

GEOTEC**Monsieur Geoffrey BONNEFOY**

Centre d'activités Concorde - lot n° 14

11 Avenue de Rome - ZI les Estroublans

13127 VITROLLES

RAPPORT D'ANALYSE

Dossier N° : 20E116607

Version du : 16/09/2020

N° de rapport d'analyse : AR-20-LK-165659-01

Date de réception technique : 17/07/2020

Première date de réception physique : 10/07/2020

Référence Dossier : N° Projet : 20/00952/ANNCY

Nom Projet : THONON LES BAINS

Nom Commande : THONON LES BAINS

Référence Commande : 2913

Coordinateur de Projets Clients : Aurélie RODERMANN / AurelieRODERMANN@eurofins.com / +33 388021438

N° Ech	Matrice		Référence échantillon
001	Sédiments	(SED)	Sed-1
002	Sédiments	(SED)	Sed-2
003	Sédiments	(SED)	Sed-3
004	Sédiments	(SED)	Sed-1 4

RAPPORT D'ANALYSE
Dossier N° : 20E116607

Version du : 16/09/2020

N° de rapport d'analyse : AR-20-LK-165659-01

Date de réception technique : 17/07/2020

Première date de réception physique : 10/07/2020

Référence Dossier : N° Projet : 20/00952/ANNCY

Nom Projet : THONON LES BAINS

Nom Commande : THONON LES BAINS

Référence Commande : 2913

N° Echantillon

Référence client :

Matrice :

Date de prélèvement :

Date de début d'analyse :

Température de l'air de l'enceinte :

001
Sed-1
SED

09/07/2020

21/07/2020

22.2°C

002
Sed-2
SED

09/07/2020

21/07/2020

22.2°C

003
Sed-3
SED

09/07/2020

21/07/2020

22.2°C

004
Sed-1 4
SED

09/07/2020

21/07/2020

22.2°C

Lixiviation
LSA36 : Lixiviation 1x24 heures

Lixiviation 1x24 heures

Refus pondéral à 4 mm

% P.B.

Fait

Fait

Fait

Fait

8.1

7.1

8.5

0.4

XXS4D : Pesée échantillon lixiviation

Volume

ml

950

950

950

950

Masse

g

94.00

96.7

96.1

96.00

Analyses immédiates sur éluat
LSQ13 : Mesure du pH sur éluat

pH (Potentiel d'Hydrogène)

Température de mesure du pH

°C

8.8

8.1

8.2

8.7

21

21

21

21

LSQ02 : Conductivité à 25°C sur éluat

Conductivité corrigée automatiquement à 25°C

µS/cm

Température de mesure de la conductivité

°C

110

137

374

108

21.2

21.5

21.3

21.1

Sous-traitance | Eurofins Ecotoxicologie France
IY031 : Tamisage, centrifugation

g/kg

voir rapport joint

voir rapport joint

voir rapport joint

voir rapport joint

IY00H : Lixiviation

voir rapport joint

voir rapport joint

voir rapport joint

voir rapport joint

IY00Q : Test Microtox sur éluat

Inhibition Luminescence de V. fischeri (15min)

% (CE 50)

voir rapport joint

voir rapport joint

voir rapport joint

voir rapport joint

Inhibition Luminescence de V. fischeri (30min)

% (CE 50)

voir rapport joint

voir rapport joint

voir rapport joint

voir rapport joint

Inhibition Luminescence de V. fischeri (5min)

% (CE 50)

voir rapport joint

voir rapport joint

voir rapport joint

voir rapport joint

IX00A : Test Brachionus

Brachionus calyciflorus CE20/48h

% (CE 20)

voir rapport joint

voir rapport joint

voir rapport joint

voir rapport joint

Brachionus calyciflorus CE50/48h

% (CE 50)

voir rapport joint

voir rapport joint

voir rapport joint

voir rapport joint

RAPPORT D'ANALYSE

Dossier N° : 20E116607

Version du : 16/09/2020

N° de rapport d'analyse : AR-20-LK-165659-01

Date de réception technique : 17/07/2020

Première date de réception physique : 10/07/2020

Référence Dossier : N° Projet : 20/00952/ANNCY

Nom Projet : THONON LES BAINS

Nom Commande : THONON LES BAINS

Référence Commande : 2913

N° Echantillon

Référence client :

Matrice :

Date de prélèvement :

Date de début d'analyse :

Température de l'air de l'enceinte :

001
Sed-1
SED

09/07/2020

21/07/2020

22.2°C

002
Sed-2
SED

09/07/2020

21/07/2020

22.2°C

003
Sed-3
SED

09/07/2020

21/07/2020

22.2°C

004
Sed-1 4
SED

09/07/2020

21/07/2020

22.2°C

Sous-traitance | Eurofins Ecotoxicologie France

 IX248 : **Test plantes émergence
et croissance - 1 semence**

% (CE 50)

voir rapport joint

voir rapport joint

voir rapport joint

voir rapport joint

D : détecté / ND : non détecté

z2 ou (2) : zone de contrôle des supports

Observations	N° Ech	Réf client
Lixiviation : La nature de l'échantillon rend la filtration difficile. Certains résultats sont susceptibles d'être sur-estimés	(001) (002) (004)	Sed-1 / Sed-2 / Sed-1 4 /



Aurélie RODERMANN
Coordinateur Projets Clients

RAPPORT D'ANALYSE

Dossier N° : 20E116607

Version du : 16/09/2020

N° de rapport d'analyse : AR-20-LK-165659-01

Date de réception technique : 17/07/2020

Première date de réception physique : 10/07/2020

Référence Dossier : N° Projet : 20/00952/ANNCY

Nom Projet : THONON LES BAINS

Nom Commande : THONON LES BAINS

Référence Commande : 2913

La reproduction de ce document n'est autorisée que sous sa forme intégrale. Il comporte 6 page(s). Le présent rapport ne concerne que les objets soumis à l'essai. Les résultats et conclusions éventuelles s'appliquent à l'échantillon tel qu'il a été reçu. Les données transmises par le client pouvant affecter la validité des résultats, ne sauraient engager la responsabilité du laboratoire.

Lors de l'émission d'une nouvelle version de rapport, toute modification est identifiée par une mise en forme gras, italique et souligné.

L'information relative au seuil de détection d'un paramètre n'est pas couverte par l'accréditation Cofrac.

Les résultats précédés du signe < correspondent aux limites de quantification, elles sont la responsabilité du laboratoire et fonction de la matrice.

Tous les éléments de traçabilité et incertitude (déterminée avec $k = 2$) sont disponibles sur demande.

Pour les résultats issus d'une sous-traitance, les rapports émis par des laboratoires accrédités sont disponibles sur demande.

Laboratoire agréé par le ministre chargé de l'environnement - se reporter à la liste des laboratoires sur le site internet de gestion des agréments du ministère chargé de l'environnement : <http://www.labeau.ecologie.gouv.fr>

Laboratoire agréé pour la réalisation des analyses des paramètres du contrôle sanitaire des eaux – portée détaillée de l'agrément disponible sur demande.

Laboratoire agréé par le ministre chargé des installations classées conformément à l'arrêté du 11 Mars 2010. Mention des types d'analyses pour lesquels l'agrément a été délivré sur : www.eurofins.fr ou disponible sur demande.

Annexe technique

Dossier N° : 20E116607

N° de rapport d'analyse : AR-20-LK-165659-01

Emetteur : M. Geoffrey BONNEFOY

Commande EOL : 006-10514-605355

Nom projet :

Référence commande : 2913

Sédiments

Code	Analyse	Principe et référence de la méthode	LQI	Unité	Prestation réalisée sur le site de :
IX00A	Test Brachionus Brachionus calyciflorus CE20/48h Brachionus calyciflorus CE50/48h	Technique [Détermination de la toxicité chronique vis-à-vis de Brachionus calyciflorus en 48 h] - NF ISO 20666		% (CE 20) % (CE 50)	Prestation soustraite à EUROFINS ECOTOXICOLOGIE FRANCE
IX248	Test plantes émergence et croissance - 1 semence	Technique [Détermination des effets des polluants sur la flore du sol] - NF ISO 11269-2		% (CE 50)	
IY00H	Lixiviation	Lixiviation - NF EN 12457-2			
IY00Q	Test Microtox sur éluat Inhibition Luminescence de V. fischeri (15min) Inhibition Luminescence de V. fischeri (30min) Inhibition Luminescence de V. fischeri (5min)	Technique [Essais de toxicité aigue sur bactéries luminescentes] - NF EN ISO 11348-3		% (CE 50) % (CE 50) % (CE 50)	
IY031	Tamassage, centrifugation	Technique -		g/kg	
LSA36	Lixiviation 1x24 heures Lixiviation 1x24 heures Refus pondéral à 4 mm	Lixiviation [Ratio L/S = 10 l/kg - Broyage par concasseur à mâchoires] - NF EN 12457-2	0.1	% P.B.	Eurofins Analyse pour l'Environnement France
LSQ02	Conductivité à 25°C sur éluat Conductivité corrigée automatiquement à 25°C Température de mesure de la conductivité	Potentiométrie [Méthode à la sonde] - NF EN 27888 - NF EN 16192		µS/cm °C	
LSQ13	Mesure du pH sur éluat pH (Potentiel d'Hydrogène) Température de mesure du pH	Potentiométrie - NF EN ISO 10523 - NF EN 16192		°C	
XXS4D	Pesée échantillon lixiviation Volume Masse	Gravimétrie -		ml g	

Annexe de traçabilité des échantillons

Cette traçabilité recense les flacons des échantillons scannés dans EOL sur le terrain avant envoi au laboratoire

Dossier N° : 20E116607

N° de rapport d'analyse : AR-20-LK-165659-01

Emetteur :

Commande EOL : 006-10514-605355

Nom projet : N° Projet : 20/00952/ANNCY

Référence commande : 2913

THONON LES BAINS

Nom Commande : THONON LES BAINS

Sédiments

N° Ech	Référence Client	Date & Heure Prélèvement	Date de Réception Physique (1)	Date de Réception Technique (2)	Code-Barre	Nom Flacon
001	Sed-1	09/07/2020	10/07/2020	17/07/2020		
002	Sed-2	09/07/2020	10/07/2020	17/07/2020		
003	Sed-3	09/07/2020	10/07/2020	17/07/2020		
004	Sed-1 4	09/07/2020	10/07/2020	17/07/2020		

(1) : Date à laquelle l'échantillon a été réceptionné au laboratoire.

Lorsque l'information n'a pas pu être récupérée, cela est signalé par la mention N/A (non applicable).

(2) : Date à laquelle le laboratoire disposait de toutes les informations nécessaires pour finaliser l'enregistrement de l'échantillon.

**EUROFINS ANALYSES POUR
L'ENVIRONNEMENT FRANCE SAS**
Département Environnement
5 rue d'Otterswiller
67700 SAVERNE
FRANCE

RAPPORT D'ANALYSE

N° de rapport d'analyse : AR-20-IY-029565-01

Version du : 15/09/2020

Page 1/2

Dossier N° : 20G007061

Date de réception : 28/07/2020

Référence bon de commande : EUFRSA200099614

N° Ech	Matrice	Référence échantillon	Observations
001	Sédiments	20E116607-001 / Sed-1 -	

N° ech **20G007061-001** | Version AR-20-IY-029565-01(15/09/2020) | Votre réf. 20E116607-001

Page 2/2

Prélèvement effectué par Prélevé par vos soins Date de réception 28/07/2020 11:19
Date prélèvement 09/07/2020 Début d'analyse 15/09/2020

Ecotoxicologie continentale

	Résultat	Unité		
IX00A : Test Brachionus Prestation réalisée par nos soins				
Technique [Détermination de la toxicité chronique vis-à-vis de Brachionus calyciflorus en 48 h] - NF ISO 20666				
Brachionus calyciflorus CE20/48h	voir rapport joint	% (CE 20)		
Brachionus calyciflorus CE50/48h	voir rapport joint	% (CE 50)		
IY00Q : Test Microtox sur éluat Prestation réalisée par nos soins				
Technique [Essais de toxicité aigue sur bactéries luminescentes] - NF EN ISO 11348-3				
Inhibition Luminescence de V. fischeri (5min)	voir rapport joint	% (CE 50)		
Inhibition Luminescence de V. fischeri (15min)	voir rapport joint	% (CE 50)		
Inhibition Luminescence de V. fischeri (30min)	voir rapport joint	% (CE 50)		
IY00H : Lixiviation Prestation réalisée par nos soins				
Lixiviation - NF EN 12457-2				
IX248 : Test plantes émergence et croissance - 1 semence Prestation réalisée par nos soins				
Technique [Détermination des effets des polluants sur la flore du sol] - NF ISO 11269-2				

Divers

	Résultat	Unité		
IY031 : Tamisage, centrifugation Prestation réalisée par nos soins				
Technique -				
	voir rapport joint	g/kg		



Eloise Renouf

La reproduction de ce rapport n'est autorisée que sous sa forme intégrale. Il comporte 2 page(s). Le présent rapport ne concerne que les objets soumis à l'essai. Les résultats s'appliquent à l'échantillon tel qu'il a été reçu.

Pour déclarer, ou non, la conformité à la spécification, il n'a pas été tenu explicitement compte de l'incertitude associée au résultat. Tous les éléments de traçabilité, ainsi que les incertitudes de mesure, sont disponibles sur demande.

Pour les résultats issus d'une sous-traitance, les rapports émis par des laboratoires accrédités sont disponibles sur demande.

Les données fournies par le client ne sauraient engager la responsabilité du laboratoire.

Lors de l'émission d'une nouvelle version de rapport, toute modification est identifiée par une mise en forme gras, italique et souligné.

A l'attention de :

**EUROFINS ANALYSES
POUR L'ENVIRONNEMENT
(Saverne)**

***EVALUATION SUIVANT LE CRITERE HP14
DE L'ECOTOXICITE D'UN ECHANTILLON
DE SEDIMENT REFERENCE :***

« 20E116607-001 »

Rapport d'analyses n° 20FER6-0817 du 15/09/2020

SOMMAIRE

I.	PRESENTATION DE L'ECHANTILLON	4
II.	VERIFICATION DU CARACTERE ECOTOXIQUE DES SEDIMENTS : CRITERE HP14*	4
III.	PREPARATION DES ELUATS.....	5
IV.	DESCRIPTION SIMPLIFIEE DES TESTS BIOLOGIQUES DE TOXICITE	5
IV.1	DESCRIPTEURS TOXICOLOGIQUES	5
IV.2	TESTS DE TOXICITE REALISES SUR MATRICES LIQUIDES	5
IV.2.1	<i>Tests de toxicité aiguë.....</i>	<i>5</i>
IV.2.2	<i>Test de toxicité chronique.....</i>	<i>6</i>
IV.3	TESTS DE TOXICITE REALISES SUR SEDIMENTS CENTRIFUGES.....	7
IV.3.1	<i>Test d'inhibition de l'émergence et de la croissance de semences par une matrice potentiellement polluée (NF EN ISO 11269-2, 2013)</i>	<i>7</i>
V.	DATES DES DIFFERENTES ETAPES.....	7
VI.	CARACTERISATION DU SEDIMENT	8
VI.1	ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES.....	8
VI.2	RESULTATS DES TESTS BIOLOGIQUES DE TOXICITE.....	8
VI.2.1	<i>- Résultats des essais d'écotoxicité sur éluats</i>	<i>8</i>
VI.2.2	<i>- Ecotoxicité de la matrice solide.....</i>	<i>11</i>
VII.	SYNTHESE DES RESULTATS.....	12
VIII.	CRITERES DE VALIDITE DES TESTS BIOLOGIQUES DE TOXICITE.....	13
VIII.1	TEST <i>VIBRIO FISCHERI</i> :	13
VIII.2	TEST <i>BRACHIONUS</i> :	13
VIII.3	TEST PLANTES :	13

Liste des tableaux

Tableau 1 . Tableau récapitulatif en % (Volume/Volume) des résultats des tests biologiques réalisés sur les éluats.....	8
Tableau 2. Classement du sédiment sur la base des tests biologiques de toxicité aiguë	9
Tableau 3 . Classement des sédiments sur la base des tests biologiques de toxicité chronique	10
Tableau 4. Tableau récapitulatif des résultats en % de matière sèche (Masse/Masse) des tests biologiques réalisés sur la matrice brute	11
Tableau 5. Classement du sédiment sur la base des tests biologiques sur matrice brute	11
Tableau 6. Classement du sédiment par rapport aux seuils retenus	12

Liste des figures

Figure 1. Toxicité aiguë sur éluats.....	9
Figure 2. Toxicité chronique sur éluats.....	10
Figure 3 . Toxicité terrestre sur sédiment	11

I. PRESENTATION DE L'ECHANTILLON

Echantillon de sédiment référencé « 20E116607-001 » réceptionné le 28 juillet 2020.

Date de prélèvement : 09/07/2020.

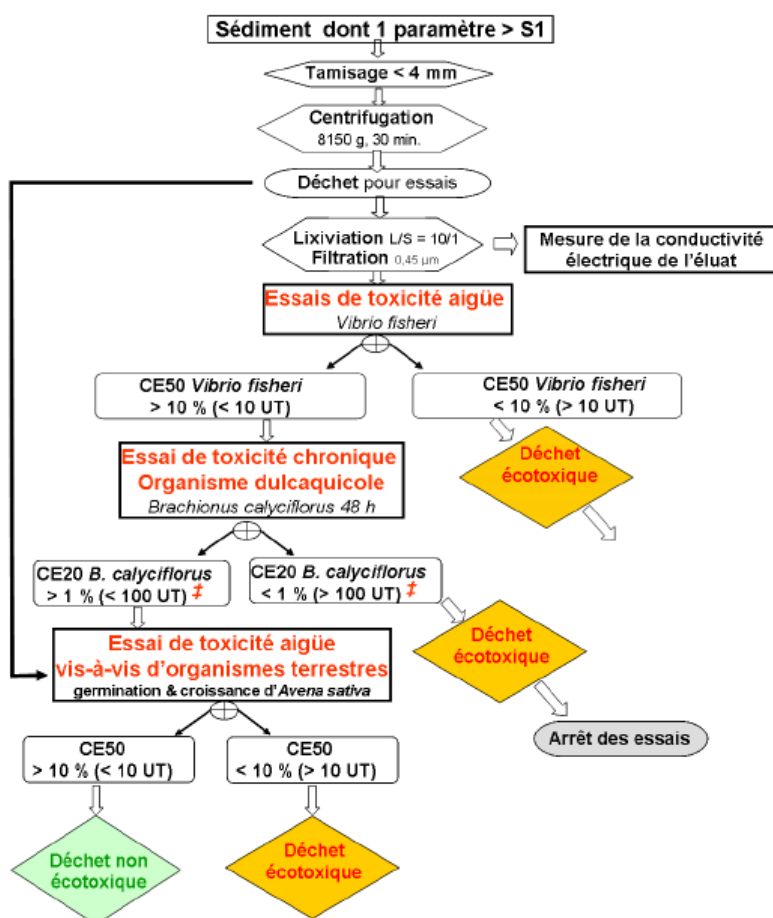
Référence Eurofins Ecotoxicologie France : 20G007061-001.

Le présent rapport ne concerne que les objets soumis à l'essai.

II. VERIFICATION DU CARACTERE ECOTOXIQUE DES SEDIMENTS : CRITERE HP14*

* anciennement appelé critère H14.

Les essais à réaliser sur chaque échantillon sont ceux proposés dans le rapport INERIS - DRC-15-149793-06416A réalisé pour le Ministère de l'Ecologie, du Développement Durable et de l'Energie (MEDDE) – « Classification réglementaire des déchets - Guide d'application pour la caractérisation en dangerosité » pour la mesure du paramètre HP14 sur les sédiments marins et continentaux (4 février 2016). La figure ci-dessous illustre le logigramme à appliquer. Suivant le déroulement de l'étude, certains échantillons pourront n'être soumis qu'à une partie des tests.



III. PREPARATION DES ELUATS

Les éluats ont été obtenus suivant le protocole de lixiviation EN 12457-2 (2002) indice de classement X 30 402-2 :

1. Rapport massique Liquide/Solide = 10 calculé en équivalent de matière sèche,
2. Agitation 24 heures, par retournement (5 à 10 tours/min),
3. Séparation par centrifugation 3000 t/min, 30 min,
4. Filtration de l'éluat à 0,45 µm sur filtre nylon.

IV. DESCRIPTION SIMPLIFIEE DES TESTS BIOLOGIQUES DE TOXICITE

IV.1 Descripteurs toxicologiques

- CE X%-T : Concentration efficace provoquant un effet sur X % de la population après un temps T.

IV.2 Tests de toxicité réalisés sur matrices liquides

IV.2.1 Tests de toxicité aiguë

IV.2.1.1 Test d'inhibition de la luminescence de bactéries marines (*Vibrio fischeri* ou Microtox®, NF EN ISO 11348-3, 2009)

Ce test repose sur la détermination de l'inhibition de la luminescence émise par une bactérie marine *Vibrio fischeri* (anciennement *Photobacterium phosphoreum*). Cet essai permet de déterminer la concentration d'échantillon (en %) qui, après 5, 15 à 30 minutes inhibe 50 % de la luminescence des bactéries. Cette concentration est désignée par CE 50-t, t représentant le temps de contact des bactéries avec l'échantillon.

Nombre de réplique par concentrations testées et témoins : 2.

Organisme d'essai : *Vibrio fischeri* (NRRL B-11177).
Fournisseur de la souche lyophilisée : R-Biopharm.

Essai sur substances de référence réalisé à chaque série analytique comprenant au moins un essai définitif : - ZnSO₄, 7H₂O ou 3,5-dichlorophénol (C₆H₄OCl₂) ou K₂Cr₂O₇.

Méthode de calcul de la CE50 : logiciel Microtox-Omni.

IV.2.2 Test de toxicité chronique

IV.2.2.1 Détermination de la toxicité chronique vis-à-vis de *Brachionus calyciflorus* en 48 heures - Essai d'inhibition de la croissance de la population (NF ISO 20666, 2009)

De jeunes femelles *Brachionus calyciflorus* (*Monogota*, *Rotifera*), âgées de moins de 2 heures au début de l'essai, sont exposées individuellement pendant une période de 48 heures à une gamme de concentrations de l'échantillon.

En fin d'essai, le nombre de rotifères femelles est déterminé et, par comparaison avec le témoin, les pourcentages d'inhibition de la croissance de la population sont déterminés à chaque concentration.

Nombre de réplique par concentrations testées et témoins : 8.

Organisme d'essai : *Brachionus calyciflorus*

Fournisseur des sporocystes déshydratés : R-Biopharm.

Essai sur substance de référence réalisé une fois par mois : $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

Méthode de calcul de la CE20 : modèle logistique basé sur l'équation de Hill (macro Regtox_ev6.6.2.xls).

IV.3 Tests de toxicité réalisés sur sédiments centrifugés

IV.3.1 Test d'inhibition de l'émergence et de la croissance de semences par une matrice potentiellement polluée (NF EN ISO 11269-2, 2013)

Les échantillons de sédiment sont dilués avec le milieu ISO (mélange de 70 % de sable de Fontainebleau, 20 % de kaolinite et 10 % de sphaigne). Les différentes graines (monocotylédone : avoine – *Avena sativa*) sont plantées dans les dilutions.

L'essai se déroule en 2 étapes (nombre de graines semées par pot : 10) :

- un essai préliminaire de 7 jours qui permet d'étudier l'effet de différentes concentrations comprises entre 1 et 100 % d'échantillon (une réplique par concentrations testées et témoin),
- un essai définitif pour lequel une série de 5 dilutions est réalisée (en se plaçant aux bornes des dilutions pour lesquelles l'émergence passait de 0 à 100 % lors de l'essai préliminaire) – 4 répliques par concentrations testées et témoin.

L'émergence et la croissance des semences sont suivies quotidiennement lors de l'arrosage.

Après 7 jours, les graines germées sont comptabilisées dans les différentes dilutions pour déterminer l'effet sur la germination et le nombre de pousses est réduit à cinq.

Après 14 jours minimum et au maximum au bout de 21 jours après que 50 % des semis témoins ont émergés, la biomasse de chaque dilution est quantifiée par pesée.

Méthode de calcul des CE50 (germination et croissance) : modèle statistique Log-Probit ou par interpolation linéaire (logiciel Toxcalc).

Diamètre des pots : 9,5 cm.

Masse de sol par pot : de l'ordre de 250 grammes.

Type d'environnement : phytotron.

Cycle jour/nuit : 16 heures/8 heures.

Température : 22 °C +/- 1 °C (jour) / 18 °C +/- 1 °C (nuit).

Humidité relative : 70 %.

Type d'éclairage : tubes fluorescents « lumière du jour ».

Intensité de l'éclairage : environ 7 500 lux.

V. DATES DES DIFFERENTES ETAPES

Tamissage à 4 mm : 03/08/20.

Centrifugation : 03/08/20.

Lixiviation : 10-11/08/20.

Date des essais définitifs :

- Test *Vibrio fischeri* : 28/08/20 (échantillon congelé avant analyse).
- Test *Brachionus* : 19/08/20.
- Test plantes : 05/08/20.

VI. CARACTERISATION DU SEDIMENT

VI.1 Analyses physico-chimiques

Teneur en eau de l'échantillon brut : 16 %.

Teneur en eau de l'échantillon après tamisage et centrifugation : 16 %.

	pH	Oxygène dissous (mg/L)	Conductivité (μ S/cm)
Eaux interstitielles			Pas d'eau interstitielle
Eluats	7,3	6,1	153

VI.2 Résultats des tests biologiques de toxicité

VI.2.1 - Résultats des essais d'écotoxicité sur éluats

	Tests	Effet	Descripteur toxique	20E116607-001
Tests de toxicité aiguë	Microtox®	Inhibition de la luminescence	CE 50-5 min	Non toxique à 80 %
			CE 50-15 min	Non toxique à 80 %
			CE 50-30 min	Non toxique à 80 %
Tests de toxicité chronique	Brachionus	Croissance de la population	CE 20-48h	Non toxique à 90 %

Tableau 1 . Tableau récapitulatif en % (Volume/Volume) des résultats des tests biologiques réalisés sur les éluats

Entre parenthèses : intervalle de confiance à 95% de la CE50% et/ou CE20% (si calculable)

En gras : CE50% < 10 % et/ou CE20% < 1 %

VI.2.1.1 Résultats des essais de toxicité aiguë

Le tableau 2 présente une synthèse des résultats des tests de toxicité aiguë réalisés sur les éluats, sur la base du seuil à 10 %.

	Classement sur la base du test Microtox®	Classement sur la base des essais de toxicité aiguë*
20E116607-001	-	-

+ « ombré » : classé comme dangereux pour l'environnement

- : classé comme non dangereux pour l'environnement

* : en considérant que la réponse d'un seul test suffit à classer le sédiment comme écotoxique

Tableau 2. Classement du sédiment sur la base des tests biologiques de toxicité aiguë

La figure 1 présente la synthèse des résultats des tests de toxicité aiguë réalisés sur les éluats sous forme d'histogramme, en considérant le seuil de 10 %.

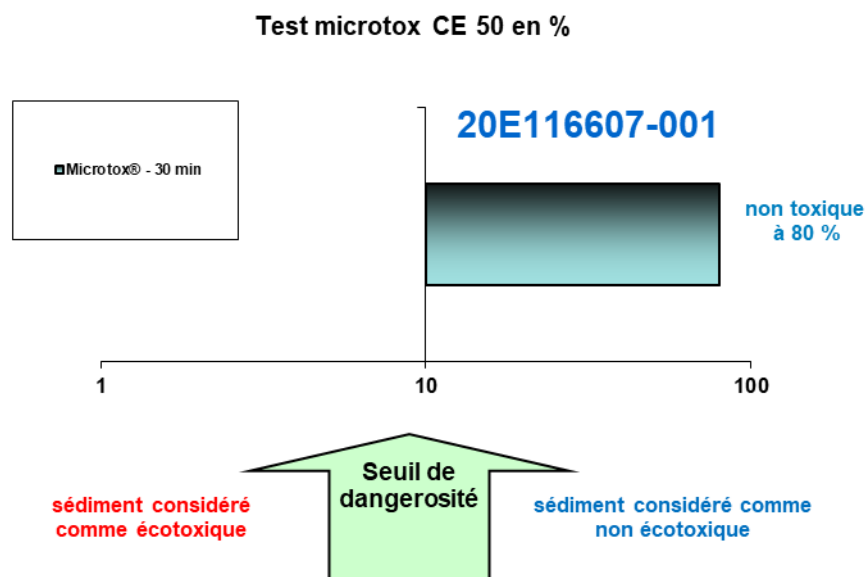


Figure 1. Toxicité aiguë sur éluats

VI.2.1.2 Résultats des essais de toxicité chronique

Le tableau 3 présente une synthèse des résultats des tests de toxicité chronique sur la base du seuil à 1 %.

Sédiments	Classement sur la base du test Brachionus	Classement sur la base des essais de toxicité chronique
20E116607-001	-	-

+ « ombré » : classé comme dangereux pour l'environnement

- : classé comme non dangereux pour l'environnement

* : en considérant que la réponse d'un seul test suffit à classer le sédiment comme écotoxique

Tableau 3 . Classement des sédiments sur la base des tests biologiques de toxicité chronique

La figure 2 présente sous forme d'histogramme la synthèse des résultats des tests de toxicité chronique sur la base du seuil à 1 %.

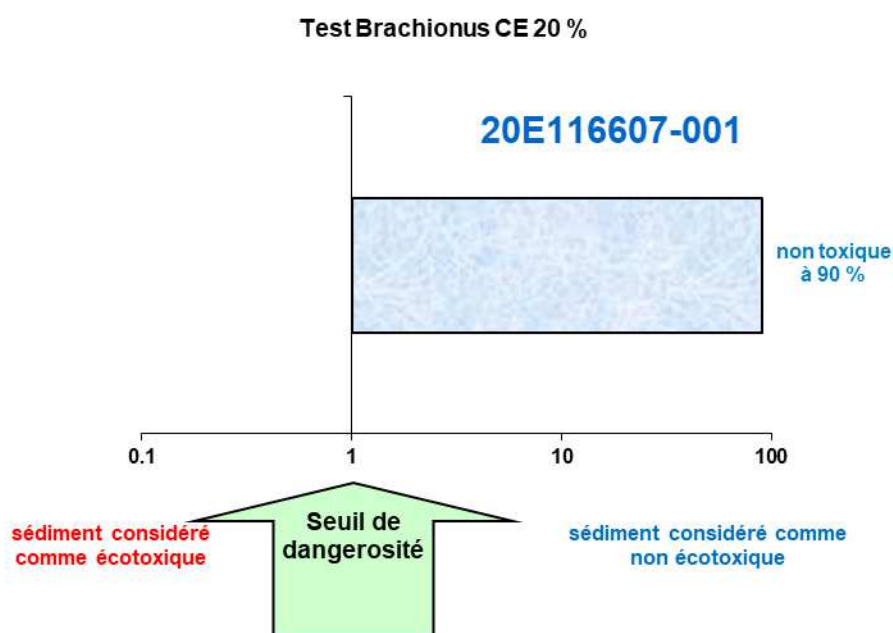


Figure 2. Toxicité chronique sur éluats

VI.2.2 - Ecotoxicité de la matrice solide

Remarque : 84 % d'échantillon en équivalent matière sèche correspond à 100 % d'échantillon brut pré-traité.

Tests	Effet	Descripteur toxicologique	20E116607-001
Avoine	Germination	CE 50	>84 % de MS
Avoine	Croissance	CE 50-21 jours	>84 % de MS

Tableau 4. Tableau récapitulatif des résultats en % de matière sèche (Masse/Masse) des tests biologiques réalisés sur la matrice brute

Entre parenthèses : intervalle de confiance à 95% de la CE50% (si calculable)

En gras : CE50% < 10

Le tableau 5 présente une synthèse des résultats des tests de toxicité réalisés sur la matrice brute, en considérant le seuil de 10%.

Sédiment	Classement sur la base de l'émergence et de croissance de l'avoine (<i>Avena sativa</i>)	Classement sur la base des essais de toxicité terrestre*
20E116607-001	-	-

+ « ombré » : classé comme dangereux pour l'environnement

- : classé comme non dangereux pour l'environnement

* : en considérant que la réponse d'un seul test suffit à classer le sédiment comme écotoxique

Tableau 5. Classement du sédiment sur la base des tests biologiques sur matrice brute

La figure 3 présente une synthèse des résultats des tests de toxicité réalisés sur la matrice solide sous forme d'histogramme, en considérant le seuil de 10 %.

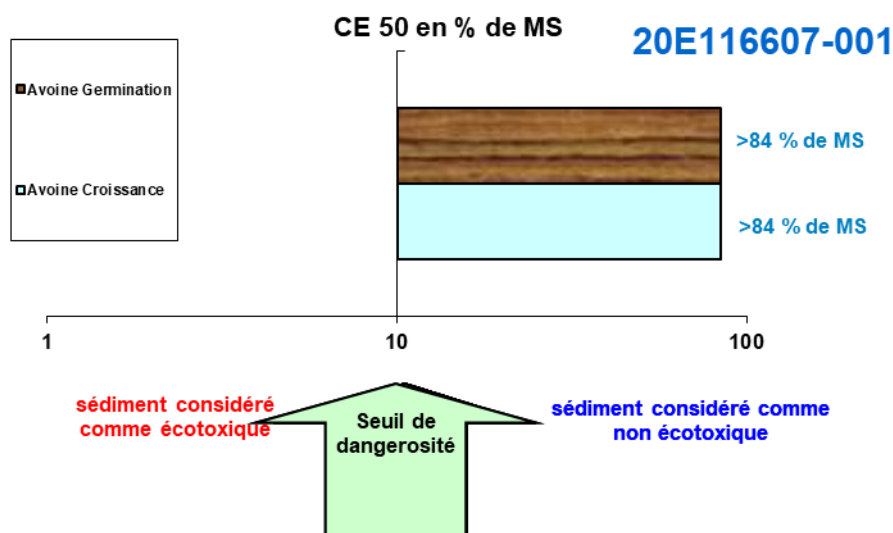


Figure 3 . Toxicité terrestre sur sédiment

VII.SYNTHESE DES RESULTATS

Le tableau 6 présente les résultats obtenus en termes de classement des sédiments, respectivement en fonction des seuils de dangerosité.

Sédiment	Classement sur la base des essais de toxicité aiguë*	Classement sur la base des essais de toxicité chronique*	Classement sur la base des essais de toxicité terrestre*	Synthèse*
20E116607-001	-	-	-	-

+ « ombré » : classé comme dangereux pour l'environnement

- : classé comme non dangereux pour l'environnement

* : en considérant que la réponse d'un seul test suffit à classer le sédiment comme écotoxique

Tableau 6. Classement du sédiment par rapport aux seuils retenus

- **Pour le test de toxicité aiguë**, réalisé sur éluat avec un seuil de CE 50 à 10 %,
 - ⇒ L'échantillon « 20E116607-001 » n'est pas considéré comme écotoxique par le test Microtox®,
- **Pour le test de toxicité chronique**, réalisés sur éluat avec un seuil de CE 20 à 1 %,
 - ⇒ L'échantillon « 20E116607-001 » n'est pas considéré comme écotoxique par les tests sur la croissance de la population des Brachionus,
- **Pour le test de toxicité terrestre**, avec un seuil de CE 50 à 10 %,
 - ⇒ L'échantillon « 20E116607-001 » n'est pas considéré comme écotoxique.

Dans le cadre du critère HP14 et en fonction des seuils retenus par le Ministère de l'Ecologie, du Développement Durable et de l'Energie en 2016, l'échantillon « 20E116607-001 » n'est pas considéré comme écotoxique.

VIII. CRITERES DE VALIDITE DES TESTS BIOLOGIQUES DE TOXICITE

VIII.1 Test *Vibrio fischeri* :

- Les rapports des blancs sont compris entre 0,6 et 1,8.
- L'écart par rapport à la moyenne des témoins est inférieur à ou égal 3 % (arrondi à un chiffre significatif).
- Pour les déterminations effectuées en double, les taux d'inhibition ne donnent pas d'écart strictement supérieur à 3 %.
- L'inhibition de la luminescence est comprise entre 20 % et 80 % au bout de 30 min +/- 20 secondes aux concentrations suivantes :
 - 2,2 mg/L de Zn^{2+} (sous forme de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$): 51 %

VIII.2 Test *Brachionus* :

- Pourcentage de reproduction observé dans plus de 87,5 % des répliques du lot témoin (100 %).
- Nombre moyen de *Brachionus calyciflorus* femelles dénombrées par puits dans le lot témoin supérieur à 3 à la fin de l'essai : 4,1.
- Substance de référence réalisée le 19 Aout 2020 : ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$).CE 50-72h = 23,6 $\mu g/L$ de Cu^{2+} .

VIII.3 Test plantes :

- Nombre moyen de graines germées supérieur à 7 dans le lot témoin :
 - avoine (*Avena sativa*) : 7,5.

A Maxéville, le 15/09/2020,
Eloïse Renouf, Ingénieur Projets.



**EUROFINS ANALYSES POUR
L'ENVIRONNEMENT FRANCE SAS
Département Environnement**
5 rue d'Otterswiller
67700 SAVERNE
FRANCE

RAPPORT D'ANALYSE

N° de rapport d'analyse : AR-20-IY-029566-01

Version du : 15/09/2020

Page 1/2

Dossier N° : 20G007061

Date de réception : 28/07/2020

Référence bon de commande : EUFRSA200099614

N° Ech	Matrice	Référence échantillon	Observations
002	Sédiments	20E116607-002 / Sed-2 -	

N° ech **20G007061-002** | Version AR-20-IY-029566-01(15/09/2020) | Votre réf. 20E116607-002

Page 2/2

Prélèvement effectué par Prélevé par vos soins Date de réception 28/07/2020 11:19
Date prélèvement 09/07/2020 Début d'analyse 15/09/2020

Ecotoxicologie continentale

	Résultat	Unité		
IX00A : Test Brachionus Prestation réalisée par nos soins				
Technique [Détermination de la toxicité chronique vis-à-vis de Brachionus calyciflorus en 48 h] - NF ISO 20666				
Brachionus calyciflorus CE20/48h	voir rapport joint	% (CE 20)		
Brachionus calyciflorus CE50/48h	voir rapport joint	% (CE 50)		
IY00Q : Test Microtox sur éluat Prestation réalisée par nos soins				
Technique [Essais de toxicité aigue sur bactéries luminescentes] - NF EN ISO 11348-3				
Inhibition Luminescence de V. fischeri (5min)	voir rapport joint	% (CE 50)		
Inhibition Luminescence de V. fischeri (15min)	voir rapport joint	% (CE 50)		
Inhibition Luminescence de V. fischeri (30min)	voir rapport joint	% (CE 50)		
IY00H : Lixiviation Prestation réalisée par nos soins	voir rapport joint			
Lixiviation - NF EN 12457-2				
IX248 : Test plantes émergence et croissance - 1 semence Prestation réalisée par nos soins	voir rapport joint	% (CE 50)		
Technique [Détermination des effets des polluants sur la flore du sol] - NF ISO 11269-2				

Divers

	Résultat	Unité		
IY031 : Tamisage, centrifugation Prestation réalisée par nos soins	voir rapport joint	g/kg		
Technique -				



Eloise Renouf

La reproduction de ce rapport n'est autorisée que sous sa forme intégrale. Il comporte 2 page(s). Le présent rapport ne concerne que les objets soumis à l'essai. Les résultats s'appliquent à l'échantillon tel qu'il a été reçu.

Pour déclarer, ou non, la conformité à la spécification, il n'a pas été tenu explicitement compte de l'incertitude associée au résultat. Tous les éléments de traçabilité, ainsi que les incertitudes de mesure, sont disponibles sur demande.

Pour les résultats issus d'une sous-traitance, les rapports émis par des laboratoires accrédités sont disponibles sur demande.

Les données fournies par le client ne sauraient engager la responsabilité du laboratoire.

Lors de l'émission d'une nouvelle version de rapport, toute modification est identifiée par une mise en forme gras, italique et souligné.

A l'attention de :

**EUROFINS ANALYSES
POUR L'ENVIRONNEMENT
(Saverne)**

***EVALUATION SUIVANT LE CRITERE HP14
DE L'ECOTOXICITE D'UN ECHANTILLON
DE SEDIMENT REFERENCE :***

« 20E116607-002 »

Rapport d'analyses n° 20FER6-0818 du 15/09/2020

SOMMAIRE

I.	PRESENTATION DE L'ECHANTILLON	4
II.	VERIFICATION DU CARACTERE ECOTOXIQUE DES SEDIMENTS : CRITERE HP14*	4
III.	PREPARATION DES ELUATS.....	5
IV.	DESCRIPTION SIMPLIFIEE DES TESTS BIOLOGIQUES DE TOXICITE	5
IV.1	DESCRIPTEURS TOXICOLOGIQUES	5
IV.2	TESTS DE TOXICITE REALISES SUR MATRICES LIQUIDES	5
IV.2.1	<i>Tests de toxicité aiguë.....</i>	<i>5</i>
IV.2.2	<i>Test de toxicité chronique.....</i>	<i>6</i>
IV.3	TESTS DE TOXICITE REALISES SUR SEDIMENTS CENTRIFUGES.....	7
IV.3.1	<i>Test d'inhibition de l'émergence et de la croissance de semences par une matrice potentiellement polluée (NF EN ISO 11269-2, 2013)</i>	<i>7</i>
V.	DATES DES DIFFERENTES ETAPES	7
VI.	CARACTERISATION DU SEDIMENT	8
VI.1	ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES.....	8
VI.2	RESULTATS DES TESTS BIOLOGIQUES DE TOXICITE.....	8
VI.2.1	<i>- Résultats des essais d'écotoxicité sur éluats</i>	<i>8</i>
VI.2.2	<i>- Ecotoxicité de la matrice solide.....</i>	<i>11</i>
VII.	SYNTHESE DES RESULTATS.....	12
VIII.	CRITERES DE VALIDITE DES TESTS BIOLOGIQUES DE TOXICITE.....	13
VIII.1	TEST <i>VIBRIO FISCHERI</i> :	13
VIII.2	TEST <i>BRACHIONUS</i> :	13
VIII.3	TEST PLANTES :	13

Liste des tableaux

Tableau 1 . Tableau récapitulatif en % (Volume/Volume) des résultats des tests biologiques réalisés sur les éluats.....	8
Tableau 2. Classement du sédiment sur la base des tests biologiques de toxicité aiguë	9
Tableau 3 . Classement des sédiments sur la base des tests biologiques de toxicité chronique	10
Tableau 4. Tableau récapitulatif des résultats en % de matière sèche (Masse/Masse) des tests biologiques réalisés sur la matrice brute	11
Tableau 5. Classement du sédiment sur la base des tests biologiques sur matrice brute	11
Tableau 6. Classement du sédiment par rapport aux seuils retenus	12

Liste des figures

Figure 1. Toxicité aiguë sur éluats.....	9
Figure 2. Toxicité chronique sur éluats.....	10
Figure 3 . Toxicité terrestre sur sédiment	11

I. PRESENTATION DE L'ECHANTILLON

Echantillon de sédiment référencé « 20E116607-002 » réceptionné le 28 juillet 2020.

Date de prélèvement : 09/07/2020.

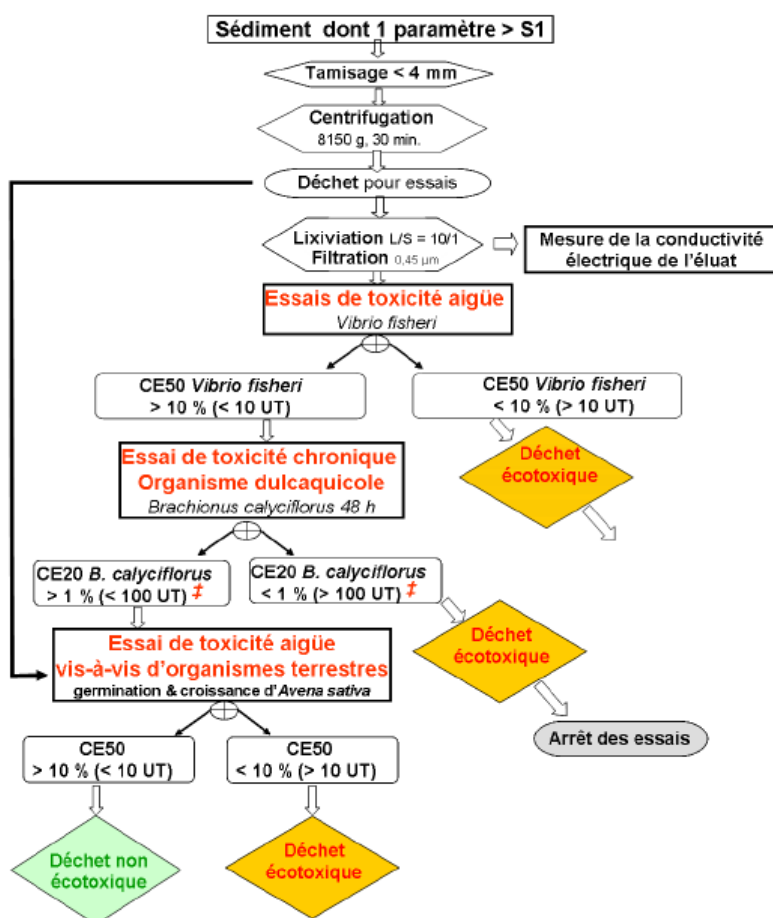
Référence Eurofins Ecotoxicologie France : 20G007061-002.

Le présent rapport ne concerne que les objets soumis à l'essai.

II. VERIFICATION DU CARACTERE ECOTOXIQUE DES SEDIMENTS : CRITERE HP14*

* anciennement appelé critère H14.

Les essais à réaliser sur chaque échantillon sont ceux proposés dans le rapport INERIS - DRC-15-149793-06416A réalisé pour le Ministère de l'Ecologie, du Développement Durable et de l'Energie (MEDDE) – « Classification réglementaire des déchets - Guide d'application pour la caractérisation en dangerosité » pour la mesure du paramètre HP14 sur les sédiments marins et continentaux (4 février 2016). La figure ci-dessous illustre le logigramme à appliquer. Suivant le déroulement de l'étude, certains échantillons pourront n'être soumis qu'à une partie des tests.



III. PREPARATION DES ELUATS

Les éluats ont été obtenus suivant le protocole de lixiviation EN 12457-2 (2002) indice de classement X 30 402-2 :

1. Rapport massique Liquide/Solide = 10 calculé en équivalent de matière sèche,
2. Agitation 24 heures, par retournement (5 à 10 tours/min),
3. Séparation par centrifugation 3000 t/min, 30 min,
4. Filtration de l'éluat à 0,45 µm sur filtre nylon.

IV. DESCRIPTION SIMPLIFIEE DES TESTS BIOLOGIQUES DE TOXICITE

IV.1 Descripteurs toxicologiques

- CE X%-T : Concentration efficace provoquant un effet sur X % de la population après un temps T.

IV.2 Tests de toxicité réalisés sur matrices liquides

IV.2.1 Tests de toxicité aiguë

IV.2.1.1 Test d'inhibition de la luminescence de bactéries marines (*Vibrio fischeri* ou Microtox®, NF EN ISO 11348-3, 2009)

Ce test repose sur la détermination de l'inhibition de la luminescence émise par une bactérie marine *Vibrio fischeri* (anciennement *Photobacterium phosphoreum*). Cet essai permet de déterminer la concentration d'échantillon (en %) qui, après 5, 15 à 30 minutes inhibe 50 % de la luminescence des bactéries. Cette concentration est désignée par CE 50-t, t représentant le temps de contact des bactéries avec l'échantillon.

Nombre de réplique par concentrations testées et témoins : 2.

Organisme d'essai : *Vibrio fischeri* (NRRL B-11177).
Fournisseur de la souche lyophilisée : R-Biopharm.

Essai sur substances de référence réalisé à chaque série analytique comprenant au moins un essai définitif : - ZnSO₄, 7H₂O ou 3,5-dichlorophénol (C₆H₄OCl₂) ou K₂Cr₂O₇.

Méthode de calcul de la CE50 : logiciel Microtox-Omni.

IV.2.2 Test de toxicité chronique

IV.2.2.1 Détermination de la toxicité chronique vis-à-vis de *Brachionus calyciflorus* en 48 heures - Essai d'inhibition de la croissance de la population (NF ISO 20666, 2009)

De jeunes femelles *Brachionus calyciflorus* (*Monogota*, *Rotifera*), âgées de moins de 2 heures au début de l'essai, sont exposées individuellement pendant une période de 48 heures à une gamme de concentrations de l'échantillon.

En fin d'essai, le nombre de rotifères femelles est déterminé et, par comparaison avec le témoin, les pourcentages d'inhibition de la croissance de la population sont déterminés à chaque concentration.

Nombre de réplique par concentrations testées et témoins : 8.

Organisme d'essai : *Brachionus calyciflorus*

Fournisseur des sporocystes déshydratés : R-Biopharm.

Essai sur substance de référence réalisé une fois par mois : $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

Méthode de calcul de la CE20 : modèle logistique basé sur l'équation de Hill (macro Regtox_ev6.6.2.xls).

IV.3 Tests de toxicité réalisés sur sédiments centrifugés

IV.3.1 Test d'inhibition de l'émergence et de la croissance de semences par une matrice potentiellement polluée (NF EN ISO 11269-2, 2013)

Les échantillons de sédiment sont dilués avec le milieu ISO (mélange de 70 % de sable de Fontainebleau, 20 % de kaolinite et 10 % de sphaigne). Les différentes graines (monocotylédone : avoine – *Avena sativa*) sont plantées dans les dilutions.

L'essai se déroule en 2 étapes (nombre de graines semées par pot : 10) :

- un essai préliminaire de 7 jours qui permet d'étudier l'effet de différentes concentrations comprises entre 1 et 100 % d'échantillon (une réplique par concentrations testées et témoin),
- un essai définitif pour lequel une série de 5 dilutions est réalisée (en se plaçant aux bornes des dilutions pour lesquelles l'émergence passait de 0 à 100 % lors de l'essai préliminaire) – 4 répliques par concentrations testées et témoin.

L'émergence et la croissance des semences sont suivies quotidiennement lors de l'arrosage.

Après 7 jours, les graines germées sont comptabilisées dans les différentes dilutions pour déterminer l'effet sur la germination et le nombre de pousses est réduit à cinq.

Après 14 jours minimum et au maximum au bout de 21 jours après que 50 % des semis témoins ont émergés, la biomasse de chaque dilution est quantifiée par pesée.

Méthode de calcul des CE50 (germination et croissance) : modèle statistique Log-Probit ou par interpolation linéaire (logiciel Toxcalc).

Diamètre des pots : 9,5 cm.

Masse de sol par pot : de l'ordre de 250 grammes.

Type d'environnement : phytotron.

Cycle jour/nuit : 16 heures/8 heures.

Température : 22 °C +/- 1 °C (jour) / 18 °C +/- 1 °C (nuit).

Humidité relative : 70 %.

Type d'éclairage : tubes fluorescents « lumière du jour ».

Intensité de l'éclairage : environ 7 500 lux.

V. DATES DES DIFFERENTES ETAPES

Tamissage à 4 mm : 03/08/20.

Centrifugation : 03/08/20.

Lixiviation : 10-11/08/20.

Date des essais définitifs :

- Test *Vibrio fischeri* : 28/08/20 (échantillon congelé avant analyse).
- Test *Brachionus* : 19/08/20.
- Test plantes : 05/08/20.

VI. CARACTERISATION DU SEDIMENT

VI.1 Analyses physico-chimiques

Teneur en eau de l'échantillon brut : 14 %.

Teneur en eau de l'échantillon après tamisage et centrifugation : 14 %.

	pH	Oxygène dissous (mg/L)	Conductivité (μ S/cm)
Eaux interstitielles			Pas d'eau interstitielle
Eluats	7,4	6,8	159

VI.2 Résultats des tests biologiques de toxicité

VI.2.1 - Résultats des essais d'écotoxicité sur éluats

	Tests	Effet	Descripteur toxicologique	20E116607-002
Tests de toxicité aiguë	Microtox®	Inhibition de la luminescence	CE 50-5 min CE 50-15 min CE 50-30 min	Non toxique à 80 % Non toxique à 80 % Non toxique à 80 %
Tests de toxicité chronique	Brachionus	Croissance de la population	CE 20-48h	Non toxique à 90 %

Tableau 1 . Tableau récapitulatif en % (Volume/Volume) des résultats des tests biologiques réalisés sur les éluats

Entre parenthèses : intervalle de confiance à 95% de la CE50% et/ou CE20% (si calculable)

En gras : CE50% < 10 % et/ou CE20% < 1 %

VI.2.1.1 Résultats des essais de toxicité aiguë

Le tableau 2 présente une synthèse des résultats des tests de toxicité aiguë réalisés sur les éluats, sur la base du seuil à 10 %.

	Classement sur la base du test Microtox®	Classement sur la base des essais de toxicité aiguë*
20E116607-002	-	-

+ « ombré » : classé comme dangereux pour l'environnement

- : classé comme non dangereux pour l'environnement

* : en considérant que la réponse d'un seul test suffit à classer le sédiment comme écotoxique

Tableau 2. Classement du sédiment sur la base des tests biologiques de toxicité aiguë

La figure 1 présente la synthèse des résultats des tests de toxicité aiguë réalisés sur les éluats sous forme d'histogramme, en considérant le seuil de 10 %.

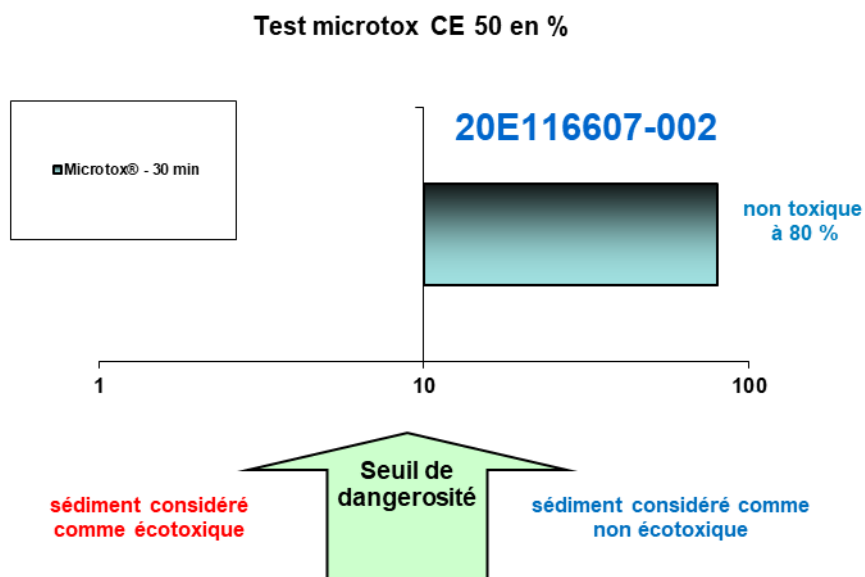


Figure 1. Toxicité aiguë sur éluats

VI.2.1.2 Résultats des essais de toxicité chronique

Le tableau 3 présente une synthèse des résultats des tests de toxicité chronique sur la base du seuil à 1 %.

Sédiments	Classement sur la base du test Brachionus	Classement sur la base des essais de toxicité chronique
20E116607-002	-	-

+ « ombré » : classé comme dangereux pour l'environnement

- : classé comme non dangereux pour l'environnement

* : en considérant que la réponse d'un seul test suffit à classer le sédiment comme écotoxique

Tableau 3 . Classement des sédiments sur la base des tests biologiques de toxicité chronique

La figure 2 présente sous forme d'histogramme la synthèse des résultats des tests de toxicité chronique sur la base du seuil à 1 %.

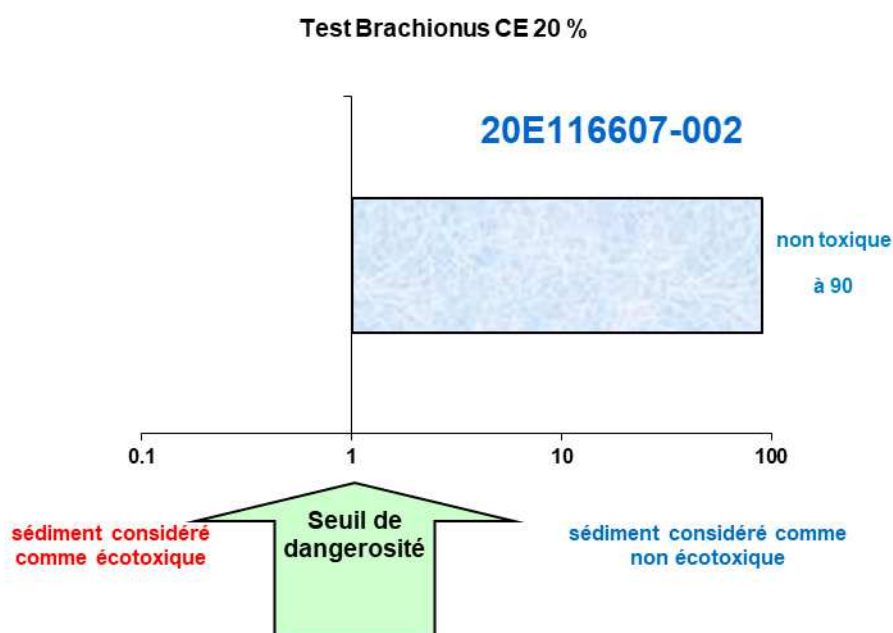


Figure 2. Toxicité chronique sur éluats

VI.2.2 - Ecotoxicité de la matrice solide

Remarque : 86 % d'échantillon en équivalent matière sèche correspond à 100 % d'échantillon brut pré-traité.

Tests	Effet	Descripteur toxicologique	20E116607-002
Avoine	Germination	CE 50	>86 % de MS
Avoine	Croissance	CE 50-21 jours	Non toxique à 86 % de MS

Tableau 4. Tableau récapitulatif des résultats en % de matière sèche (Masse/Masse) des tests biologiques réalisés sur la matrice brute

Entre parenthèses : intervalle de confiance à 95% de la CE50% (si calculable)

En gras : CE50% < 10

Le tableau 5 présente une synthèse des résultats des tests de toxicité réalisés sur la matrice brute, en considérant le seuil de 10%.

Sédiment	Classement sur la base de l'émergence et de croissance de l'avoine (<i>Avena sativa</i>)	Classement sur la base des essais de toxicité terrestre*
20E116607-002	-	-

+ « ombré » : classé comme dangereux pour l'environnement

- : classé comme non dangereux pour l'environnement

* : en considérant que la réponse d'un seul test suffit à classer le sédiment comme écotoxique

Tableau 5. Classement du sédiment sur la base des tests biologiques sur matrice brute

La figure 3 présente une synthèse des résultats des tests de toxicité réalisés sur la matrice solide sous forme d'histogramme, en considérant le seuil de 10 %.

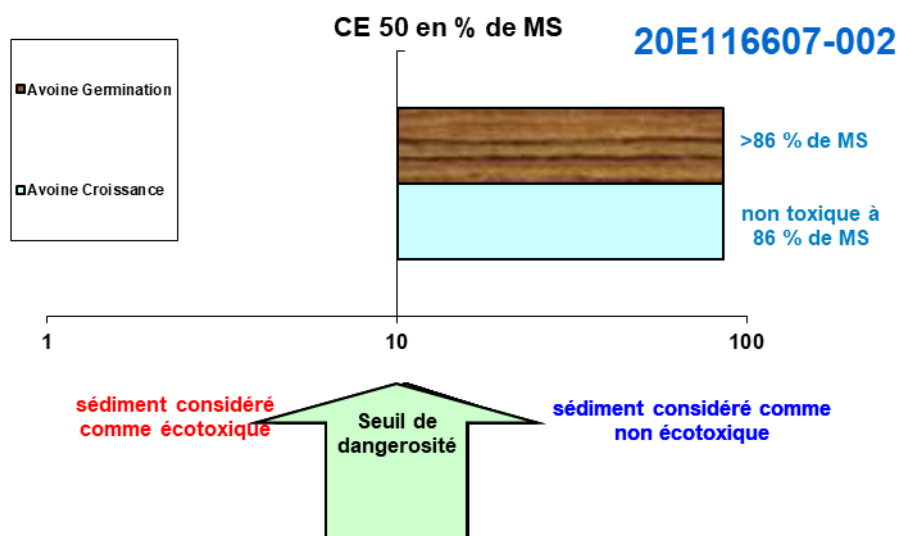


Figure 3 . Toxicité terrestre sur sédiment

VII.SYNTHESE DES RESULTATS

Le tableau 6 présente les résultats obtenus en termes de classement des sédiments, respectivement en fonction des seuils de dangerosité.

Sédiment	Classement sur la base des essais de toxicité aiguë*	Classement sur la base des essais de toxicité chronique*	Classement sur la base des essais de toxicité terrestre*	Synthèse*
20E116607-002	-	-	-	-

+ « ombré » : classé comme dangereux pour l'environnement

- : classé comme non dangereux pour l'environnement

* : en considérant que la réponse d'un seul test suffit à classer le sédiment comme écotoxique

Tableau 6. Classement du sédiment par rapport aux seuils retenus

- **Pour le test de toxicité aiguë**, réalisé sur éluat avec un seuil de CE 50 à 10 %,
 - ⇒ L'échantillon « 20E116607-002 » n'est pas considéré comme écotoxique par le test Microtox®,
- **Pour le test de toxicité chronique**, réalisés sur éluat avec un seuil de CE 20 à 1 %,
 - ⇒ L'échantillon « 20E116607-002 » n'est pas considéré comme écotoxique par les tests sur la croissance de la population des Brachionus,
- **Pour le test de toxicité terrestre**, avec un seuil de CE 50 à 10 %,
 - ⇒ L'échantillon « 20E116607-002 » n'est pas considéré comme écotoxique.

Dans le cadre du critère HP14 et en fonction des seuils retenus par le Ministère de l'Ecologie, du Développement Durable et de l'Energie en 2016, l'échantillon « 20E116607-002 » n'est pas considéré comme écotoxique.

VIII. CRITERES DE VALIDITE DES TESTS BIOLOGIQUES DE TOXICITE

VIII.1 Test *Vibrio fischeri* :

- Les rapports des blancs sont compris entre 0,6 et 1,8.
- L'écart par rapport à la moyenne des témoins est inférieur à ou égal 3 % (arrondi à un chiffre significatif).
- Pour les déterminations effectuées en double, les taux d'inhibition ne donnent pas d'écart strictement supérieur à 3 %.
- L'inhibition de la luminescence est comprise entre 20 % et 80 % au bout de 30 min +/- 20 secondes aux concentrations suivantes :
 - 2,2 mg/L de Zn^{2+} (sous forme de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$): 51 %

VIII.2 Test *Brachionus* :

- Pourcentage de reproduction observé dans plus de 87,5 % des répliques du lot témoin (100 %).
- Nombre moyen de *Brachionus calyciflorus* femelles dénombrées par puits dans le lot témoin supérieur à 3 à la fin de l'essai : 4,8.
- Substance de référence réalisée le 19 Aout 2020 : ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$).CE 50-72h = 23,6 $\mu g/L$ de Cu^{2+} .

VIII.3 Test plantes :

- Nombre moyen de graines germées supérieur à 7 dans le lot témoin :
 - avoine (*Avena sativa*) : 7,5.

A Maxéville, le 15/09/2020,
Eloïse Renouf, Ingénieur Projets.



**EUROFINS ANALYSES POUR
L'ENVIRONNEMENT FRANCE SAS
Département Environnement**
5 rue d'Otterswiller
67700 SAVERNE
FRANCE

RAPPORT D'ANALYSE

N° de rapport d'analyse : AR-20-IY-029567-01 Version du : 15/09/2020 Page 1/2
Dossier N° : 20G007061 Date de réception : 28/07/2020
Référence bon de commande : EUFRSA200099614

N° Ech	Matrice	Référence échantillon	Observations
003	Sédiments	20E116607-003 / Sed-3 -	

N° ech **20G007061-003** | Version AR-20-IY-029567-01(15/09/2020) | Votre réf. 20E116607-003

Page 2/2

Prélèvement effectué par Prélevé par vos soins Date de réception 28/07/2020 11:19
Date prélèvement 09/07/2020 Début d'analyse 15/09/2020

Ecotoxicologie continentale

	Résultat	Unité		
IX00A : Test Brachionus Prestation réalisée par nos soins				
Technique [Détermination de la toxicité chronique vis-à-vis de Brachionus calyciflorus en 48 h] - NF ISO 20666				
Brachionus calyciflorus CE20/48h	voir rapport joint	% (CE 20)		
Brachionus calyciflorus CE50/48h	voir rapport joint	% (CE 50)		
IY00Q : Test Microtox sur éluat Prestation réalisée par nos soins				
Technique [Essais de toxicité aigue sur bactéries luminescentes] - NF EN ISO 11348-3				
Inhibition Luminescence de V. fischeri (5min)	voir rapport joint	% (CE 50)		
Inhibition Luminescence de V. fischeri (15min)	voir rapport joint	% (CE 50)		
Inhibition Luminescence de V. fischeri (30min)	voir rapport joint	% (CE 50)		
IY00H : Lixiviation Prestation réalisée par nos soins				
Lixiviation - NF EN 12457-2				
IX248 : Test plantes émergence et croissance - 1 semence Prestation réalisée par nos soins				
Technique [Détermination des effets des polluants sur la flore du sol] - NF ISO 11269-2				

Divers

	Résultat	Unité		
IY031 : Tamisage, centrifugation Prestation réalisée par nos soins				
Technique -				
	voir rapport joint	g/kg		



Eloise Renouf

La reproduction de ce rapport n'est autorisée que sous sa forme intégrale. Il comporte 2 page(s). Le présent rapport ne concerne que les objets soumis à l'essai. Les résultats s'appliquent à l'échantillon tel qu'il a été reçu.

Pour déclarer, ou non, la conformité à la spécification, il n'a pas été tenu explicitement compte de l'incertitude associée au résultat. Tous les éléments de traçabilité, ainsi que les incertitudes de mesure, sont disponibles sur demande.

Pour les résultats issus d'une sous-traitance, les rapports émis par des laboratoires accrédités sont disponibles sur demande.

Les données fournies par le client ne sauraient engager la responsabilité du laboratoire.

Lors de l'émission d'une nouvelle version de rapport, toute modification est identifiée par une mise en forme gras, italique et souligné.

A l'attention de :

**EUROFINS ANALYSES
POUR L'ENVIRONNEMENT
(Saverne)**

***EVALUATION SUIVANT LE CRITERE HP14
DE L'ECOTOXICITE D'UN ECHANTILLON
DE SEDIMENT REFERENCE :***

« 20E116607-003 »

Rapport d'analyses n° 20FER6-0819 du 15/09/2020

SOMMAIRE

I.	PRESENTATION DE L'ECHANTILLON	4
II.	VERIFICATION DU CARACTERE ECOTOXIQUE DES SEDIMENTS : CRITERE HP14*	4
III.	PREPARATION DES ELUATS.....	5
IV.	DESCRIPTION SIMPLIFIEE DES TESTS BIOLOGIQUES DE TOXICITE	5
IV.1	DESCRIPTEURS TOXICOLOGIQUES	5
IV.2	TESTS DE TOXICITE REALISES SUR MATRICES LIQUIDES	5
IV.2.1	<i>Tests de toxicité aiguë.....</i>	<i>5</i>
IV.2.2	<i>Test de toxicité chronique.....</i>	<i>6</i>
IV.3	TESTS DE TOXICITE REALISES SUR SEDIMENTS CENTRIFUGES.....	7
IV.3.1	<i>Test d'inhibition de l'émergence et de la croissance de semences par une matrice potentiellement polluée (NF EN ISO 11269-2, 2013)</i>	<i>7</i>
V.	DATES DES DIFFERENTES ETAPES.....	7
VI.	CARACTERISATION DU SEDIMENT	8
VI.1	ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES.....	8
VI.2	RESULTATS DES TESTS BIOLOGIQUES DE TOXICITE.....	8
VI.2.1	<i>- Résultats des essais d'écotoxicité sur éluats</i>	<i>8</i>
VI.2.2	<i>- Ecotoxicité de la matrice solide.....</i>	<i>11</i>
VII.	SYNTHESE DES RESULTATS.....	12
VIII.	CRITERES DE VALIDITE DES TESTS BIOLOGIQUES DE TOXICITE.....	13
VIII.1	TEST <i>VIBRIO FISCHERI</i> :	13
VIII.2	TEST <i>BRACHIONUS</i> :	13
VIII.3	TEST PLANTES :	13

Liste des tableaux

Tableau 1 . Tableau récapitulatif en % (Volume/Volume) des résultats des tests biologiques réalisés sur les éluats.....	8
Tableau 2. Classement du sédiment sur la base des tests biologiques de toxicité aiguë	9
Tableau 3 . Classement des sédiments sur la base des tests biologiques de toxicité chronique	10
Tableau 4. Tableau récapitulatif des résultats en % de matière sèche (Masse/Masse) des tests biologiques réalisés sur la matrice brute	11
Tableau 5. Classement du sédiment sur la base des tests biologiques sur matrice brute	11
Tableau 6. Classement du sédiment par rapport aux seuils retenus	12

Liste des figures

Figure 1. Toxicité aiguë sur éluats.....	9
Figure 2. Toxicité chronique sur éluats.....	10
Figure 3 . Toxicité terrestre sur sédiment	11

I. PRESENTATION DE L'ECHANTILLON

Echantillon de sédiment référencé « 20E116607-003 » réceptionné le 28 juillet 2020.

Date de prélèvement : 09/07/2020.

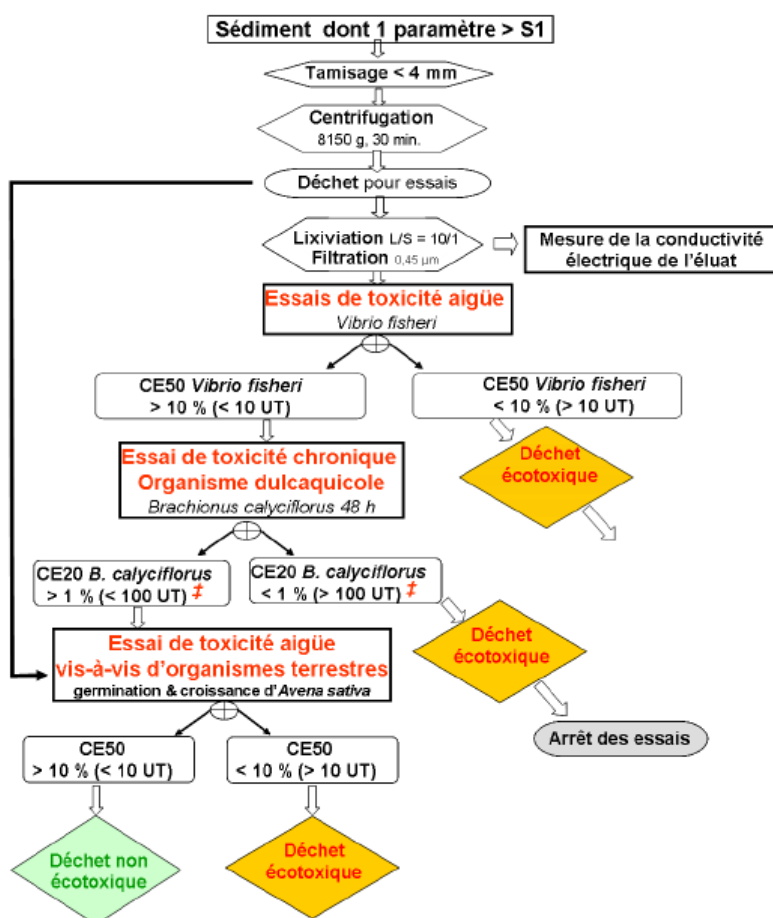
Référence Eurofins Ecotoxicologie France : 20G007061-003.

Le présent rapport ne concerne que les objets soumis à l'essai.

II. VERIFICATION DU CARACTERE ECOTOXIQUE DES SEDIMENTS : CRITERE HP14*

* anciennement appelé critère H14.

Les essais à réaliser sur chaque échantillon sont ceux proposés dans le rapport INERIS - DRC-15-149793-06416A réalisé pour le Ministère de l'Ecologie, du Développement Durable et de l'Energie (MEDDE) – « Classification réglementaire des déchets - Guide d'application pour la caractérisation en dangerosité » pour la mesure du paramètre HP14 sur les sédiments marins et continentaux (4 février 2016). La figure ci-dessous illustre le logigramme à appliquer. Suivant le déroulement de l'étude, certains échantillons pourront n'être soumis qu'à une partie des tests.



III. PREPARATION DES ELUATS

Les éluats ont été obtenus suivant le protocole de lixiviation EN 12457-2 (2002) indice de classement X 30 402-2 :

1. Rapport massique Liquide/Solide = 10 calculé en équivalent de matière sèche,
2. Agitation 24 heures, par retournement (5 à 10 tours/min),
3. Séparation par centrifugation 3000 t/min, 30 min,
4. Filtration de l'éluat à 0,45 µm sur filtre nylon.

IV. DESCRIPTION SIMPLIFIEE DES TESTS BIOLOGIQUES DE TOXICITE

IV.1 Descripteurs toxicologiques

- CE X%-T : Concentration efficace provoquant un effet sur X % de la population après un temps T.

IV.2 Tests de toxicité réalisés sur matrices liquides

IV.2.1 Tests de toxicité aiguë

IV.2.1.1 Test d'inhibition de la luminescence de bactéries marines (*Vibrio fischeri* ou Microtox®, NF EN ISO 11348-3, 2009)

Ce test repose sur la détermination de l'inhibition de la luminescence émise par une bactérie marine *Vibrio fischeri* (anciennement *Photobacterium phosphoreum*). Cet essai permet de déterminer la concentration d'échantillon (en %) qui, après 5, 15 à 30 minutes inhibe 50 % de la luminescence des bactéries. Cette concentration est désignée par CE 50-t, t représentant le temps de contact des bactéries avec l'échantillon.

Nombre de réplique par concentrations testées et témoins : 2.

Organisme d'essai : *Vibrio fischeri* (NRRL B-11177).
Fournisseur de la souche lyophilisée : R-Biopharm.

Essai sur substances de référence réalisé à chaque série analytique comprenant au moins un essai définitif : - ZnSO₄, 7H₂O ou 3,5-dichlorophénol (C₆H₄OCl₂) ou K₂Cr₂O₇.

Méthode de calcul de la CE50 : logiciel Microtox-Omni.

IV.2.2 Test de toxicité chronique

IV.2.2.1 Détermination de la toxicité chronique vis-à-vis de *Brachionus calyciflorus* en 48 heures - Essai d'inhibition de la croissance de la population (NF ISO 20666, 2009)

De jeunes femelles *Brachionus calyciflorus* (*Monogota*, *Rotifera*), âgées de moins de 2 heures au début de l'essai, sont exposées individuellement pendant une période de 48 heures à une gamme de concentrations de l'échantillon.

En fin d'essai, le nombre de rotifères femelles est déterminé et, par comparaison avec le témoin, les pourcentages d'inhibition de la croissance de la population sont déterminés à chaque concentration.

Nombre de réplique par concentrations testées et témoins : 8.

Organisme d'essai : *Brachionus calyciflorus*

Fournisseur des sporocystes déshydratés : R-Biopharm.

Essai sur substance de référence réalisé une fois par mois : $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

Méthode de calcul de la CE20 : modèle logistique basé sur l'équation de Hill (macro Regtox_ev6.6.2.xls).

IV.3 Tests de toxicité réalisés sur sédiments centrifugés

IV.3.1 Test d'inhibition de l'émergence et de la croissance de semences par une matrice potentiellement polluée (NF EN ISO 11269-2, 2013)

Les échantillons de sédiment sont dilués avec le milieu ISO (mélange de 70 % de sable de Fontainebleau, 20 % de kaolinite et 10 % de sphaigne). Les différentes graines (monocotylédone : avoine – *Avena sativa*) sont plantées dans les dilutions.

L'essai se déroule en 2 étapes (nombre de graines semées par pot : 10) :

- un essai préliminaire de 7 jours qui permet d'étudier l'effet de différentes concentrations comprises entre 1 et 100 % d'échantillon (une réplique par concentrations testées et témoin),
- un essai définitif pour lequel une série de 5 dilutions est réalisée (en se plaçant aux bornes des dilutions pour lesquelles l'émergence passait de 0 à 100 % lors de l'essai préliminaire) – 4 répliques par concentrations testées et témoin.

L'émergence et la croissance des semences sont suivies quotidiennement lors de l'arrosage.

Après 7 jours, les graines germées sont comptabilisées dans les différentes dilutions pour déterminer l'effet sur la germination et le nombre de pousses est réduit à cinq.

Après 14 jours minimum et au maximum au bout de 21 jours après que 50 % des semis témoins ont émergés, la biomasse de chaque dilution est quantifiée par pesée.

Méthode de calcul des CE50 (germination et croissance) : modèle statistique Log-Probit ou par interpolation linéaire (logiciel Toxcalc).

Diamètre des pots : 9,5 cm.

Masse de sol par pot : de l'ordre de 250 grammes.

Type d'environnement : phytotron.

Cycle jour/nuit : 16 heures/8 heures.

Température : 22 °C +/- 1 °C (jour) / 18 °C +/- 1 °C (nuit).

Humidité relative : 70 %.

Type d'éclairage : tubes fluorescents « lumière du jour ».

Intensité de l'éclairage : environ 7 500 lux.

V. DATES DES DIFFERENTES ETAPES

Tamissage à 4 mm : 03/08/20.

Centrifugation : 03/08/20.

Lixiviation : 10-11/08/20.

Date des essais définitifs :

- Test *Vibrio fischeri* : 28/08/20 (échantillon congelé avant analyse).
- Test *Brachionus* : 19/08/20.
- Test plantes : 05/08/20.

VI. CARACTERISATION DU SEDIMENT

VI.1 Analyses physico-chimiques

Teneur en eau de l'échantillon brut : 37 %.

Teneur en eau de l'échantillon après tamisage et centrifugation : 37 %.

	pH	Oxygène dissous (mg/L)	Conductivité (μ S/cm)
Eaux interstitielles			Pas d'eau interstitielle
Eluats	6,8	7,4	161

VI.2 Résultats des tests biologiques de toxicité

VI.2.1 - Résultats des essais d'écotoxicité sur éluats

	Tests	Effet	Descripteur toxicologique	20E116607-003
Tests de toxicité aiguë	Microtox®	Inhibition de la luminescence	CE 50-5 min CE 50-15 min CE 50-30 min	Non toxique à 80 % Non toxique à 80 % Non toxique à 80 %
Tests de toxicité chronique	Brachionus	Croissance de la population	CE 20-48h	Non toxique à 90 %

Tableau 1 . Tableau récapitulatif en % (Volume/Volume) des résultats des tests biologiques réalisés sur les éluats

Entre parenthèses : intervalle de confiance à 95% de la CE50% et/ou CE20% (si calculable)

En gras : CE50% < 10 % et/ou CE20% < 1 %

VI.2.1.1 Résultats des essais de toxicité aiguë

Le tableau 2 présente une synthèse des résultats des tests de toxicité aiguë réalisés sur les éluats, sur la base du seuil à 10 %.

	Classement sur la base du test Microtox®	Classement sur la base des essais de toxicité aiguë*
20E116607-003	-	-

+ « ombré » : classé comme dangereux pour l'environnement

- : classé comme non dangereux pour l'environnement

* : en considérant que la réponse d'un seul test suffit à classer le sédiment comme écotoxique

Tableau 2. Classement du sédiment sur la base des tests biologiques de toxicité aiguë

La figure 1 présente la synthèse des résultats des tests de toxicité aiguë réalisés sur les éluats sous forme d'histogramme, en considérant le seuil de 10 %.

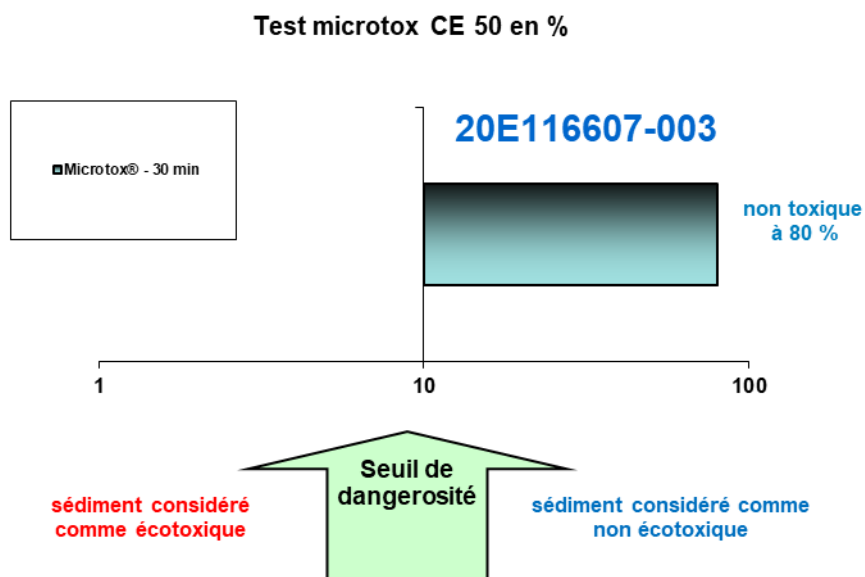


Figure 1. Toxicité aiguë sur éluats

VI.2.1.2 Résultats des essais de toxicité chronique

Le tableau 3 présente une synthèse des résultats des tests de toxicité chronique sur la base du seuil à 1 %.

Sédiments	Classement sur la base du test Brachionus	Classement sur la base des essais de toxicité chronique
20E116607-003	-	-

+ « ombré » : classé comme dangereux pour l'environnement

- : classé comme non dangereux pour l'environnement

* : en considérant que la réponse d'un seul test suffit à classer le sédiment comme écotoxique

Tableau 3 . Classement des sédiments sur la base des tests biologiques de toxicité chronique

La figure 2 présente sous forme d'histogramme la synthèse des résultats des tests de toxicité chronique sur la base du seuil à 1 %.

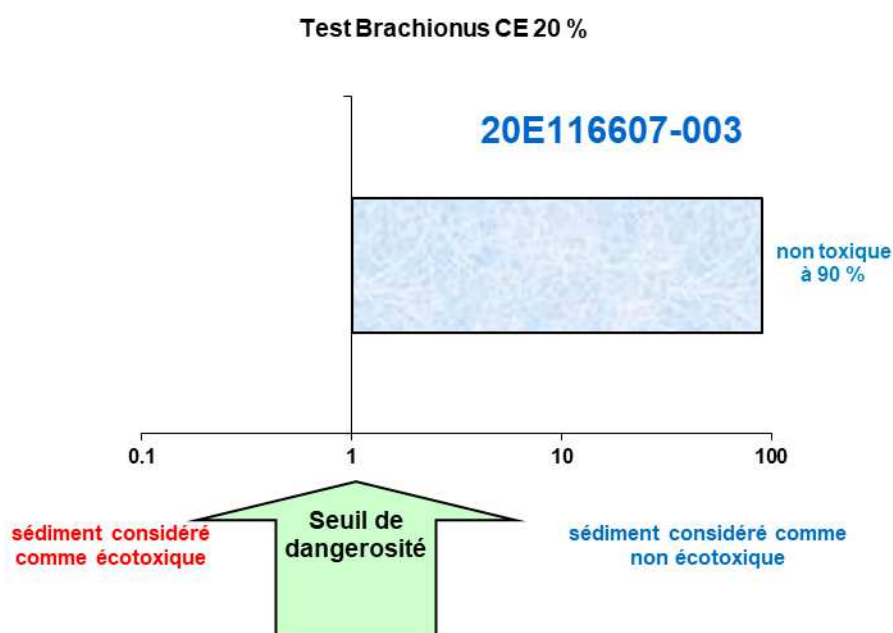


Figure 2. Toxicité chronique sur éluats

VI.2.2 - Ecotoxicité de la matrice solide

Remarque : 63 % d'échantillon en équivalent matière sèche correspond à 100 % d'échantillon brut pré-traité.

Tests	Effet	Descripteur toxicologique	20E116607-003
Avoine	Germination	CE 50	26,8 % de MS (16,0-49,3)
Avoine	Croissance	CE 50-21 jours	>63 % de MS

Tableau 4. Tableau récapitulatif des résultats en % de matière sèche (Masse/Masse) des tests biologiques réalisés sur la matrice brute

Entre parenthèses : intervalle de confiance à 95% de la CE50% (si calculable)

En gras : CE50% < 10

Le tableau 5 présente une synthèse des résultats des tests de toxicité réalisés sur la matrice brute, en considérant le seuil de 10%.

Sédiment	Classement sur la base de l'émergence et de croissance de l'avoine (<i>Avena sativa</i>)	Classement sur la base des essais de toxicité terrestre*
20E116607-003	-	-

+ « ombré » : classé comme dangereux pour l'environnement

- : classé comme non dangereux pour l'environnement

* : en considérant que la réponse d'un seul test suffit à classer le sédiment comme écotoxique

Tableau 5. Classement du sédiment sur la base des tests biologiques sur matrice brute

La figure 3 présente une synthèse des résultats des tests de toxicité réalisés sur la matrice solide sous forme d'histogramme, en considérant le seuil de 10 %.

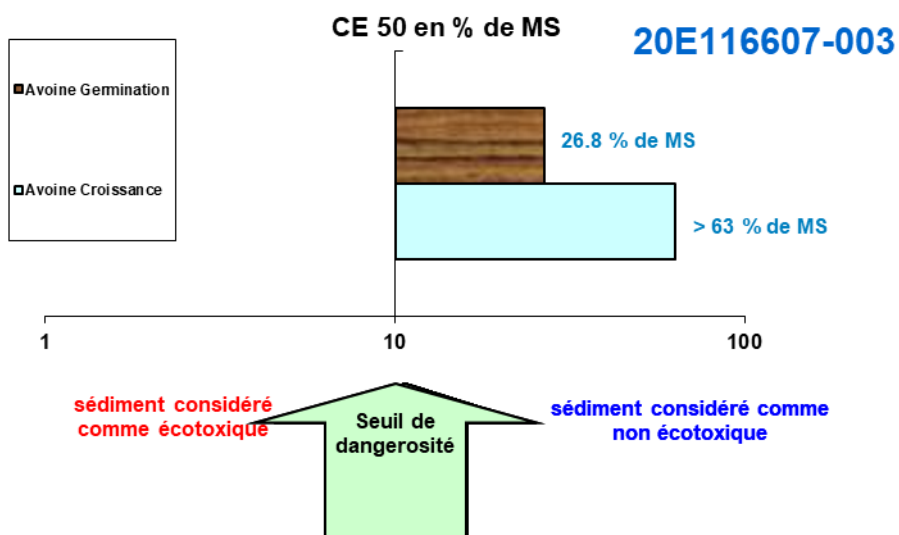


Figure 3 . Toxicité terrestre sur sédiment

VII. SYNTHÈSE DES RESULTATS

Le tableau 6 présente les résultats obtenus en termes de classement des sédiments, respectivement en fonction des seuils de dangerosité.

Sédiment	Classement sur la base des essais de toxicité aiguë*	Classement sur la base des essais de toxicité chronique*	Classement sur la base des essais de toxicité terrestre*	Synthèse*
20E116607-003	-	-	-	-

+ « ombré » : classé comme dangereux pour l'environnement

- : classé comme non dangereux pour l'environnement

* : en considérant que la réponse d'un seul test suffit à classer le sédiment comme écotoxique

Tableau 6. Classement du sédiment par rapport aux seuils retenus

- **Pour le test de toxicité aiguë**, réalisé sur éluat avec un seuil de CE 50 à 10 %,
 - ⇒ L'échantillon « 20E116607-003 » n'est pas considéré comme écotoxique par le test Microtox®,
- **Pour le test de toxicité chronique**, réalisés sur éluat avec un seuil de CE 20 à 1 %,
 - ⇒ L'échantillon « 20E116607-003 » n'est pas considéré comme écotoxique par les tests sur la croissance de la population des Brachionus,
- **Pour le test de toxicité terrestre**, avec un seuil de CE 50 à 10 %,
 - ⇒ L'échantillon « 20E116607-003 » n'est pas considéré comme écotoxique.

Dans le cadre du critère HP14 et en fonction des seuils retenus par le Ministère de l'Ecologie, du Développement Durable et de l'Energie en 2016, l'échantillon « 20E116607-003 » n'est pas considéré comme écotoxique.

VIII. CRITERES DE VALIDITE DES TESTS BIOLOGIQUES DE TOXICITE

VIII.1 Test *Vibrio fischeri* :

- Les rapports des blancs sont compris entre 0,6 et 1,8.
- L'écart par rapport à la moyenne des témoins est inférieur à ou égal 3 % (arrondi à un chiffre significatif).
- Pour les déterminations effectuées en double, les taux d'inhibition ne donnent pas d'écart strictement supérieur à 3 %.
- L'inhibition de la luminescence est comprise entre 20 % et 80 % au bout de 30 min +/- 20 secondes aux concentrations suivantes :
 - 2,2 mg/L de Zn^{2+} (sous forme de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$): 51 %

VIII.2 Test *Brachionus* :

- Pourcentage de reproduction observé dans plus de 87,5 % des répliques du lot témoin (100 %).
- Nombre moyen de *Brachionus calyciflorus* femelles dénombrées par puits dans le lot témoin supérieur à 3 à la fin de l'essai : 3,9.
- Substance de référence réalisée le 19 Aout 2020 : ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$).CE 50-72h = 23,6 $\mu g/L$ de Cu^{2+} .

VIII.3 Test plantes :

- Nombre moyen de graines germées supérieur à 7 dans le lot témoin :
 - avoine (*Avena sativa*) : 7,5.

A Maxéville, le 15/09/2020,
Eloïse Renouf, Ingénieur Projets.



**EUROFINS ANALYSES POUR
L'ENVIRONNEMENT FRANCE SAS
Département Environnement**
5 rue d'Otterswiller
67700 SAVERNE
FRANCE

RAPPORT D'ANALYSE

N° de rapport d'analyse : AR-20-IY-029568-01

Version du : 15/09/2020

Page 1/2

Dossier N° : 20G007061

Date de réception : 28/07/2020

Référence bon de commande : EUFRSA200099614

N° Ech	Matrice	Référence échantillon	Observations
004	Sédiments	20E116607-004 / Sed-1 4 -	

N° ech **20G007061-004** | Version AR-20-IY-029568-01(15/09/2020) | Votre réf. 20E116607-004

Page 2/2

Prélèvement effectué par Prélevé par vos soins Date de réception 28/07/2020 11:19
Date prélèvement 09/07/2020 Début d'analyse 15/09/2020

Ecotoxicologie continentale

	Résultat	Unité
IX00A : Test Brachionus Prestation réalisée par nos soins		
Technique [Détermination de la toxicité chronique vis-à-vis de Brachionus calyciflorus en 48 h] - NF ISO 20666		
Brachionus calyciflorus CE20/48h	voir rapport joint	% (CE 20)
Brachionus calyciflorus CE50/48h	voir rapport joint	% (CE 50)
IY00Q : Test Microtox sur éluat Prestation réalisée par nos soins		
Technique [Essais de toxicité aigue sur bactéries luminescentes] - NF EN ISO 11348-3		
Inhibition Luminescence de V. fischeri (5min)	voir rapport joint	% (CE 50)
Inhibition Luminescence de V. fischeri (15min)	voir rapport joint	% (CE 50)
Inhibition Luminescence de V. fischeri (30min)	voir rapport joint	% (CE 50)
IY00H : Lixiviation Prestation réalisée par nos soins	voir rapport joint	
Lixiviation - NF EN 12457-2		
IX248 : Test plantes émergence et croissance - 1 semence Prestation réalisée par nos soins	voir rapport joint	% (CE 50)
Technique [Détermination des effets des polluants sur la flore du sol] - NF ISO 11269-2		

Divers

	Résultat	Unité
IY031 : Tamisage, centrifugation Prestation réalisée par nos soins	voir rapport joint	g/kg
Technique -		



Eloise Renouf

La reproduction de ce rapport n'est autorisée que sous sa forme intégrale. Il comporte 2 page(s). Le présent rapport ne concerne que les objets soumis à l'essai. Les résultats s'appliquent à l'échantillon tel qu'il a été reçu.

Pour déclarer, ou non, la conformité à la spécification, il n'a pas été tenu explicitement compte de l'incertitude associée au résultat. Tous les éléments de traçabilité, ainsi que les incertitudes de mesure, sont disponibles sur demande.

Pour les résultats issus d'une sous-traitance, les rapports émis par des laboratoires accrédités sont disponibles sur demande.

Les données fournies par le client ne sauraient engager la responsabilité du laboratoire.

Lors de l'émission d'une nouvelle version de rapport, toute modification est identifiée par une mise en forme gras, italique et souligné.

A l'attention de :

**EUROFINS ANALYSES
POUR L'ENVIRONNEMENT
(Saverne)**

***EVALUATION SUIVANT LE CRITERE HP14
DE L'ECOTOXICITE D'UN ECHANTILLON
DE SEDIMENT REFERENCE :***

« 20E116607-004 »

Rapport d'analyses n° 20FER6-0820 du 15/09/2020

SOMMAIRE

I.	PRESENTATION DE L'ECHANTILLON	4
II.	VERIFICATION DU CARACTERE ECOTOXIQUE DES SEDIMENTS : CRITERE HP14*	4
III.	PREPARATION DES ELUATS.....	5
IV.	DESCRIPTION SIMPLIFIEE DES TESTS BIOLOGIQUES DE TOXICITE	5
IV.1	DESCRIPTEURS TOXICOLOGIQUES	5
IV.2	TESTS DE TOXICITE REALISES SUR MATRICES LIQUIDES	5
IV.2.1	<i>Tests de toxicité aiguë.....</i>	<i>5</i>
IV.2.2	<i>Test de toxicité chronique.....</i>	<i>6</i>
IV.3	TESTS DE TOXICITE REALISES SUR SEDIMENTS CENTRIFUGES.....	7
IV.3.1	<i>Test d'inhibition de l'émergence et de la croissance de semences par une matrice potentiellement polluée (NF EN ISO 11269-2, 2013)</i>	<i>7</i>
V.	DATES DES DIFFERENTES ETAPES.....	7
VI.	CARACTERISATION DU SEDIMENT	8
VI.1	ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES.....	8
VI.2	RESULTATS DES TESTS BIOLOGIQUES DE TOXICITE.....	8
VI.2.1	<i>- Résultats des essais d'écotoxicité sur éluats</i>	<i>8</i>
VI.2.2	<i>- Ecotoxicité de la matrice solide.....</i>	<i>11</i>
VII.	SYNTHESE DES RESULTATS.....	12
VIII.	CRITERES DE VALIDITE DES TESTS BIOLOGIQUES DE TOXICITE.....	13
VIII.1	TEST <i>VIBRIO FISCHERI</i> :	13
VIII.2	TEST <i>BRACHIONUS</i> :	13
VIII.3	TEST PLANTES :	13

Liste des tableaux

Tableau 1 . Tableau récapitulatif en % (Volume/Volume) des résultats des tests biologiques réalisés sur les éluats.....	8
Tableau 2. Classement du sédiment sur la base des tests biologiques de toxicité aiguë	9
Tableau 3 . Classement des sédiments sur la base des tests biologiques de toxicité chronique	10
Tableau 4. Tableau récapitulatif des résultats en % de matière sèche (Masse/Masse) des tests biologiques réalisés sur la matrice brute	11
Tableau 5. Classement du sédiment sur la base des tests biologiques sur matrice brute	11
Tableau 6. Classement du sédiment par rapport aux seuils retenus	12

Liste des figures

Figure 1. Toxicité aiguë sur éluats.....	9
Figure 2. Toxicité chronique sur éluats.....	10
Figure 3 . Toxicité terrestre sur sédiment	11

I. PRESENTATION DE L'ECHANTILLON

Echantillon de sédiment référencé « 20E116607-004 » réceptionné le 28 juillet 2020.

Date de prélèvement : 09/07/2020.

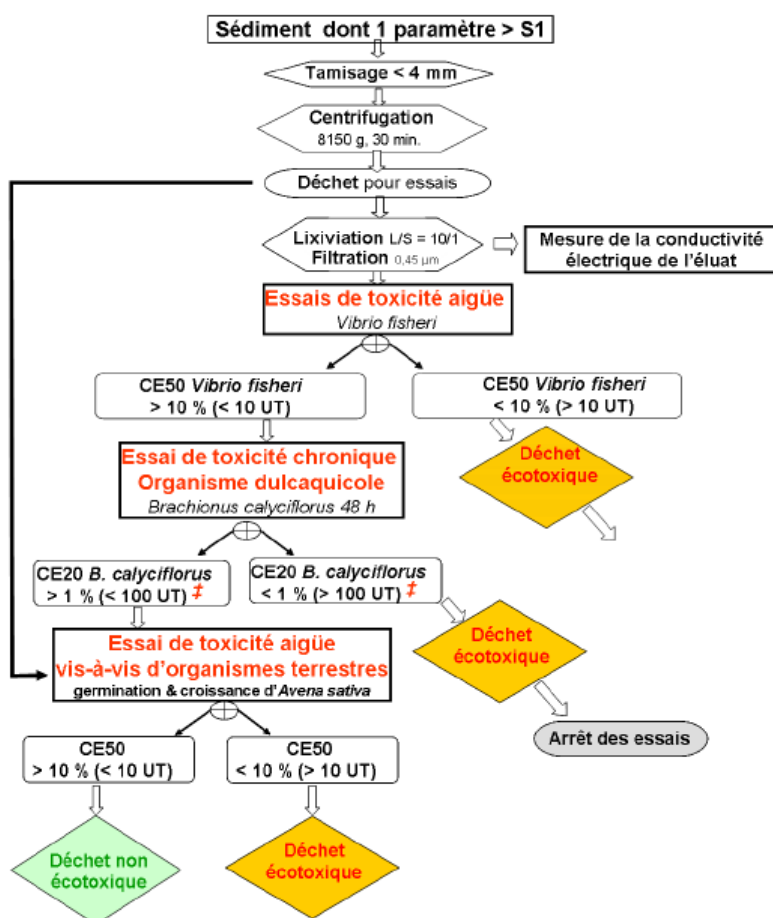
Référence Eurofins Ecotoxicologie France : 20G007061-004.

Le présent rapport ne concerne que les objets soumis à l'essai.

II. VERIFICATION DU CARACTERE ECOTOXIQUE DES SEDIMENTS : CRITERE HP14*

* anciennement appelé critère H14.

Les essais à réaliser sur chaque échantillon sont ceux proposés dans le rapport INERIS - DRC-15-149793-06416A réalisé pour le Ministère de l'Ecologie, du Développement Durable et de l'Energie (MEDDE) – « Classification réglementaire des déchets - Guide d'application pour la caractérisation en dangerosité » pour la mesure du paramètre HP14 sur les sédiments marins et continentaux (4 février 2016). La figure ci-dessous illustre le logigramme à appliquer. Suivant le déroulement de l'étude, certains échantillons pourront n'être soumis qu'à une partie des tests.



III. PREPARATION DES ELUATS

Les éluats ont été obtenus suivant le protocole de lixiviation EN 12457-2 (2002) indice de classement X 30 402-2 :

1. Rapport massique Liquide/Solide = 10 calculé en équivalent de matière sèche,
2. Agitation 24 heures, par retournement (5 à 10 tours/min),
3. Séparation par centrifugation 3000 t/min, 30 min,
4. Filtration de l'éluat à 0,45 µm sur filtre nylon.

IV. DESCRIPTION SIMPLIFIEE DES TESTS BIOLOGIQUES DE TOXICITE

IV.1 Descripteurs toxicologiques

- CE X%-T : Concentration efficace provoquant un effet sur X % de la population après un temps T.

IV.2 Tests de toxicité réalisés sur matrices liquides

IV.2.1 Tests de toxicité aiguë

IV.2.1.1 Test d'inhibition de la luminescence de bactéries marines (*Vibrio fischeri* ou Microtox®, NF EN ISO 11348-3, 2009)

Ce test repose sur la détermination de l'inhibition de la luminescence émise par une bactérie marine *Vibrio fischeri* (anciennement *Photobacterium phosphoreum*). Cet essai permet de déterminer la concentration d'échantillon (en %) qui, après 5, 15 à 30 minutes inhibe 50 % de la luminescence des bactéries. Cette concentration est désignée par CE 50-t, t représentant le temps de contact des bactéries avec l'échantillon.

Nombre de réplique par concentrations testées et témoins : 2.

Organisme d'essai : *Vibrio fischeri* (NRRL B-11177).
Fournisseur de la souche lyophilisée : R-Biopharm.

Essai sur substances de référence réalisé à chaque série analytique comprenant au moins un essai définitif : - ZnSO₄, 7H₂O ou 3,5-dichlorophénol (C₆H₄OCl₂) ou K₂Cr₂O₇.

Méthode de calcul de la CE50 : logiciel Microtox-Omni.

IV.2.2 Test de toxicité chronique

IV.2.2.1 Détermination de la toxicité chronique vis-à-vis de *Brachionus calyciflorus* en 48 heures - Essai d'inhibition de la croissance de la population (NF ISO 20666, 2009)

De jeunes femelles *Brachionus calyciflorus* (*Monogota*, *Rotifera*), âgées de moins de 2 heures au début de l'essai, sont exposées individuellement pendant une période de 48 heures à une gamme de concentrations de l'échantillon.

En fin d'essai, le nombre de rotifères femelles est déterminé et, par comparaison avec le témoin, les pourcentages d'inhibition de la croissance de la population sont déterminés à chaque concentration.

Nombre de réplique par concentrations testées et témoins : 8.

Organisme d'essai : *Brachionus calyciflorus*

Fournisseur des sporocystes déshydratés : R-Biopharm.

Essai sur substance de référence réalisé une fois par mois : $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

Méthode de calcul de la CE20 : modèle logistique basé sur l'équation de Hill (macro Regtox_ev6.6.2.xls).

IV.3 Tests de toxicité réalisés sur sédiments centrifugés

IV.3.1 Test d'inhibition de l'émergence et de la croissance de semences par une matrice potentiellement polluée (NF EN ISO 11269-2, 2013)

Les échantillons de sédiment sont dilués avec le milieu ISO (mélange de 70 % de sable de Fontainebleau, 20 % de kaolinite et 10 % de sphaigne). Les différentes graines (monocotylédones : avoine – *Avena sativa*) sont plantées dans les dilutions.

L'essai se déroule en 2 étapes (nombre de graines semées par pot : 10) :

- un essai préliminaire de 7 jours qui permet d'étudier l'effet de différentes concentrations comprises entre 1 et 100 % d'échantillon (une réplique par concentrations testées et témoin),
- un essai définitif pour lequel une série de 5 dilutions est réalisée (en se plaçant aux bornes des dilutions pour lesquelles l'émergence passait de 0 à 100 % lors de l'essai préliminaire) – 4 répliques par concentrations testées et témoin.

L'émergence et la croissance des semences sont suivies quotidiennement lors de l'arrosage.

Après 7 jours, les graines germées sont comptabilisées dans les différentes dilutions pour déterminer l'effet sur la germination et le nombre de pousses est réduit à cinq.

Après 14 jours minimum et au maximum au bout de 21 jours après que 50 % des semis témoins ont émergés, la biomasse de chaque dilution est quantifiée par pesée.

Méthode de calcul des CE50 (germination et croissance) : modèle statistique Log-Probit ou par interpolation linéaire (logiciel Toxcalc).

Diamètre des pots : 9,5 cm.

Masse de sol par pot : de l'ordre de 250 grammes.

Type d'environnement : phytotron.

Cycle jour/nuit : 16 heures/8 heures.

Température : 22 °C +/- 1 °C (jour) / 18 °C +/- 1 °C (nuit).

Humidité relative : 70 %.

Type d'éclairage : tubes fluorescents « lumière du jour ».

Intensité de l'éclairage : environ 7 500 lux.

V. DATES DES DIFFÉRENTES ÉTAPES

Tamissage à 4 mm : 03/08/20.

Centrifugation : 03/08/20.

Lixiviation : 10-11/08/20.

Date des essais définitifs :

- Test *Vibrio fischeri* : 28/08/20 (échantillon congelé avant analyse).
- Test *Brachionus* : 19/08/20.
- Test plantes : 05/08/20.

VI. CARACTERISATION DU SEDIMENT

VI.1 Analyses physico-chimiques

Teneur en eau de l'échantillon brut : 17 %.

Teneur en eau de l'échantillon après tamisage et centrifugation : 17 %.

	pH	Oxygène dissous (mg/L)	Conductivité (μ S/cm)
Eaux interstitielles			Pas d'eau interstitielle
Eluats	7,5	7,9	160

VI.2 Résultats des tests biologiques de toxicité

VI.2.1 - Résultats des essais d'écotoxicité sur éluats

	Tests	Effet	Descripteur toxique	20E116607-004
Tests de toxicité aiguë	Microtox®	Inhibition de la luminescence	CE 50-5 min	Non toxique à 80 %
			CE 50-15 min	Non toxique à 80 %
			CE 50-30 min	Non toxique à 80 %
Tests de toxicité chronique	Brachionus	Croissance de la population	CE 20-48h	Non toxique à 90 %

Tableau 1 . Tableau récapitulatif en % (Volume/Volume) des résultats des tests biologiques réalisés sur les éluats

Entre parenthèses : intervalle de confiance à 95% de la CE50% et/ou CE20% (si calculable)

En gras : CE50% < 10 % et/ou CE20% < 1 %

VI.2.1.1 Résultats des essais de toxicité aiguë

Le tableau 2 présente une synthèse des résultats des tests de toxicité aiguë réalisés sur les éluats, sur la base du seuil à 10 %.

	Classement sur la base du test Microtox®	Classement sur la base des essais de toxicité aiguë*
20E116607-004	-	-

+ « ombré » : classé comme dangereux pour l'environnement

- : classé comme non dangereux pour l'environnement

* : en considérant que la réponse d'un seul test suffit à classer le sédiment comme écotoxique

Tableau 2. Classement du sédiment sur la base des tests biologiques de toxicité aiguë

La figure 1 présente la synthèse des résultats des tests de toxicité aiguë réalisés sur les éluats sous forme d'histogramme, en considérant le seuil de 10 %.

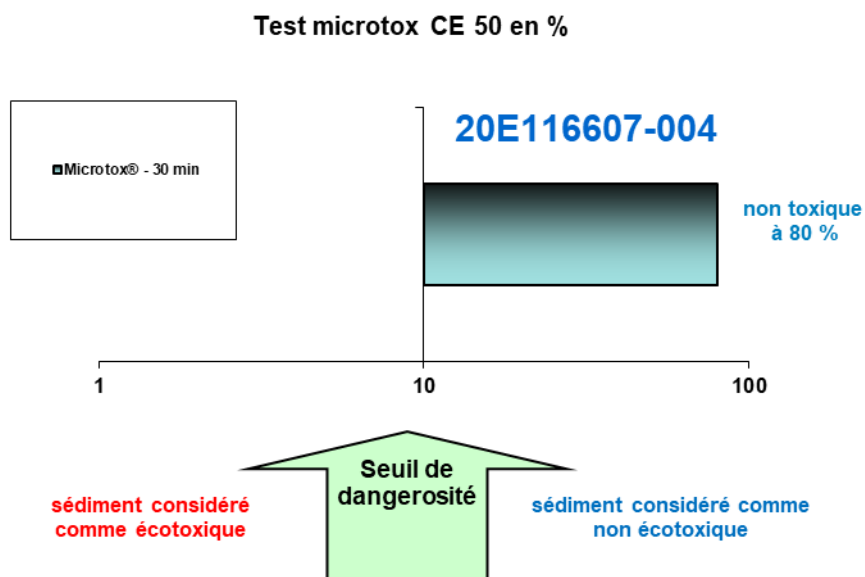


Figure 1. Toxicité aiguë sur éluats

VI.2.1.2 Résultats des essais de toxicité chronique

Le tableau 3 présente une synthèse des résultats des tests de toxicité chronique sur la base du seuil à 1 %.

Sédiments	Classement sur la base du test Brachionus	Classement sur la base des essais de toxicité chronique
20E116607-004	-	-

+ « ombré » : classé comme dangereux pour l'environnement

- : classé comme non dangereux pour l'environnement

* : en considérant que la réponse d'un seul test suffit à classer le sédiment comme écotoxique

Tableau 3 . Classement des sédiments sur la base des tests biologiques de toxicité chronique

La figure 2 présente sous forme d'histogramme la synthèse des résultats des tests de toxicité chronique sur la base du seuil à 1 %.

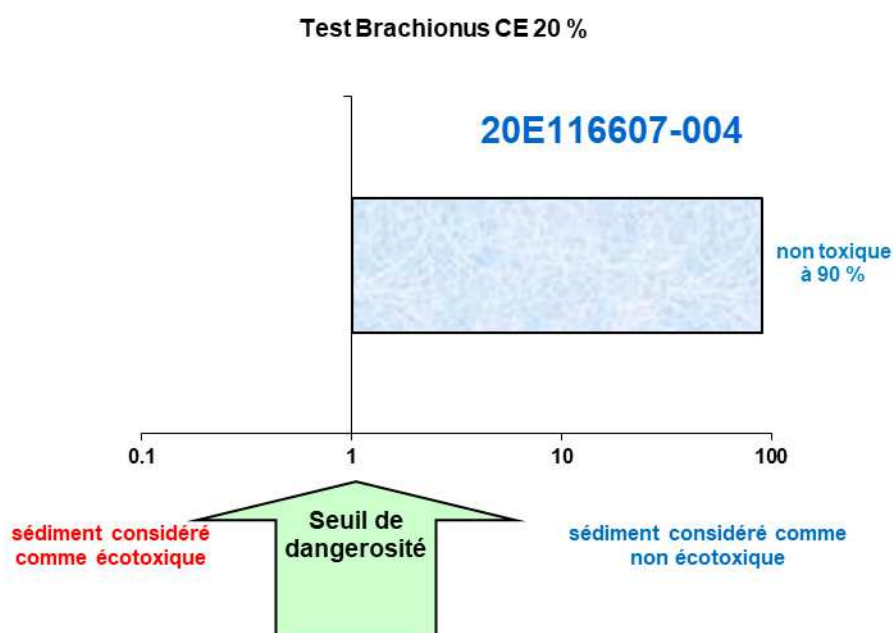


Figure 2. Toxicité chronique sur éluats

VI.2.2 - Ecotoxicité de la matrice solide

Remarque : 83 % d'échantillon en équivalent matière sèche correspond à 100 % d'échantillon brut pré-traité.

Tests	Effet	Descripteur toxicologique	20E116607-004
Avoine	Germination	CE 50	47,9 % de MS (26,5->83)
Avoine	Croissance	CE 50-21 jours	43,8 % de MS (15,2->83)

Tableau 4. Tableau récapitulatif des résultats en % de matière sèche (Masse/Masse) des tests biologiques réalisés sur la matrice brute

Entre parenthèses : intervalle de confiance à 95% de la CE50% (si calculable)

En gras : CE50% < 10

Le tableau 5 présente une synthèse des résultats des tests de toxicité réalisés sur la matrice brute, en considérant le seuil de 10%.

Sédiment	Classement sur la base de l'émergence et de croissance de l'avoine (<i>Avena sativa</i>)	Classement sur la base des essais de toxicité terrestre*
20E116607-004	-	-

+ « ombré » : classé comme dangereux pour l'environnement

- : classé comme non dangereux pour l'environnement

* : en considérant que la réponse d'un seul test suffit à classer le sédiment comme écotoxique

Tableau 5. Classement du sédiment sur la base des tests biologiques sur matrice brute

La figure 3 présente une synthèse des résultats des tests de toxicité réalisés sur la matrice solide sous forme d'histogramme, en considérant le seuil de 10 %.

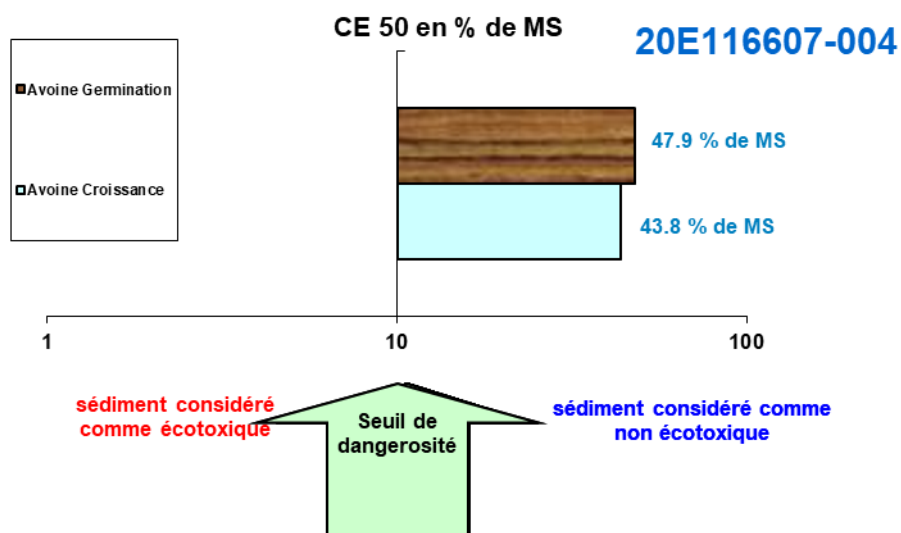


Figure 3 . Toxicité terrestre sur sédiment

VII.SYNTHESE DES RESULTATS

Le tableau 6 présente les résultats obtenus en termes de classement des sédiments, respectivement en fonction des seuils de dangerosité.

Sédiment	Classement sur la base des essais de toxicité aiguë*	Classement sur la base des essais de toxicité chronique*	Classement sur la base des essais de toxicité terrestre*	Synthèse*
20E116607-004	-	-	-	-

+ « ombré » : classé comme dangereux pour l'environnement

- : classé comme non dangereux pour l'environnement

* : en considérant que la réponse d'un seul test suffit à classer le sédiment comme écotoxique

Tableau 6. Classement du sédiment par rapport aux seuils retenus

- **Pour le test de toxicité aiguë**, réalisé sur éluat avec un seuil de CE 50 à 10 %,
 - ⇒ L'échantillon « 20E116607-004 » n'est pas considéré comme écotoxique par le test Microtox®,
- **Pour le test de toxicité chronique**, réalisés sur éluat avec un seuil de CE 20 à 1 %,
 - ⇒ L'échantillon « 20E116607-004 » n'est pas considéré comme écotoxique par les tests sur la croissance de la population des Brachionus,
- **Pour le test de toxicité terrestre**, avec un seuil de CE 50 à 10 %,
 - ⇒ L'échantillon « 20E116607-004 » n'est pas considéré comme écotoxique.

Dans le cadre du critère HP14 et en fonction des seuils retenus par le Ministère de l'Ecologie, du Développement Durable et de l'Energie en 2016, l'échantillon « 20E116607-004 » n'est pas considéré comme écotoxique.

VIII. CRITERES DE VALIDITE DES TESTS BIOLOGIQUES DE TOXICITE

VIII.1 Test *Vibrio fischeri* :

- Les rapports des blancs sont compris entre 0,6 et 1,8.
- L'écart par rapport à la moyenne des témoins est inférieur à ou égal 3 % (arrondi à un chiffre significatif).
- Pour les déterminations effectuées en double, les taux d'inhibition ne donnent pas d'écart strictement supérieur à 3 %.
- L'inhibition de la luminescence est comprise entre 20 % et 80 % au bout de 30 min +/- 20 secondes aux concentrations suivantes :
 - 2,2 mg/L de Zn^{2+} (sous forme de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$): 51 %

VIII.2 Test *Brachionus* :

- Pourcentage de reproduction observé dans plus de 87,5 % des répliques du lot témoin (100 %).
- Nombre moyen de *Brachionus calyciflorus* femelles dénombrées par puits dans le lot témoin supérieur à 3 à la fin de l'essai : 4,8.
- Substance de référence réalisée le 19 Aout 2020 : ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$).CE 50-72h = 23,6 $\mu g/L$ de Cu^{2+} .

VIII.3 Test plantes :

- Nombre moyen de graines germées supérieur à 7 dans le lot témoin :
 - avoine (*Avena sativa*) : 7,5.

A Maxéville, le 15/09/2020,
Eloïse Renouf, Ingénieur Projets.

