

CONTRIBUTION A LA DESINFECTION DE L'EAU PAR PHOTOSENSIBILISATION AVEC DES EXTRAITS DE PLANTES

[CONTRIBUTION TO THE WATER DISINFECTION BY PHOTOSENSITIZATION WITH PLANT EXTRACTS]

M. Sunda¹, K.M. Taba¹, F. Rosillon², and B. Wathélet³

¹Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université de Kinshasa, Kinshasa XI, RD Congo

²Département des Sciences et Gestion de l'Environnement, Unité Eau et Environnement, Université de Liège, Belgium

³Unité de Chimie et Biologie Industrielle, Université de Liège, Belgium

Copyright © 2019 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 water disinfection by photosensitization with methoxy-5 psoralen showed complete inhibition of fecal coliforms after 60 minutes of exposure to the light at all concentrations used (0.006; 0.2 and 0.340 g / l). The kinetic study shows that the kinetic constants are classified in the following order: 0.11; 0.15 and 0.17 min⁻¹, respectively for 0.006; 0.2 and 0.340 g / l. In the other hand, for the faecal enterococci, complete inhibition was observed after 5 minutes of exposure at all concentrations used (0.006; 0.2 and 0.340 g / l).

KEYWORDS: Photosensitization, 5-methoxy-psoralen, singlet oxygen, fecal coliforms, fecal enterococci, sunlight.

RESUME: L'étude de la désinfection de l'eau par photosensibilisation avec le méthoxy-5 psoralène a montré une inhibition complète des coliformes fécaux présents dans le milieu après 60 minutes d'exposition à la lumière pour toutes les concentrations utilisées (0,006; 0,2 et 0,340 g/l). L'étude cinétique montre que les constantes cinétiques suivent l'ordre que voici: 0,11; 0,15 et 0,17 min⁻¹, respectivement pour les concentrations de 0,006; 0,2 et 0,340 g/l. En ce qui concerne les entérocoques fécaux, l'inhibition complète a été remarquée après 5 minutes d'exposition à la lumière pour toutes les concentrations.

MOTS-CLEFS: Photosensibilisation, méthoxy-5 psoralène, oxygène singulet, coliformes fécaux, entérocoques fécaux, ensoleillement.

1 INTRODUCTION

La situation de l'eau potable est précaire dans des nombreux pays sous-développés. Etant donné qu'un tiers de la population rurale mondiale n'a pas accès à assez d'eau potable et hygiéniquement saine, les maladies diarrhéiques peuvent être transmises et causer la mort de plus de trois millions de personnes par an [1].

Le manque d'eau potable est souvent dû à l'absence d'installations adéquates de traitement de l'eau. Ce problème peut être résolu par la promotion de traitement de l'eau au niveau familial ou individuel. Le traitement de l'eau au niveau individuel consiste à faire bouillir de l'eau ou à faire usage des produits chlorés. Faire bouillir de l'eau exige beaucoup d'énergie que le monde rural trouve dans le bois. Ceci peut donc conduire à la déforestation. Les méthodes courantes de désinfection utilisant

le chlore et ses dérivés, l'ozone sont souvent coûteuses et inaccessibles pour les populations déshéritées. La désinfection solaire de l'eau, une ancienne technique, simple, devrait être une alternative pour la potabilisation de l'eau dans les pays en développement. L'efficacité de cette méthode est mise en doute à cause du manque d'indicateur d'exposition de l'eau au soleil, et surtout à des variations des conditions climatiques. Néanmoins, l'efficacité de celle-ci peut être améliorée par l'usage de l'oxygène singulet, via la photodynamique.

Certaines substances dites photosensibilisatrices, en présence d'une source lumineuse sont capables de générer l'oxygène singulet. Une fois généré, l'oxygène singulet endommage les microorganismes présents dans le milieu [2] [3] [4] [5] [6].

Certaines plantes utilisées dans la pharmacopée traditionnelle pour soigner les infections microbiennes et parasitaires sont supposées réagir par un mécanisme du type stress oxydatif. Ces plantes sont capables de générer l'oxygène singulet, via la photosensibilisation.

Lors de l'étude de la désinfection de l'eau par photosensibilisation avec les extraits de feuilles de plantes, Taba et al.[7] ont montré que les extraits aqueux de *Cassia alata*, *Cassia occidentalis* et *Carica papaya* avaient un effet photosensibilisateur. Cette observation a été confirmée quelques années plus tard par Sunda et al. [8], lors de l'étude de la désinfection de l'eau par photosensibilisation avec les extraits de ces trois mêmes plantes, auxquels sont venus s'ajouter les extraits de feuilles de *Phyllanthus niruri* et *Coleus Kilimandschari* [8]. Malheureusement, l'activité photosensibilisatrice remarquée dans ces plantes n'est accrue (significative) que lorsque le milieu est saturé en oxygène (barbotage). Pour pallier cet inconvénient, une nouvelle série de plantes, dont l'activité photosensibilisatrice est indépendante de la saturation du milieu en oxygène a été étudiée (*Citrus limonum*, *Citrus reticulata* et *Citrus bergamia*) [9].

Lors de cette étude, il a été remarqué une activité accrue de *Citrus bergamia* par rapport aux deux autres plantes [9]. L'étude approfondie de la désinfection de l'eau par photosensibilisation avec le *Citrus bergamia* a montré que la molécule responsable de son activité est le méthoxy-5 psoralène, une coumarine photoactivable considérée comme un puissant agent photosensibilisateur [10].

Nous nous poursuivons cette étude en étudiant la désinfection de l'eau par photosensibilisation avec le méthoxy-5 psoralène.

2 MATERIEL ET METHODES

2.1 PRELEVEMENT DE L'EAU A ANALYSER

L'eau utilisée dans ce travail a été prélevée dans la rivière Semois, en Belgique. Celle-ci contenait approximativement 10^4 UFC de coliformes fécaux / 100 ml et 10^3 UFC d'entérocoques fécaux / 100 ml.

2.2 LE METHOXY-5 PSORALENE

Le méthoxy-5 psoralène utilisé dans ce travail provenait de Sigma Aldrich, Belgique (Référence: 65320).

2.3 TESTS DE DESINFECTION DE L'EAU PAR PHOTOSENSIBILISATION AVEC LE MOP-5

Les boîtes en verre de pyrex de 100 ml ont été utilisées comme réacteurs. Dans chaque réacteur, nous avons ajouté (0,006; 0,2 et 0,340 g/l) de méthoxy-5psoralène (MOP-5). Un échantillon d'eau non traitée a été utilisé comme témoin. Les échantillons ont été par la suite exposés à la lumière (lampe UV, marque B-100 AP, émettant entre 320-400 nm, avec un maximum à 365). Cette lampe a été utilisée pour éviter les fluctuations de l'intensité lumineuse des rayons solaires. En outre, cette zone est contenue dans le spectre solaire qui touche la surface de la terre. La lampe a été positionnée à 25 cm des échantillons d'eau [10] [11]. Un autre lot d'échantillons traités avec le méthoxy-5 psoralène a été gardé à l'obscurité. Après des temps d'exposition de 0, 10, 20, 30, 60 et 120 minutes, des prélèvements ont été réalisés dans chaque réacteur pour les analyses bactériologiques. Ces expériences ont été réalisées à 15 reprises. Les différents points repris dans chaque figure représentent la moyenne de 15 mesures. Pour chaque série de données l'erreur standard a été calculée (Moyenne \pm SD).

2.4 LES ANALYSES BACTERIOLOGIQUES

Les milieux Rapid'Ecoli et Bile esculine ont été utilisés pour la culture des coliformes et entérocoques fécaux respectivement. Après des temps d'exposition à la lumière de 0, 10, 20, 30, 60 et 120, 1 ml d'eau provenant d'échantillons des tests de photosensibilisation a étéensemencé. Après 24 heures d'incubation à 44,5°C, un comptage des colonies a été réalisé.

2.5 ETUDE CINETIQUE

L'étude cinétique a été réalisée suivant la loi de Chick H. [12] :

$$\ln(N/N_0) = -kct \quad (1)$$

Où :

N: Nombre de microorganismes au temps t

No: Nombre de microorganismes au temps zéro (to)

K: constante cinétique caractérisant l'inhibition microbienne (min^{-1})

C: concentration du photosensibilisateur (g/l)

T: temps d'exposition à la lumière (minute)

L'ordre de réaction est donné par l'équation:

$$K = C^n t \quad (2)$$

Où :

C: concentration du désinfectant

n: Ordre de la réaction (premier ordre: $0,8 \leq n \leq 1,2$)

3 RESULTATS ET DISCUSSION

3.1 SENSIBILITE DES COLIFORMES FECAUX VIS-A-VIS DU MOP-5

3.1.1 RESULTATS DES TESTS DE DESINFECTION

Les résultats de tests de désinfection de l'eau par photosensibilisation avec le MOP-5 sont repris dans les graphiques 1 à 3.

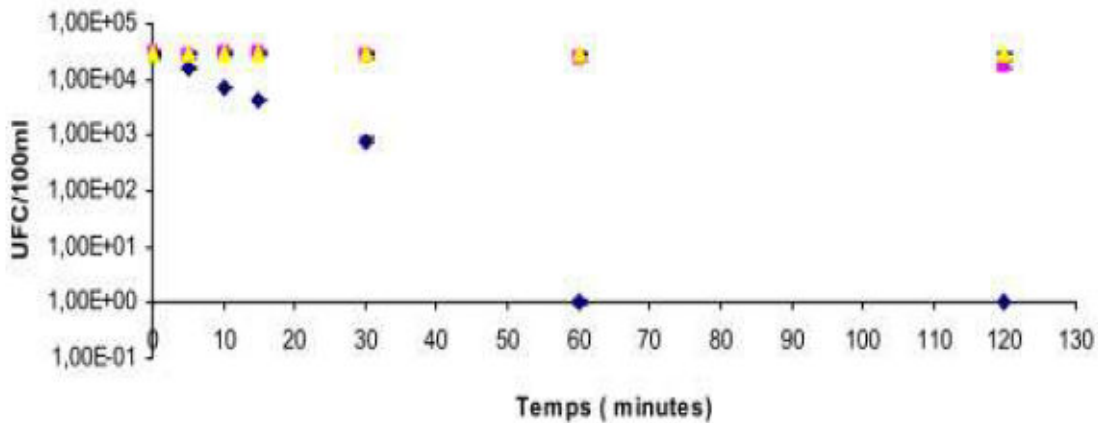


Fig. 1. Abattement des coliformes fécaux en fonction du temps dans l'eau traitée avec 0,006 g de MOP-5 / litre et exposé à la lumière (♦), traitée avec 0,006 g de MOP-5 / litre et gardée à l'obscurité (▲), non traitée et exposée à la lumière (■)

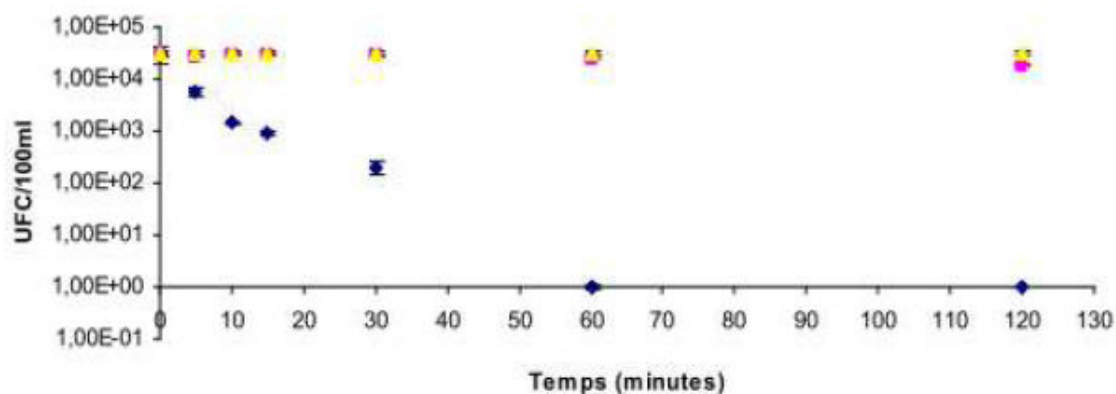


Fig. 2. Abattement des coliformes fécaux en fonction du temps dans l'eau traitée avec 0,2 g de MOP-5 / litre et exposé à la lumière (◆), traitée avec 0,2 g de MOP-5 / litre et gardée à l'obscurité (▲), non traitée et exposée à la lumière (■)

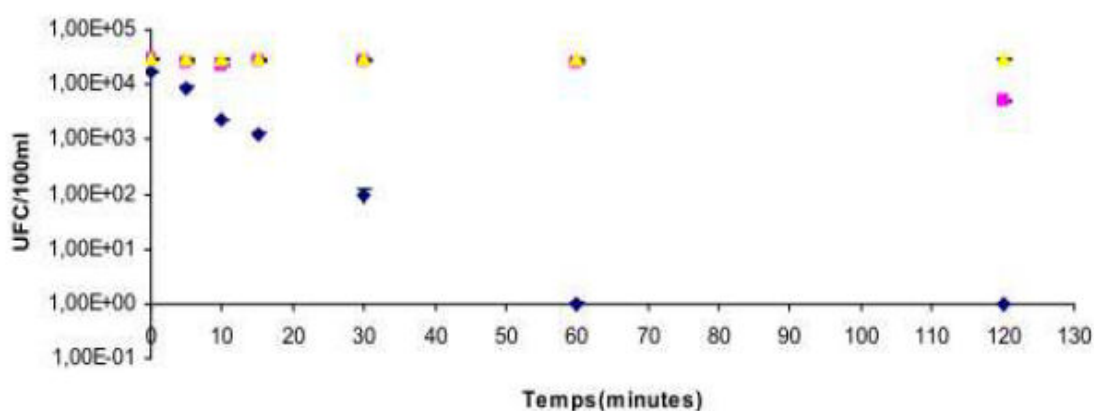


Fig. 3. Abattement des coliformes fécaux en fonction du temps dans l'eau traitée avec 0,340 g de MOP-5 / litre et exposé à la lumière (◆), traitée avec 0,340 g de MOP-5 / litre et gardée à l'obscurité (▲), non traitée et exposée à la lumière (■)

Ces résultats montrent une inhibition complète des coliformes fécaux après 60 minutes d'exposition à la lumière dans l'eau traitée avec le MOP-5 pour toutes les concentrations utilisées. Aucune inhibition des coliformes fécaux n'a été notée pour tous les échantillons traités avec le MOP-5 et gardés à l'obscurité. En ce qui concerne les échantillons d'eau non traités et exposés, nous avons noté une inhibition non significative. Ceci laisse suggérer que le méthoxy-5 psoralène est photosensibilisateur. En présence de lumière, celui-ci initie une réaction de photosensibilisation qui serait responsable de l'inhibition des microorganismes présents dans le milieu.

La photoréactivité de cette molécule est due à la sensibilité des liaisons 3-4 et 4'-5' (voir figure 4.). Anders A. et al.[13], étudiant les interactions psoralène et ADN, ont montré que la densité électronique dans le méthoxy-5 psoralène serait plus élevée dans la liaison 3-4 que 4'-5'. Ainsi, la double liaison 3-4 serait le site réactionnel privilégié. Lorsque cette molécule est soumise à la lumière, elle absorbe l'énergie et passe de l'état fondamental à l'état excité (transition $\pi-\pi^*$). A cet état, il se passerait une réaction de cycloaddition [2+2] entre le méthoxy-5 psoralène et les bases azotées (Thymine ou Pyrimidine) au niveau de la double liaison 3-4. Par la suite, la double liaison 4'-5' réagirait. Cette série de réactions, appelées photoréaction de type I, ont pour conséquence l'inhibition de la réplication de l'ADN [14]. Il s'ensuit une mort certaine de la cellule bactérienne. Cette réaction de type I serait favorisée dans les milieux anoxiques [15]. Dans ce cas, l'action du méthoxy-5 psoralène, sous irradiation ultraviolette, est liée à sa capacité de former des ponts covalents entre les deux chaînes de l'ADN après intercalation de la molécule [16]. Les composés d'addition ainsi obtenus résultent d'une double cycloaddition avec les bases azotées (pyrimidine ou thymine).

En présence de l'oxygène, il se passe une photoréaction de type II. En effet, le méthoxy-5 psoralène, à partir de l'état excité, peut subir une conversion intersystème pour transférer son énergie à l'oxygène présent dans le milieu. L'oxygène passe de l'état fondamental à l'état excité (oxygène singulet). L'oxygène singulet généré dans le milieu endommage tous les microorganismes.

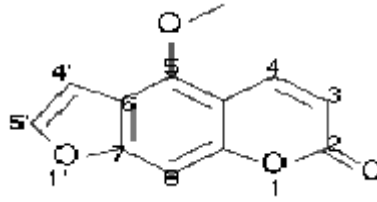


Fig. 4. Méthoxy-5 psoralène

Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par Aquacat, un projet financé par l'Union Européenne. En effet, Ces résultats mettent en évidence la production de l'oxygène singlet par des agents photosensibilisateurs basés sur des complexes Ru(II) polyazahétérocycliques. Ces complexes, en présence de lumière, subissent une photoexcitation et cèdent l'énergie emmagasinée à d'autres molécules capables de produire l'oxygène singlet [17]. L'oxygène singlet, ainsi généré, est exploité pour purifier l'eau [2] [18] [19] [20].

3.1.2 ETUDE CINÉTIQUE

Les constantes cinétiques sont reprises dans le tableau 1 et les figures 5, 6 et 7 respectivement pour l'eau traitée avec le MOP-5 utilisé à une concentration de 0,006; 0,2 et 0,340 g/l.

Tableau 1. Constantes cinétiques en fonction des différentes concentrations de MOP-5 utilisées

Concentrations (g/l)	k (min ⁻¹)
0,006 g/l	0,11
0,2 g/l	0,15
0,340 g/l	0,17

Ces résultats montrent que l'efficacité de la désinfection varie suivant l'ordre ci-après :

$$0,340 \text{ g/l} > 0,2 \text{ g/l} > 0,006 \text{ g/l}$$

Ceci pourrait se justifier par le fait que plus la concentration du photosensibilisateur augmente, plus l'efficacité de la désinfection augmente. Ce phénomène a été mis en évidence dans plusieurs travaux réalisés sur la désinfection photodynamique de l'eau [7,8]. Mais il faut noter que dans le cadre de ce travail, les écarts notés entre les différentes constantes cinétiques ne sont pas énormes.

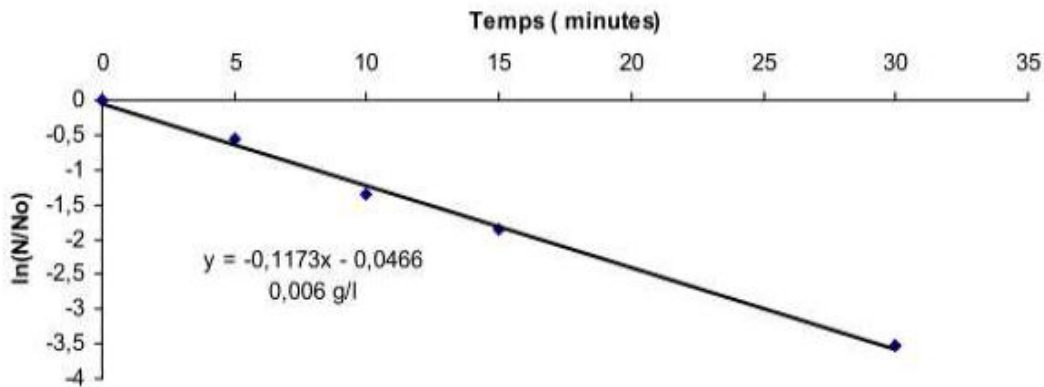


Fig. 5. Inhibition des coliformes fécaux en fonction du temps en utilisant 0,006 g de MOP-5 / l.

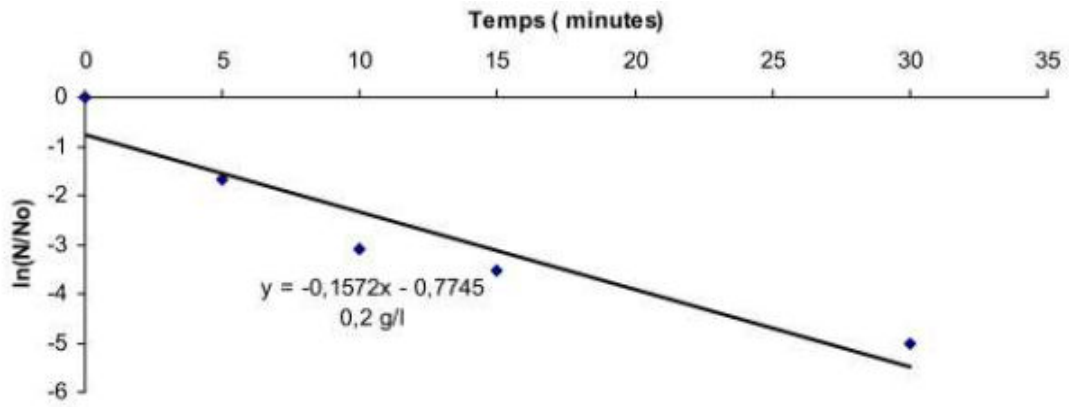


Fig. 6. Inhibition des coliformes fécaux en fonction du temps en utilisant 0,2 g de MOP-5

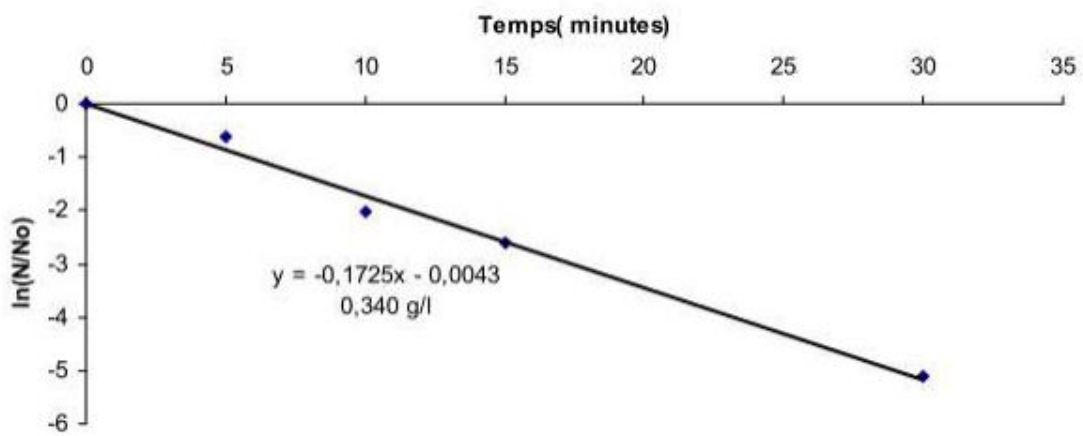


Fig. 7. Inhibition des coliformes fécaux en fonction du temps en utilisant 0,340 g de MOP-5 / l

3.2 SENSIBILITE D'ENTEROCOQUES FECAUX VIS-A-VIS DE MOP-5

Les résultats des tests de désinfection de l'eau par photosensibilisation avec le MOP-5 sont repris dans les figures 8 à 10.

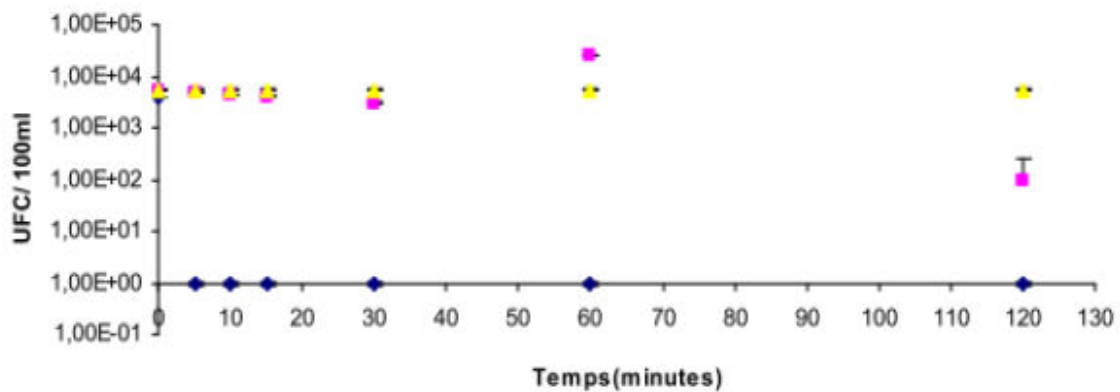


Fig. 8. Abattement des coliformes fécaux en fonction du temps dans l'eau traitée avec 0,006 g de MOP-5 / litre (♦) et exposé à la lumière, traitée avec 0,006 g de MOP-5 / litre et gardée à l'obscurité (▲), non traitée et exposée à la lumière (■)

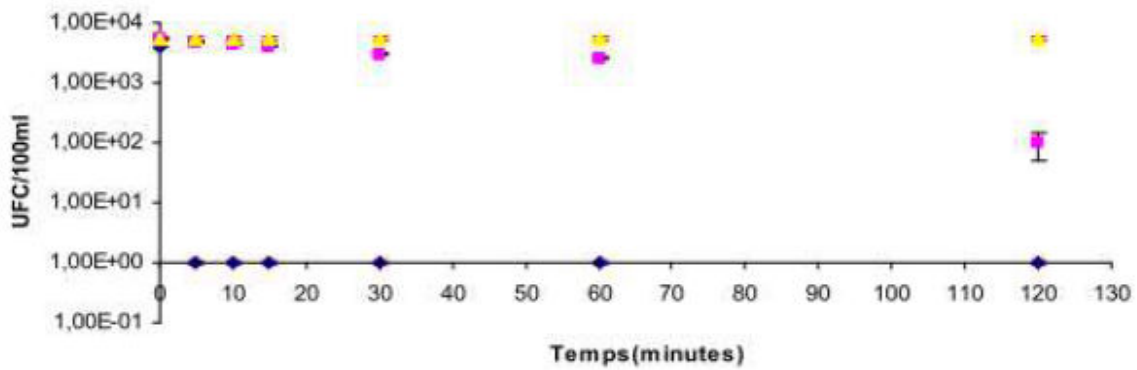


Fig. 9. Abatement d'enterocoques fécaux en fonction du temps dans l'eau traitée avec 0,2 g de MOP-5 / litre (♦) et exposé à la lumière, traitée avec 0,2 g de MOP-5 / litre et gardée à l'obscurité (▲), non traitée et exposée à la lumière (■)

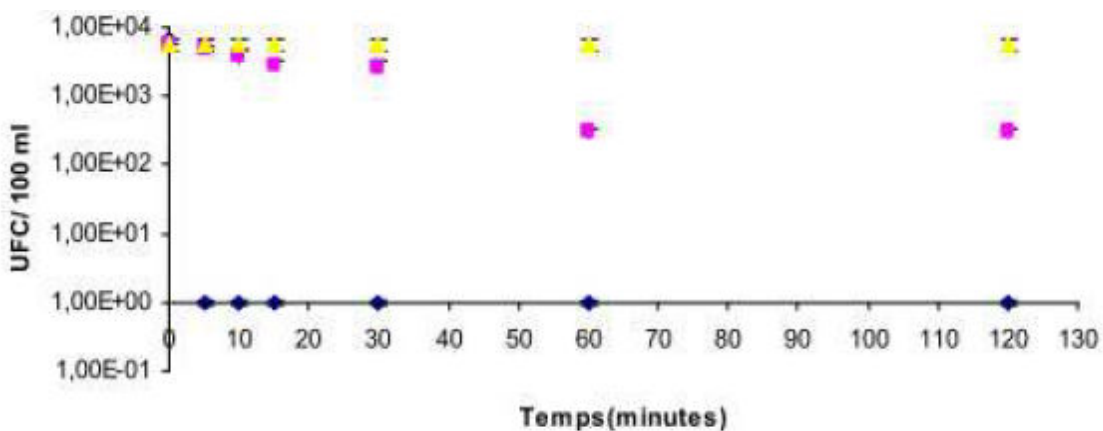


Fig. 10. Abatement d'enterocoques fécaux en fonction du temps dans l'eau traitée avec 0,340 g de MOP-5 / litre (♦) et exposé à la lumière, traitée avec 0,340 g de MOP-5 / litre et gardée à l'obscurité (▲), non traitée et exposée à la lumière (■)

Ces résultats montrent une inhibition complète d'entérocoques fécaux présents dans le milieu après 5 minutes d'exposition pour toutes les concentrations utilisées (0,006; 0,2 et 0,340 g/l). La différence de sensibilité remarquée entre les coliformes fécaux et entérocoques fécaux pourrait se justifier par la constitution de leurs membranes cellulaires [10].

4 CONCLUSION

L'étude de la désinfection de l'eau par photosensibilisation avec le méthoxy-5 psoralène a montré une inhibition complète des coliformes fécaux présents dans le milieu après 60 minutes d'exposition à la lumière pour toutes les concentrations utilisées (0,06; 0,20 et 0,340 g/l). L'étude cinétique montre que les constantes cinétiques se classent suivant l'ordre que voici: 0,11; 0,15 et 0,17 min^{-1} , respectivement pour les concentrations de 0,006; 0,2 et 0,340 g/l. En ce qui concerne les entérocoques fécaux, l'inhibition complète a été notée après 5 minutes d'exposition à la lumière pour toutes les concentrations (0,06; 0,20 et 0,340 g/l).

L'inhibition remarquée aussi bien pour les coliformes fécaux que les entérocoques fécaux est due à la photoréactivité de méthoxy-5 psoralène. Malgré l'activité remarquée pour cette molécule, celle-ci reste dans l'eau après la désinfection. La fixation de celle-ci sur un support solide permettrait de la récupérer après la désinfection de l'eau. Aussi, la prochaine étape de notre recherche portera sur la fixation du méthoxy-5 psoralène sur un support solide (un verre ou polymère) et l'étude de l'efficacité désinfectante de cette forme fixée sur support.

REFERENCES

- [1] R.Meierhofer and M.Wegelin M., Solar Water Disinfection: A guide for the application of Sodis, 2002
- [2] F.Garcia, Y. Geogiadou, G. Orellana, A. Braun and E. Oliveros, Singlet Oxygen ($^1\Delta_g$) production by Ruthenium (II) complexes containing polyazaheterocyclic ligands in Methanol and in water, *Helv. Chim. Acta*, 79, pp 1222-1238,1996
- [3] S.Sabbahi, Z.Alouini, M.Jemli, Etude de la désinfection photodynamique des eaux usées par le rose de bengale sel dissodique RB-2Na, Proc. int. conf. on waste water treatment and Reuse Adapted to Mediterranean Area, 2000.
- [4] A. Cooper and G.Yogi, Evaluation of methylene blue and rose bengal for dye sensitized solar treatment, *Journal of Solar Energy Engineering*, 124, pp 305-310,2002
- [5] G. Jori and S. Brown, Photosensitized inactivation of microorganisms, *Photochem. Photobiol.*, 3 (5), pp 403–405,2004
- [6] A.Nina, A.Dmitriy, L.Oleg and N. Georgy, Photosensitized oxidation by dioxygen as the base for drinking water disinfection, *Journal of Hazardous Materials*, 146, pp 487-49,2007
- [7] K.M. Taba K.M. et E. Luwenga, L'effet de la photosensibilisation des extraits de plantes dans la désinfection de l'eau, Med. Fac. Landbouww, Univ.Gent, 64/1,1999
- [8] 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*, 39, pp 199-209,2009
- [9] M.Sunda, F.Rosillon, K.M. Taba et N.Lami, Désinfection de l'eau par photosensibilisation avec les huiles essentielles de *Citrus bergamia*, *Citrus reticulata* et *Citrus limonum*, in: 8^e Congrès international du Gruttee, 8,Nancy, France, 2009
- [10] M.Sunda, F.Rosillon, K.M. Taba et B. Wathelet, 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
- [11] F.Bordin, Photochemical and photobiological properties of furocoumarins and homologous drug, *International Journal of Photoenergy*, 1, pp 1-6, 1999
- [12] H.Chick, An investigation of the laws in disinfection, *J. Hyg.*, 8, pp 92-158, 1908
- [13] A.Anders, W.Popper, C.Herkt and E.Niemann, Investigation on the mechanism of photodynamic action of different psoralens with DNA, *Biophys. Struct., Mech*, 10, pp 11-30, 1983
- [14] J.L. Decout, H.Georges and J. Lhomme, Synthetic models related to DNA-intercaling molecules-highly selective and reversible photoreaction between the thymine and psoralen rings, *Journal de Chimie*, 8, pp 433, 1984
- [15] M.A. Pathak and P.C. Joshi, The nature and molecular basic of cutaneous photosensitivity to psoralen and coal., *J. Invest Dermatol.*, 80, pp 66-74, 1983
- [16] C.Courseille, B. Georges et B. Jean, Etude des interactions Psoralène Acides Nucléiques, *Acta Cryst.*, B38, pp 1252-125, 1982
- [17] Aquacat, L'utilisation de l'oxygène singulet pour la désinfection de l'eau potable, Cordis, Octobre, 2008
- [18] L.Villen, F.Manjón, F.García and G. Orellana, Solar Reactor for Water Disinfection by Sensitised Singlet Oxygen Production in Heterogeneous Medium, *Appl. Catal.*, 69, pp 1-9, 2006
- [19] M.C. Derosa and R.J. Crutchley, Photosensitized singlet oxygen and its applications, *Coordination Chemistry reviews*, 233-234, pp 351-371, 2002
- [20] K.Ergaieg and R. Seux (2009). A comparative study of the photoinactivation of bacteria by meso-substituted cationic porphyrin rose bengal and methylene blue, *Desalination*, 248, pp 32-41,2009.