



Livable n°T2.4.3

Report on the biodegradation of the point-of-sale display components

24/06/2022

KAÏROS



European Regional Development Fund



Partners

PP Leader : Kaïros

Partners involved : Portsmouth, UBS, Ecotechnilin

Deliverable N° and name :

- 2.4.3 Report on the biodegradation of the point-of-sale display components

Content

1. Contexte de l'activité 2 – MT2

Dans cette activité Kaïros a développé des nouveaux matériaux composites, de structure monolithique et sandwich en utilisant la préforme non tissée de fibres de lin légèrement orientée. Celle-ci a été fabriquée par Ecotechnilin via le procédé de Teillage Vandecandelaère. Ces matériaux sont destinés à l'élaboration d'un support publicitaire sur lieu de vente (PLV). Par conséquent, leurs états de surface doivent être lisses et sans défauts apparents afin de respecter les enjeux esthétiques de ce domaine d'application.

L'empreinte environnementale de ces nouveaux matériaux est réduite grâce au fort potentiel de recyclabilité et compostabilité de ceux-ci et aux matières premières biosourcées. Kaïros doit s'assurer que les matériaux respectent le cahier des charges imposé par le domaine de la PLV (usinabilité, aspect esthétique, allègement, bonne tenue mécanique) tout en vérifiant qu'ils ont une bonne capacité de recyclage. Ces matériaux sont réalisés grâce au procédé de thermocompression favorisant un temps de cycle de fabrication court et un faible coût de mise en œuvre. De nombreux essais tels que des tests de tenue mécanique dans différents environnements, des tests de vieillissement UV et des tests de résistance à la rayure, sont réalisés afin de caractériser le nouveau matériau. Les résultats obtenus permettent ainsi de mettre en place une fiche technique détaillée du matériau et ainsi le comparer aux matériaux conventionnels pétro-sourcés. La fabrication de plaques en composite a également pour but de réaliser un prototype de produit type de PLV. Ainsi, la réalisation d'un meuble de PLV permettra de démontrer la robustesse du matériau pour ce domaine d'application.



Table des matières

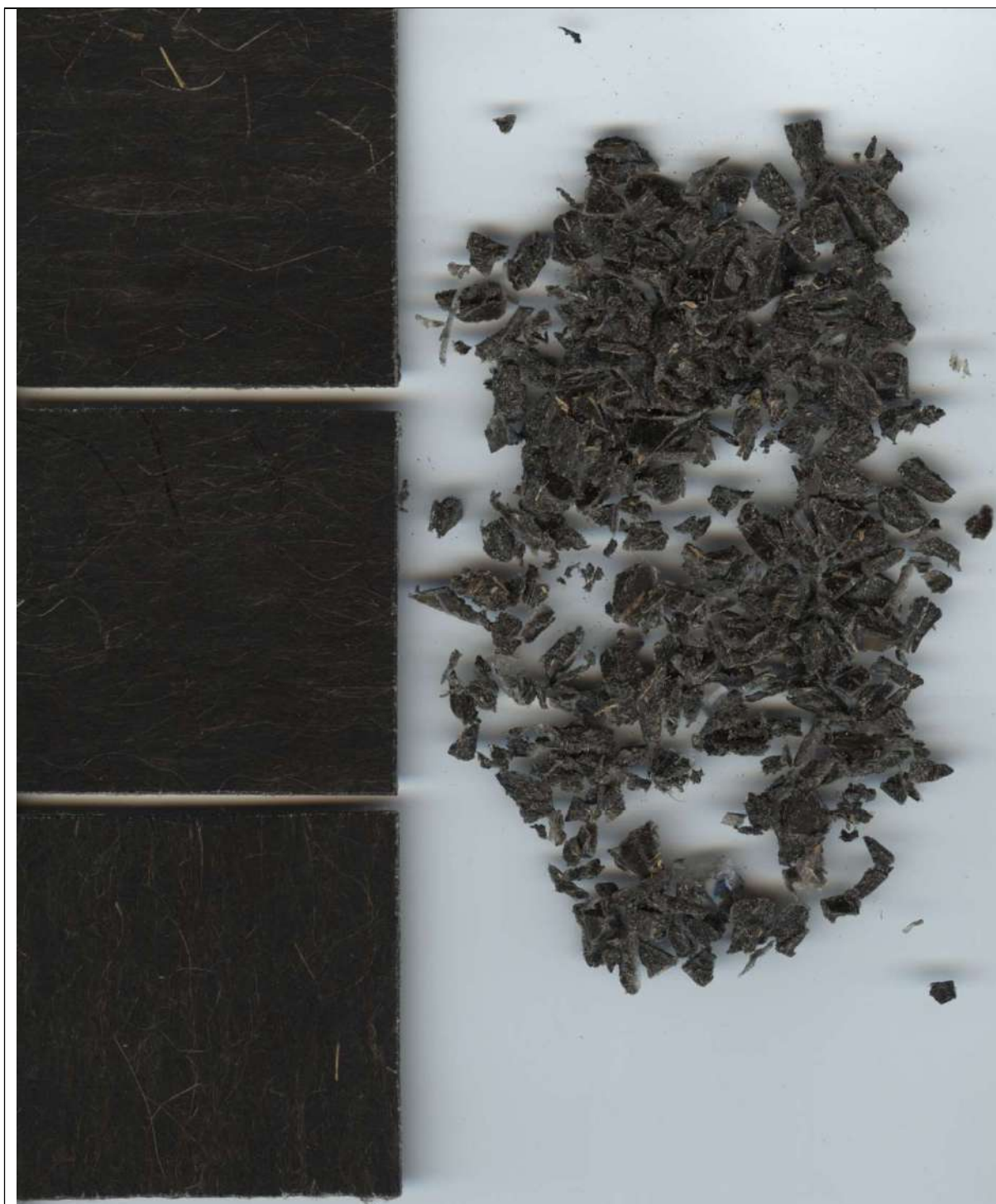
1. Contexte de l'activité 2 – MT2.....	2
2. Matériaux soumis aux tests	4
3. Test de détection d'activité oestrogénique.....	5
3.1. Méthode de l'essai.....	5
3.2. Résultats de l'essai	8
4. Test de désintégration et de préparation aux tests d'écotoxicité pour des plaques monolithiques de 1.20 mm d'épaisseur et de 5 cm de côté.....	9
5. Conclusion.....	15



2. Matériaux soumis aux tests

Les panneaux suivants ont été testés en biodégradation :

- Plaque monolithique épaisseur 1.20 mm et de 50.00 mm de côtés comportant 81.90 % de PLA certifié, 17.80 % de lin et 0.30 % de colorant.
- Plaques monolithiques épaisseur 1.20 mm et de 50.00 mm de côtés comportant 81.90 % de PLA certifié, 17.80 % de lin et 0.30 % de colorant **broyées à 8mm**



Echantillons à l'état neuf



3. Test de détection d'activité oestrogénique

3.1. Méthode de l'essai

Eléments traces

Composés	Résultats	Unités	Concentrations maximales
Carbone		%	---
Mercure (Hg)	<0.05	mg/kg	0.50
Fluor (F)	<0.05	mg/kg	100.00
Arsenic (As)	<5.00	mg/kg	5.00
Plomb (Pb)	<5.00	mg/kg	50.00
Cadmium (Cd)	<0.40	mg/kg	0.50
Chrome (Cr)	<2.00	mg/kg	50.00
Cobalt (Co)	---	Mg/kg	38.00
Cuivre (Cu)	<3.00	mg/kg	50.00
Molybdène (Mo)	<1.00	mg/kg	1.00
Nickel (Ni)	<2.00	mg/kg	25.00
Selenium (Se)	<0.75	mg/kg	0.75
Zinc (Zn)	<5.00	mg/kg	150.00

Conforme aux exigences de la NF EN 14995

TEST IN VITRO DE DETECTION D'ACTIVITE OESTROGÉNIQUE - MÉTHODE OEDT CELLULAIRE

1. OBJECTIF DE L'ETUDE

Le test in vitro de détection de l'activité œstrogénique par la méthode OEDT permet une détection des perturbateurs endocriniens à activité œstrogénique dans un produit par un test cellulaire. En cas d'activité œstrogénique avérée, un dosage exprimé en équivalent œstradiol est calculé selon le modèle d'étude.

2. ELEMENTS D'ESSAI

NOM	Plaque monolithe Kairos d'épaisseur 1.20 mm et de 50.00 mm de côté
OPERATEUR	Prof. Le Tilly Véronique
PRESENTATION	Eclats bruns (broyats de 8mm) et plaquettes de 5.0*5.0*1.2mm

3. PRINCIPE DE L'ETUDE

Le test in vitro de détection de l'activité œstrogénique par la méthode OEDT s'effectue sur des cellules vivantes (de type levures) génétiquement modifiées pour produire le récepteur aux œstrogènes (ER) à l'aide d'une détection spectrophotométrique. Ces cellules contiennent un



gène rapporteur de l'activité ostrogénique codant pour l'enzyme β -galactosidase et dont l'expression est contrôlée par l'activation de ce récepteur en présence d'un perturbateur endocrinien.

En cas de liaison d'un perturbateur endocrinien de type œstrogénique avec le récepteur aux œstrogènes, celui-ci devient actif et le gène rapporteur est exprimé. Ce test permet donc d'évaluer le niveau et la nature du risque biologique associé.

La quantité de perturbateurs de type œstrogénique est déterminée par une mesure de l'activité de la β -galactosidase corrélée à la quantité du complexe récepteur-perturbateurs (ER-PE) formé. Selon la récente classification¹ établie par le groupe de travail OECD (*Organisation for Economic Co-operation and Development*) au sujet des perturbateurs endocriniens, les tests *in vitro* de transactivation du récepteur aux œstrogènes (OECD TG 455) et de liaison entre le récepteur aux œstrogènes et les perturbateurs endocriniens sont classés comme tests de niveau 2.

Une récente publication² a montré la cohérence en terme de sensibilité vis-à-vis de la détection des PE entre des lignées cellulaires humaines, telles qu'utilisées dans le test OECD TG 455, et notre modèle de levures.

4. DEROULEMENT DE L'ETUDE

Modèle de l'étude : Test cellulaire

Les mesures d'activation du récepteur aux œstrogènes humain recombinant exprimé chez *S. cerevisiae* (W303.1B) ont été reproduites en triplicate de manière indépendante pour chaque concentration testée. Pour chaque concentration, trois mesures sont effectuées.

En parallèle, la courbe d'activité œstrogénique en fonction de la concentration en œstradiol (E2) a été réalisée.

L'activité œstrogénique est montrée dans les figures 1 et 2 sous forme d'histogramme pour chaque dilution testée.

Les résultats en termes d'activité œstrogénique sont normalisés selon la formule suivante :

$$\text{Activité œstrogénique relative} = (A_{\text{échantillon}} - A_{\text{min}}) / (A_{\text{max}} - A_{\text{min}})$$

$$A_{\text{min}} = A_{\text{solvant}}$$

$$A_{\text{max}} = A_{\text{E2max}}$$

Afin d'exprimer les valeurs d'activité œstrogénique en équivalent œstradiol (contenu dans le milieu de culture), on utilise la courbe de calibration d'activité œstrogénique en fonction de la concentration en œstradiol (E2) (figure 3). Si la valeur d'activité œstrogénique est trop faible, il est alors impossible de calculer un équivalent œstradiol. On en déduit que le produit ne présente pas d'activité œstrogénique selon le modèle d'étude utilisé.

Si au contraire l'activité œstrogénique permet de calculer un équivalent œstradiol, on calcule l'équivalent d'œstradiol circulant chez l'homme sur la base de notre modèle. Ce dernier intègre, un principe de précaution, une notion d'usage (en fonction du produit testé) et une notion de seuil et donc de risque potentiel.

Postulat de l'étude

¹ OECD RECENT ACTIVITIES ON ENDOCRINE DISRUPTERS TESTING AND ASSESSMENT, Anne Gourmelon, Meeting- Human Health and Environmental Risks of Endocrine Active Substances, 2013.

² Hae Kyung Lee, *et Al.*, The Journal of Toxicological Sciences, Vol 37, N°2, 431-437, 2012



Le produit est absorbé en totalité par la peau et dilué dans le volume de sang circulant dans le corps (environ 5L). Les molécules présentes dans le produit ne sont pas métabolisées par l'Homme en d'autres molécules plus ou moins toxiques.

Notion de seuil – risque potentiel

Les quantités d'œstradiol E2 circulant (exprimée en g/5L) naturellement chez « l'homme » sont exprimées ci-dessous :

- Chez la femme ménopausée/Chez l'homme : $[5,4 \times 10^{-8} - 2,7 \times 10^{-7}]$
équivalent à $4.0 \times 10^{-11} - 2.0 \times 10^{-10} \text{ mol/L}$
- Chez la femme non ménopausée (hors ovulation) : $[1,4 \times 10^{-7} - 8,2 \times 10^{-7}]$
équivalent à $1.0 \times 10^{-10} - 6.0 \times 10^{-10} \text{ mol/L}$
- Chez la femme (ovulation) : $[2,7 \times 10^{-6}]$
équivalent à $2.0 \times 10^{-9} \text{ mol/L}$

Selon le modèle d'étude, une valeur est considérée comme critique lorsqu'elle est égale ou supérieure à la moitié du taux d'œstradiol moyen circulant chez la femme en ovulation ($1.0 \times 10^{-9} \text{ mol/L}$).

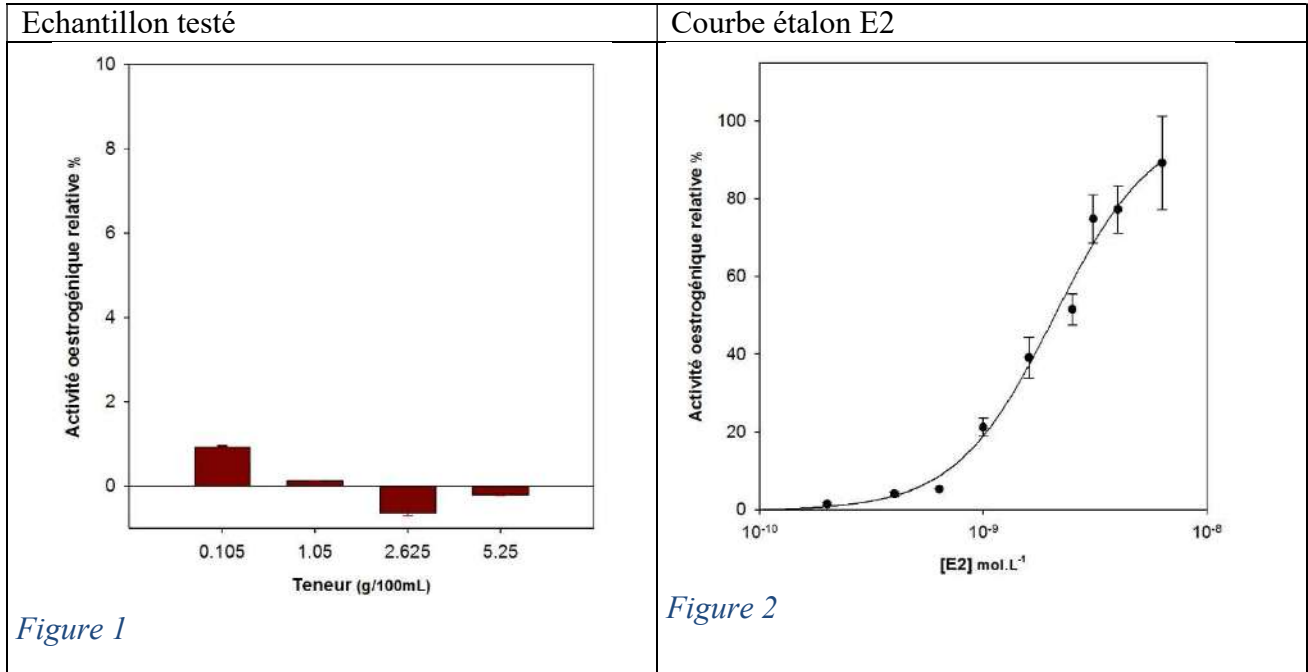
Protocole du test cellulaire

1. Préparation de la pré-culture dans un milieu sélectif : la pré-culture, préparée à partir d'un stock glycérolé de levures *S. cerevisiae* co-transformées, est incubée à 30°C sous agitation pendant 14h.
2. Préparation de la culture dans un milieu enrichi : 150mL de milieu de culture sont ajustés avec du milieu de pré-culture de sorte que l'absorbance mesurée à 600nm soit de 0,1. La culture est ensuite incubée à 30 °C sous agitation pendant 8h.
3. Induction de l'expression du récepteur aux œstrogènes : dès que l'absorbance à 600nm est de 0,4 - 0,6. L'expression du récepteur aux œstrogènes (hER α) est induite (révélée) par ajout de galactose dans le milieu de culture.
4. Préparation de l'échantillon à tester : 20g ont été incubés dans 200mL d'acétone, à 30°C, pendant 22h sous agitation. La solution est filtrée puis concentrée par évaporation du solvant à 30°C. La solution obtenue, très visqueuse, est de couleur brune grisée ; son volume final est de 1,5mL. Les mesures ont été effectuées sur l'échantillon à tester non dilué et dilué dans l'acétone.
5. Stimulation de la culture (4mL) par ajout de 40 μ L de solution d'œstradiol pur (E2) afin d'obtenir la courbe de référence (incubation à 30°C sous agitation pendant 6h)
6. Stimulation de la culture (4mL) par ajout de 40 μ L de l'échantillon à tester, plus ou moins dilué, (incubation à 30°C sous agitation pendant 6h).
7. Mesure des activités transcriptionnelles.



3.2. Résultats de l'essai

Les résultats des mesures d'activités pour évaluer le risque biologique associé à une activité œstrogénique sont présentés ci-dessous.



Résultat négatif : Dans les conditions expérimentales, le produit « Plaques monolithes Kaïros broyat 8mm/plaquettes 5*5*1.2 » ne présente pas d'activité œstrogénique.







4. Test de désintégration et de préparation aux tests d'écotoxicité pour des plaques monolithiques de 1.20 mm d'épaisseur et de 5 cm de côté

N° de l'essai	Quantité initiale de biodéchets (kg)	Quantité initiale de matériau d'essai (g)	Durée totale de compostage (jours)	Quantité de matériau > 10 mm (g) et en (%)	Fraction entre 2 mm et 10 mm (g) et en (%)	Fraction inférieure à 2mm (g) et en (%)
Essai 1	10.00	100.20	84.00	3.27 3.26	0.00 0.00	96.93 96.74
Essai 2	10.00	100.40	84.00	18.15 18.08	0.00 0.00	82.25 81.92
Moyenne	10.00	100.30	84.00	10.71 10.70	0.00 0.00	89.59 89.32

Le test de désintégration réalisé à l'aide de plaquettes 5*5*1.2 en unité de compostage est en limite de conformité aux exigences de la NF EN 14995. Cependant l'utilisation de broyats à 8mm à 10 fois la dose normale de dilution ne permet pas de distinguer le moindre résidu après la période de compostage de 12 semaines (voir photo « préparation aux tests d'écotoxicité ».)

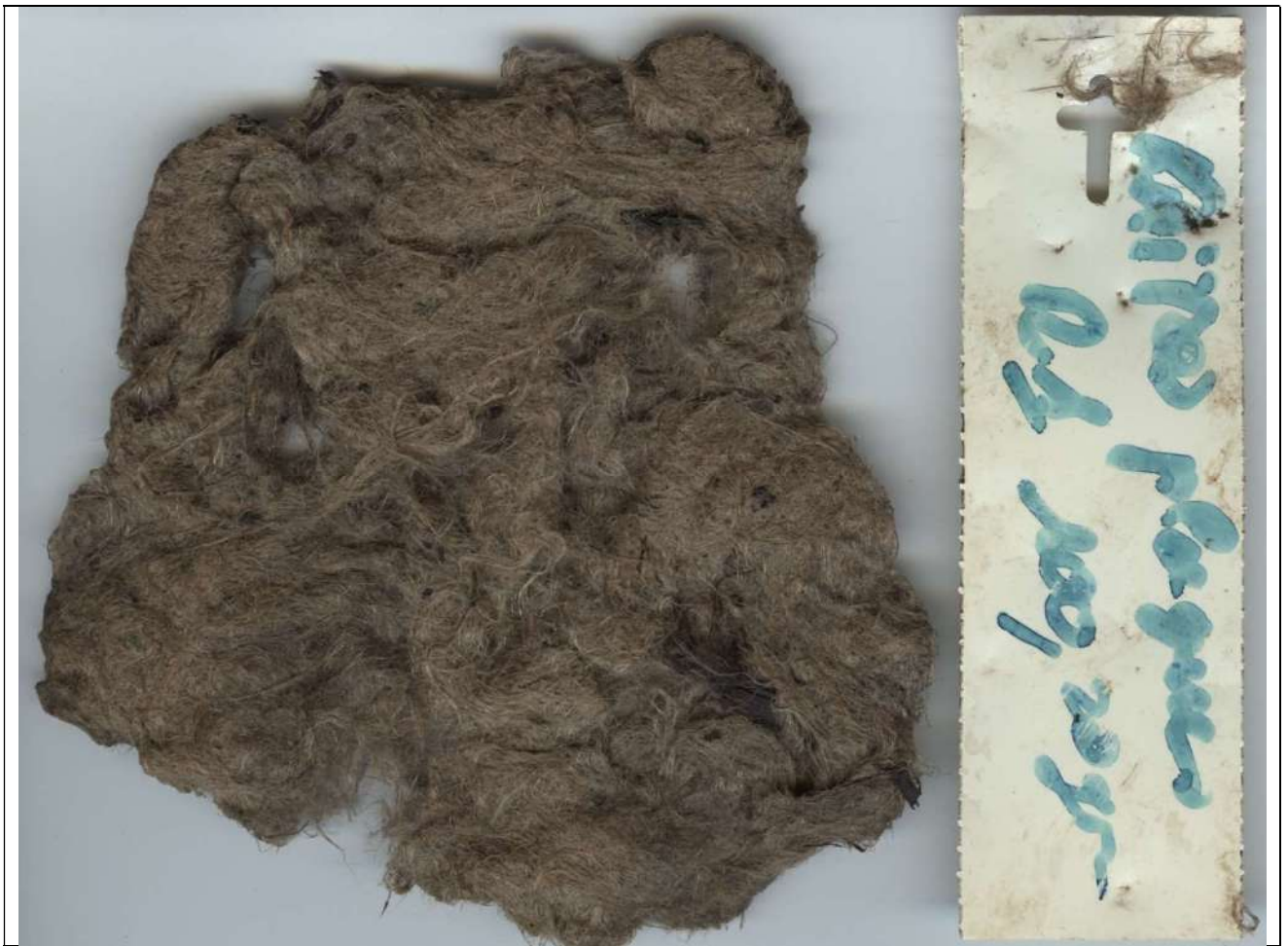
Le produit à l'état broyé est totalement conforme aux attentes de la NF EN 14995.



			
Refus >10mm	Fraction > 2mm et < 10mm	Refus >10mm	Fraction > 2mm et < 10mm
Compost témoin après 12 semaines de compostage		Fraction > 2mm et < 10mm Préparation aux tests d'écotoxicité Compost témoin avec « plaques monolithes Kairos 1.20 mm d'épaisseur broyées à 8 mm » 10% masse après 12 semaines de compostage.	
			
Refus >10mm	Fraction > 2mm et < 10mm	Refus >10mm	Fraction > 2mm et < 10mm
Désintégration Mélange compost avec « plaques monolithes Kairos 1.20 mm d'épaisseur » à 1% masse après 12 semaines de compostage. Répétition 1		Désintégration Mélange compost avec « plaques monolithes Kairos 1.20 mm d'épaisseur » à 1% masse après 12 semaines de compostage. Répétition 2	



Scannage des résidus obtenus à parti des plaques de 5*5*1.2



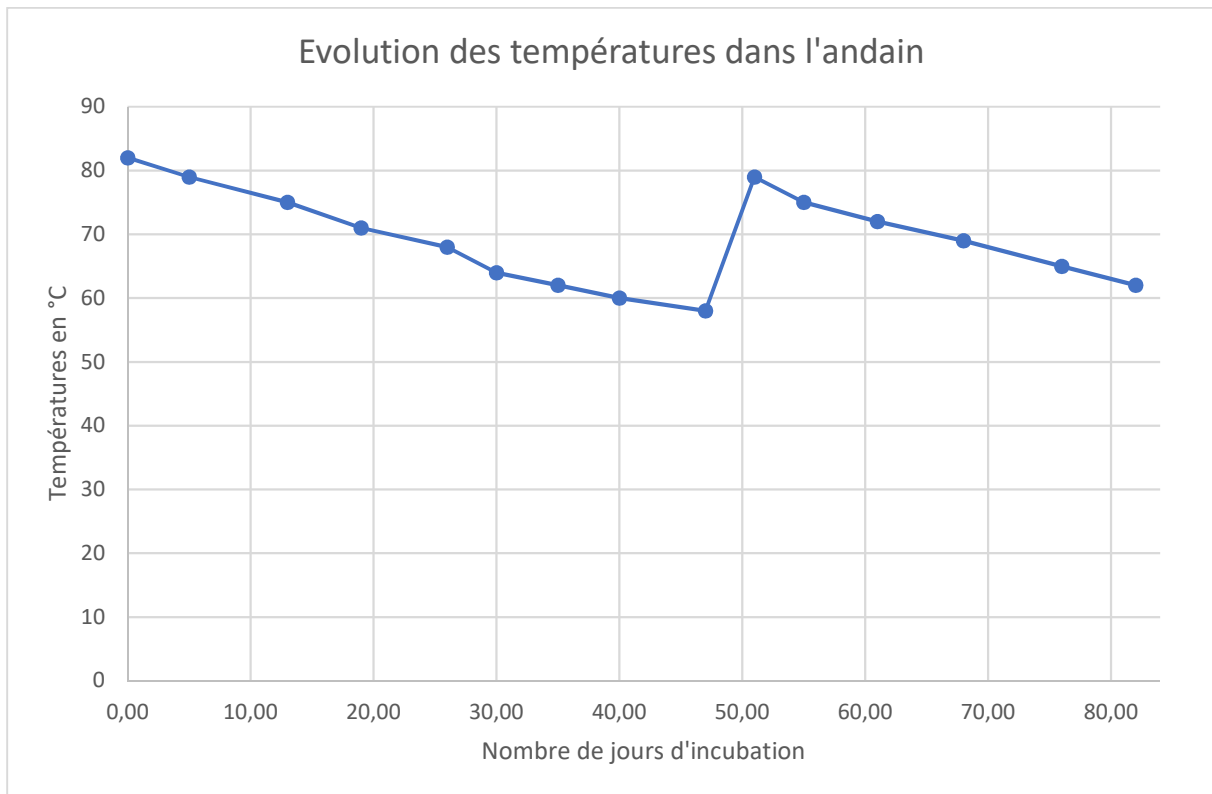
Répétition 1 – Obtention d'un résidu filamenteux – 3.27 grammes pour 100.20 grammes initiaux



Répétition 2 – Obtention de résidus filamenteux et de quelques plaquettes peu désintégrées – 18.15 grammes pour 100.40 grammes initiaux



Éléments de validation



Composition moyenne de l'Humipro (compost de mélange initial, de même nature que le compost d'incubation) :

- NPK : 2 ; 1 ; 3 (sur produit sec)
- 62.3 % de matière sèche
- Unités fertilisantes sous forme organique
- MO : 74 % sur matière sèche soit 46.1 % sur produit brut

Compost d'incubation :

Enfouissement des sacs tests (désintégration (1% masse) et écotoxicité (10% masse) et témoins dans un andain de fermentation à une profondeur de 80 cm. L'andain ventilé est composé d'un mélange de 70 t de boue de station d'épuration agro-alimentaire et de 60 t de déchet vert.

Analyse du compost obtenu

CARACTERISATION DE LA VALEUR AGRONOMIQUE				Résultats exprimés sur		Critères NF U 44-051		Observations et paramètres calculés
DETERMINATIONS		Symboles	Unités	sec	brut	Seuil de la norme	Conformité à la norme	
Matière sèche (NF EN 12880)	MS	%			65,4	>= 30	Conforme	C organique : 314 g.kg-1 de sec 205 g.kg-1 de brut N organique : 1,46 % brut Rapport C/Norg : 13,8 Rapport C/Nr : 14,1 <i>Conforme</i> (Seuil de la norme > 8)* (N-NO ₃ +N-NH ₄ +N _{uréique}) / NT : Inf à 3,6 (%) <i>Conforme</i> (Seuil de la norme < 33%)* *Excepté pour les Amendements Organiques avec engrais L'expression des résultats en % est équivalente à l'expression en kg/Quintal. Pour convertir ces résultats en g/kg ou kg/T, il vous suffit de les multiplier par 10.
Humidité (NF EN 12880)	H	%			34,6			
pH (M.L. selon NF EN 15933)				7,7				
Conductivité (M.L. selon NF EN 12176)	CE	mS.cm ⁻¹		0,77				
COMPOSITION DU PRODUIT								
Perte au feu de la M.S. (NF EN 12879)	MO	%	62,8			>= 25	Conforme	
Perte au feu de la M.S. (NF EN 12879)	MO	%		41,1				
Matières minérales (NF EN 12879)	MM	%	37,2	24,3				
Azote Kjeldahl (NF EN 13342)	NTK	%	2,23	1,46				
Azote global (NTK+N-NO ₃)	NT	%	2,23	1,46		< 3	Conforme	
Rapport MO/N organique				27,6				
Azote ammoniacal	N-NH ₄	%	inf à 0,001	inf à 0,001	La norme s'applique par défaut sur le brut			
Azote nitrique	N-NO ₃	mg.kg ⁻¹	inf à 15,3	inf à 10,00				
Azote uréique (M.L. - spectrophotométrie)	Nuréique	%	< 0,03	< 0,02				
Phosphore	P ₂ O ₅	%	1,25	0,82		< 3	Conforme	
Potassium	K ₂ O	%	2,80	1,83		< 3	Conforme	
Magnésium	MgO	%	0,60	0,39				
Calcium	CaO	%	3,75	2,45				
Sodium	Na ₂ O	%	0,04	0,03				
Total Nr + P ₂ O ₅ + K ₂ O					4,11		< 7	Conforme
Chlorure	Cl	g.kg ⁻¹						
Soufre	SO ₃	%	0,65	0,43				
Aluminium	Al	%						
Minéralisation eau régale : NF EN 13630 (Sauf pour le Hg) dosage des métaux : NF EN ISO 11885 (sauf AUREA17-AME-IT-011)								
Fer	Fe	mg.kg ⁻¹			Valeurs limites			
Manganèse	Mn	mg.kg ⁻¹			120			
Chrome	Cr	mg.kg ⁻¹	45,9		300			
Cuivre	Cu	mg.kg ⁻¹	105		60			
Nickel	Ni	mg.kg ⁻¹	27,2		600			
Zinc	Zn	mg.kg ⁻¹	119		18			
Arsenic	As	mg.kg ⁻¹	4,1		3			
Cadmium	Cd	mg.kg ⁻¹	0,19		180			
Plomb	Pb	mg.kg ⁻¹	12,5		2			
Mercuré (M.L. AUREA17-AME-IT-011)	Hg	mg.kg ⁻¹	inf à 0,10		12			
Sélénium	Se	mg.kg ⁻¹	inf à 0,5					
Molybdène	Mo	mg.kg ⁻¹						
Bore	B	mg.kg ⁻¹						
Cobalt	Co	mg.kg ⁻¹						

Inertes selon NF U44-164

Humidité : 44,00 %

Poids sec : 555,8 g

MASSES D'ÉLÉMENTS SECS (en g)

Mailles (en mm)	Cailloux Calcaire	Verre	Métaux	Plastiques durs, textile	Films, PSE	Pourcentage du poids sec
> à 5 ronde	19,94	0,00	0,00	0,02	0,00	3,59 %
De 2 à 5 ronde	10,46	0,00	0,16	0,10	--	1,93 %
< 2 ronde	23,57	--	--	--	--	4,24 %

INERTES (en % du poids sec)

Désignation	Cailloux Calcaire	Verre	Métaux	Plastiques durs, textile	Films, PSE	INERTES TOTAUX
Inertes >5 mm	3,59	0,00	0,00	0,00	0,00	3,59 %
Inertes totaux	9,71	0,00	0,03	0,02	0,00	9,76 %

CONFORMITÉ AUX NORMES NF U 44-051 (2006) ET NF U 44-095/A1 (2008)

En % du poids sec	Verre, et métaux > 2 mm	Plastiques durs, textile > 5 mm	Légers > 5 mm	Lourds > 5 mm	INERTES TOTAUX
Votre produit	0,03	0,00	0,00	3,59	9,76 %
Seuils	2,00	0,80	0,30	-	-

Le rapport d'écotoxicité est en cours de rédaction par le laboratoire et sera livré fin juillet.

5. Conclusion

Ce matériau composite destiné à la publicité sur lieu de vente et développé dans le cadre de FLOWER a été soumis aux tests de détection oestrogénique, de biodégradation et d'écotoxicité selon la norme NF EN 14995. Les essais ont été menés avec deux échantillons : premièrement des plaques de 5x5x1.2 cm et deuxièmement du broyat de 8 mm.

Il en résulte que dans les conditions expérimentales, les deux échantillons ne présentent pas d'activité oestrogénique. Concernant la biodégradation, les plaquettes de 5x5x1.2 cm ne sont pas en conformité face aux exigences de la norme. En revanche, le produit à l'état broyé 8 mm est totalement conforme aux attentes de la norme NF EN 14995. Le rapport d'écotoxicité est lui en cours de rédaction par le laboratoire.