

Contribution à l'étude de la désinfection de l'eau par photosensibilisation avec le méthoxy-5 psoralène fixé sur le polystyrène

[Contribution to the study of water disinfection by photosensitization with 5-methoxypsoralen fixed on polystyrene]

Teddy Makuba SUNDA¹, Kalulu Muzele TABA¹, Francis ROSILLON², and Bernard WATHELET³

¹Université de Kinshasa, Faculté des Sciences, Département de Chimie, Laboratoire de Chimie Organique et d'Energétique, BP 190, Kinshasa XI, RD Congo

²Université de Liège, Département des Sciences et Gestion de l'Environnement, Unité Eau et Environnement, 185, Avenue de Longwy, B-6700 Arlon, Belgium

³Université de Liège, Gembloux Agro-Bio Tech, Unité de Chimie et Biologie Industrielle, Passage des Déportés 2, B-5030 Gembloux, Belgium

Copyright © 2023 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 present study has consisted to the disinfection of water by photosensitization with 5-methoxypsoralen fixed on polystyrene (MOP-5-P). The results obtained in this study show the complete inhibition of fecal coliforms after six minutes of irradiation (365 nm). But the system (MOP-5-P) loses its activity after the application because of the formation of 5-MOP photodimers on the surface of polystyrene (2, 2-cycloaddition). Irradiation at a wavelength below 320 nm allows the regeneration activity of MOP-5-P system. This shows that these photodimers formed on the surface of polystyrene are reversible and depend on wavelength irradiation. This reversibility is demonstrated by the regeneration activity of the system after irradiation at 254 nm.

KEYWORDS: Photosensitization, disinfection, 5-methoxypsoralen, irradiation, fecal coliforms.

RESUME: La présente étude a consisté en la désinfection de l'eau par photosensibilisation avec le méthoxy-5 psoralène fixé sur le polystyrène (MOP-5-P). Les résultats obtenus dans cette étude montrent l'inhibition complète des coliformes fécaux après six minutes d'irradiation (365 nm). Mais le système (MOP-5-P) perd son activité après l'application suite à la formation des photodimères entre les molécules de MOP-5 sur la surface du polystyrène (cycloaddition 2,2). L'irradiation à une longueur d'onde inférieure à 320 nm permet au système MOP-5-P de retrouver son activité. Ceci montre que ces photodimères formés à la surface du polystyrène sont réversibles et dépendent de la longueur d'onde d'irradiation. Cette réversibilité est mise en évidence par la régénération de l'activité du système après irradiation à 254 nm.

MOTS-CLEFS: Photosensibilisation, désinfection, méthoxy-5 psoralène, irradiation, coliformes fécaux.

1 INTRODUCTION

Chaque année, 2,6 millions de personnes meurent dans le monde de suite d'une maladie liée à la qualité de l'eau [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 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 désinfection de l'eau dans les pays en développement. Mais 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 [2], [3], [4]. Néanmoins, l'efficacité de celle-ci peut être améliorée par l'usage de l'oxygène singulet, via la photodynamique [5], [6].

Certaines substances dites photosensibilisatrices, en présence d'une source lumineuse, sont capables de générer l'oxygène singulet [7], [8], [9]. Une fois généré, l'oxygène singulet endommage les microorganismes présents dans le milieu [10], [11], [12], [13].

Certaines plantes utilisées dans la pharmacopée traditionnelle pour soigner les infections microbiennes et parasitaires sont supposées réagir par un mécanisme du type stress oxydatif [14], [15]. Ces plantes sont donc capables de générer l'oxygène singulet, via la photosensibilisation [16].

Lors de l'étude de la désinfection de l'eau par photosensibilisation avec les extraits de feuilles de plantes, Taba et al. [17] 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. [18], 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*. L'activité photosensibilisatrice trouvée dans ces extraits est due à la présence des molécules photoactivables capables de générer l'oxygène singulet [18]. 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*) [19].

Lors de cette étude, il a été remarqué une activité accrue de *Citrus bergamia* par rapport aux deux autres plantes. 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 (MOP-5), une coumarine photoactivable considérée comme un puissant agent photosensibilisateur [20].

L'étude de la désinfection de l'eau par photosensibilisation avec le méthoxy-5 psoralène a montré une inhibition complète des coliformes fécaux après soixante (60) minutes d'exposition. Quant aux entérocoques fécaux, l'inhibition complète a été remarquée après cinq (5) minutes d'exposition [21]. Malheureusement, la molécule reste dans l'eau après la phase de désinfection. Pour résoudre ce problème, la molécule a par la suite été greffée sur le polystyrène comme support solide (MOP-5-P) [22].

La désinfection de l'eau par photosensibilisation avec le méthoxy-5 psoralène greffé sur le polystyrène (MOP-5-P) a révélé l'inhibition complète des coliformes fécaux après six (6) minutes d'exposition [22].

Nous poursuivons ce travail en étudiant le comportement du nouveau système mise en place (MOP-5-P) après la phase de désinfection. L'influence de l'intensité lumineuse sur l'abattement des microorganismes est également examinée.

2 MATERIEL ET METHODES

2.1 EAU

Les échantillons d'eau ont été prélevés à la rivière Semois, en Belgique. Cette eau contenait approximativement 10^3 UFC / 100ml des coliformes fécaux.

2.2 METHOXY-5 PSORALENE (MOP-5)

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

2.3 POLYSTYRENE

Le polystyrène provenait de Sigma Aldrich, Belgique (Polystyrene monocarboxy terminated, $M_w \sim 200000$ by GPC) (Référence: 701645).

2.4 FIXATION DU METHOXY-5 PSORALENE SUR LE POLYSTYRENE

Le méthoxy-5 psoralène a été fixé sur le polystyrène suivant la méthode reprise par Sunda et al [22]. Suivant cette méthode, 170 mg de polystyrène (P-COOH) (1) ont été mélangés avec 0,5 ml de chlorure de thionyle (SOCl_2) dans un ballon de 50 ml. Par la suite, quelques gouttes de diméthylformamide (DMF) ont été ajoutées. Le mélange a par après été chauffé à reflux (82°C) pendant 48 heures. On obtient le produit (2). Deux (2) ml d'acide trifluoroacétique (TFA) ont été mélangés avec le produit (2), puis 6 mg de MOP-5 (3). Le mélange a été chauffé à reflux à 82°C , sous agitation, pendant deux heures. Le produit (4) (Cristaux blancs qui, au fil de la réaction, forment un solide en forme de film) (voir figure 1) a été plusieurs fois lavé avec l'eau distillée et séché avant d'être utilisé dans les tests de photosensibilisation.

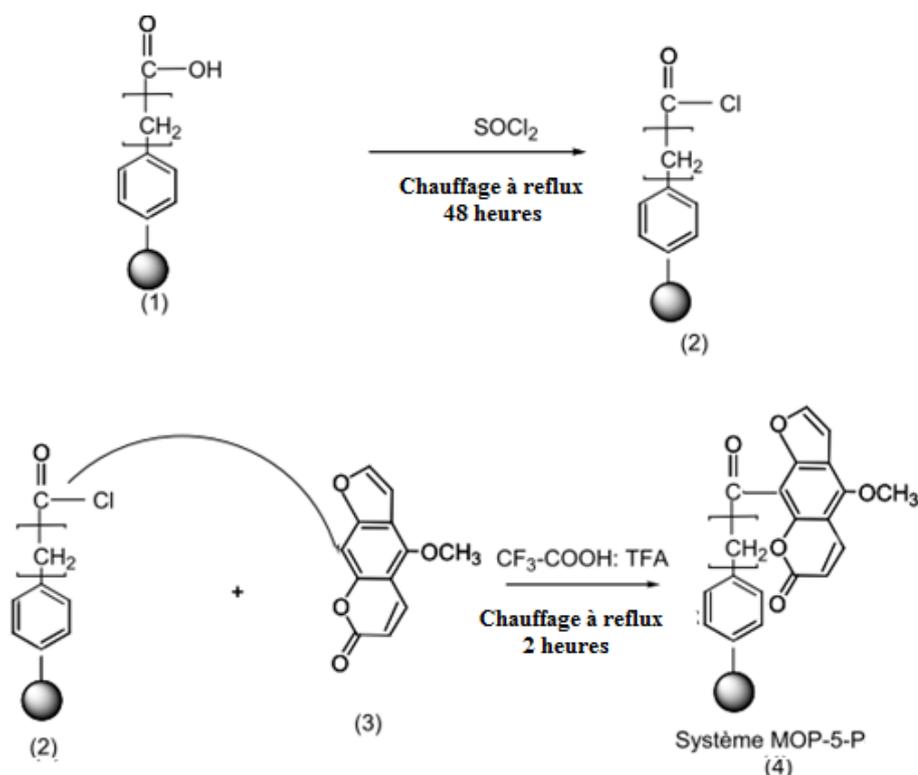


Fig. 1. Fixation de MOP-5 sur le polystyrène

2.5 TESTS DE PHOTOSENSIBILISATION AVEC LE MOP-5 FIXE SUR LE POLYSTYRENE (MOP-5-P)

Les boîtes en verre de pyrex de 100 ml ont été utilisées comme réacteurs. Dans chaque réacteur, nous avons ajouté le système MOP-5-P. Un autre échantillon non traité a été utilisé comme témoin. Par la suite, les échantillons ont été exposés à la lumière (Lampe UV, marque B-100 AP, émettant entre 320-400 nm, avec un maximum à 365 nm. 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). L'intensité lumineuse a été mesurée avec un pyranomètre de marque CMP3. Un échantillon traité avec le MOP-5-P et gardé à l'obscurité a été utilisé comme témoin négatif. A chaque 0, 2, 6, 13, 15, 30 et 60 minute (s), des prélèvements ont été réalisés dans chaque réacteur pour les analyses bactériologiques. Ces expériences ont été réalisées à dix reprises. Les différents points repris dans chaque figure représentent la moyenne de dix mesures. Pour chaque série de données l'erreur standard a été calculée (Moyenne \pm SD).

2.6 ANALYSES BACTERIOLOGIQUES

Les milieux Rapid'Ecoli a été utilisé pour la culture des coliformes fécaux. A chaque 0, 2, 4, 6, 13, 15, 30 et 60 minute (s), 1 ml d'eau provenant d'échantillons des tests de photosensibilisation a étéensemencé. Après 24 heures d'incubation à $44,5^\circ\text{C}$, un comptage des colonies a été réalisé.

2.7 ETUDE DU COMPORTEMENT DU SYSTEME APRES LA PHASE DE DESINFECTION

L'étude du comportement du système MOP-5-P après la phase de désinfection a été réalisée exactement comme mentionné dans les points 2.5. et 2.6. Sauf que dans ce cas, avant les tests de photosensibilisation et les analyses bactériologiques, le système MOP-5-P a été au préalable exposé à la lumière pendant deux heures, soit avec une lampe émettant dans le visible (350-750 nm, Halogen Reflector Lamp, GU 10) ou une lampe émettant dans l'ultraviolet (ultraviolet lamp Camag, 254 nm).

3 RESULTATS ET DISCUSSION

3.1 SENSIBILITE DES COLIFORMES FECAUX VIS-A-VIS DE MOP-5 FIXE SUR LE POLYSTYRENE (MOP-5-P)

Les résultats des tests de désinfection de l'eau par photosensibilisation avec le système MOP-5-P sont repris dans la figure 2.

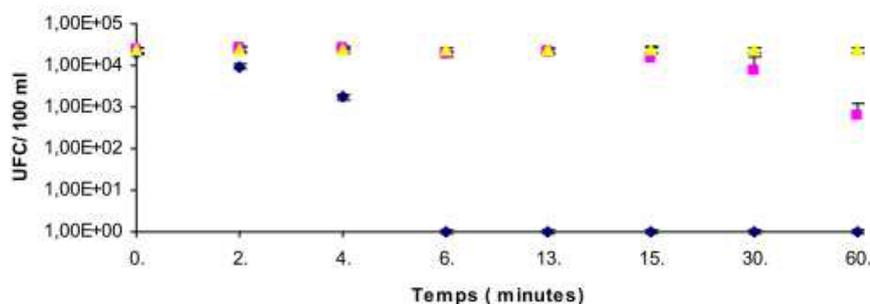


Fig. 2. Inhibition des coliformes fécaux en fonction du temps dans l'eau traitée avec le système MOP-5-P.

- (▲): Eau traitée et gardée à l'obscurité
- (■): Eau non traitée et exposée à la lumière
- (◆): Eau traitée et exposée à la lumière

Après une heure d'expériences, nous n'avons remarqué aucune inhibition des coliformes fécaux dans l'eau traitée avec le système MOP-5-P et gardée à l'obscurité. En ce qui concerne l'eau non traitée et exposée, nous avons noté un abattement négligeable après 60 minutes. L'inhibition complète des coliformes fécaux a été notée après six minutes dans l'eau traitée avec le système MOP-5-P et exposée à la lumière. Ceci montre que le système MOP-5-P est photosensibilisateur et que le méthoxy-5 psoralène (MOP-5) garde ses propriétés photosensibilisatrices après fixation sur le support solide (polystyrène). En comparant ces résultats à ceux obtenus avec la forme libre (non fixée) de MOP-5 [21], nous constatons que le système MOP-5-P présente une photoréactivité accrue. Ceci se justifie d'une part par la turbidité élevée de l'eau traitée avec la forme libre (dispersion de MOP-5 dans l'eau) par rapport à celle traitée avec le système MOP-5-P. Cette turbidité élevée ne permet pas une bonne transmission de lumière dans l'eau traitée avec le MOP-5 libre. En ce qui concerne l'eau traitée avec le système MOP-5-P, la bonne transmission de lumière facilite l'excitation de la molécule fixée sur le polystyrène. Etant dans sa forme excitée, elle initie la réaction de l'inhibition des microorganismes présents dans le milieu [23], [24], [25], [26], [27]. D'autre part, cette différence pourrait être due par l'apport du groupement chromophore ($-C=O$) du polystyrène au méthoxy-5 psoralène. Ceci facilite la circulation des électrons au sein du système, améliorant ainsi sa réactivité.

3.2 INFLUENCE DE L'INTENSITE LUMINEUSE SUR L'ABATTEMENT DES COLIFORMES FECAUX

Les résultats de l'influence de l'intensité lumineuse sur l'abattement des coliformes fécaux sont donnés dans la figure 3.

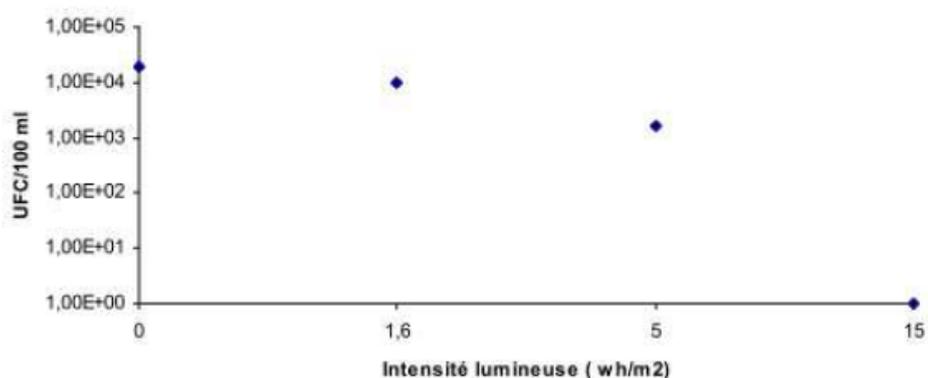


Fig. 3. Influence de l'intensité lumineuse sur l'abatement des coliformes fécaux en présence du système MOP-5-P

Nous avons remarqué que l'inhibition des coliformes fécaux croît avec l'intensité lumineuse. Ceci est conforme à plusieurs études réalisées sur la désinfection photodynamique de l'eau [28], [29], [30], [31].

3.3 COMPORTEMENT DU SYSTEME MOP-5-P APRES LA PHASE DE DESINFECTION

Une deuxième application du système MOP-5-P n'a montré aucune activité photosensibilisatrice vis-à-vis des coliformes fécaux (Voir figure 4.).

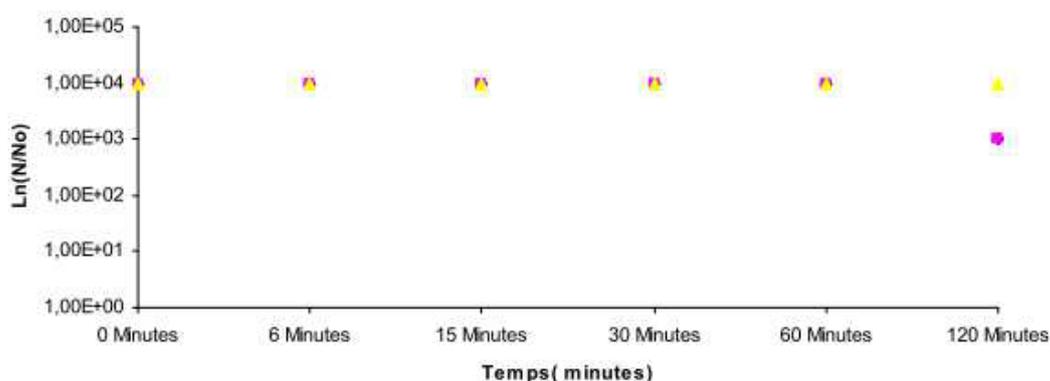


Fig. 4. Inhibition des coliformes fécaux en fonction du temps avec le système MOP-5-P (deuxième application).

- (▲): Eau traitée et gardée à l'obscurité
- (■): Eau non traitée et exposée à la lumière
- (◆): Eau traitée et exposée à la lumière

Cette perte d'activité pourrait se justifier par la formation des liaisons covalentes entre les molécules de méthoxy-5 psoralène, conduisant à la formation des photodimères (cycloaddition [2.2]).

Cherchant à résoudre ce problème, nous avons exploré deux voies:

1. L'irradiation du système (MOP-5-P) avec une lampe halogène émettant entre 340-750 nm (Halogen reflector lamp GU10);
2. L'irradiation du système (MOP-5-P) avec une longueur d'onde inférieure à 340 nm. Dans ce cas, nous avons utilisé une lampe ultraviolette émettant à une longueur d'onde de 254 nm (Camag UV-lamp).

La première voie, celle de l'irradiation du système MOP-5-P avec une lampe halogène, n'a montré aucune régénération. Exploitant la deuxième voie, nous avons remarqué la régénération de l'activité du système après deux heures d'irradiation à 254 nm (voir figure 5.).

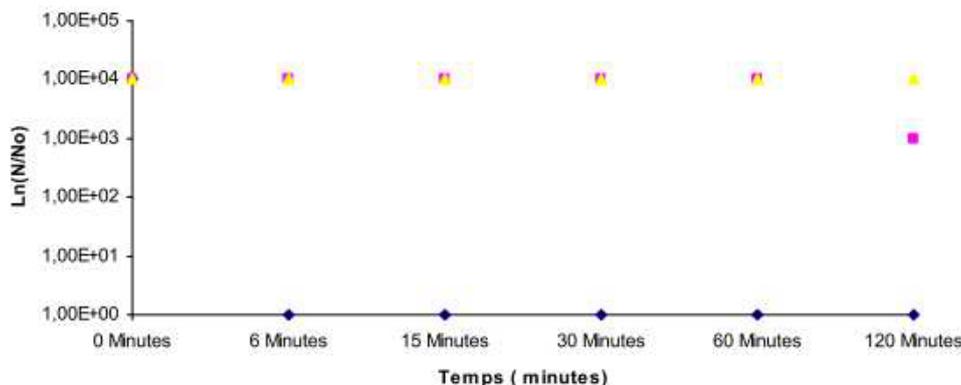


Fig. 5. Inhibition des coliformes fécaux en fonction du temps avec le système MOP-5-P régénéré.

- (▲): Eau traitée et gardée à l'obscurité
- (■): Eau non traitée et exposée à la lumière
- (■): Eau traitée et exposée à la lumière

Etant donné qu'aucune régénération du système MOP-5-P n'a été remarquée après deux heures d'irradiation avec la lampe halogène et que la régénération soit remarquée après deux heures d'irradiation ultraviolette, ceci suppose que la régénération du système (MOP-5-P) dépend de la longueur d'onde utilisée et donc de l'énergie. Pour une faible énergie ($\lambda > 320$ nm: cas de la lampe halogène) aucune régénération n'est constatée. Pour une grande énergie ($\lambda < 320$ nm: cas de la lampe ultraviolette), nous avons remarqué la régénération du système. Cette énergie conduit à l'ouverture des liaisons formées entre les molécules de méthoxy-5 psoralène (Photodimères). Ces liaisons sont donc réversibles. Cette réversibilité est mise en évidence par la régénération de l'activité du système MOP-5-P.

4 CONCLUSION

Nous avons examiné dans le présent article la désinfection de l'eau par photosensibilisation avec le méthoxy-5 psoralène fixé sur le polystyrène.

Les résultats obtenus dans cette étude montrent l'inhibition complète des coliformes fécaux après six minutes d'irradiation (365 nm).

Cette étude montre en outre que la forme fixée MOP-5-P présente une activité photosensibilisatrice accrue par rapport à la forme libre (MOP-5).

Ceci montre que non seulement le méthoxy-5 psoralène garde ses propriétés photosensibilisatrices après fixation sur le polystyrène mais également la molécule voit son activité augmenter.

Une deuxième application du système MOP-5-P n'a montré aucune activité photosensibilisatrice. Ceci est dû à la formation des photodimères entre les molécules de MOP-5 (Cycloaddition [2.2]). La régénération de l'activité du système MOP-5-P passe par l'irradiation de ce dernier à une longueur d'onde de 254 nm.

La sensibilité des parasites et virus vis-à-vis du système MOP-5-P mérite d'être examinée.

REFERENCES

- [1] La sécurité de l'eau: enjeux, défis et solutions, Baromètre de l'Eau et de l'Assainissement, 3^{ème} édition, 2022.
- [2] A.T.Cooper, D.Y. Goswami, Evaluation of methylene blue and rose bengal for dye sensitized solar water treatment, *J. Solar Energy Eng.*, vol.124, pp 305–310, 2002.
- [3] G. Orellana, M.E. Jimenez-Hernandez, D. Garcia-Fresnadillo, Material fotocatalítico y metodo para la desinfeccion de agua, *Photocatalytic Material and Method for Water Disinfection*, vol. 2, pp 226-576, 2005.
- [4] M. Emilia, J. Hernandez, F. Manjon, D. G. Fresnadillo, G. Orellana, Solar water disinfection by singlet oxygen photogenerated with polymer-supported Ru (II) sensitizers, *Solar Energy*, vol. 80, pp 1382–1387, 2006.
- [5] E.C. Ryberg, J. Knight, J.H. Kim, Farm-to-Tap water treatment: Naturally-sourced photosensitizers for enhanced solar disinfection of drinking water, *Engg.*, vol. 1, pp 86-99, 2021.
- [6] F. Majon, L. Villen, D. Fressnadillo, G. Orellana, On the Factors Influencing the Performance of Solar Reactors for water disinfection with Photosensitized Singlet Oxygen, *Environmental Science & Technology*, pp 1-7, 2007.
- [7] D. García-Fresnadillo, Singlet oxygen photosensitizing materials for point-of-use water disinfection with solar reactors, *Chem. PhotoChem*, vol. 2, pp 512–534, 2018.
- [8] A. Hergueta-Bravo, M.E. Jimenez-Hernandez, E. Oliveros, F. Montero, G. Orellana, Singlet oxygen-mediated DNA photocleavage with Ru (II) polypyridyl complexes, *J. Phys. Chem. B*, vol. 106, pp 4010–4017, 2002.
- [9] F. Käsermann, C. Kempf, Inactivation of enveloped viruses by singlet oxygen thermally generated from a polymeric naphthalene derivative, *Antivir. Res.*, vol. 38, pp 55–62, 1998.
- [10] A. Valkov, K. Raik, Y. Sinai, F. Nakonechny, M. Nisnevitch, Water disinfection by immobilized Photosensitizers, *Water*, vol. 11, pp 1-12, 2019.
- [11] F. Nakonechny, A. Pinkus, S. Hai, O. Yehosha, Y. Nitzan, M. Nisnevitch, Eradication of Gram-positive and Gram-negative bacteria by photosensitizers immobilized in polystyrene, *Photochem. Photobiol.*, vol. 89, pp 671–678, 2013.
- [12] Aquacat, L'utilisation de l'oxygène singulet pour la désinfection de l'eau potable, Cordis, Octobre, 2008.
- [13] G.Jori, S. Brown, Photosensitized inactivation of microorganisms, *Photochem. Photobiol.*, vol. 3, pp 403–405, 2004.
- [14] C.S. Foote, Photosensitized oxidation and singlet, consequences in biology systems; free Radicals in biology, Vol.3, ed. by Wa.pryor, Academic Press, Berlin., 1984.
- [15] W. Bors, M. Saran, D. Tait, Oxygen radicals in chemistry and biology, ed.w.de Gruyers, Berlin, pp 344, 1984.
- [16] M. Sunda, Contribution à l'étude de la désinfection de l'eau par photosensibilisation avec des extraits de plantes, Thèse de Doctorat, Université de Liège, 2012.
- [17] K. M. Taba, E. Luwenga, L'effet de la photosensibilisation des extraits de plantes dans la désinfection de l'eau, Med. Fac. Landbouww, Univ.Gent, pp 177-181, 1999.
- [18] M. Sunda., F. Rosillon, 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*, vol.39, pp 199- 209, 2008.
- [19] 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*, Congrès international du Gruttee, 8, Nancy, France, 2009.
- [20] M.Sunda, F. Rosillon, K.M. Taba, B. Wathélet, Contribution à l'étude de la désinfection de l'eau par photosensibilisation avec les extraits de plantes, *Compte rendu de chimie*, vol. 19, pp 827-831, 2016.
- [21] M.Sunda, F. Rosillon, K.M. Taba, B. Wathélet, Contribution a la désinfection de l'eau par photosensibilisation avec des extraits de plantes, *International Journal of Innovation and Applied Studies*, vol. 25, pp 843-850, 2019.
- [22] M. Sunda, F. Rosillon, K.M. Taba, B. Wathélet, Désinfection de l'eau par photosensibilisation avec le méthoxy-5 psoralène fixé sur le polystyrène, *Afrique Science*, vol.17, pp 127-136, 2020.
- [23] D. Faust, K. Funken, G. Horneck, B. Milow, J. Ortner, M. Sattlegger, M. Schäfer, C. Schmitz, Immobilized photosensitizers for solar photochemical applications, *Sol. Energy*, vol. 65, pp 71–74, 1999.
- [24] A. Valkov, F. Nakonechny, M. Nisnevitch, Antibacterial properties of Rose Bengal immobilized in polymer supports, *Appl. Mech. Mat.*, vol. 719, pp 21-24, 2015.
- [25] M. Nowakowska, M. Kepczynski, M. Dabrowska, Polymeric Photosensitizers Synthesis and photochemical properties of poly [(N-isopropylacrylamide) -co- (vinylbenzyl chloride)] containing covalently bound rose bengal chromophores, *Macromol. Chem. Phys.*, vol.202, pp 1679–1688, 2001.
- [26] M. Nisnevitch, S.Lugovskoy, A. Pinkus, F. Nakonechny, Y. Nitzan, Antibacterial activity of photosensitizers immobilized onto solid supports via mechanochemical treatment, *Photochem. Photobiol.*, vol. 9, pp 1–23. 2014.
- [27] F. Bordin, Photochemical and photobiological properties of furocoumarins and homologous drug, *International Journal of Photoenergy*, vol. 1, pp 1-6, 1999.
- [28] M Berney, H Weillenmann, A. Simonetti, T. Egli, Efficacy of Solar disinfection of *Escherichia coli*, *shigella flexneri*, *Salmonella typhimurium* and *vibrio Cholerea*, *Journal of Applied microbiology*, vol. 101, pp 828, 2006.

- [29] A, Benabbou, C. Guillard, S. Pigeot-Remy, C. Cantau, T. Pigot, P. Lejeune, Z. Derriche, S. Lacombe, Water disinfection using photosensitizers supported on Silica, *Journal of photochemistry and photobiology A*, vol. 29, pp 101-108, 2011.
- [30] M. Jemli, Z. Alouini, S. Sabbahi, M. Gueddari, Destruction of fecal bacteria in waste water by three photo-sensitizers, *J. Environ. Monit*, vol. 4, pp 511–516, 2000.
- [31] M Ince, O. Seven, B Dondar, Synthesis, Characterization and the Photodynamic Activity against Some Gram negative and positive Bacteria of Novel Subphthalocyanine Derivative, *GU J. Sci.*, vol. 26, pp 1-10, 2013.