2007)

ETALON DE REFERENCE : étalon conçu pour l'étalonnage d'autres étalons de grandeurs de même nature dans une organisation donnée ou en un lieu donné. (Source : ISO/IEC Guide 99 :2007)

ETALONNAGE : opération, qui dans des conditions spécifiées, établit en une première étape une relation entre les valeurs et les incertitudes de mesure associées qui sont fournies par des étalons et les indications correspondantes avec les incertitudes associées, puis utilise en une seconde étape cette information pour établir une relation permettant d'obtenir un résultat de mesure à partir d'une indication. (Source : ISO/IEC Guide 99 :2007)
Note 1 : un étalonnage peut être exprimé sous la forme d'un énoncé, d'une fonction d'étalonnage, d'un diagramme d'étalonnage, d'une courbe d'étalonnage ou d'une table d'étalonnage. Dans certains cas, il peut consister en une correction additive ou multiplicative de l'indication avec une incertitude de mesure associée.
Note 2 : il convient de ne pas confondre l'étalonnage avec l'ajustage d'un système de mesure, souvent appelé improprement « auto-étalonnage », ni avec la vérification de l'étalonnage.
Note 3 : la seule première étape de la définition est souvent perçue comme étant l'étalonnage.

EXACTITUDE : étroitesse de l'accord entre le résultat d'essai ou résultat de mesure et la valeur vraie. (Source : ISO 3534-2 :2006)
Note 1 : dans la pratique, la valeur de référence acceptée remplace la valeur vraie.
Note 2 : le terme « exactitude », appliqué à un ensemble de résultats d'essai ou de mesure, implique une combinaison de composantes aléatoires et d'une erreur systématique commune ou d'une composante de biais.
Note 3 : l'exactitude faire référence à une combinaison de justesse et de fidélité.

FACTEUR D'ELARGISSEMENT : nombre supérieur à un par lequel on multiplie une incertitude-type composée pour obtenir une incertitude élargie. (Source : ISO/IEC Guide 99 :2007)
Note : un facteur d'élargissement est habituellement noté par le symbole k.

FIDELITE: étroitesse d'accord entre les résultats d'essai/de mesure indépendants obtenus sous des conditions stipulées. (Source : ISO 3534-2 :2006)
Note 1 : la fidélité dépend uniquement de la distribution des erreurs aléatoires et n'a aucune relation avec la valeur vraie ou la valeur spécifiée.
Note 2 : la mesure de la fidélité est généralement exprimée en termes d'infidélité et est calculée à partir de l'écart-type des résultats d'essai ou des résultats de mesure. Une fidélité faible est reflétée par un grand écart-type.

ORIGINAL 2014

FIDELITE INTERMEDIAIRE : fidélité sous des conditions de fidélité intermédiaire. (Source : ISO 3534-2 :2006)

FONCTION D'ETALONNAGE : fonction mathématique qui relie une valeur d'information à une grandeur, par exemple la concentration en analyte, à l'intérieur d'un certain intervalle. (Source : NF T 90-210 :2009)

INCERTITUDE (DE MESURE) : paramètre non négatif qui caractérise la dispersion des valeurs attribuées à un mesurande, à partir des informations utilisées. (Source : ISO/IEC Guide 99 :2007)
Note 1 : l'incertitude de mesure comprend des composantes provenant d'effets systématiques, telles que les composantes associées aux corrections et aux valeurs assignées des étalons, ainsi que l'incertitude définitionnelle. Parfois, on ne corrige pas des effets systématiques estimés, mais on insère plutôt des composantes associées de l'incertitude.
Note 2 : le paramètre peut être, par exemple, un écart-type appelé incertitude-type (ou un de ses multiples) ou la demi-étendue d'un intervalle ayant une probabilité de couverture déterminée.
Note 3 : En général, pour des informations données, on sous-entend que l'incertitude de mesure est associée à une valeur déterminée attribuée au mesurande. Une modification de cette valeur entraîne une modification de l'incertitude associée.

INCERTITUDE ELARGIE : grandeur définissant un intervalle, autour du résultat d'un mesurage pour lequel on peut s'attendre à ce qu'il comprenne une fraction élevée de la distribution des valeurs qui pourraient être attribuées raisonnablement au mesurande. (Source : ISO 3534-2 :2006)

INCERTITUDE-TYPE : incertitude de mesure exprimée sous la forme d'un écart-type. (Source : ISO/IEC Guide 99 :2007)

INCERTITUDE-TYPE COMPOSEE : incertitude-type obtenue en utilisant les incertitudes-types individuelles associées aux grandeurs d'entrée dans un modèle de mesure. (Source : ISO/IEC Guide 99 :2007)

INCERTITUDE-TYPE RELATIVE : quotient de l'incertitude-type par la valeur absolue de la valeur mesurée. (Source : ISO/IEC Guide 99 :2007)

INSTRUMENT DE MESURE : dispositif utilisé pour faire des mesurages, seul ou associé à un ou plusieurs dispositifs annexes. (Source : ISO/IEC Guide 99 :2007)
Note 1 : un instrument de mesure qui peut être utilisé seul est un système de mesure.
Note 2 : un instrument de mesure peut être un appareil de mesure indicateur ou une mesure matérialisée.

INTERVALLE DE MESURE (GAMME DE TRAVAIL) : ensemble des valeurs de grandeurs d'une même nature qu'un instrument de mesure ou un système de mesure donné peut mesurer avec une incertitude instrumentale spécifiée, dans des conditions déterminées. (Source : ISO/IEC Guide 99 :2007)
Note 1 : dans certains domaines, le terme anglais est « measuring range » ou « measurement range ». En français, le terme « étendue de mesure » est parfois improprement employé.
Note 2 : il convient de ne pas confondre la limite inférieure d'un intervalle de mesures avec la limite de détection.
JUSTESSE : étroitesse de l'accord entre l'espérance mathématique d'un résultat d'essai ou d'un résultat de mesure et une valeur vraie. (Source : ISO 3534-2 :2006).
Note 1 : la mesure de la justesse est généralement exprimée en termes de biais.
Note 2 : la justesse a été également appelée « exactitude de la moyenne ». Cet usage n'est pas recommandé.
Note 3 : dans la pratique, la valeur de référence acceptée remplace la valeur vraie.

ORIGINAL 2014

LIMITE DE DETECTION : valeur ou signal de sortie au-delà desquels on peut affirmer avec un certain niveau de confiance, par exemple 95%, qu'un échantillon est différent d'un blanc ne contenant pas d'élément à déterminer. (Source : ISO 6107-2 :2006)

LIMITE DE QUANTIFICATION : valeur ou signal de sortie calculé à partir de la limite de détection, par exemple deux ou trois fois la limite de détection à une concentration de l'élément à déterminer qui puisse raisonnablement être établie avec un niveau acceptable de justesse et de fidélité. (Source : ISO 6107-2 :2006)
Note : La limite de quantification peut être obtenue à l'aide d'un échantillon ou d'un étalon approprié comme étant le plus petit point d'étalonnage sur la courbe d'étalonnage (à l'exclusion du blanc).

MATERIAU DE REFERENCE (MR) : matériau suffisamment homogène et stable en ce qui concerne des propriétés spécifiées, qui a été préparé pour être adapté à son utilisation prévue pour un mesurage ou pour l'examen de propriétés qualitatives. (Source : ISO/IEC Guide 99 :2007)
Note 1 : l'examen d'une propriété qualitative comprend l'attribution d'une valeur et de l'incertitude associée à un autre matériau. Cette incertitude n'est pas une incertitude de mesure.
Note 2 : des matériaux de référence avec ou sans valeurs assignées peuvent servir à contrôler la fidélité de mesure, tandis que seuls les matériaux à valeurs assignées peuvent servir à l'étalonnage ou au contrôle de la justesse de mesure.
Note 3 : dans un mesurage donné, un matériau de référence donné ne peut être utilisé que pour l'étalonnage ou pour l'assurance de la qualité.
Note 4 : il convient d'inclure dans les spécifications d'un matériau de référence sa traçabilité, qui indique son origine et son traitement.

MATERIAU DE REFERENCE CERTIFIE (MRC) : matériau de référence, accompagné d'une documentation délivrée par un organisme faisant autorité et fournissant une ou plusieurs valeurs de propriétés spécifiées avec les incertitudes et les traçabilités associées, en utilisant des procédures valables. (Source : ISO/IEC Guide 99 :2007)
Note 1 : la documentation mentionnée est délivrée sous la forme d'un « certificat » (voir le Guide ISO 31 :2000).
Note 2 : dans la définition, le terme « incertitude » peut désigner soit une incertitude de mesure, soit l'incertitude associée à la valeur d'une propriété qualitative, telle que l'identité ou la séquence. Le terme « traçabilité » peut désigner soit la traçabilité métrologique de la valeur d'une grandeur, soit la traçabilité de la valeur d'une propriété qualitative.
Note 3 : les valeurs de grandeurs spécifiées des matériaux de référence certifiés exigent une traçabilité métrologique avec une incertitude de mesure associée.

MESURAGE (MESURE) : processus consistant à obtenir expérimentalement une ou plusieurs valeurs que l'on peut raisonnablement attribuer à une grandeur. (Source : ISO/IEC Guide 99 :2007)
Note 1 : les mesurages ne s'appliquent pas aux propriétés qualitatives.
Note 2 : un mesurage implique la comparaison de grandeurs et comprend le comptage d'entités.
Note 3 : un mesurage suppose une description de la grandeur compatible avec l'usage prévu d'un résultat de mesure, une procédure de mesure et un système de mesure étalonné fonctionnant selon une procédure de mesure spécifiée, incluant les conditions de mesure.

MESURANDE : grandeur que l'on veut mesurer. (Source : ISO/IEC Guide 99 :2007)
Note 1 : la spécification d'un mesurande nécessite la connaissance de la nature de grandeur et la description de l'état du phénomène, du corps ou de la substance dont la grandeur est une propriété, incluant tout constituant pertinent, et les entités chimiques en jeu.
Note 2 : il se peut que le mesurage, incluant le système de mesure et les conditions sous lesquelles le mesurage est effectué, modifie le phénomène, le corps ou la substance de sorte que la grandeur mesurée peut différer du mesurande. Dans ce cas, une correction appropriée est nécessaire.

ORIGINAL 2014

METHODE DE MESURE : description générique de l'organisation logique des opérations mises en œuvre dans un mesurage. (Source : ISO/IEC Guide 99 :2007)
Note : les méthodes de mesure peuvent être qualifiées de diverses façons telles que :

a) méthode de mesure par substitution,
b) méthode de mesure différentielle,
c) …

METROLOGIE : science des mesurages et ses applications (Source : ISO/IEC Guide 99 :2007)
Note : la métrologie comprend tous les aspects théoriques et pratiques des mesurages, quels que soient l'incertitude de mesure et le domaine d'application.

PROCEDURE DE MESURE : description détaillée d'un mesurage conformément à un ou plusieurs principes de mesure et à une méthode de mesure donnée, fondée sur un modèle de mesure et incluant tout calcul destiné à obtenir un résultat de mesure. (Source : ISO/IEC Guide 99 :2007)
Note 1 : une procédure de mesure est habituellement documentée avec assez de détails pour permettre à un opérateur d'effectuer un mesurage.
Note 2 : une procédure de mesure peut inclure une assertion concernant une incertitude cible.

PROCEDURE DE MESURE PRIMAIRE : procédure de mesure de référence utilisée pour obtenir un résultat de mesure sans relation avec un étalon d'une grandeur de même nature.
Exemple : le volume d'eau délivrée par une pipette de 5 ml à 20 °C est mesuré en pesant l'eau délivrée par la pipette dans un bécher, en prenant la différence entre la masse du bécher contenant de l'eau et la masse du bécher initialement vide, puis en corrigeant la différence de masse pour la température réelle de l'eau par l'intermédiaire de la masse volumique.

REPETABILITE : fidélité de mesure selon un ensemble de conditions de répétabilité. (Source : ISO/IEC Guide 99 :2007)

REPRODUCTIBILITE : fidélité de mesure selon un ensemble de conditions de reproductibilité. (Source : ISO/IEC Guide 99 :2007)

ROBUSTESSE : Une méthode analytique robuste est une méthode conçue pour que l'exactitude des résultats analytiques ne soit pas affectée de manière significative par de faibles écarts par rapport au plan expérimental prescrit par la méthode analytique. (Source : ISO/TS 13530 :2009)
SELECTIVTITE : propriété d'un système de mesure, utilisant une procédure de mesure spécifiée, selon laquelle le système fournit des valeurs mesurées pour un ou plusieurs mesurandes, telles que les valeurs de chaque mesurande sont indépendantes des autres mesurandes ou d'autre grandeurs dans le phénomène, le corps ou la substance en cours d'examen. (Source : ISO/IEC Guide 99 :2007)
Note 1 : en physique, il y a un seul mesurande ; les autres grandeurs sont de même nature que le mesurande et sont appliquées à l'entrée du système de mesure.
Note 2 : en chimie, les grandeurs mesurées impliquent souvent différents constituants dans le système en cours de mesurage et ces grandeurs ne sont pas nécessairement de même nature.
Note 3 : en chimie, la sélectivité d'un système de mesure est généralement obtenue pour des grandeurs associées à des constituants sélectionnés dont les concentrations sont dans des intervalles déterminés.
Note 4 : le concept de sélectivité en physique (voir note 1) est voisin de celui de spécificité, tel qu'il est quelquefois utilisé en chimie.

SENSIBILITE : quotient de la variation d'une indication d'un système de mesure par la variation correspondante de la valeur de la grandeur mesurée. (Source : ISO/IEC Guide 99 :2007)
Note 1 : la sensibilité peut dépendre de la valeur de la grandeur mesurée.
Note 2 : la variation de la valeur de la grandeur mesurée doit être grande par rapport à la résolution.

ORIGINAL 2014

SPECIFICITE : Propriété d'une méthode d'analyse de convenir exclusivement à la détermination de la grandeur de l'analyte considéré, avec la garantie que le signal mesuré provient seulement de l'analyte. (Source : NF T 90-210 :1999)

TRACABILITE METROLOGIQUE : propriété d'un résultat de mesure selon laquelle ce résultat peut être relié à une référence par l'intermédiaire d'une chaîne ininterrompue et documentée d'étalonnages dont chacun contribue à l'incertitude de mesure. (Source : ISO/IEC Guide 99 :2007)

VALEUR VRAIE : valeur d'une grandeur compatible avec la définition de la grandeur. (Source : ISO/IEC Guide 99 :2007).
Note : dans l'approche « erreur » de description des mesurages, la valeur vraie est considérée comme unique et, en pratique, impossible à connaître. L'approche « incertitude » consiste à reconnaître que, par suite de la quantité intrinsèquement incomplète de détails dans la définition d'une grandeur, il n'y a pas une seule valeur vraie mais plutôt un ensemble de valeurs compatibles avec la définition. Toutefois, cet ensemble de valeurs est, en principe et en pratique, impossible à connaître. D'autres approches évitent complètement le concept de valeur vraie et évaluent la validité des résultats de mesure à l'aide du concept de compatibilité de mesure.

VALEUR CONVENTIONNELLE : valeur attribuée à une grandeur par accord pour usage donné (Source : ISO/IEC Guide 99 :2007).
Exemple : valeur conventionnelle d'un étalon de masse donné, m = 100.00347 g.

VALIDATION : vérification, où les exigences spécifiées sont adéquates pour un usage déterminé. (Source : ISO/IEC Guide 99 :2007).
Exemple : une procédure de mesure, habituellement utilisée pour le mesurage de la concentration en masse d'azote dans l'eau, peut aussi être validée pour le mesurage dans le sérum humain.

ORIGINAL 2014