

Utilisation de membranes MOF/cellulose **pour la diffusion de biocides**

Virginia Gisel de Billerbeck, Bertrand Lavédrine*

De nombreux biens culturels sont constitués de matériaux organiques qui peuvent être colonisés et dégradés par les micro-organismes. Ainsi, les photographies et les films cinématographiques comportent une couche de gélatine, protéine hygroscopique propice au développement des moisissures. Le traitement des objets contaminés par les moisissures est toujours un problème car il faut mettre en œuvre des solutions antifongiques qui soient efficaces sur une large gamme de moisissures tout en étant sans danger à la fois pour les objets conservés et les personnes (Rakotonirainy M. S., Pauwels E., 2013).

Dans le cadre du projet européen « Nemosine » (<https://nemosineproject.eu/>), divers biocides ont été évalués, que ce soient des huiles essentielles (linalol, camphre) ou des alcools monohydroxydes (éthanol, butanol). Outre leur efficacité comme biocide, leurs interactions potentielles avec l'image argentique ont été déterminées en exposant un film d'argent colloïdal suspendu dans une fiole contenant quelques microgrammes du composé. Les résultats ont conduit à écarter le linalol qui interagissait avec le film d'argent colloïdal. Le camphre ne produisait pas d'action délétère sur le film mais aux doses requises pour inhiber la

* Centre de Recherche sur la Conservation (UAR 3224), CNRS, Museum national d'Histoire naturelle, ministère de la Culture, Paris, France

croissance des moisissures, il présentait un risque allergisant pour le personnel et son usage risquait d'être prohibé au niveau européen. Aussi, seuls les alcools restaient des candidats potentiels pour le traitement du patrimoine photographique. L'utilisation de solutions alcooliques comme désinfectants est très largement répandue dans les secteurs hospitaliers et agroalimentaires. Des études récentes montrent également leur efficacité pour traiter les papiers (Sequeira S. O., *et al.*, 2017) et photographies gélatino-argentiques (Lucas C. *et al.*, 2018). Toutefois, la manipulation d'alcool pose des problèmes de sécurité et son usage comme biocide à l'état vapeur est complexe à mettre en œuvre. En effet, il est nécessaire de soumettre les objets à des vapeurs d'alcool pendant un certain nombre d'heures pour assurer une inhibition de la croissance fongique. Nous avons donc voulu tester la possibilité d'utiliser un matériau poreux, saturé en alcool, et qui relarguerait lentement assez d'alcool dans le voisinage des œuvres pour éviter le développement des moisissures. Cette technique est déjà utilisée dans le domaine alimentaire pour assurer la conservation d'aliments ensachés. Ainsi, des sachets de silicagel imprégnés d'éthanol sont commercialisés au Japon sous le nom d'« Antimold® ». Dans le projet Nemosine, nous avons mis au point des membranes pour adsorber l'acide acétique dégagé lors de la dégradation des films en acétate de cellulose (Tignol P., 2021). Ces membranes, constituées jusqu'à 75 % d'un composé organométallique poreux ou « MOF » (Metal Organic Framework), peuvent servir à stocker un alcool qui pourra ensuite se diffuser lentement dans l'atmosphère. Dans ce travail, ces membranes ont été imprégnées d'éthanol afin d'évaluer l'effet du dispositif pour prévenir ou traiter la contamination fongique de films cinématographiques, de photographies ou tout autre objet patrimonial. L'activité antifongique de ces membranes MOF-éthanol a été comparée à celle de l'Antimold®.

Matériel et méthodes

Souches fongiques

Quatre souches de moisissures ont été sélectionnées : *Aspergillus versicolor* CNCA3, *Cladosporium sphaerospermum* CNCA13, *Penicillium citreonigrum* CNC20 et *Stachybotrys chartarum* MYC 39. Elles font partie de la mycothèque du CRC et ont été isolées sur des films cinématographiques contaminés par des moisissures (Rakotonirainy M. S., Pauwels E., 2013).

Supports

Deux types de supports ont été utilisés pour la croissance des moisissures :

- papier photographique vierge datant des années 1940 au gélatino-bromure d'argent (sans image) qui a été fixé et lavé, puis découpé en rectangles de 6 x 2 cm et humidifié avec de l'eau distillée stérile avant inoculation ;
- lame gélosée : une lame porte-objet en verre (7,5 x 2,5 cm), préalablement stérilisée à l'autoclave, servant de support à une mince couche (2 ml) de milieu de culture (Malt Glucose Agar : 20 g d'extrait de malt, 10 g de glucose, 20 g d'agar-agar dans 1 litre d'eau distillée).

Inoculation des supports

L'inoculation des papiers photographiques et des lames gélosées a été effectuée pour chaque souche fongique en surface sous forme d'un dépôt de 1 µl (10³ spores/dépôt), à partir d'une suspension de spores ajustée à 1 x 10⁶/ml à l'aide d'une cellule de Malassez.

MOF/éthanol et Silicagel/éthanol

Les membranes MOF/cellulose préparées au CRC sont constituées de 75 % de MOF MIL100 et 25 % de cellulose avec un grammage de l'ordre de 100 g/m². Elles ont été découpées en rectangles de 6 x 2,5 cm et imprégnées avec différentes quantités d'éthanol pur (400, 600 et 800 µl). Chaque membrane a été pesée avant et après imprégnation avec l'éthanol pour déterminer la masse d'éthanol adsorbée par la membrane. L'effet inhibiteur sur la croissance des moisissures des vapeurs d'éthanol émanant de sachets Antimold®, sous forme de rectangles de 7 x 8 cm, a été comparé à celui des MOF/éthanol dans les mêmes conditions d'essai.

Conditions des essais

Chaque support (papier photo ou lame gélosée) inoculé a été mis en présence des vapeurs d'éthanol émanant des MOF/éthanol ou de Silicagel/éthanol dans des boîtes de Pétri en verre (d'un volume interne d'environ 157 ml).

Une coupelle avec du coton et de l'eau (0,4 ml) a été placée dans chaque boîte pour assurer une humidité nécessaire à la croissance des moisissures.

Les boîtes ont été scellées avec un ruban adhésif aluminium afin d'éviter les pertes d'éthanol et placées dans un incubateur à 25° C. La croissance des échantillons contaminés est suivie pendant 14 jours d'incubation pour les essais sur lames gélosées et pendant 30 jours d'incubation pour les essais sur papier photo, et comparée à la croissance de témoins non soumis

aux vapeurs d'éthanol. Chaque essai est réalisé en double et l'expérience est répétée trois fois.

Subculture : vérification de l'effet « sporistatique » ou « sporicide »

Essais sur lames gélosées : lorsque les souches ne se sont pas développées sur les lames gélosées après 15 jours d'incubation, celles-ci ont été enlevées de l'atmosphère avec les vapeurs d'éthanol et transférées dans une boîte de Petri vide sans éthanol pendant 7 jours d'incubation supplémentaires à 25° C afin de déterminer si les moisissures pouvaient se développer et évaluer ainsi l'effet « sporistatique » ou « sporicide » du traitement. Ce que nous désignons par le terme « subculture ».

Essais sur les papiers photographiques : les papiers ont été retirés de l'atmosphère d'éthanol après 30 jours d'incubation, et transférés dans une boîte de Petri avec du milieu MGA pendant 7 jours d'incubation supplémentaires à 25° C pour la même évaluation que ci-dessus.

Résultats

Essais avec MOF/éthanol

Essais sur lames gélosées

La germination des spores et la croissance du mycélium sont observées pour les témoins après 4 jours d'incubation, alors que celles des essais en présence des vapeurs d'éthanol sont retardées et plus faibles voire complètement inhibées selon les souches et la quantité d'éthanol introduite avec les MOF. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 1 et présentés dans les figures 1 à 3.

La subculture révèle un effet sporicide sur trois des quatre souches testées (*Aspergillus versicolor*, *Cladosporium sphaerospermum* et *Stachybotrys chartarum*) avec 800 µl (0,631 g) d'éthanol. Cet éthanol va être relargué progressivement dans la boîte, le volume total de vapeur d'éthanol ainsi libérée correspond à environ 335 ml (0,631* 24,4/46).

Essais sur papiers photographiques

La germination des spores et la croissance du mycélium sont observées pour les témoins après 20 à 30 jours d'incubation, alors que celles des essais en présence des vapeurs d'éthanol sont complètement inhibées. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 2 et illustrés par les figures 4 et 5. La subculture révèle un effet sporicide sur les quatre souches testées (*Aspergillus versicolor*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Stachybotrys chartarum* et *Penicillium citreonigrum*) dès 400 µl (0,315 g) d'éthanol adsorbé sur la MOF.

Tableau 1. Croissance des souches fongiques en absence (témoins) ou en présence de MOF/éthanol (essais).

	T = 8 jours	T = 14 jours	Subculture
Témoin	A.v. : ++ C.s. : ++ P.c. : ++ S.c. : ++	A.v. : ++ C.s. : ++ P.c. : ++ S.c. : ++	
Essai 400 µl	A.v. : + C.s. : + P.c. : + S.c. : -	A.v. : + C.s. : ++ P.c. : ++ S.c. : +	
Essai 600 µl	A.v. : - C.s. : - P.c. : - S.c. : -	A.v. : + C.s. : - P.c. : + S.c. : -	A.v. : + C.s. : - P.c. : ++ S.c. : -
Essai 800 µl	A.v. : - C.s. : - P.c. : - S.c. : -	A.v. : - C.s. : - P.c. : + S.c. : -	A.v. : - C.s. : - P.c. : ++ S.c. : -

Tableau 2. Croissance des souches fongiques en absence (témoins) ou en présence de MOF/éthanol (essais).

	T = 20 jours	T = 30 jours	Subculture
Témoin	A.v. : + C.s. : + P.c. : + S.c. : +	A.v. : ++ C.s. : ++ P.c. : ++ S.c. : ++	A.v. : ++ C.s. : ++ P.c. : ++ S.c. : ++
Essai 400 µl	A.v. : - C.s. : - P.c. : - S.c. : -	A.v. : - C.s. : - P.c. : - S.c. : -	A.v. : - C.s. : - P.c. : - S.c. : -
Essai 600 µl	A.v. : - C.s. : - P.c. : - S.c. : -	A.v. : - C.s. : - P.c. : - S.c. : -	A.v. : - C.s. : - P.c. : - S.c. : -
Essai 800 µl	A.v. : - C.s. : - P.c. : - S.c. : -	A.v. : - C.s. : - P.c. : - S.c. : -	A.v. : - C.s. : - P.c. : - S.c. : -

A.v. : *Aspergillus versicolor*,
C.s. : *Cladosporium sphaerospermum*,
P.c. : *Penicillium citreonigrum*
S.c. : *Stachybotrys chartarum*
(++) : croissance importante,
(+) : croissance faible,
(-) : absence de croissance.

Essais avec les sachets « Antimold® »

Essais sur lames gélosées

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 3 et illustrés par la figure 6. La germination des spores et la croissance du mycélium sont observées pour les témoins après 4 jours d'incubation, alors que celles des essais en présence des vapeurs d'éthanol sont complètement inhibées. Cette inhibition perdure en subculture pour les quatre souches testées (effet sporicide). Néanmoins, il faut noter que dans les essais, la

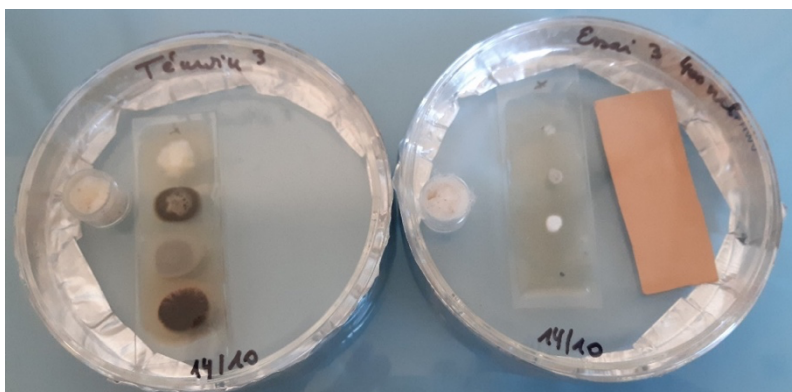


Fig. 1. Témoin (gauche) et essai avec 400 µl d'éthanol imprégné sur le MOF (droite) après 8 jours d'incubation. Noter sur la boîte à droite la croissance plus faible de 3 souches (*A. versicolor*, *C. sphaerospermum* et *P. citreonigrum*) et l'absence de croissance de *S. chartarum*. © Gisel de Billerbeck

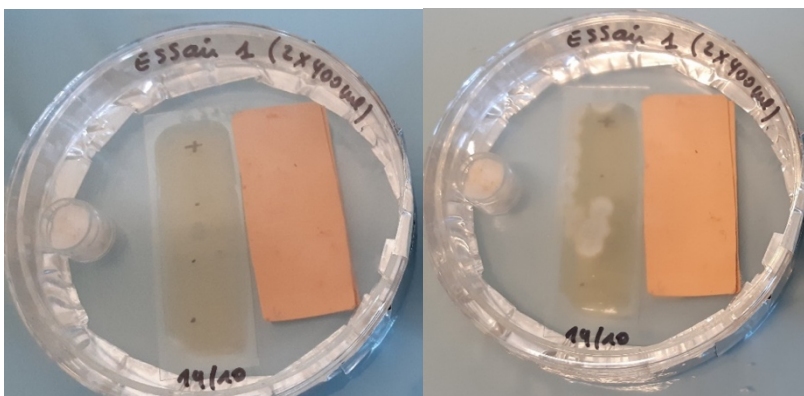


Fig. 2. Essais avec 800 µl d'éthanol imprégné sur le MOF après 8 jours (gauche) et 14 jours d'incubation. Noter que seul *P. citreonigrum* croît et s'étale sur le bord de la lame avec le milieu gélosé. Les 3 autres souches ne se développent pas, même en « subculture » (effet sporicide). © Gisel de Billerbeck

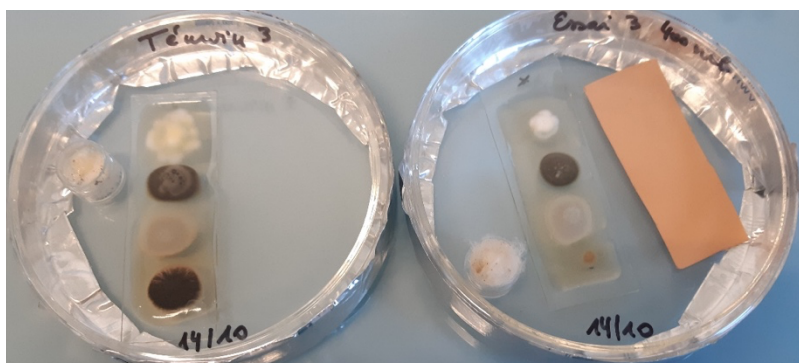


Fig. 3. Témoin (gauche) et essai avec 400 µl d'éthanol imprégné sur le MOF (droite) après 14 jours d'incubation : les 4 souches se développent. Noter sur la boîte à droite que l'inhibition de la croissance est plus marquée sur *A. versicolor* et *S. chartarum*. © Gisel de Billerbeck

géluse sur la lame est déshydratée, sans doute en raison de la présence de gel de silice, cette atmosphère sèche peut également être à l'origine de l'absence de développement fongique.

Essais sur papiers photographiques

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 4 et illustrés par la figure 7.

La germination des spores et la croissance du mycélium ne sont observées ni pour le témoin, ni pour les

essais, même après 14 jours d'incubation, sauf pour *S. chartarum*. Le diamètre de croissance pour cette souche est plus important pour le témoin (10 mm) que pour l'essai (5 mm), mais dans le cas de ce dernier, la croissance est incertaine (diffuse).

En subculture, les quatre souches poussent dans le témoin, et pour l'essai, la croissance de trois souches est inhibée (*Aspergillus versicolor*, *Cladosporium sphaerospermum* et *Penicillium citreonigrum*), alors que pour *S. chartarum* la croissance reste encore diffuse. En revanche, si l'on ajoute une MOF/éthanol imprégnée de 400 µl d'éthanol, l'effet inhibiteur de la germination des spores perdure (effet sporicide).

Conclusion

Les essais réalisés avec des membranes MOF imprégnées de différentes quantités d'éthanol révèlent, sur les lames gélosées, un effet sporicide sur trois souches (*Aspergillus versicolor*, *Cladosporium sphaerospermum* et *Stachybotrys chartarum*) et un effet sporistatique sur *P. citreonigrum* avec 800 µl d'éthanol absorbé dans la membrane MOF.

Sur les papiers photographiques, la subculture montre un effet sporicide sur les quatre souches testées (*Aspergillus versicolor*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Stachybotrys chartarum* et *Penicillium citreonigrum*), dès 400 µl d'éthanol adsorbé dans la membrane MOF.

Les sachets de Silicagel/éthanol (Antimold®) ont un effet sporicide sur

les quatre souches de moisissures inoculées sur les lames gélosées. Sur les papiers photographiques, *S. chartarum* se développe de manière diffuse.

En subculture, les quatre souches testées se développent sur le témoin, tandis que sur les essais exposés aux vapeurs d'alcool, la croissance de trois souches est inhibée (*Aspergillus versicolor*, *Cladosporium sphaerospermum* et *Penicillium citreonigrum*), ou très diffuse pour le *S. chartarum*.



Fig. 4. Témoin (gauche) et essais avec des papiers photo, 400 µl d'éthanol imprégné sur le MOF (au centre) et 800 µl d'éthanol imprégné sur le MOF (droite) après 30 jours d'incubation. Noter la croissance des moisissures sur les papiers témoins (à gauche) et l'absence de croissance des moisissures sur les papiers traités (au centre et à droite). © Gisel de Billerbeck

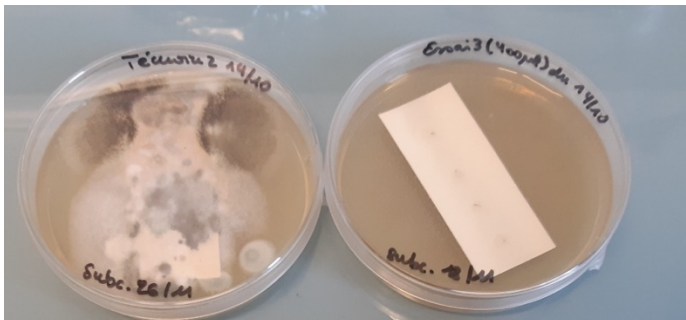


Fig. 5. Subculture des essais sur des papiers photo contaminés et exposés préalablement aux vapeurs d'éthanol (400 µl). Noter l'absence de germination des spores sur les papiers traités (effet sporicide). © Gisel de Billerbeck

Ces résultats préliminaires *in vitro* sont prometteurs. La présence de la membrane MOF imprégnée d'éthanol à raison de 2,5 à 5 ml d'éthanol² dans un volume d'un dm³ inhibe la croissance des souches testées et peut même agir comme fongicide. L'usage d'un solide poreux imprégné d'éthanol permettrait donc de traiter les œuvres contaminées sans avoir à manipuler des solutions alcooliques. Une fois l'éthanol désorbé, la membrane MOF peut alors piéger des composés organiques volatils tels que des acides libérés par les objets. Il convient de tester ce système de façon plus proche des conditions réelles d'usage.

Notes

1. https://www.freund.co.jp/english/product/preservation/preservation_ethanol/antimoldtender.html
2. 0,8 ml d'éthanol introduit dans une boîte de Pétri de 157 ml est équivalent à 5 ml dans un volume d'un litre (0,8/157*1000).

Bibliographie

Lucas C., Rottier V., Déniel F., Dantigny P., « Traitement aux vapeurs d'éthanol de photographies gélatino-argentiques et de papiers altérés par des micro-organismes », *Support/Tracé*, n° 18, 2018, p. 167-173.

Rakotonirainy M. S., Pauwels E., « Analyses microbiologiques aux Archives françaises du film », *Support/Tracé*, n° 13, 2013, p. 35-42.

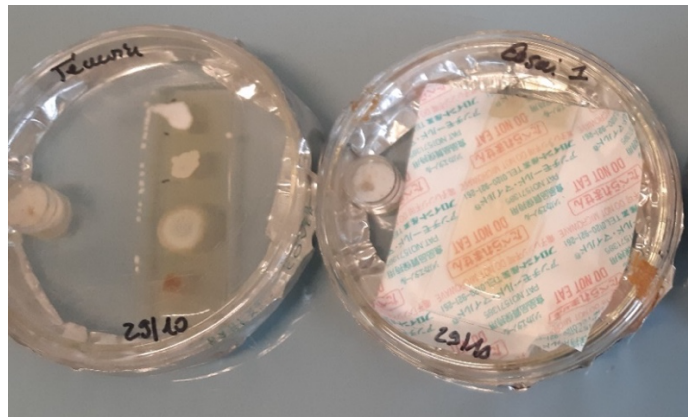


Fig. 6. Témoins (gauche) et essai avec les sachets d'Antimold® sur lames gélosées après 7 jours d'incubation. © Gisel de Billerbeck

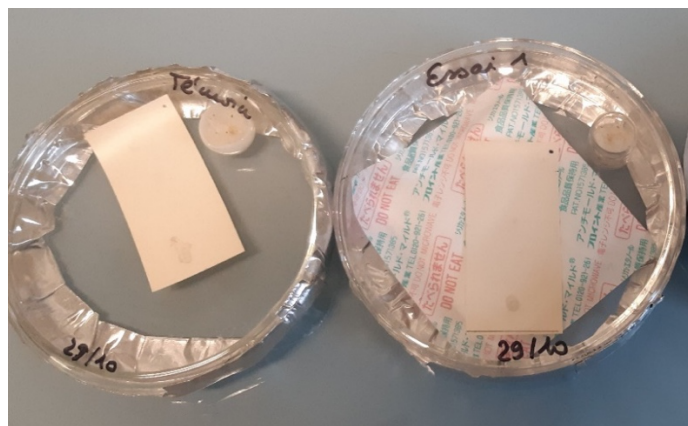


Fig. 7. Témoin (gauche) et essai sur papier photo (droite) après 7 jours d'incubation avec les sachets « Antimold® ». © Gisel de Billerbeck

Sequeira S. O., Phillips A. J. L., Cabrita E. J., & Macedo M. F., Ethanol as an antifungal treatment for paper: short-term and long-term effects, *Studies in Conservation*, 62 (1), 2017, p. 33-42. <https://doi.org/10.1080/00393630.2015.1137428>

Tignol P., « Usage des MOFs (Metal-Organic Frameworks) pour la capture de composés organiques volatils dans l'environnement des œuvres patrimoniales », *Support/Tracé*, n° 21, 2021, p. 194-200.

Remerciements

Ce travail a bénéficié partiellement d'un soutien de la commission européenne « European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under grant agreement N° 760801\Nemosine » et de vacances du ministère de la Culture.

Tableau 3. Croissance des souches fongiques en absence (témoins) ou présence d'Antimold® (essais).

	T = 7 jours	T = 14 jours	Subculture
Témoin	A.v. : + C.s. : + P.c. : + S.c. : +	A.v. : + C.s. : + P.c. : + S.c. : +	A.v. : + C.s. : + P.c. : + S.c. : +
Essai 1	A.v. : - C.s. : - P.c. : - S.c. : -	A.v. : - C.s. : - P.c. : - S.c. : -	A.v. : - C.s. : - P.c. : - S.c. : -
Essai 2	A.v. : - C.s. : - P.c. : - S.c. : -	A.v. : - C.s. : - P.c. : - S.c. : -	A.v. : - C.s. : - P.c. : - S.c. : -

Tableau 4. Croissance des souches fongiques en absence (témoins) ou présence de Silicagel/éthanol (essais).

	T = 7 jours	T = 14 jours	Subculture	Subculture + MOF/éthanol 400 µl
Témoin	A.v. : - C.s. : - P.c. : - S.c. : +	A.v. : - C.s. : - P.c. : - S.c. : +	A.v. : + C.s. : + P.c. : + S.c. : +	
Essai 1	A.v. : - C.s. : - P.c. : - S.c. : -	A.v. : - C.s. : - P.c. : - S.c. : +/-	A.v. : - C.s. : - P.c. : - S.c. : +/-	A.v. : - C.s. : - P.c. : - S.c. : +/-
Essai 2	A.v. : - C.s. : - P.c. : - S.c. : -	A.v. : - C.s. : - P.c. : - S.c. : +/-	A.v. : - C.s. : - P.c. : - S.c. : +/-	A.v. : - C.s. : - P.c. : - S.c. : -

A.v. : *Aspergillus versicolor*,
C.s. : *Cladosporium sphaerospermum*,
P.c. : *Penicillium citreonigrum*
S.c. : *Stachybotrys chartarum*
(++) : croissance importante,
(+) : croissance faible,
(-) : absence de croissance.

Résumé

Des études récentes montrent l'efficacité de vapeurs alcooliques pour traiter les papiers et photographies gélatino-argentiques contaminés par des moisissures. Nous avons ici évalué la possibilité d'utiliser un matériau poreux, saturé en alcool, qui relarguerait lentement assez d'alcool dans le voisinage des œuvres pour éviter le développement des moisissures. Dans ce but, des membranes papier contenant 75 % de MOF (Metal Organic Framework) ont été imprégnées d'éthanol afin d'évaluer leur efficacité pour prévenir ou traiter la contamination fongique de photographies.

Mots-clés. Moisissures, désinfection, éthanol, photographies, Metal Organic Framework, MOF.

Abstract

Recent studies show the effectiveness of alcoholic vapors in treating gelatin silver papers and photographs contaminated with mould. Here we evaluated the possibility of using a porous, alcohol-saturated material that would slowly release enough alcohol vapors into the vicinity of the artifact to prevent mould growth. To this end, paper membranes containing 75% MOF (Metal Organic Framework) were impregnated with ethanol to evaluate their effectiveness in preventing or treating fungal contamination of photographs.

Keywords. Mould, disinfection; ethanol, photographs, Metal Organic Framework, MOF.