

**Caractérisation de l'écotoxicité
d'un échantillon de mousses de polyuréthane**

- essais aux seuils -

Rapport rédigé pour European Polyurethane

12 Juillet 2013

ref : CB/C090/RF

Auteur de ce rapport :

Christine Bazin *Chef de projet de la division POLDEN d'INSAVALOR
Responsable Impacts & Milieux PROVADEMSE – Site Lyon*

SOMMAIRE

1. Caractérisation des propriétés écotoxiques de déchets	4
1.1. Rappels sur les valeurs de références pour le critère H14	4
1.2. Protocole expérimental suivi	4
2. Résultats de la mise en œuvre du critère H14	6
2.1. Mesures annexes	6
2.2. Essai d'inhibition de la mobilité du crustacé <i>Daphnia magna</i>	6
2.3. Essai d'inhibition de la luminescence de la bactérie <i>Vibrio fischeri</i>	8
2.4. Essai d'inhibition de la croissance de l'algue <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	9
2.5. Essai d'inhibition de la reproduction de rotifères <i>Brachionus calyciflorus</i>	10
2.6. Essai d'inhibition de la germination et de la croissance de semences végétales	11
2.7. Essai de survie des vers de terre <i>Eisenia fetida</i>	12
3. Synthèse des résultats des bioessais et conclusions quant à l'écotoxicité des mousses de polyuréthane	13

INTRODUCTION

L'entreprise European Polyurethane, fournisseur de la société SOLINJECTION, a confié à la plateforme PROVADEMSE la réalisation d'une caractérisation de l'écotoxicité d'un échantillon de mousse polyuréthane dénommé **Safeclay 7** vis-à-vis d'organismes représentatifs d'écosystèmes terrestres et aquatiques.

La méthode de caractérisation et les résultats obtenus sont détaillés dans ce rapport.

Caractérisation de l'écotoxicité de mousses de polyuréthane

- critère H14 - volet écotoxicologique -

1. Caractérisation des propriétés écotoxiques de déchets

L'étude porte sur un échantillon de mousses de polyuréthane réceptionné le 10 juin 2013.

1.1. Rappels sur les valeurs de références pour le critère H14

La caractérisation écotoxicologique du matériau "mousses de polyuréthane" a été réalisée dans des conditions permettant de positionner le matériau vis à vis des essais de caractérisation de la propriété de danger pour l'environnement (H14) appliqués aux déchets.

Pour caractériser les déchets potentiellement dangereux au regard du critère H14, le Ministère chargé de l'environnement (MATE) a défini en janvier 1998 une procédure d'évaluation du danger intrinsèque du déchet sur les écosystèmes aquatiques et sur les écosystèmes terrestres, basée sur la procédure européenne élaborée par POLDEN en 1994 pour la Commission Européenne. A ce jour, ce document n'a pas fait l'objet d'un Arrêté d'application du Décret relatif à la classification des déchets. Une étude complémentaire menée, à la demande de l'ADEME, par l'INERIS en 2000 a conduit à valider l'approche développée et à modifier le seuil de classement proposé pour les essais de toxicité chronique.

C'est sur la base de ces deux documents que l'écotoxicité des différents déchets et éluats a été examinée au regard du critère de danger H14 : la procédure du ministère chargé de l'environnement 1998 (MATE 1998) et l'étude ADEME – INERIS 2000 (INERIS 2000) pour les seuils de classement de toxicité chronique.

Dans cette procédure, les valeurs de référence permettant de différencier un déchet dangereux d'un déchet non dangereux sont :

- ✓ **pour les essais de toxicité aiguë : $CE50 \leq 10\%$** , c'est-à-dire qu'un déchet sera considéré comme dangereux si la concentration qui provoque 50% d'inhibition avec un des essais de toxicité aigue est inférieure ou égale à 10%
- ✓ **pour les essais de toxicité chronique : $CE20 \leq 1\%$** , c'est-à-dire qu'un déchet sera considéré comme dangereux si la concentration qui provoque 20% d'inhibition avec un des essais de toxicité chronique est inférieure ou égale à 1%

1.2. Protocole expérimental suivi

Pour caractériser le niveau de toxicité des mousses de polyuréthane vis-à-vis des organismes aquatiques, les essais suivants ont été réalisés sur un éluat obtenu au moyen de l'essai de lixiviation NF EN 12457-2 (ratio de 100 g/litre) sans ajustement du pH et après filtration à 0,45µm conformément au protocole du MATE 1998 :

- l'inhibition de la luminescence de la bactérie *Vibrio fischeri* (NF ISO 11348-3) en 15 et 30 minutes - essai de toxicité aiguë
- l'inhibition de la mobilité du crustacé *Daphnia magna* (NF EN ISO 6341) en 24 et 48 heures - essai de toxicité aiguë
- l'inhibition de la croissance de populations d'algues vertes unicellulaires *Pseudokirchneriella subcapitata* (NF T90-375) - essai de toxicité chronique
- l'inhibition de la reproduction du rotifère *Brachionus calyciflorus* (NF ISO 20666) - essai de toxicité chronique

Pour caractériser le niveau de toxicité des mousses de polyuréthane vis-à-vis des organismes terrestres, les essais suivants ont été réalisés sur le matériau brut broyé à 4mm (granulométrie normalisée pour la mise en œuvre des essais d'écotoxicologie) :

- l'inhibition de la germination et de la croissance racinaire de végétaux supérieurs - essai microplaques (protocole fournisseur) - essai de toxicité aiguë
- la létalité vis-à-vis de vers de terre *Eisenia fetida* (PR NF ISO 11268-1) - essai de toxicité aiguë

Pour cette étude, dans une volonté d'optimisation technique et économique de la démarche d'évaluation du critère H14 (faisabilité technique, quantités nécessaires, durée d'essais, coûts), il a été retenu de tester la toxicité des mousses de polyuréthane (et de leurs éluats) selon un protocole de screening, sans chercher à obtenir de CE50, mais uniquement à la concentration correspondant à la valeur de référence ("essais aux seuils"). Dans ce cas, les valeurs de références sont formulées de la façon suivante :

- ✓ **avec les essais de toxicité aiguë** : l'échantillon sera considéré comme dangereux si le pourcentage d'inhibition observé à la concentration 10% est supérieur ou égal à 50%
- ✓ **avec les essais de toxicité chronique** : l'échantillon sera considéré comme dangereux si le pourcentage d'inhibition observé à la concentration 1% est supérieur ou égal à 20%

Dans cette démarche de screening, si les niveaux d'inhibitions observés sont significativement différents des valeurs de référence, le résultat est validé comme tel. Si les niveaux d'inhibitions observés sont proches des valeurs de référence, un essai complet avec une gamme de dilutions permettant d'obtenir une CE20 ou une CE50 devrait être réalisé pour confirmation. Pour consolider cette démarche, l'essai complet d'inhibition de la mobilité de *D. magna* est réalisé systématiquement.

Les résultats obtenus avec cette batterie de bioessais en vue de caractériser l'échantillon de mousses de polyuréthane au regard de la propriété de danger H14 sont présentés ci-après.

Les conclusions sur la dangerosité de l'échantillon de mousses de polyuréthane au regard du critère H14 sont formulées sous réserve que l'échantillon reçu au laboratoire soit représentatif du gisement de matériau.

On notera que l'ensemble de la batterie d'essais doit être prise en compte, et qu'une réponse positive avec un seul des organismes est suffisante pour qualifier le matériau de dangereux.

2. Résultats de la mise en œuvre du critère H14

2.1. Mesures annexes

Date de réception de l'échantillon : 10 juin 2013

Broyage de l'échantillon à 4 mm

Lixiviation de l'échantillon de mousses broyées : 25 juin 2013

Les pH et conductivité de l'échantillon de mousses de polyuréthane ont été mesurés. Les valeurs obtenues sont récapitulées dans le tableau ci-dessous.

pH	conductivité
5,97	53 µS/cm

Tableau 1 pH / conductivité des mousses de polyuréthane (ratio 1/5)

Conformément aux exigences des normes des bioessais, le pH et la conductivité des éluats ont été mesurés. Les valeurs obtenues sont récapitulées dans le tableau ci-dessous.

pH	conductivité
5,93	42,3 µS/cm

Tableau 2 pH / conductivité de l'éluat obtenu par lixiviation NF EN 12457-2 (ratio 100 g/l)

2.2. Essai d'inhibition de la mobilité du crustacé *Daphnia magna*



Cet essai permet d'évaluer la toxicité aiguë d'une matrice liquide, et en particulier d'un éluat. Il est effectué selon la norme NF EN ISO 6341, avec des daphnies (crustacés aquatiques) issues de l'élevage du laboratoire et âgées de moins de 24h.

Dans les conditions standardisées, l'essai est réalisé sur une gamme de 5 à 10 dilutions de l'éluat non filtré dans le milieu de référence (eau synthétique) parallèlement à un lot témoin sans éluat. L'essai se déroule en tubes à essais, à température ambiante ($20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), avec quatre répétitions de 5 daphnies par concentration.

On détermine par cet essai la concentration qui, en 24 et en 48 heures, immobilise 50% des daphnies (CE50 24h).

Avec cet essai, selon les valeurs de référence de la procédure MATE 98, un déchet sera considéré comme dangereux si la CE50 de son éluat est inférieure ou égale à 10%, ou, formulé autrement, si la dilution de 10% provoque une inhibition de la mobilité des daphnies supérieure ou égale à 50%.

L'essai a été réalisé le 25/06/13.

Le résultat de l'essai complet d'inhibition de la mobilité de *D. magna* en 24h et en 48h est présenté dans le tableau suivant :

Essai complet <i>D. magna</i>		Inhibition de la mobilité CE50	Valeur de référence
		24 h	> 90 %
48 h	> 90 %		

Tableau 3 Résultats de l'essai *D. magna* pour l'éluat non filtré et valeur de référence de classement de déchets dangereux au regard du critère H14 (projet MATE 1998 & INERIS 2000)

Conclusion partielle 1a - *D. magna*

Ces résultats montrent que, pour la daphnie, le contact avec un éluat de mousses de polyuréthane obtenu selon l'essai de lixiviation NF EN 12457-2 avec un ratio de 100 g/litre, ne génère pas de toxicité aiguë quantifiable. En effet, les CE50 24h et 48h sont supérieures à la valeur de référence qui caractériserait un déchet dangereux selon la procédure du ministère chargé de l'environnement 1998 (MATE 1998) pour les essais de toxicité aiguë.

L'échantillon de mousses de polyuréthane étudié ne présente pas de caractère dangereux vis-à-vis de l'essai aigu d'inhibition de la mobilité du crustacé *D. magna*.

Dans la démarche de screening - réalisée avec cet essai pour information complémentaire, l'essai est réalisé uniquement pour une dilution de l'éluat à 10%.

Le résultat de l'essai réalisé à la concentration seuil pour les essais de toxicité aiguë (10%) est présenté dans le tableau ci-dessous.

Essai à la concentration seuil <i>D. magna</i>		Inhibition de la mobilité à 10 %	Valeur de référence
		en 24 h	0 %
en 48 h	0 %		

Tableau 4– Inhibition de la mobilité obtenu avec l'essai *D. magna* à la concentration seuil de classement de déchets dangereux au regard du critère H14 (projet MATE 1998 & INERIS 2000)

Conclusion partielle 1b - *D. magna*

A la concentration de 10% de l'éluat dans du milieu témoin, on n'observe aucune inhibition de la mobilité des daphnies, ce qui confirme les informations issues des essais complets présentés ci-dessus.

2.3. Essai d'inhibition de la luminescence de la bactérie *Vibrio fischeri*



Cet essai permet d'évaluer la toxicité aiguë d'une matrice liquide, et en particulier d'un éluat. Il est effectué selon la norme NF ISO 11348-3, avec des bactéries lyophilisées issues du commerce et remises en suspension immédiatement avant l'essai.

Dans les conditions standardisées, l'essai est réalisé sur une gamme de 8 dilutions de l'éluat filtré dans le milieu de référence (eau distillée salée à 20 g NaCl/l) parallèlement à deux lots témoins sans éluat. L'essai se déroule en tubes à essais, à température 15°C.

Avec l'essai complet, on détermine la concentration qui, après 15 et 30 minutes d'incubation, inhibe 50% de la luminescence émises par les suspensions bactériennes (CE50 15min et CE50 30 min). Selon les valeurs de référence de la procédure MATE 98, un échantillon sera considéré comme dangereux si la CE50 15 et/ou 30 min de son éluat est inférieure ou égale à 10%, ou, formulé autrement, si la dilution de 10% provoque une inhibition de la luminescence supérieure ou égale à 50%.

Dans la démarche de screening qui a été retenue, l'essai est réalisé uniquement sur une dilution de l'éluat à 10%.

L'essai a été réalisé le 26 juin 2013.

Les résultats de l'essai réalisé à la concentration seuil pour les essais de toxicité aiguë (10%) sont présentés dans le tableau ci-dessous ; ils résultent de la moyenne de 4 réplicats :

Essai à la concentration seuil <i>V. fischeri</i>	Inhibition de la luminescence à 10 %	Valeur de référence
15 min	3,3 % (de 0% à 5,2%)	50 %
30 min	5,7 % (de 2,1% à 8,8%)	

Tableau 5– Pourcentages d'inhibition de la luminescence obtenus avec l'essai *V. fischeri* à la concentration seuil de classement de déchets dangereux au regard du critère H14 (projet MATE 1998 & INERIS 2000)

Conclusion partielle 2 - *V. fischeri*

Ces résultats montrent que, pour la bactérie *V. fischeri*, le contact avec un éluat de mousses de polyuréthane obtenu selon l'essai de lixiviation NF EN 12457-2 avec un ratio de 100 g/litre, ne génère pas de toxicité aiguë quantifiable.

En effet, à la concentration de 10% de l'éluat dans du milieu témoin, on n'observe aucune inhibition de la luminescence bactérienne qui soit supérieure à 50%. Les réponses sont donc significativement inférieures à la valeur de référence qui rendrait un déchet dangereux.

L'échantillon de mousses de polyuréthane ne présente pas de caractère dangereux vis-à-vis de l'essai aigu d'inhibition de la luminescence de la bactérie *V. fischeri*.

2.4. Essai d'inhibition de la croissance de l'algue *Pseudokirchneriella subcapitata*



Cet essai permet d'évaluer la toxicité chronique d'un éluat vis-à-vis d'un organisme aquatique végétal aquatique. Il est effectué selon la norme NF T 90-375. L'essai est réalisé avec des algues vertes planctoniques unicellulaires *Pseudokirchneriella subcapitata* (de souches CCAP 278/4) cultivées au laboratoire, à partir d'une préculture âgée de 2 à 4 jours. Il est réalisé à partir d'une gamme de 5 à 10 dilutions de l'éluat dans le milieu de référence (eau synthétique standardisée) parallèlement à un lot témoin sans éluat (6 réplicats). L'essai est réalisé en triplicat, en enceinte thermostatée à une température de $23 \pm 2^\circ\text{C}$, sous l'éclairage de lampes fluorescentes blanches (4-7 W), qui fournissent un éclairage continu de 60-90 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$. On détermine la CE20 72h, concentration qui inhibe la croissance algale de 20% par rapport au témoin après 72h d'incubation.

Avec cet essai, selon les valeurs de référence de la procédure MATE 98 modifiée par le rapport ADEME - INERIS (2000), un déchet sera considéré comme dangereux si la CE20 de son éluat est inférieure ou égale à 1% ou, formulé autrement, si la dilution de 1% provoque une inhibition de la croissance des algues supérieure ou égale à 20%.

Dans la démarche de screening qui a été retenue, l'essai est réalisé uniquement pour une dilution de l'éluat de 1% dans le milieu témoin.

L'essai a été mis en route le 25 juin 2013. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Essai à la concentration seuil <i>P. subcapitata</i> 72h	inhibition de la croissance algale à la dilution 1%	Valeur de référence inhibition à 1%
	2,5 %	20 %

Tableau 6 – Inhibition obtenus avec l'essai *P. subcapitata* à la concentration de référence de classement de déchets dangereux au regard du critère H14 (projet MATE 1998 & INERIS 2000)

Conclusion partielle 3 - *P. subcapitata*

Ces résultats montrent que, pour l'algue *P. subcapitata*, le contact avec un éluat des mousses de polyuréthane, obtenu selon l'essai de lixiviation NF EN 12457-2 avec un ratio de 100 g/litre, filtré à 0,45 μm et dilué à 1% dans le milieu de référence, ne génère pas d'inhibition de la croissance supérieure à 20%. En effet, à la concentration de 1%, l'inhibition de la croissance de la population d'algues est significativement inférieure à la valeur seuil de 20% qui caractériserait un déchet dangereux selon la procédure du ministère chargé de l'environnement 1998 (MATE 1998) modifiée par le rapport ADEME - INERIS (2000) pour les essais de toxicité chronique.

L'échantillon de mousses de polyuréthane ne présente pas de caractère dangereux vis-à-vis de l'essai chronique d'inhibition de la croissance de la population de l'algue unicellulaire *P. subcapitata*.

2.5. Essai d'inhibition de la reproduction de rotifères *Brachionus calyciflorus*

Cet essai sert à évaluer la toxicité chronique d'un résidu liquide vis-à-vis d'un organisme aquatique animal. Il est effectué selon la norme NF T 90-377.



L'essai est réalisé avec des organismes provenant d'œufs de résistances du commerce, exposés individuellement à une gamme de cinq dilutions de l'éluat pendant 48 heures. L'essai est réalisé en microplaques. Il comprend huit réplicats par dilution et un lot témoin sans éluat. En début d'essai, un seul organisme âgé de moins de deux heures est introduit dans chaque puits. L'incubation se fait à $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, à l'obscurité, dans une atmosphère saturée en humidité.

L'essai est statique, sans renouvellement de milieu, l'alimentation des organismes est assurée en début d'essai. En fin d'essai, les organismes présents dans chaque puits sont dénombrés.

Dans la démarche de screening qui a été retenue, l'essai est réalisé uniquement pour une dilution de l'éluat de 1%.

On notera que cet essai ne fait pas explicitement partie de la liste des essais chroniques de la procédure MATE 98 car il n'existait pas à cette époque. Il est actuellement réalisé en remplacement de l'essai *Ceriodaphnia dubia* en raison de son moindre coût, de sa sensibilité comparable et de sa durée moindre. Avec cet essai chronique, un échantillon sera considéré comme dangereux si la CE20 de son éluat est inférieure ou égale à 1% ou, formulé autrement, si la dilution de 1% provoque une inhibition de la croissance de la population de rotifères supérieure ou égale à 20%.

L'essai a été mis en route le 28 juin 2013. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous. Ils résultent de la moyenne de 2 séries de 8 réplicats.

Essai à la concentration seuil <i>B. calyciflorus</i> en 48h	inhibition de la reproduction à la dilution 1%	Valeur de référence inhibition à 1%
		16,7 %

Tableau 7 – Inhibition obtenue avec l'essai *B. calyciflorus* à la concentration de référence de classement de déchets dangereux au regard du critère H14 (projet MATE 1998 & INERIS 2000)

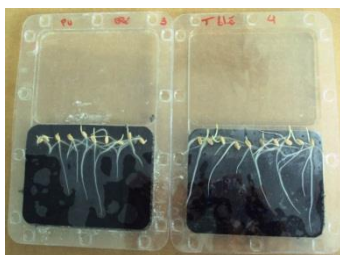
Conclusion partielle 4 - *B. calyciflorus*

Ces résultats montrent que, pour le rotifère *B. calyciflorus*, le contact avec les éluats de mousses de polyuréthane, obtenus selon l'essai de lixiviation NF EN 12457-2 avec un ratio de 100 g/litre, filtré à 0,45 μm et dilué à 1% dans le milieu de référence, génère une toxicité chronique quantifiable mais inférieure à la valeur de référence qui caractériserait un déchet dangereux selon la procédure du ministère chargé de l'environnement 1998 (MATE 1998) modifiée par le rapport ADEME - INERIS (2000) pour les essais de toxicité chronique.

L'échantillon de mousses de polyuréthane ne présente pas de caractère dangereux vis-à-vis de l'essai chronique d'inhibition de la croissance de la population du rotifère *B. calyciflorus*.

2.6. Essai d'inhibition de la germination et de la croissance de semences végétales

Essais en microplaques :



L'essai d'inhibition de la germination et de la croissance des racines de semences végétales en microplaques permet d'évaluer la toxicité aiguë de matériaux vis-à-vis de végétaux terrestres. Cet essai est effectué en microplaques, en suivant le protocole du fabricant. Comme pour les essais en pots ci-dessus, le support de culture témoin est le sol de référence ISO¹) humidifié avec de l'eau du réseau déchlorée par aération douce.

Deux espèces de semences végétales ont été utilisées :

- le blé tendre (graminée)
- le colza (crucifère)

Cet essai est pratiqué depuis une dizaine d'années et en cours de normalisation au niveau international (ISO). Il a été retenu pour cette étude en remplacement de l'essai en pots pour ses nombreux avantages, et particulièrement :

- diminution des quantités d'échantillon nécessaires (500 g *versus* 15 à 25 kg)
- diminution de la durée de l'essai (72h vs 4 semaines)
- allègement du suivi (pas de suivi vs arrosages réguliers pendant 4 semaines)
- allègement des lectures (mesures directes ou par analyse d'image vs récolte, lavage, pesée, séchage au four 24h, pesées)
- diminution du taux d'occupation de l'enceinte climatisée

Pour chaque espèce végétale, on réalise quatre réplicats de 10 semences chacun.

Le nombre de semences germées et la longueur des racines sont mesurés après 72 heures d'incubation à l'obscurité, directement à travers les couvercles des microplaques ayant servi aux cultures. On détermine, pour chacune des espèces, le pourcentage d'inhibition de la germination par rapport aux lots témoins.

Cet essai, actuellement en cours de normalisation à l'ISO, ne fait pas partie de la liste des essais végétaux de la procédure MATE 98 car il n'existait pas à cette époque. Avec cet essai, un déchet sera considéré comme dangereux lorsque sa CE50 pour la germination ou pour la croissance des racines sera inférieure ou égale à 10%.

¹ Le sol ISO est réalisé en mélangeant (pourcentages en masses sèches) : 10 de tourbe de sphaigne finement moulue - 20% de kaolin - 70% de sable de Fontainebleau) et en ajustant le pH à 6,0 ± 0,5 avec du CaCO₃

Dans la démarche de screening qui a été retenue, l'essai est réalisé uniquement à la dilution de 10% de l'échantillon dans le milieu standardisé. C'est-à-dire que l'échantillon sera considéré comme dangereux si une dilution de 10% dans le sol ISO (sol témoin) provoque une inhibition de la germination des semences, ou de leur croissance racinaire, supérieure ou égale à 50%.

L'essai a été mis en route le 18 juin 2013. Les résultats des essais d'inhibition de la germination et de la croissance racinaire sont présentés dans les tableaux suivants.

Essais à la concentration seuil végétaux en microplaques	espèces	Inhibition de la germination à 10%	inhibition de la croissance racinaire à 10%	Valeur de référence inhibition à 10%
	Blé tendre	0 %	0,7 %	50%
	Colza	10,3 %	0 %	

Tableau 8 – Pourcentages d'inhibition obtenus pour des végétaux en microplaque à la concentration de référence de classement de déchets dangereux au regard du critère H14 (projet MATE 1998 & INERIS 2000)

Conclusion partielle 5 - végétaux

Ces résultats montrent qu'avec la mousse de polyuréthane (broyée à 4 mm) diluée à 10% dans le substrat témoin, on n'observe aucune inhibition significative de la germination ni de la croissance racinaire des deux espèces végétales testées. En effet, à la concentration de 10%, l'inhibition de la germination comme de la croissance racinaire est significativement inférieure à la valeur seuil de 50% qui caractériserait un déchet dangereux selon la procédure du ministère chargé de l'environnement 1998 (MATE 1998) pour les essais de toxicité aiguë avec des organismes terrestres.

L'échantillon de mousses de polyuréthane ne présente pas de caractère dangereux vis-à-vis des essais végétaux en microplaques.

2.7. Essai de survie des vers de terre *Eisenia fetida*



L'essai consiste à évaluer la mortalité des vers après deux semaines au contact d'un matériau à caractériser.

Il est réalisé selon la norme NF ISO 11268-1. Les organismes utilisés sont des vers adultes issus des élevages du laboratoire, âgés d'au moins deux mois, munis d'un clitellum et dont la masse est comprise entre 300 à 600 mg.

Dans le protocole de l'essai complet, une gamme de 5 dilutions du matériau dans le substrat de référence (sol ISO - voir composition plus haut) est réalisée parallèlement à un témoin sans échantillon. L'essai se déroule dans des unités expérimentales fermées mais non étanches, avec quatre réplicats de 10 vers par dilution. La durée d'exposition est de 2 semaines pendant lesquelles les vers ne sont pas nourris.

On détermine la CL50 14j : concentration qui provoque la mortalité de 50% de la population par rapport au témoin, après 14 jours d'incubation.

Dans la démarche de screening qui a été retenue, l'essai est réalisé uniquement à la dilution de 10% de l'échantillon dans le milieu de référence. C'est-à-dire que la mousse de polyuréthane sera considérée comme dangereuse si une dilution de 10% dans le sol ISO (sol témoin) provoque une mortalité des vers supérieure ou égale à 50%.

L'essai a été mis en route le 15 juin 2013. Les résultats de survie du vers de terre *Eisenia fetida* en 14 jours sont présentés dans les tableaux ci-dessous.

Essai au seuil <i>Eisenia fetida</i> - 14j	létalité à 10%	Valeur de référence létalité à 10%
	0 %	50 %

Tableau 9 – Pourcentages de mortalité obtenus à la concentration de référence de classement de déchets dangereux au regard du critère H14 (projet MATE 1998 & INERIS 2000)

Conclusion partielle 6 - *Eisenia fetida*

Ces résultats montrent qu'avec la mousse de polyuréthane (broyée à 4mm) diluée à 10% dans le substrat témoin, on n'observe aucune létalité des vers de terre. En effet, à la concentration de 10%, aucune mortalité n'a été observée, soit un niveau significativement inférieur à la valeur seuil de 50% qui caractériserait un déchet dangereux selon la procédure du ministère chargé de l'environnement 1998 (MATE 1998) pour les essais de toxicité aiguë avec des organismes terrestres.

L'échantillon de mousses de polyuréthane ne présente pas de caractère dangereux vis-à-vis de l'essai aigu de létalité vis-à-vis des vers de terre.

3. Synthèse des résultats des bioessais et conclusions quant à l'écotoxicité des mousses de polyuréthane

Les résultats de la batterie d'essais complets mise en œuvre pour évaluer l'écotoxicité d'un échantillon de mousses de polyuréthane au regard du critère de danger H14 selon la procédure du ministère chargé de l'environnement 1998 (MATE 1998) - testée uniquement aux valeurs seuils - sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Pour chaque essai, le positionnement "dangereux" / "non dangereux" est établi en référence aux valeurs de la démarche MATE 98, complétée par l'étude ADEME – INERIS 2000 pour le seuil de classement de toxicité chronique.

matrice	dilution testée	organisme	inhibition à la concentration testée	valeur de référence
éluat 1/10 filtré pH : 5,93 conductivité : 42 µS/cm	10%	<i>D. magna</i> 24h	0 %	50%
		48h	0 %	
	1%	<i>V. fisheri</i> 15 min	3,3 %	20%
		30 min	5,7 %	
mousse broyée à 4mm pH : 5,97 conductivité : 53 µS/cm	10%	Blé germination	0 %	50%
		Colza germination	10,3 %	
		Blé racines	0,7 %	
		Colza racines	0 %	
		Mortalité <i>Eisenia</i>	0 %	

Tableau 10 – Inhibitions obtenues aux concentrations de référence de classement de déchets dangereux au regard du critère H14 (projet MATE 1998 & INERIS 2000)

Conclusion générale

Aucun des essais n'a révélé une toxicité suffisante pour permettre de classer l'échantillon de mousses de polyuréthane étudié comme dangereux au regard du critère H14.

C'est-à-dire que, aux dilutions de 10% et de 1%, toutes les inhibitions relevées sont significativement inférieures aux valeurs d'inhibition de référence pour les essais aigus et chroniques.