

Désinfection de l'eau par l'oxygène singulet généré par la photosensibilisation des extraits de plantes

[Water disinfection by singlet oxygen generated by photosensitization of plant extracts]

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

¹Université de Kinshasa, Faculté des Sciences et Technologies, Département de Chimie et Industrie, B.P.190, Kinshasa XI, RD Congo

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

³Université de Liège, Unité de Chimie et Biologie Industrielle, Passage des déportés, 2.B-5030, Gembloux, Belgium

Copyright © 2026 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 Bergamot essential oil. The results obtained show negligible inhibition of fecal coliforms in untreated water exposed to light. In contrast, for treated water exposed to light, complete inhibition of fecal coliforms was observed after one hour of exposure. In treated water kept in the dark, no inhibition of fecal coliforms was observed from the beginning to the end of the experiments. The activity observed in this oil is due to 5-methoxypsoralen (MOP-5). In the presence of light, this molecule is excited ($^1\text{MOP-5}^*$). The singlet excited form undergoes an intersystem crossing (transition from the singlet to the triplet state); from the triplet state, the 5-methoxypsoralen ($^3\text{MOP-5}^*$) transfers its energy to triplet oxygen ($^3\text{O}_2$). The triplet oxygen undergoes a transition from a triplet to a singlet state ($^1\text{O}_2^*$). The singlet oxygen generated initiates a series of reactions with biomolecules, particularly the nitrogenous bases of DNA. These photo-oxidation reactions lead to the destruction of microorganisms.

KEYWORDS: Photosensitization, bergamot essential oil, fecal coliforms, 5-methoxy psoralen, singlet oxygen ($^1\text{O}_2$).

RESUME: La présente étude consiste en la désinfection de l'eau par photosensibilisation avec l'huile essentielle de bergamote. Les résultats obtenus dans cette étude montrent une inhibition négligeable des coliformes fécaux dans l'eau non traitée et exposée à la lumière. Par contre, pour l'eau traitée et exposée à la lumière, on observe une inhibition complète des coliformes fécaux après une heure d'exposition. Dans l'eau traitée et gardée à l'obscurité, aucune inhibition des coliformes fécaux n'a été constatée du début à la fin des expériences. Cette activité remarquée dans cette huile est due au méthoxy-5 psoralène (MOP-5). En présence de lumière, cette molécule passe à l'état excité ($^1\text{MOP-5}^*$). Elle subit par la suite un croisement intersystème (passage de l'état singulet à l'état triplet). A partir de l'état triplet, le méthoxy-5 psoralène ($^3\text{MOP-5}^*$) transfère son énergie à l'oxygène triplet ($^3\text{O}_2$). Ce dernier passe de l'état triplet à l'état singulet ($^1\text{O}_2^*$). L'oxygène singulet ainsi généré initie une série de réactions avec les biomolécules, notamment les bases azotées de l'ADN. Ces réactions de photo-oxydation aboutissent à la destruction des microorganismes présents dans le milieu.

MOTS-CLES: Photosensibilisation, l'huile essentielle de bergamote, coliformes fécaux, méthoxy-5 psoralène, oxygène singulet ($^1\text{O}_2$).

1 INTRODUCTION

Un quart de la population mondiale n'a pas accès à l'eau de bonne qualité [1].

L'absence d'installations adéquates de traitement de l'eau est le principal problème lié au manque d'eau de bonne qualité. 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 ainsi que 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. Malheureusement, 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 photosensibilisation.

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 [7], [8].

Lors de l'étude de la désinfection de l'eau par photosensibilisation avec les extraits de plantes, Taba et *al.* ont montré que les extraits aqueux de *Cassia alata*, *Cassia occidentalis* et *Carica papaya* avaient un effet photosensibilisateur [7]. Malheureusement, cette activité n'est significative que lorsque le milieu est saturé en oxygène (barbotage). Pour résoudre ce problème, 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 élevée de *Citrus bergamia* par rapport aux deux autres plantes précitées. Nous poursuivons cette étude en étudiant la photoréactivité de l'huile essentielle de *Citrus bergamia* (bergamote) dans l'ultra-violet proche (320-400 nm) et le comportement des microorganismes après la phase de désinfection. Le mécanisme de destruction des microorganismes est également discuté.

2 MATERIEL ET METHODES

2.1 L'EAU POLLUEE

L'eau à traiter provenait de la rivière Semois, en Belgique. Cette eau contenait 25.10^3 UFC coliformes fécaux / 100 ml.

2.2 EXTRACTION DE L'HUILE ESSENTIELLE DE BERGAMOTE

L'huile essentielle de bergamote a été extraite des zestes par entraînement à la vapeur.

2.3 ANALYSE SPECTROMETRIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE DE BERGAMOTE

L'analyse de l'huile essentielle de bergamote a été réalisée par la spectrométrie de masse (S.M.). La méthode APCI+ (Atmospheric Pressure Chemical Ionisation, Positive mode) a été utilisée.

2.4 PREPARATION DES ECHANTILLONS D'EAU

Les boîtes en verre de pyrex de 100 ml ont été utilisées comme réacteurs. La concentration de 0.05 ml / 50 ml d'eau (1 ml d'huile essentielle / 1 litre d'eau) d'huile essentielle de bergamote 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 à la radiation ultraviolette (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. Aussi, l'huile essentielle de bergamote contient des molécules photoactives qui absorbent dans cette zone (320-400 nm). En outre, cette zone est contenue dans le spectre solaire qui touche la surface de la terre. Les expériences ont été réalisées avec une intensité lumineuse de $8900 \mu W.Cm^{-2}$. Celle-ci a été mesurée avec un pyranomètre CMP3 (Kipp & Zoonen). La lampe a été positionnée à 25 cm des échantillons d'eau. Un autre lot constitué d'échantillons d'eau traités avec l'huile essentielle de bergamote a été gardé à l'obscurité. A 0, 10, 20, 30, 60 et 120 minute (s), des prélèvements sont effectués dans chaque lot pour la mise en culture. Ces expériences ont été réalisées à trois reprises. Les différents points repris dans chaque figure représentent la moyenne de trois mesures. Pour chaque série de données, l'erreur standard a été calculée (Moyenne \pm SD).

2.5 ANALYSES BACTERIOLOGIQUES

Les analyses bactériologiques ont été réalisées par la mise en culture sur milieu gélosé Rapid'E Coli. 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 CARACTERISATION DE L'HUILE ESSENTIELLE DE BERGAMOTE

L'analyse spectrométrique de l'huile essentielle de bergamote a révélé plusieurs composés (voir figure 1), parmi lesquels le limonène (136: M+1), l' α -pinène (137: M+1), l'anthranilate de méthyle (M+1: 166) et le méthoxy-5 psoralène (217: M+1). De tous ces composés, le méthoxy-5 psoralène est cité par plusieurs auteurs comme molécule à activité photosensibilisatrice [10], [11], [12], [13], [14].

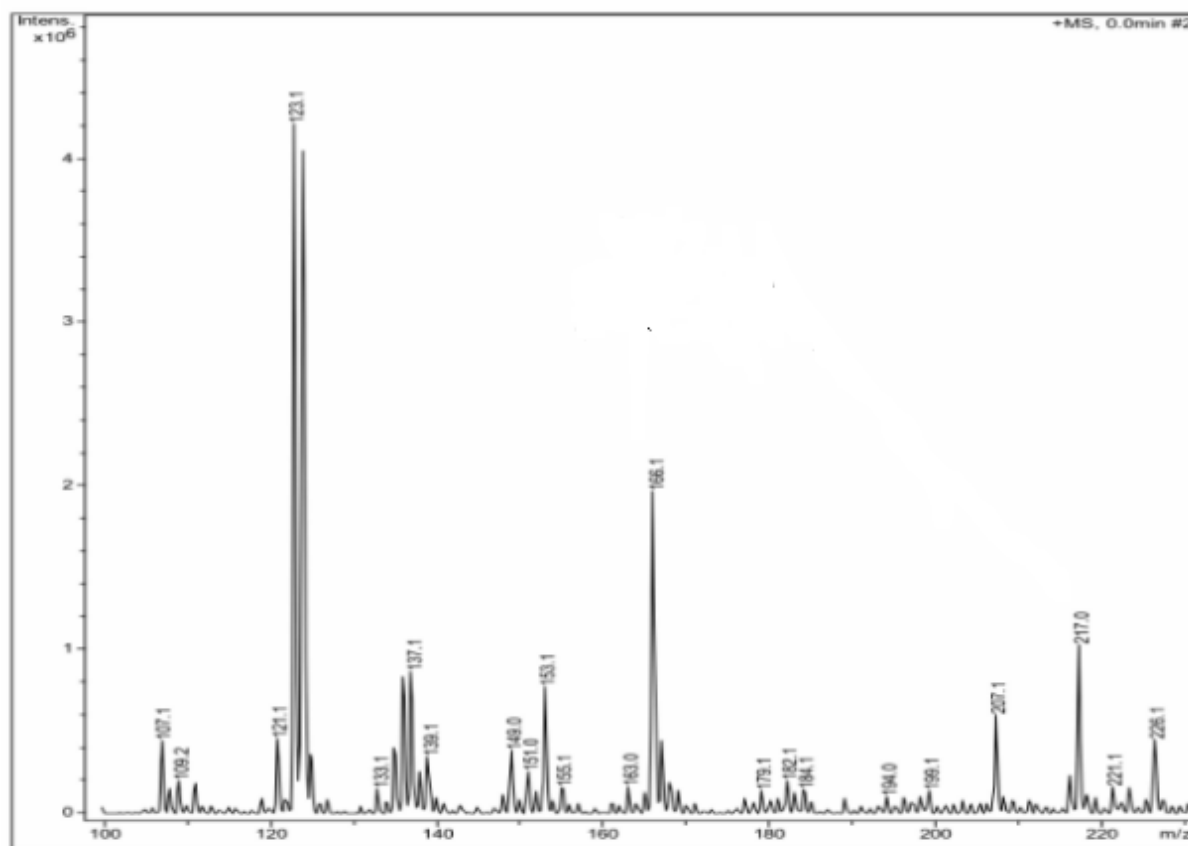


Fig. 1. Spectre de masse de l'huile essentielle de bergamote (LC/MS)

3.2 DESINFECTION DE L'EAU AVEC L'HUILE ESSENTIELLE DE BERGAMOTE: PHOTOSENSIBILISATION ET POST PHOTOSENSIBILISATION

3.2.1 PHOTOSENSIBILISATION

Les échantillons d'eau traités avec l'huile essentielle de bergamote ont été exposés à la lumière pendant deux heures, puis gardés à l'obscurité pendant 24 heures. Les résultats de cette étude sont repris dans la figure 2.

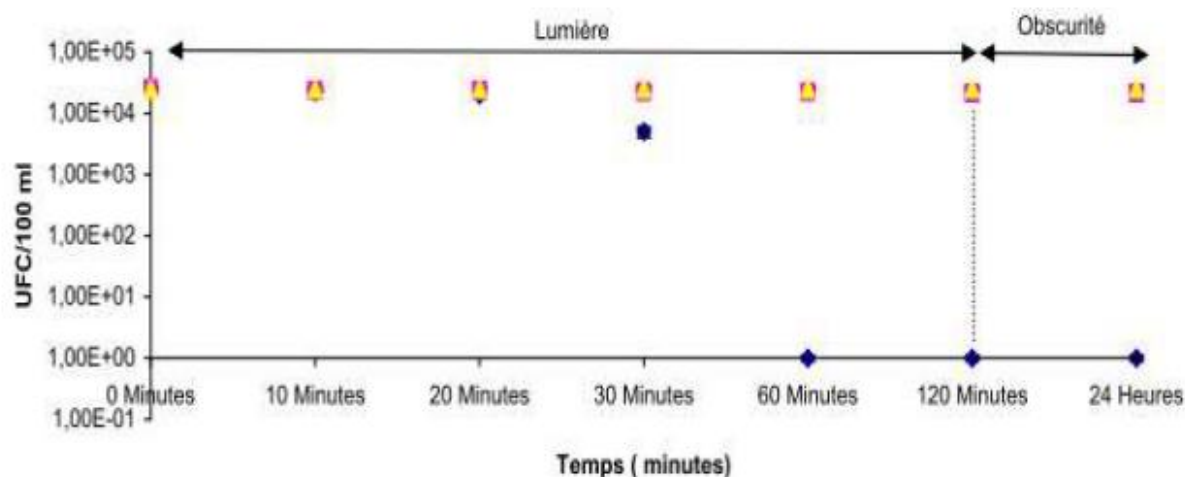


Fig. 2. Abattement des coliformes fécaux en fonction du temps dans l'eau traitée avec l'huile de bergamote

- (■) Eau non traitée et exposée à la lumière pendant deux heures, puis gardée à l'obscurité pendant 24 heures.
- (◆) Eau traitée avec l'huile de bergamote et exposée à la lumière pendant deux heures, puis gardée à l'obscurité pendant 24 heures.
- (▲) Eau traitée avec l'huile de bergamote et gardée en permanence à l'obscurité

L'eau traitée avec l'huile essentielle de bergamote et exposée à la lumière a montré de très bons résultats (voir figure 2). En effet, après 60 minutes d'exposition, il a été constaté un abattement de plus de 4 unités logarithmiques (inhibition complète des coliformes fécaux). Aucune inhibition significative n'a été notée après 60 minutes dans l'eau non traitée et exposée à la lumière (témoin). Dans l'eau traitée avec l'huile de bergamote et gardée à l'obscurité, aucune inhibition n'a été notée du début à la fin des expériences. Ces observations laissent supposer que l'action conjuguée de l'huile essentielle de bergamote et de la lumière induit une réaction qui conduit à l'inhibition des coliformes fécaux présents dans l'eau. Cette réactivité induite par l'huile essentielle de bergamote est essentiellement due à la présence de méthoxy-5 psoralène (voir figure 1, pic (M+1: 217)). 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.

Le méthoxy-5 psoralène est capable de réagir avec l'ADN de la cellule bactérienne avec lequel il forme un complexe à l'obscurité. Ce complexe n'a pas d'effet biologique significatif sur l'ADN. Mais en présence des UVA (320-400nm), il se développe une réaction de photoaddition (2+2) conduisant à la formation d'un pont cyclobutane entre le méthoxy-5 psoralène et les bases azotées de l'ADN (voir figure 3). Celle-ci aboutit à l'inhibition de la duplication de l'ADN et la transcription de l'ARN [15], [16], [17], [18], [19]. Ces perturbations entraînent par la suite la mort de la cellule bactérienne. Cette réaction, appelée photoréaction du type I, est favorisée en absence d'oxygène.

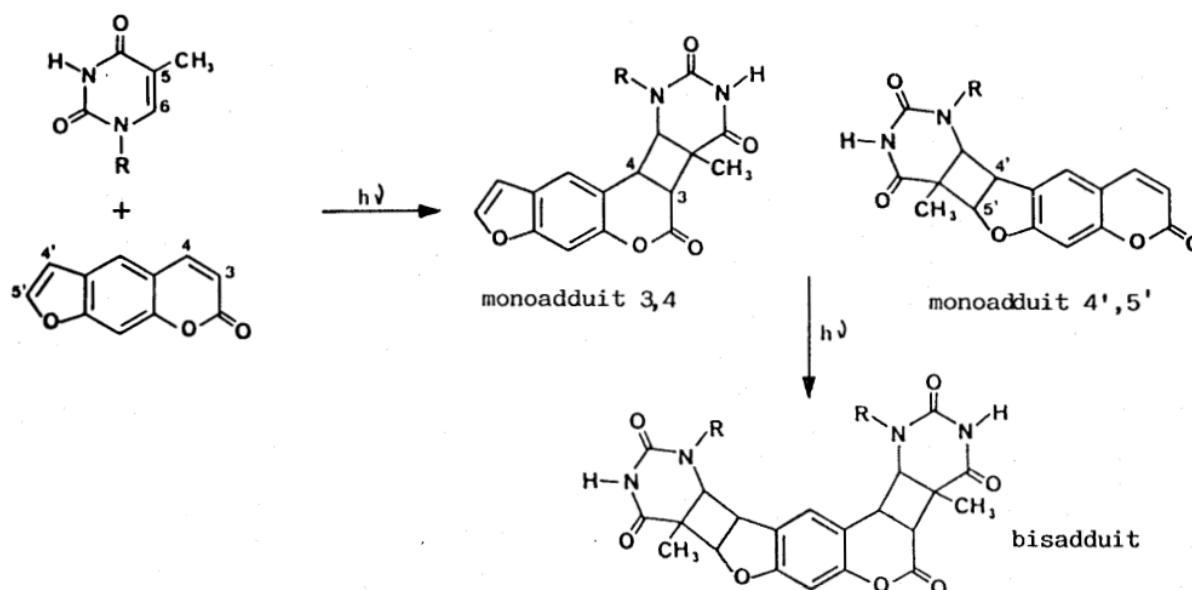


Fig. 3. Photoréaction entre le psoralène et la thymine aboutissant au pont cyclobutane

Par contre, en présence de l'oxygène, le méthoxy-5 psoralène conduit à une photoréaction du type II. En effet, en présence d'oxygène, le méthoxy-5 psoralène passe par l'état triplet en subissant une conversion intersystème (CIS). Par la suite, il y a transfert d'énergie triplet-triplet de méthoxy-5 psoralène triplet ($^3\text{MOP-5}^*$) vers l'oxygène fondamental triplet ($^3\text{O}_2$). Ce dernier passe de l'état fondamental, triplet, à l'état excité, singulet ($^1\text{O}_2^*$). L'oxygène singulet, puissant électrophile, attaque et endommage les molécules riches en électrons, notamment les bases azotées de l'ADN [20], [21], [22], [23], [24], [25]. Il s'en suit une mort certaine de la cellule bactérienne [26], [27], [28], [29], [30], [31]. Le mécanisme de l'oxydation de guanine, une des bases azotées de l'ADN, par l'oxygène singulet est présenté dans la figure 4.

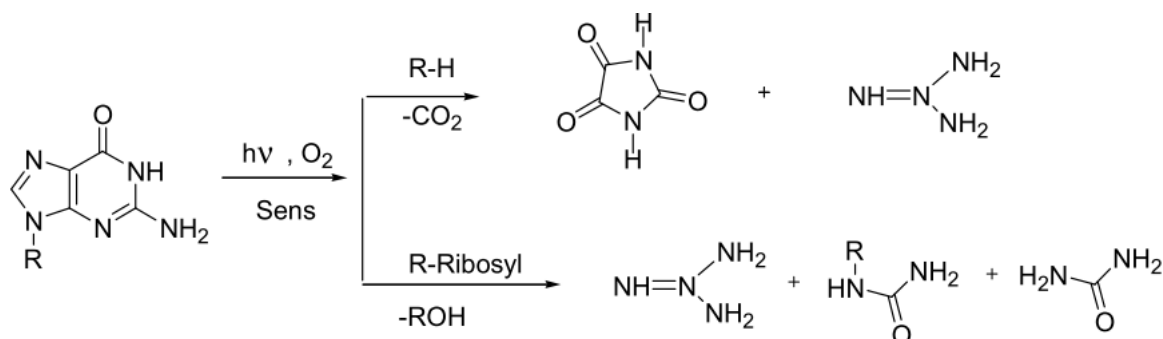


Fig. 4. Mécanisme de photooxydation de guanine

3.2.2 POST PHOTOSENSIBILISATION

Les échantillons d'eau traités avec l'huile de bergamote et exposés à la lumière pendant deux heures, puis gardés à l'obscurité pendant 24 heures ont été analysés pour vérifier si dès l'arrêt du processus, il n'y a pas de réactivation possible des coliformes fécaux. Les résultats de ces analyses sont repris dans la figure 5.

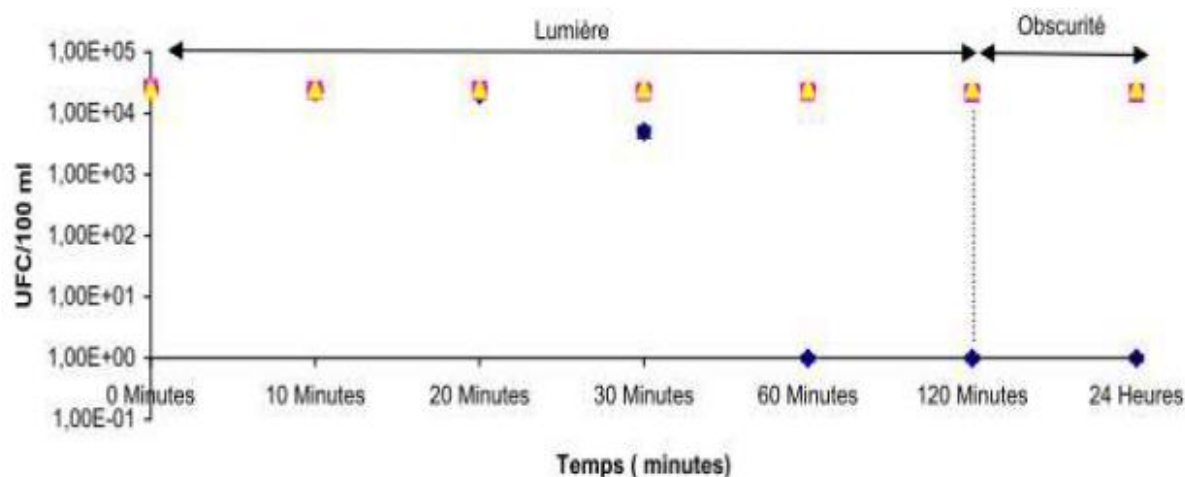


Fig. 5. Eau traitée avec l'huile essentielle de bergamote et exposée à la lumière pendant deux heures, puis gardée à l'obscurité pendant 24 heures

(■) Eau non traitée et exposée à la lumière pendant deux heures, puis gardée à l'obscurité pendant 24 heures.

(◆) Eau traitée avec l'huile de bergamote et exposée à la lumière pendant deux heures, puis gardée à l'obscurité pendant 24 heures.

(▲) Eau traitée avec l'huile de bergamote et gardée en permanence à l'obscurité

Aucune réapparition des coliformes fécaux n'a été remarquée après la phase de photosensibilisation. Ceci montre que l'action conjuguée de lumière et de l'huile essentielle de bergamote conduit à la destruction définitive des coliformes fécaux.

3.3 DESINFECTION DE L'EAU DANS LES ECHANTILLONS NON TRAITES ET EXPOSES A LA LUMIERE: PHOTOLYSE ET POST PHOTOLYSE

3.3.1 PHOTOLYSE

Les résultats de tests des échantillons d'eau non traités et exposés à la lumière sont repris dans la figure 6.

Un abattement de l'ordre de 0,2 unité logarithmique a été noté. Cette inhibition constatée pourrait se justifier par l'action directe des UVA sur les coliformes fécaux présents dans l'eau.

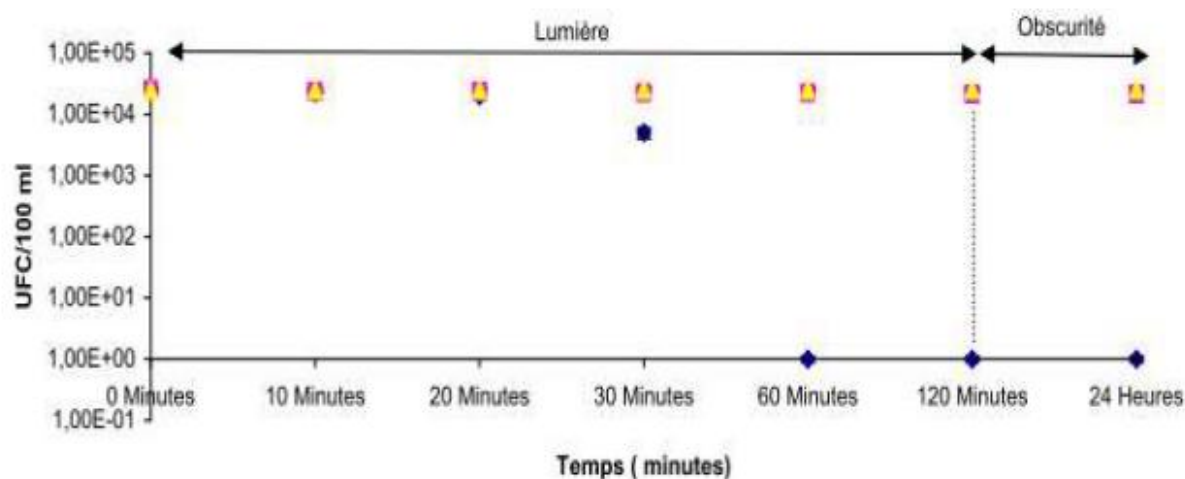


Fig. 6. Evolution des échantillons d'eau exposée à la lumière pendant deux heures, puis gardée à l'obscurité pendant 24 heures

(■) Eau non traitée et exposée à la lumière pendant deux heures, puis gardée à l'obscurité pendant 24 heures.

(◆) Eau traitée avec l'huile de bergamote et exposée à la lumière pendant deux heures, puis gardée à l'obscurité pendant 24 heures.

3.3.2 POST PHOTOLYSE

Les résultats de tests de désinfection de l'eau non traitée, exposée à la lumière pendant 2 heures et gardée par la suite à l'obscurité pendant 24 heures sont repris dans la figure 6.

Une légère augmentation des coliformes fécaux de l'ordre de 0,02 unité logarithmique a été notée à l'obscurité pour les échantillons d'eau non traités et exposés à la lumière. Cette augmentation pourrait se justifier par la réparation de l'ADN de la cellule bactérienne dans la phase d'obscurité. En effet, après avoir subi des dommages par l'action directe des UVA, si ces dommages ne sont pas graves, l'ADN peut subir une réparation et retrouver son état initial.

4 CONCLUSION

La présente étude était axée sur la désinfection de l'eau par photosensibilisation avec l'huile essentielle de bergamote. Les résultats trouvés dans ce travail montrent une inhibition complète des coliformes fécaux présents dans le milieu après une heure d'exposition à la lumière. En ce qui concerne les échantillons d'eau non traitée et exposée à la lumière, nous avons constaté une inhibition négligeable du début à la fin des expériences. Pour ce qui est des échantillons d'eau traitée et gardée à l'obscurité, aucune inhibition n'a été notée du début à la fin des expériences. Ceci montre que l'action conjuguée de l'huile essentielle de bergamote et de lumière conduit à la destruction des coliformes fécaux présents dans l'eau. Aucune réactivation des coliformes fécaux n'a été constatée dans l'eau traitée et exposée à la lumière 24 heures après les analyses.

Les études supplémentaires s'avèrent nécessaires notamment en ce qui concerne la détermination du rendement quantique de formation du triplet de méthoxy-5 psoralène à partir de son état singulet. La durée de vie de la population du premier état triplet (T_1) du MOP-5 doit également être déterminée.

REFERENCES

- [1] Organisation des Nations Unies, Semaine mondiale de l'eau, Août 2025.
- [2] 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.
- [3] F. Majon, L. Villen, D. Fresnadillo, 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.
- [4] 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.
- [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] G. Orellana, M.E. Jimenez-Hernandez, D. Garcia-Fresnadillo, Material fotocatalítico y metodo para la desinfección de agua, *Photocatalytic Material and Method for Water Disinfection*, vol. 2, pp 226-576, 2005.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] 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.
- [10] F. Bordin, Photochemical and photobiological properties of furocoumarins and homologous drug, *International Journal of Photoenergy*, vol. 1, pp 1-6, 1999.
- [11] A. Anders, W. Popper, C.Herkert, E.Niemann, Investigation on the mechanism of photodynamic action of different psoralens with DNA, *Biophys. Struct.*, Mech 10, pp 11-30, 1983.
- [12] K.D. Zacher, H. Ippen, Contact dermatitis caused by bergamot oil, *Derm Beruf umwelt*, 32 (3), pp.95, 1984.
- [13] M. Naganuma, S. Hirose, Y. Nakayama, K. Nakajima, T. Someya; A study of the phototoxicity of lemon oil, *Dermatological Research*, 278, pp 31-36, 1985.
- [14] M.A. Pathak and P.C. Joshi, The nature and molecular basis of cutaneous photosensitivity to psoralen and coal., *J. Invest Dermatol.*, 80, pp 66-74, 1983.
- [15] C.Courseille, B. Georges, B. Jean, Etude des interactions Psoralène Acides Nucléiques, *Acta Cryst.*, B38, pp 1252-125, 1982.
- [16] J.L. Decout, H.Georges, J. Lhomme, Synthetic models related to DNA-intercalating molecules-highly selective and reversible photoreaction between the thymine and psoralen rings, *Journal de Chimie*, 8, pp 433, 1984.
- [17] M. Sunda, F. Rosillon, K.M. Taba, B. Wathelet, Désinfection de l'eau par photosensibilisation avec le méthoxy-5 psoralène fixé sur le polystyrène, *Afrique Science*, vol.17, pp 127-136, 2020.
- [18] V.Machet, L.Vaillant, Dermatologie en gynécologie obstétrique, 2^{ème} éd., Masson, 157p., 2006.
- [19] M. Cain, H.Damman., R.Lue, C. Yoon, Découvrir la Biologie, De boeck, 241p., 2006.

- [20] P.Douzou, Singlet oxygen as oxidizing intermediate and photodynamic action, *Res.Prog.Org.Biol.Med.Chem.*, 3, pp.37–47, 1972.
- [21] R.M. Tyrrell, Role for singlet oxygen in biological effects of ultraviolet A radiation, *Methods Enzymol.*, 319, pp 290–296, 2000.
- [22] H. Sies, C.F.M. Menck, Singlet oxygen induced DNA damage, *Mutat. Res.*, 275, pp 367–375, 1992.
- [23] B. Epe, J. Hegler, D. Wild, Singlet oxygen as an ultimately reactive species in *Salmonella typhimurium* DNA damage induced by methylene blue visible-light, *Carcinogenesis*, 10, pp. 2019–2024, 1989.
- [24] E. vanden, J.T. Lutgerink, M.V.M. Lafleur, H. Joenje, J. Retel, The formation of one-G deletion as a consequence of singlet oxygen-induced DNA damage, *Mutat. Res.*, 309, pp. 45–52, 1994.
- [25] S.Y. Kim, Control of singlet oxygen-induced oxidative damage in *Escherichia coli*, *J. Biochem. Mol. Biol.*, 35, pp. 353–357, 2002.
- [26] 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.
- [27] Aquacat, L'utilisation de l'oxygène singulet pour la désinfection de l'eau, Cordis, Octobre 2008.
- [28] 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.
- [29] M.Sunda, F. Rosillon, K.M. Taba, B. Wathelet, 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.
- [30] M.C. Derosa and R.J. Crutchley, Photosensitized singlet oxygen and its applications, *Coordination Chemistry reviews*, 233-234, pp 351-371, 2002.
- [31] M.Sunda, F. Rosillon, K.M. Taba, B. Wathelet, Contribution à 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.