

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA DESINFECTIION DE L'EAU PAR PHOTSENSIBILISATION AVEC LES EXTRAITS DE PLANTES : CAS DES EXTRAITS COUMARINIQUES DE *CITRUS LIMONUM, CITRUS PARADISI ET CITRUS RETICULATA*

[CONTRIBUTION TO THE STUDY OF WATER DISINFECTIION BY PHOTSENSITIZATION WITH PLANTS EXTRACTS : CASE OF *CITRUS LIMONUM, CITRUS PARADISI AND CITRUS RETICULATE COUMARIN EXTRACTS*]

Teddy Makuba SUNDA¹ and Koto-te-Nyiwa Ngbolua²

¹Université de Kinshasa, Faculté des Sciences, Département de chimie, B.P. 190, Kinshasa XI, RD Congo

²Université de Kinshasa, Faculté des Sciences, Département de Biologie, B.P. 190, Kinshasa XI, RD Congo

Copyright © 2018 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the *Creative Commons Attribution License*, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: The study of improvement of solar water disinfection by photosensitization with coumarin extracts of some plants of Rutaceae family (*Citrus limonum*, *Citrus paradisi* and *Citrus sinensis*) shows an inhibition of 90% for fecal coliforms after 30 minutes of sunshine. Complete inhibition is noted after 60 minutes. In water not treated and exposed to the sunlight, an inhibition of 32% was noticed after 60 minutes. The photosensitizing activity noted in these extracts is due to the presence of coumarins. These molecules in presence of light absorb the energy and pass from the ground state to the excited state. Returning to the ground state, the stored energy is transferred to the oxygen, which then passes from the ground state, triplet, to the excited state, singlet, and inhibits the coliforms present in water.

KEYWORDS: Photosensitization, coumarin extracts, singlet oxygen, fecal coliforms, sunlight.

RESUME: L'étude de l'amélioration de la désinfection solaire de l'eau par photosensibilisation avec des extraits coumariniques de quelques plantes de la famille de Rutacées (*Citrus paradisi*, *Citrus limonum* et *Citrus sinensis*) a montré une inhibition de l'ordre de 90 % des coliformes fécaux après une 30 minutes d'ensoleillement. Celle-ci passe à 100% après 60 minutes. Pour l'eau non traitée et exposée au soleil, une inhibition de l'ordre de 32% a été notée après 60 minutes. L'activité photosensibilisatrice remarquée dans ces extraits est due à la présence des coumarines. Celles-ci en présence de lumière absorbent l'énergie et passe de l'état fondamental à l'état excité. En revenant à l'état fondamental, l'énergie emmagasinée est transférée à l'oxygène qui passe dès lors de l'état fondamental, triplet, à l'état excité, singulet, tout en inhibant les coliformes présents dans le milieu.

MOTS-CLEFS: Photosensibilisation, extraits coumariniques, oxygène singulet, coliformes fécaux, ensoleillement.

1 INTRODUCTION

La République Démocratique du Congo (RDC) est le pays d'Afrique possédant les ressources hydrologiques les plus importantes. Mais elle fait face à une crise aiguë de l'approvisionnement en eau potable. En effet, seuls 26% de la population congolaise ont accès à une eau potable salubre, une estimation bien en dessous de la moyenne de 60 % pour l'ensemble de l'Afrique subsaharienne. Ceci est dû au manque d'entretien d'infrastructures et de pièces de rechange. Dans ces conditions, 90

% de la population rurale s'approvisionnent dans les sources et puits peu profonds. Dans la plupart des cas, ces points d'approvisionnement (sources et puits) ne sont pas protégés et deviennent des sources potentielles de contamination. Ceci est à la base de graves problèmes de santé publique. Les initiatives tendant à promouvoir l'application des techniques de traitement de l'eau au niveau individuel ou familial tels que l'ébullition, la chloration, l'ozonation,... devrait donc être encouragées [1], [2].

Mais toutes ces méthodes posent des problèmes : la déforestation pour l'ébullition, le goût désagréable produit par les dérivés du chlore ainsi que le coût élevé de l'ozone,... Cependant, la désinfection solaire est une méthode simple, peu coûteuse, semble être une alternative pour la désinfection de l'eau au niveau familial. Mais l'efficacité de celle-ci est mise en doute à cause des variations des conditions climatiques. L'efficacité de cette dernière peut être améliorée par l'usage de l'oxygène singulet, via la photosensibilisation [2], [3], [4].

L'oxygène singulet, généré par l'action conjuguée d'un photosensibilisateur et de lumière (photosensibilisation), attaque et endommage la plupart des biomolécules et entraîne ainsi la mort cellulaire et tissulaire [5].

Plusieurs auteurs signalent que les réactions des espèces réactives de l'oxygène (stress oxydatif) interviennent également dans le mode d'action de certaines drogues et médicaments [6], [7]. Certaines plantes utilisées dans la pharmacopée traditionnelle pour soigner les infections microbiennes et parasitaires sont capables de réagir par un mécanisme du type stress oxydatif [8].

L'étude de la désinfection de l'eau par photosensibilisation avec les extraits de feuilles de *Cassia alata*, *Cassia occidentalis*, *Carica papaya*, *Coleus kilimanschari* et *phyllanthus niruri* a montré une inhibition complète des coliformes fécaux présents dans l'eau après une heure d'ensoleillement avec saturation du milieu en oxygène (barbotage). Par contre, les huiles essentielles extraites des zestes de plantes de la famille de Rutacées (*Citrus*) ont montré une activité photosensibilisante intéressante sans saturation du milieu en oxygène [9]. L'activité photosensibilisante remarquée dans ces huiles est essentiellement due à la présence des coumarines [9].

Nous nous poursuivons cette étude en utilisant cette fois-ci les extraits coumariniques des zestes de *Citrus limonum*, *Citrus paradisi* et *Citrus sinensis* comme agents photosensibilisateurs.

2 MATERIEL ET METHODES

2.1 MATERIEL VEGETAL

Le matériel végétal utilisé dans la présente étude est constitué des zestes de *Citrus limon*, *Citrus paradisi* et *Citrus sinensis*. Les fruits ont été récoltés à Kinshasa, puis identifiés à l'herbarium de l'Université de Kinshasa. Par la suite, ceux-ci ont été séchés à l'air libre et en l'absence du soleil pendant deux mois, puis pulvérisés en vue de l'obtention d'une poudre fine.

2.2 L'EAU

L'eau utilisée dans cette étude provenait de la rivière N'djili dans la ville de Kinshasa, non loin de la zone de captage de la Regideso, principale compagnie de traitement de l'eau en République Démocratique du Congo. Celle-ci comportait plus de 3.10^2 UFC coliformes fécaux /ml.

2.3 LA SOURCE LUMINEUSE

Comme source lumineuse, nous avons utilisé les rayonnements solaires. En effet, la plupart des molécules contenues dans les zestes de *Citrus*, notamment les coumarines, absorbent dans la partie UVA (320-400 nm) du spectre solaire [2,10].

2.4 DES COUMARINES

Après séchage dans un endroit sec et aéré, à l'abri de la lumière, les zestes ont été broyés entièrement en vue de l'obtention d'une poudre fine. Par la suite, 100g de poudre ont été pesées et macérées dans un mélange hydro-alcoolique (Méthanol/Eau : 80%/20%, V / V). Cette macération est répétée deux fois avec renouvellement du solvant, elle dure chaque fois 24 heures puis on filtre. Après filtration, le filtrat obtenu est concentré à pression réduite. Celui-ci subit par la suite des extractions successives au dichlorométhane. L'extraction est répétée trois fois. Les phases organiques obtenues sont séchées

sur sulfate de sodium anhydride Na_2SO_4 pour éliminer toutes les traces d'eau. Les résidus sont repris dans le méthanol pur et conservé à 4°C

2.5 TESTS DE PHOTOSENSIBILISATION

Les boîtes en verre de Pyrex ont été utilisées comme réacteurs. La concentration de 0,1 ml d'extrait coumarinique /50 ml d'eau (2 ml d'extraits /litre d'eau) a été utilisée pour les expériences. Un lot constitué d'échantillons d'eau traités et un autre lot constitué d'échantillons non traités (blancs) ont été exposés au soleil. Un autre lot constitué d'échantillons d'eau traitée a été gardé à l'obscurité. A 0, 15, 30, 60, 120, 180 et 240 minutes, des prélèvements ont été effectués dans chaque lot pour la mise en culture. Ces expériences ont été dupliquées trois fois. Les différents points repris dans chaque figure représentent la moyenne de trois mesures.

2.5.1 ANALYSES BACTERIOLOGIQUES

Les analyses bactériologiques ont été réalisées par mise en culture de 1 ml d'eau sur le milieu Rapid'E Coli (incorporation en gélose). Après la mise en culture, on incube à 44,5°C pendant 24 heures. Après incubation, les colonies sont dénombrées les unes après les autres.

3 RESULTATS ET DISCUSSION

3.1 DESINFECTION SOLAIRE DE L'EAU

Les résultats des tests de désinfection solaire sont repris dans la figure 1.

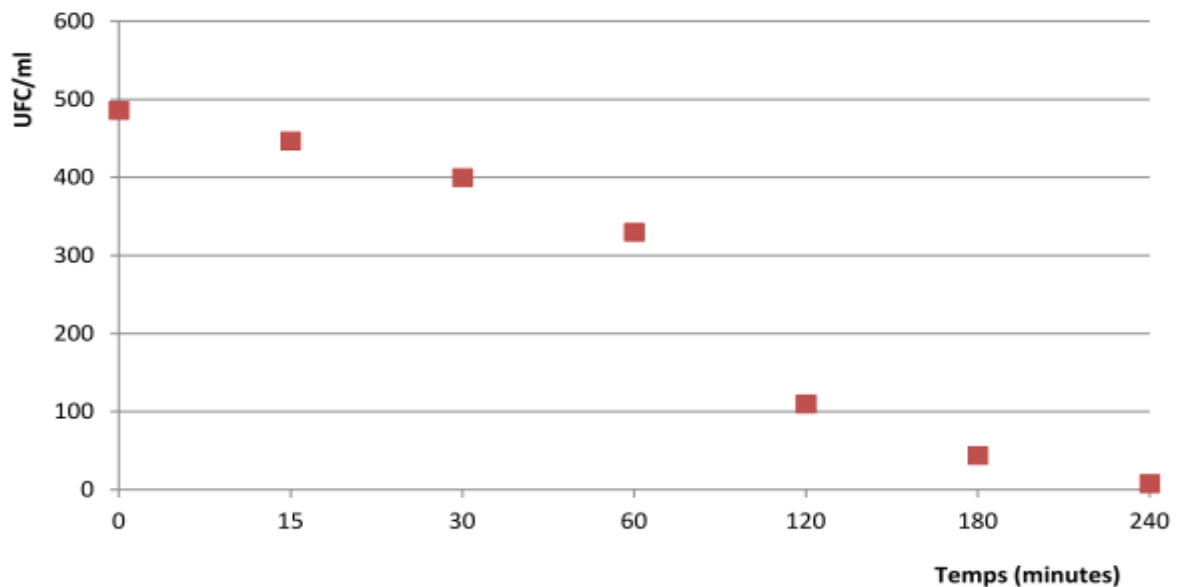


Fig. 1. : Abattement des coliformes fécaux en fonction du temps dans l'eau non traitée et exposée au soleil

■ Eau non traitée et exposée au soleil

Nous avons noté une inhibition de l'ordre de 8% des coliformes fécaux présents dans l'eau après 15 minutes d'ensoleillement (Voir figure 1). Celle-ci passe à 17 % après 30 minutes. Elle est de 32% après 60 minutes

Le fait qu'une inhibition négligeable de l'ordre de 8 % soit notée après 15 minutes d'ensoleillement et 32% après 60 minutes laisse supposer que l'efficacité de la désinfection solaire croît avec le temps. Ainsi, l'effet synergique de la température et des ultraviolets conduit progressivement à l'élimination des coliformes fécaux contenus dans l'eau. Mais il faut suffisamment de temps pour que ceux-ci soient complètement détruits [11].

Dans ces conditions, la désinfection solaire peut être améliorée par l'usage des substances photosensibilisatrices. Celles-ci offrent l'avantage de réduire sensiblement le temps d'ensoleillement. Dans le cadre de ce travail, les extraits coumariniques de *Citrus sinensis*, *Citrus limonum* et *Citrus paradisi* ont été utilisés comme agents photosensibilisateurs.

3.2 DESINFECTION DE L'EAU PAR PHOTSENSIBILISATION AVEC LES EXTRAITS COUMARINIQUES CITRUS LIMON, CITRUS PARADISI ET CITRUS SINENSIS

Les résultats des tests de désinfection de l'eau par photosensibilisation avec les extraits coumariniques sont repris dans les figures 2, 3 et 4.

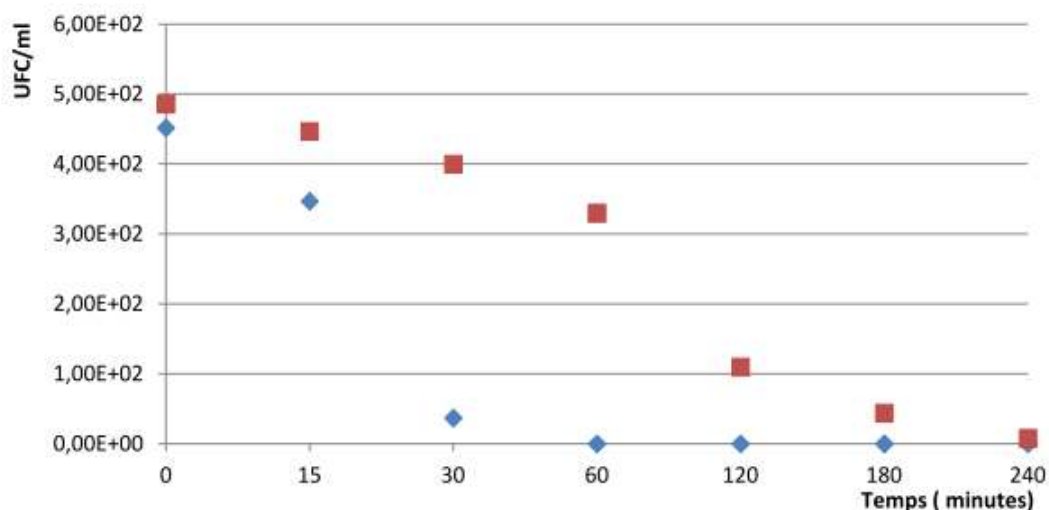


Fig. 2 : Abattement des coliformes fécaux en fonction du temps en utilisant l'extrait de Citrus limonum

◆ Eau traitée avec 0,1 ml d'extrait de Citrus limonum et exposée au soleil
■ Eau non traitée et exposée au soleil

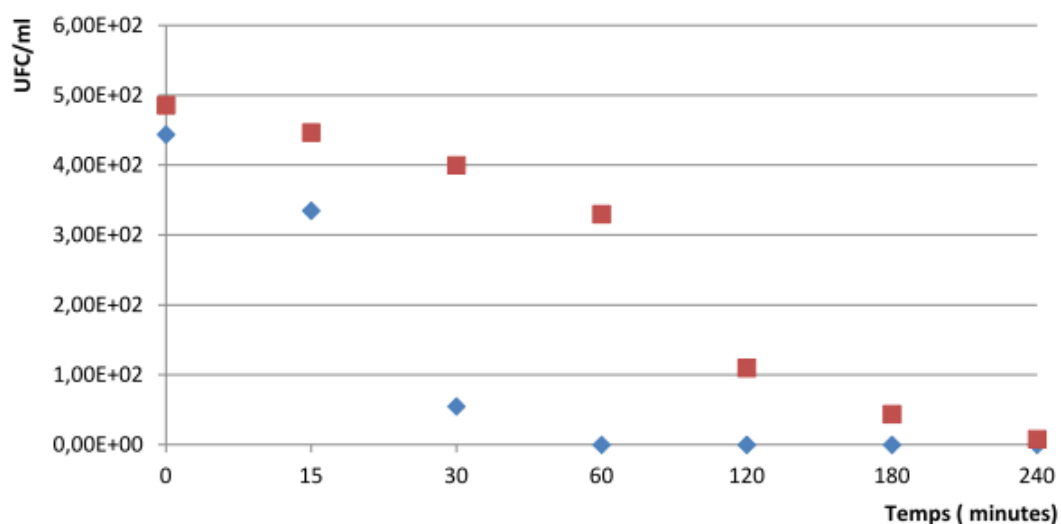


Fig. 3 : Abattement des coliformes fécaux en fonction du temps en utilisant l'extrait de Citrus Sinensis

◆ Eau traitée avec 0,1 ml d'extrait de Citrus sinensis et exposée au soleil
■ Eau non traitée et exposée au soleil

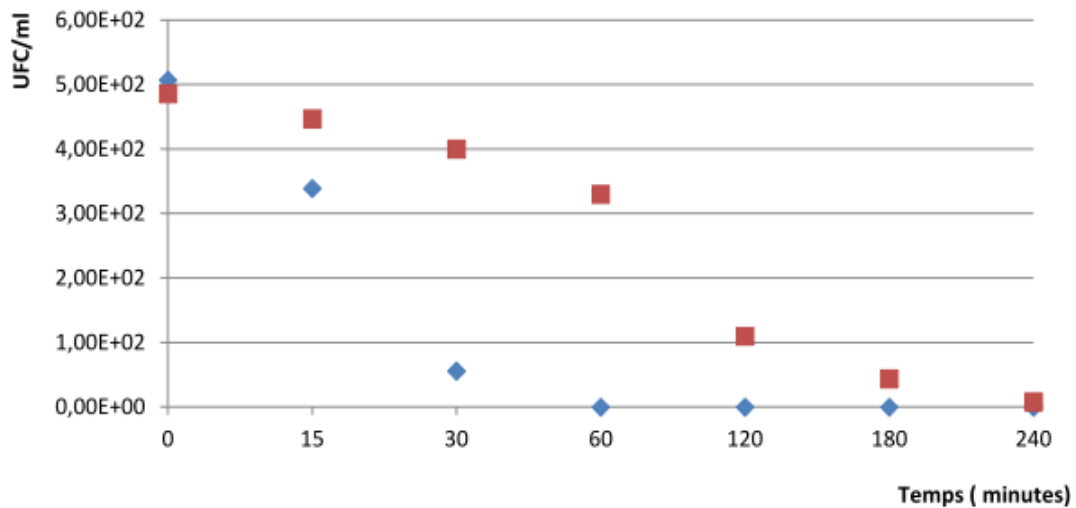


Fig. 4 : Abattement des coliformes fécaux en fonction du temps en utilisant l'extrait de *Citrus paradisi*

- ◆ Eau traitée avec 0,1 ml d'extrait de Citrus paradisi et exposée au soleil
- Eau non traitée et exposée au soleil

Les résultats fort intéressants sont remarqués dans les tests de désinfection de l'eau traitée avec l'extrait coumarinique de *Citrus limonum*. En effet, une inhibition de l'ordre de 33% des coliformes fécaux est enregistrée après 15 minutes d'ensoleillement. 30 minutes après, elle est passée à 92%. Aucune présence des coliformes n'est observée après 60 minutes d'ensoleillement (inhibition complète).

Concernant les échantillons traités avec l'extrait coumarinique de *Citrus sinensis*, des inhibitions de l'ordre de 20% et 92% sont remarquées respectivement après 15 et 30 minutes d'ensoleillement. L'inhibition complète des coliformes fécaux est notée après 60 minutes d'ensoleillement.

Enfin pour les échantillons traités avec l'extrait coumarinique de *Citrus paradisi*, 23% d'inhibition est remarquée après 15 minutes et 90% après 30 minutes. Après 60 minutes d'ensoleillement, nous n'avons relevée aucune colonies des coliformes fécaux (inhibition complète).

Ces résultats montrent que l'utilisation des substances photosensibilisatrices améliore sensiblement la désinfection solaire. En effet, pour la désinfection solaire, il a été remarqué une inhibition de l'ordre de 17% après 30 minutes d'ensoleillement. Pour ce même temps, il est noté une inhibition de l'ordre de 90% pour les extraits coumariniques (*Citrus limonum*, *Citrus sinensis* et *Citrus paradisi*). L'inhibition complète des coliformes fécaux est notée après 60 minutes d'ensoleillement pour tous les extraits coumariniques (*Citrus limonum*, *Citrus sinensis* et *Citrus paradisi*); contrairement à la désinfection solaire, où une faible inhibition de l'ordre de 32% est notée après 60 minutes. Pour les échantillons d'eau traités et gardés à l'obscurité, aucune inhibition n'a été notée du début à la fin des expériences.

L'activité photosensibilisatrice remarquée dans ces extraits est due à la présence des molécules photosensibilisatrices, principalement le méthoxy-5 psoralène. Cette molécule est de plus en plus utilisée pour soigner certaines maladies de la peau, notamment le psoriasis et le vitiligo. Celle-ci est aussi utilisée, à cause de sa photoréactivité, en photothérapie PUVA (Psoralène-UVA thérapie). Ce traitement consiste à administrer par voie orale un médicament à base de méthoxy-5 psoralène et à exposer par la suite le patient sous la lumière solaire ou ultraviolette. En présence des UVA, il se développe une réaction de photoaddition conduisant à la formation des liaisons covalentes entre le méthoxy-5 psoralène et les bases azotées, notamment la pyrimidine. Ceci aboutit à l'inhibition de la duplication de l'ADN et la transcription de l'ARN. Ces perturbations entraînent par la suite la mort de la cellule bactérienne. Cette réaction, appelée photoréaction du type I, est favorisée dans des milieux anoxiques. Par contre, en présence de l'oxygène, le méthoxy-5 psoralène conduit à une photoréaction du type II. Cette réaction consiste au transfert de l'énergie emmagasinée par le méthoxy-5 psoralène à l'oxygène. Ce dernier subit l'excitation et passe de l'état fondamental, triplet, à l'état excité, singulet. L'oxygène singulet généré dans le milieu détruit les cellules bactériennes [12], [13], [14].

4 CONCLUSION

La présente étude visait l'amélioration de la désinfection solaire de l'eau par l'usage des substances photosensibilisatrices (extraits coumariniques de *Citrus sinensis*, *Citrus paradisi* et *Citrus limonum*).

Les résultats trouvés pour la désinfection solaire montrent une faible inhibition (17%) des coliformes fécaux présents dans l'eau après 30 minutes d'ensoleillement. Celle-ci passe à 32 % après une heure d'ensoleillement.

Par contre, pour les échantillons d'eau traités avec les extraits coumariniques, nous avons noté une inhibition de l'ordre de 90% après 30 minutes d'ensoleillement. L'inhibition complète est notée pour tous les extraits après 60 minutes d'ensoleillement. Ceci montre que l'utilisation des substances photosensibilisatrices améliore sensiblement la désinfection solaire.

Des études supplémentaires s'avèrent nécessaires notamment en ce qui concerne la sensibilité des virus et parasites vis-à-vis de ces extraits. Les autres plantes de la famille de Rutacées devraient également être testées. En outre, l'activité photosensibilisatrice de méthoxy-5 psoralène en solution et fixée sur un support (polymère ou argile) devrait également être étudiée.

REFERENCES

- [1] Programme des Nations Unies pour l'Environnement (PNUE) (2011). Problématique de l'eau en République Démocratique du Congo, Rapport technique
- [2] M.Sunda . ,F. Rosillon et K.M. Taba et B. Wathélet, Contribution à l'étude de la désinfection de l'eau par photosensibilisation avec les extraits de plantes, *Compte rendu de chimie*, 19, pp 827-831, 2016
- [3] Aquac, L'utilisation de l'oxygène singulet pour la désinfection de l'eau potable, Cordis, Octobre, 2008
- [4] C.S. Foote, Photosensitized oxidation and singlet, consequences in biology systems; free Radicals in biology Vol.3, ed.by W.A.Pryor, Academic Press, Berlin., 1984
- [5] W.Bors ,M. Saran and D. Tait , Oxygen radicals in chemistry and biology, ed.w.de Gruyers, Berlin, 344p, 1984
- [6] I.A..Clark and W. Cowden, Antimalarias in oxidation stress, Academic Press, London, 201p, 1984
- [7] J.Tracy and L. Webster, Drug used in chemotherapy in protozoal infection In: J.G Hardman , L.E. Limbird and A.G. Gilman (editors). Goodman and Gilman's the pharmacological basis of theurapeutics, 10 th edition, New York, Megraw Hill,1079p, 2001
- [8] M. Sunda., F. Rosillon,. K.M. Taba, N.Lami, Désinfection de l'eau par photosensibilisation avec les huiles essentielles de *Citrus bergamia*, *Citrus reticulata* et *Citrus limonum*, in: 8^eCongres international du Gruttee, 8,Nancy, France, 2009
- [9] F. Bordin, Photochemical and photobiological properties of furocoumarins and homologous drug, International Journal of Photoenergy, Vol. 1, p.1-6, 1999
- [10] R. Meierhofer and M.Wegelin,. Solar Water Disinfection: A guide for the application of Sodis, 2002
- [11] M.Sunda, Contribution à l'étude de la désinfection de l'eau par photosensibilisation avec des extraits de plantes, Thèse de Doctoral, Université de Liège, 2012
- [12] M. Sunda., F. Rosillon et K.M. Taba., Contribution à l'étude de la désinfection de l'eau par photosensibilisation avec les extraits de plantes, *European Journal of Water Quality*, Tome 39, Volume 2, pp 199- 209, 2008
- [13] M..Sunda , K.M. Taba et M. Mbala, Contribution à l'étude de la désinfection de l'eau par photosensibilisation avec les extraits de plantes, *International Journal of Biological and Chemical Science*, 11, pp 305-312, 2017.