

## REFERENCES



**ClientID :** TOROBALL  
**Description :** Billes de paintball  
**Nature :**  
**Commentaire :**

**TORO Distribution**  
**62 rue Armand Barbes**  
76300 SOTTEVILLE-LES-ROUEN  
023200

Rouen, le 19 février 2010

**RAPPORT D'ESSAI**  
**RN10-01225.001**

Page 1 / 13

### Paramètre :

**DÉTERMINATION DE L'INHIBITION DE LA MOBILITÉ DES DAPHNIES**  
- **ESSAI DE TOXICITÉ AIGÜE** -

**NF EN ISO 6341 - OCDE 202**

**Principe :** Détermination de la concentration d'échantillon qui, en 48 heures, immobilise 50% des daphnies mises en expérimentation (CEi50-48h).

La substance de référence pour cette analyse est le dichromate de potassium.

**Organisme d'essai :** *Daphnia magna* Straus (*Cladocera, Crustacea*) obtenues par parthénogénèse acyclique dans les conditions d'élevage définies par le laboratoire et âgées de moins de 24 heures.

**Echantillon :** - TOROBALL  
- Mode de conservation : Température ambiante  
- Mode de préparation des solutions-tests : dissolution de l'échantillon dans le milieu d'essai par agitation pendant 24 h puis dilutions

**Date d'essai définitif:** du 09/02/10 au 11/02/10

### Résultats :

La bille TOROBALL respecte la norme **NF EN ISO 6341 - OCDE 202** pour la non toxicité envers les micro-organismes.  
(voir résultats page 2).

## Inhibition de la mobilité de *Daphnia magna*

N° échantillon :  
RN10-01225.001

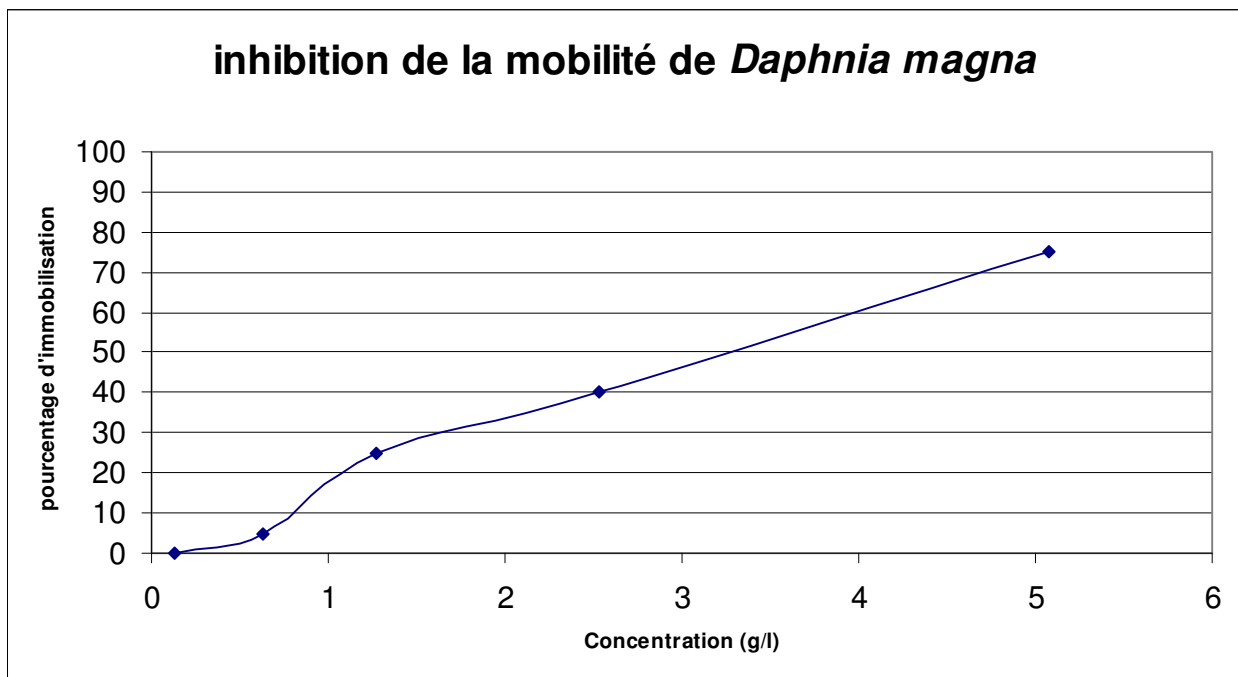
Date de l'essai :  
du 09 au 11/02/10

Concentrations eng/l	Daphnies immobiles par puits à 48 heures *				Total d'immobiles	Pourcentage d'immobiles	pH	O2 dissous en mg/l
	A	B	C	D				
Témoin	0	0	0	0	0	0	7,8	8,7
0,1268	0	0	0	0	0	0	-	-
0,634	0	0	1	0	1	5	-	-
1,268	2	1	1	1	5	25	-	-
2,536	2	2	3	1	8	40	-	-
5,072	4	4	4	3	15	75	-	8

\* 5 daphnies vivantes par puits à t=0

Intervalle de confiance à 95%

CE <sub>50-48h</sub> (g/l) :	2,80	2,39	3,21
------------------------------	------	------	------



**Paramètre :**

**ESSAI D'INHIBITION DE LA CROISSANCE DES ALGUES D'EAU DOUCE AVEC  
*Pseudokirchneriella subcapitata***

**NF EN ISO 8692 - OCDE 201**

**Principe :** Détermination de la concentration d'échantillon qui, en 72 heures, provoque une diminution de 50% du taux de croissance cellulaire (CE50c) des cultures d'algues mises en présence avec le produit, par rapport à un témoin.

La substance de référence pour cette analyse est le dichromate de potassium.

**Organisme d'essai :** Culture d'algues maintenues au laboratoire obtenue à partir de souches sur gélose S.A.G (Göttingen)

**Echantillon :** - TOROBALL  
- Mode de conservation : Température ambiante  
- Mode de préparation des solutions-tests : dissolution de l'échantillon dans le milieu d'essai par agitation pendant 24 h puis dilutions

**Incubation :** incubateur thermostaté et lumière continue néon

**Date d'essai définitif :** du 12/02/10 au 15/02/10

**Résultats :**

La bille TOROBALL respecte la norme **NF EN ISO 8692 - OCDE 201** pour la non toxicité envers les algues.  
(voir résultats pages 4 - 5 - 6) .

Date : 12 au 15/02/2010

N° échantillon : RN10-01225.001

concentrations	Mesure à J0	Mesure à J3	taux de croissance	inhibition croissance
temps en heures	0	72		
Témoin	10000	5404000	0,0874	
	10000	5404000	0,0874	
	10000	5404000	0,0874	
	10000	5404000	0,0874	
	10000	5404000	0,0874	
	10000	5404000	0,0874	
<b>moyenne</b>	<b>10000</b>	<b>5404000</b>	<b>0,0874</b>	
C1	10000	3972000	0,0831	4,89
	10000	3972000	0,0831	4,89
	10000	3972000	0,0831	4,89
<b>moyenne</b>	<b>10000</b>	<b>3972000</b>	<b>0,0831</b>	<b>4,89</b>
C2	10000	1020000	0,0642	26,50
	10000	1020000	0,0642	26,50
	10000	1020000	0,0642	26,50
<b>moyenne</b>	<b>10000</b>	<b>1020000</b>	<b>0,0642</b>	<b>26,50</b>
C3	10000	868000	0,0620	29,06
	10000	868000	0,0620	29,06
	10000	868000	0,0620	29,06
<b>moyenne</b>	<b>10000</b>	<b>868000</b>	<b>0,0620</b>	<b>29,06</b>
C4	10000	56000	0,0239	72,62
	10000	56000	0,0239	72,62
	10000	56000	0,0239	72,62
<b>moyenne</b>	<b>10000</b>	<b>56000</b>	<b>0,0239</b>	<b>72,62</b>
C5	10000	10000	0,0000	100,00
	10000	10000	0,0000	100,00
	10000	10000	0,0000	100,00
<b>moyenne</b>	<b>10000</b>	<b>10000</b>	<b>0,0000</b>	<b>100,00</b>

	g/l
C1	0,1268
C2	0,634
C3	1,268
C4	2,536
C5	5,072

N° échantillon : RN10-01225.001

Date : du 12/02/09 au 15/02/10

	témoïn	C1	C2	C3	C4	C5
pH à J0	8,1	8,12	8,02	7,43	7,42	7,48
Ph à J3	8,27	9,27	8,01	7,85	7,61	7,52

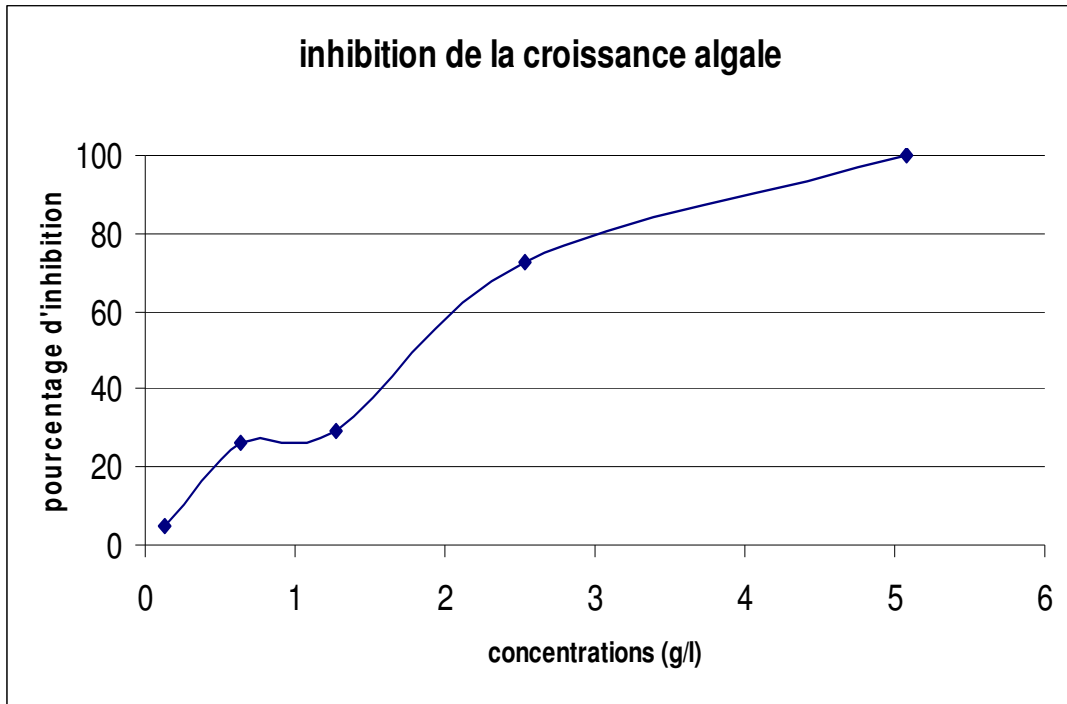
	Valeur observée	Valeur de référence		Conformité
facteur d'augmentation de la concentration cellulaire des solutions témoins en 72h :	540,40	>	67	C
Coefficient de variation du taux de croissance dans les solutions témoin :	0,00	<	5,00%	C
Variation du pH dans les solutions témoin :	0,17	<	1,5	C
luminosité dans l'enceinte d'essai (lux) :	7000,00	6000	10000	C
Température dans l'enceinte d'essai (°C) :	24,00	21	25	C
facteur d'augmentation de la concentration cellulaire de la culture fille utilisée :	160,00	>	67	C
sensibilité au K2Cr2O7 (mg/l) :	1,90	0,92	1,46	C
Vérification visuelle de la pureté des solutions d'algues :	ok			C
Milieu de culture préparé le :	12.02.10			C
Préparation de l'échantillon :	filtration 0,45 µ			C

Détermination de la valeur de CE 50 :

CE 50 c : 1,61

IC 95 % 0,81 - 2,41

c : croissance



**Paramètre :**

**DÉTERMINATION DE LA TOXICITÉ AIGUË LÉTALE DE SUBSTANCES VIS-À-VIS  
D'UN POISSON D'EAU DOUCE *Brachydanio rerio* (MÉTHODE STATIQUE)**

**- ESSAI DE TOXICITÉ AIGUË -**

**NF EN ISO 7346-1 - OCDE 203**

**Principe :** Détermination dans les conditions de l'essai des concentrations auxquelles une substance est létale pour 50% d'une population d'essai de *Brachydanio rerio*, après des périodes d'exposition à cette substance de 24h, 48h, 72h, 96h sans renouvellement.

**Echantillon :**

- TOROBALL
- Mode de conservation : Température ambiante
- Mode de préparation des solutions-tests : dissolution de l'échantillon dans le milieu d'essai par agitation pendant 24 h puis dilutions

**Organisme d'essai :** Poissons zèbres (*Brachydanio rerio*) provenant d'une même souche, de taille comprise entre 2,5 et 3 cm et maintenus en élevage au laboratoire plus de quinze jours sans aucune perte.

**Dates d'essai :** du 05/02/10 au 09/02/10

**Résultats :**

La bille TOROBALL respecte la norme **NF EN ISO 7346-1 - OCDE 203** pour la non toxicité envers les poissons.  
(voir résultats page 8 ).

**résultats du test poisson (NF EN ISO 7346-1 / OCDE 203)**

n° échantillon
RN10-01225.001

date d'analyse (début-fin)	heure de début test 96h
du 05/02/10 au 09/02/10	10h00

nombre de morts sur 7 par concentration en fonction du temps

	C(g/l)	24h	48h	72h	96h
blanc (eau de dilution)	0	0	0	0	0
dilution 1	1,268	0	0	0	0

CE50 (g/l)	>1,268
------------	--------



**Paramètre :**
**BIODÉGRADABILITÉ INTRINSÈQUE AÉROBIE :  
 ESSAI DE DISPARITION DU COD (ZAHN-WELLENS)**
**NF EN ISO 9888 - OCDE 302 B**

**Principe :** Un mélange contenant la substance d'essai, des substances nutritives minérales et une proportion relativement importante de boue activée en milieu aqueux est agité et aéré à 20-25°C à l'obscurité ou sous lumière diffuse pendant une durée pouvant atteindre 28 jours. Le processus de biodégradation est suivi par le dosage du Carbone Organique Dissous au cours du temps.

**Inoculum :** Boue activée de la STEP de Rouen. Récupération des floccs bactériens après centrifugation et remise en suspension dans le milieu d'essai. Le rapport entre l'inoculum (en MES) et la substance d'essai (en COD) est de 2,5:1 dans les flacons d'essai (soit le plus drastique proposé par la ligne directrice).

**Echantillon :** - TOROBALL  
 - Mode de conservation : température ambiante

**Dates d'analyse :**

J=0 : 03/02/2010  
 J=1 : 04/02/2010  
 J=2 : 05/02/2010  
 J=5 : 08/02/2010  
 J=6 : 09/02/2010  
 J=7 : 10/02/2010  
 J=9 : 12/02/2010  
 J=15 : 18/02/2010

La bille TOROBALL respecte la norme **NF EN ISO 9888 - OCDE 302 B** pour la biogradabilité intrinsèque .

La bille TOROBALL est biodégradable à 100 % sous 9 jours.

(voir résultats pages 10 - 11 - 12) .

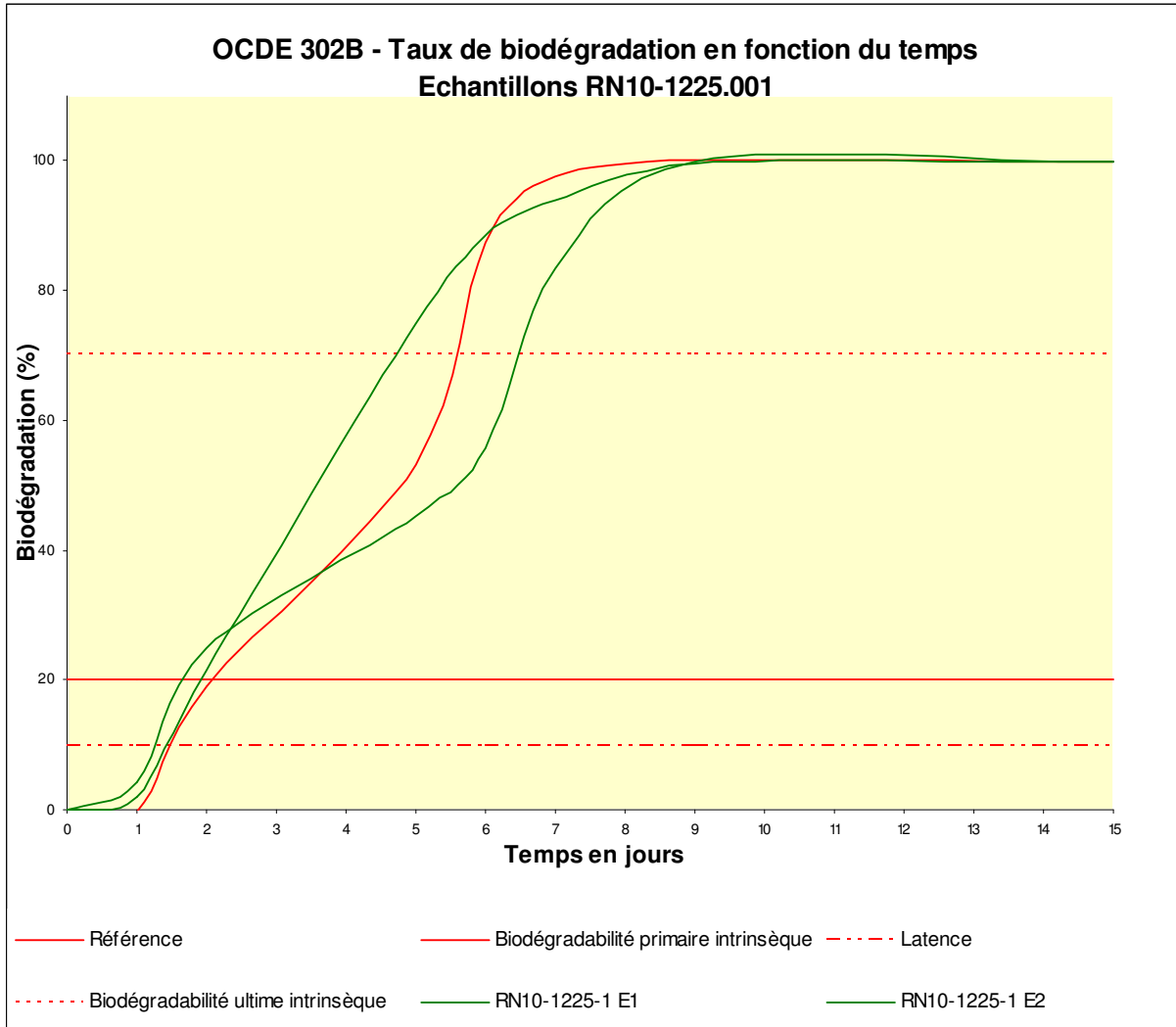
**Résultats :**

Taux de biodégradation en pourcentage en fonction du temps :

	<b>J = 0</b>	<b>J = 1</b>	<b>J = 2</b>	<b>J = 5</b>	<b>J = 6</b>	<b>J = 7</b>	<b>J = 9</b>	<b>J = 15</b>
<b>Témoin Référence</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>19</b>	<b>63</b>	<b>87</b>	<b>97</b>	<b>100</b>	<b>99</b>
<b>RN10-01225.001 E1</b>	<b>0</b>	<b>4</b>	<b>25</b>	<b>46</b>	<b>67</b>	<b>83</b>	<b>99</b>	<b>99</b>
<b>RN10-01225.001 E2</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>22</b>	<b>75</b>	<b>88</b>	<b>94</b>	<b>99</b>	<b>99</b>

E1 et E2 correspondent à deux réplicats

Les essais ont été réalisés en doublon avec des différences de résultats inférieures à 20% conformément aux critères de validité fixés par les lignes directrices de l'OCDE.



Remarque: on ne constate pas d'adsorption de l'échantillon sur la boue

Le temps de latence (a) est inférieur à 2 jours  
 Le temps de biodégradation (b) est de 7 jours environ  
 Le taux de biodégradation maximal (c) est supérieur à 99 %

**Commentaires :**

Le témoin de référence est une substance connue pour sa capacité de biodégradation (éthylène glycol) et permet de valider l'ensemble de l'expérience (on obtient 97% de dégradation en 7 jours, l'expérience se déroule donc dans des conditions favorables).

Les lignes directrices de l'OCDE ont fixé un seuil de 20% de biodégradation au delà duquel la substance démontre une biodégradabilité primaire intrinsèque et un seuil de 70% au-delà duquel la substance démontre une biodégradabilité ultime intrinsèque. Pour cette analyse, on observe une biodégradation de la substance d'essai supérieure à 99% en 9 jours.

L'échantillon de **TOROBALL** est donc « **intrinsèquement biodégradable sans préadaptation** » selon les critères de l'OCDE.

- a) Durée comprise entre le début de l'inoculation et l'instant où le taux de dégradation a atteint 10%
- b) Intervalle compris entre la fin du temps de latence et l'instant où environ 90% du taux de biodégradation maximal est atteint.
- c) Valeur approximative à partir de laquelle on n'observe plus de biodégradation au cours de l'essai

**Pour information : Extraits des Lignes Directrices de l'OCDE (23 mars 2006) (substances pures):**

Lorsque les résultats indiquent la possibilité d'une biodégradabilité ultime intrinsèque, ils signalent un potentiel de dégradation en conditions favorables pour la substance, par exemple, dans une station d'épuration fonctionnant efficacement.

L'extrapolation d'une constante de vitesse dans des modèles d'estimation de l'élimination des produits chimiques dans les stations d'épuration n'est admise que si les essais de biodégradabilité intrinsèques répondent à des critères spécifiques :

- Le niveau seuil de 70% dans l'essai Zahn-Wellens/EMPA doit être atteint en 7 jours, phase de latence et phase logarithmique incluses.
- La phase de latence ne doit pas dépasser 3 jours
- Le pourcentage d'élimination dans l'essai avant la biodégradation doit être inférieur à 15%

Lorsque le résultat d'un essai de biodégradabilité intrinsèque est négatif, une conclusion préliminaire de persistance dans l'environnement peut être tirée, et inciter à l'évaluation d'effets indésirables potentiels des produits de transformation.

## RECAPITULATIF DES RESULTATS

Test	Organismes tests	Méthode	Données	Résultats
<i>Daphnia</i> sp., Inhibition de la mobilité	<i>Daphnia magna</i>	OCDE 202	CE50-48h	2,8 g/L
Algues, Inhibition de la croissance	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	OCDE 201	CE50-72h	1,61mg/L
Poisson, test de létalité	<i>Brachydanio rerio</i>	OCDE 203	CL50-96h	>1,268 g/L
Biodégradabilité intrinsèque	Micro-organismes	OCDE 302B	Taux de biodégradation	>99% en 9 jours Intrinsèquement biodégradable sans préadaptation

D'après les critères de la directive 67/548/CEE (CE50 supérieures à 100mg/l pour les daphnies, algues et poissons), ce produit peut être considéré comme **non dangereux pour l'environnement aquatique**.

### Abréviations :

- CE50-48h** : Concentration entraînant 50% d'effet en 48 heures (immobilisation des daphnies)  
**CE50-72h** : Concentration entraînant 50% d'effet en 72 heures (sur la croissance des algues)  
**CL50-96h** : Concentration entraînant 50% de mortalité en 96 heures (sur les poissons)  
**CI50-14 j** : Concentration entraînant 50% d'inhibition en 14 jours (germination ou croissance des plantules)

Résultats validés électroniquement par **Aymeric BELLEMAIN**  
 Responsable Projet

Cette validation est une signature électronique, elle est réalisée conformément aux exigences du référentiel ISO 17025