

Utilisation de la photosensibilisation des extraits de plantes pour l'amélioration de la désinfection solaire de l'eau

[Improvement of solar water disinfection by photosensitization of plant extracts]

Teddy Makuba SUNDA¹, Nicolas Kalulu Muzele TABA¹, and Francis ROSILLON²

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

Copyright © 2024 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: This study aimed to improve solar water disinfection through the use of photosensitizing substances (coumarin extracts of *Citrus reticulata*, *Citrus aurantium* and *Citrus maxima*). Solar disinfection shows negligible inhibition of fecal coliforms after 60 minutes of exposition to the sunlight. On the other hand, for photodynamic disinfection, complete inhibition is noted after 60 minutes of exposition.

Regarding fecal enterococci, negligible inhibition is noted after 30 minutes for solar disinfection. On the other hand, for all coumarin extracts (*Citrus reticulata*, *Citrus aurantium* and *Citrus maxima*), complete inhibition is noted after 30 minutes of exposition to the sunlight.

These results show that the use of coumarin extracts of *Citrus reticulata*, *Citrus aurantium* and *Citrus maxima* significantly improves solar disinfection. Additionally, these results show that fecal enterococci are more sensitive to photodynamic disinfection than fecal coliforms. This difference in sensitivity is due to the constitution of their cell walls. The wall of fecal coliforms (Gram-) is rich in lipopolysaccharides. These constitute a barrier to the passage of singlet oxygen. Whereas, the wall of fecal enterococci (Gram+) is easily penetrated by singlet oxygen (¹O₂) because it lacks lipopolysaccharides. After its passage, singlet oxygen destroys cellular constituents. This leads to the death of the bacterial cell.

KEYWORDS: photosensitization, coumarin extracts, singlet oxygen, fecal coliforms, fecal enterococci, sunlight.

RESUME: Cette étude a visé l'amélioration de la désinfection solaire de l'eau par l'utilisation des substances photosensibilisatrices (extraits coumariniques de *Citrus reticulata*, *Citrus aurantium* et *Citrus maxima*). La désinfection solaire montre une inhibition négligeable des coliformes fécaux après 60 minutes d'ensoleillement. Par contre, pour la désinfection photodynamique, l'inhibition complète est notée après 60 minutes d'ensoleillement.

En ce qui concerne les entérocoques fécaux, une inhibition négligeable est notée après 30 minutes pour la désinfection solaire. Par contre, pour tous les extraits coumariniques (*Citrus reticulata*, *Citrus aurantium* et *Citrus maxima*), l'inhibition complète est notée après 30 minutes d'ensoleillement.

Ces résultats montrent que l'utilisation des photosensibilisateurs (extraits coumariniques de *Citrus reticulata*, *Citrus aurantium* et *Citrus maxima*) améliore sensiblement la désinfection solaire. Ces résultats montrent en outre que les entérocoques fécaux sont plus sensibles à la désinfection photodynamique que les coliformes fécaux. Cette différence de sensibilité est due à la constitution de leurs parois cellulaires. La paroi des coliformes fécaux (Gram-) est riche en lipopolysaccharides. Ceux-ci constituent une barrière au passage de l'oxygène singulet. Par contre, la paroi des entérocoques fécaux (Gram+), étant dépourvue des lipopolysaccharides, est facilement traversée par l'oxygène singulet. Après son passage, l'oxygène singulet détruit les constituants cellulaires. Il en résulte une mort certaine de la cellule bactérienne.

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

1 INTRODUCTION

Environ 2,2 milliards d'êtres humains dans le monde n'ont pas accès à l'eau potable. Toutes les 2 minutes, un enfant de moins de 5 ans meurt à cause du manque d'accès à l'eau potable [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 [2].

L'approche au niveau familial ou individuel consiste à faire bouillir de l'eau ou à faire usage des produits chlorés. Mais ces méthodes de traitement de l'eau posent des problèmes. Bouillir de l'eau exige beaucoup d'énergie que le monde rural trouve dans le bois. Ce type de traitement n'est pas approprié car il peut conduire à la déforestation. Les méthodes courantes de traitement de l'eau utilisant le chlore et ses dérivés, l'ozone, les lampes ultraviolettes sont coûteuses et souvent inaccessibles aux populations déshéritées.

La désinfection de l'eau par la lumière solaire, une ancienne technique, simple, devrait en principe être une bonne alternative pour la désinfection de l'eau pour les populations des pays pauvres [3], [4], [5]. L'énergie solaire est universellement présente, durable aussi longtemps qu'il y aura la vie sur terre. Toutefois, l'efficacité de cette technique est souvent mise en doute à cause du manque d'indicateur d'exposition de l'eau au soleil et surtout des variations des conditions climatiques [4]. Celle-ci peut être améliorée par l'usage de l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$) généré par l'action conjuguée des sensibilisateurs de lumière et de l'oxygène [6], [7], [8].

Les effets néfastes des sensibilisateurs de lumière et de l'oxygène sont connus sous le nom de photosensibilisation [9], [10], [11]. L'action photodynamique néfaste et létale sur les micro-organismes tels que les virus, les algues, les champignons, les protozoaires, les plantes et les animaux multicellulaires est associée à l'oxygène singulet généré dans le milieu [12], [13], [14].

L'oxygène singulet généré attaque et endommage la plupart des biomolécules et entraîne ainsi la mort cellulaire ou tissulaire. 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 [15], [16]. Certaines plantes utilisées dans la pharmacopée traditionnelle pour soigner les infections microbiennes et parasitaires sont capables de générer l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$) [17], [18].

L'étude de la désinfection de l'eau par photosensibilisation avec les extraits coumariniques de *Citrus reticulata*, *Citrus aurantium* et *Citrus maxima* a montré une inhibition complète des coliformes fécaux après une heure d'ensoleillement. Cela, contrairement à la désinfection solaire où l'inhibition complète des coliformes fécaux a été observée après quatre heures d'ensoleillement [19]. Nous poursuivons cette étude en dressant cette fois-ci un tableau comparatif de sensibilité des coliformes fécaux (Gram-) et entérocoques fécaux (Gram+) vis-à-vis des extraits coumariniques de *Citrus reticulata*, *Citrus aurantium* et *Citrus maxima*.

2 MATERIEL ET METHODES

2.1 MATERIEL VEGETAL

Le matériel végétal utilisé dans la présente étude est constitué des zestes de *Citrus reticulata*, *Citrus aurantium* et *Citrus maxima*. 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, en République Démocratique du Congo. Celle-ci contenait environ 3×10^2 et 10^2 UFC/ml, respectivement des coliformes et entérocoques fécaux.

2.3 LA SOURCE LUMINEUSE

Comme source de lumière, 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 [20], [21].

2.4 EXTRACTION DES COUMARINES

Les zestes ont été séchés dans un endroit sec et aéré, à l'abri de lumière pendant deux mois. Par la suite, ceux-ci ont été entièrement broyés en vue de l'obtention d'une poudre fine. Par après, 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 procède à la filtration. Après filtration, le filtrat obtenu est concentré à pression réduite. Celui-ci subit des extractions successives au dichlorométhane. L'extraction est répétée trois fois. Les phases organiques obtenues sont séchées sur du sulfate de sodium anhydre Na_2SO_4 pour éliminer toute trace d'eau.

2.5 TESTS DE PHOTOSENSIBILISATION

Les réacteurs utilisés dans cette étude sont des boîtes en verre de pyrex de 100 ml de capacité. 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. Pour chaque série de données, l'erreur standard a été calculée (moyenne \pm SD).

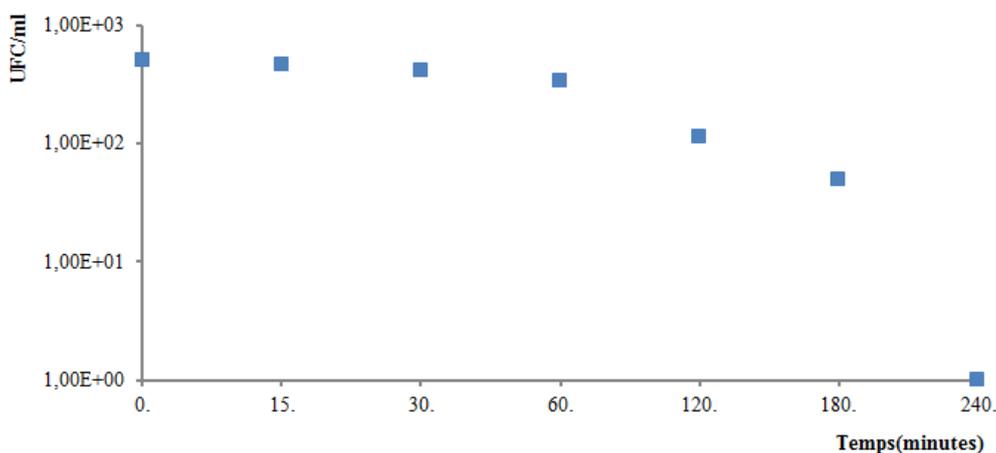
2.6 ANALYSES BACTERIOLOGIQUES

Les milieux Rapid'Ecoli et Bile Esculine ont été respectivement utilisés pour l'analyse des coliformes et entérocoques fécaux. A chaque 0, 15, 30, 60, 120, 180 et 240 minute, 1 ml d'eau a été prélevé pour la mise en culture. 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

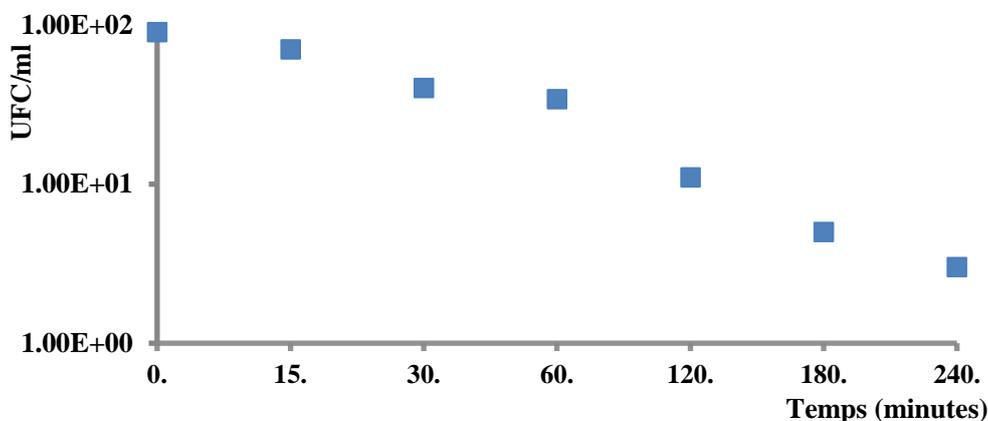
3.1 DESINFECTION SOLAIRE DE L'EAU

Les résultats des tests de désinfection solaire sont repris dans les figures 1 et 2.



■ Eau non traitée et exposée au soleil

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

Fig. 2. Abattement d'entérocoques fécaux en fonction du temps dans l'eau non traitée et exposée au soleil

Ces résultats montrent des inhibitions négligeables tant pour les coliformes que les entérocoques fécaux après une heure d'ensoleillement. L'inhibition complète des coliformes fécaux est notée après quatre heures d'ensoleillement. En ce qui concerne les entérocoques fécaux, nous avons remarqué la présence des colonies jusqu'à la quatrième heure. Ceci montre que l'effet synergique de la température et des ultraviolets conduit progressivement à l'élimination des coliformes et entérocoques fécaux contenus dans l'eau. Mais il faut suffisamment de temps pour que ceux-ci soient complètement détruits [22], [23].

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. Les extraits coumariniques de *Citrus reticulata*, *Citrus aurantium* et *Citrus maxima* ont été utilisés comme agents photosensibilisateurs dans le cadre de cette étude.

3.2 DESINFECTION DE L'EAU PAR PHOTOSENSIBILISATION AVEC LES EXTRAITS COUMARINIQUES DE CITRUS RETICULATA, CITRUS AURANTIUM ET CITRUS MAXIMA.

3.2.1 SENSIBILITE DES COLIFORMES FECAUX

Les résultats des tests de désinfection de l'eau par photosensibilisation avec les extraits coumariniques sont repris dans les figures 3, 4 et 5.

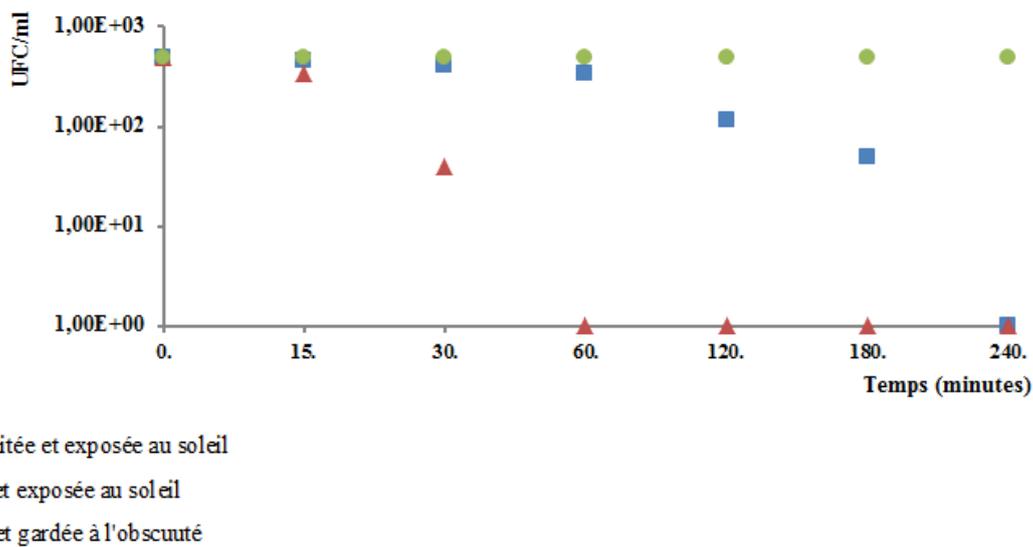


Fig. 3. Abattement des coliformes fécaux en fonction du temps en utilisant l'extrait de *Citrus reticulata*

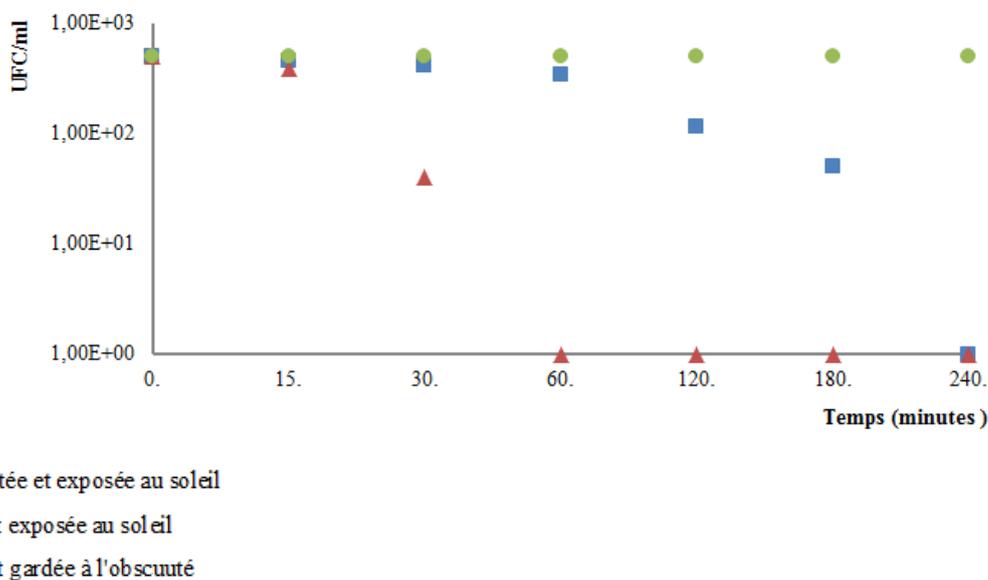


Fig. 4. Abattement des coliformes fécaux en fonction du temps en utilisant l'extrait de *Citrus aurantium*

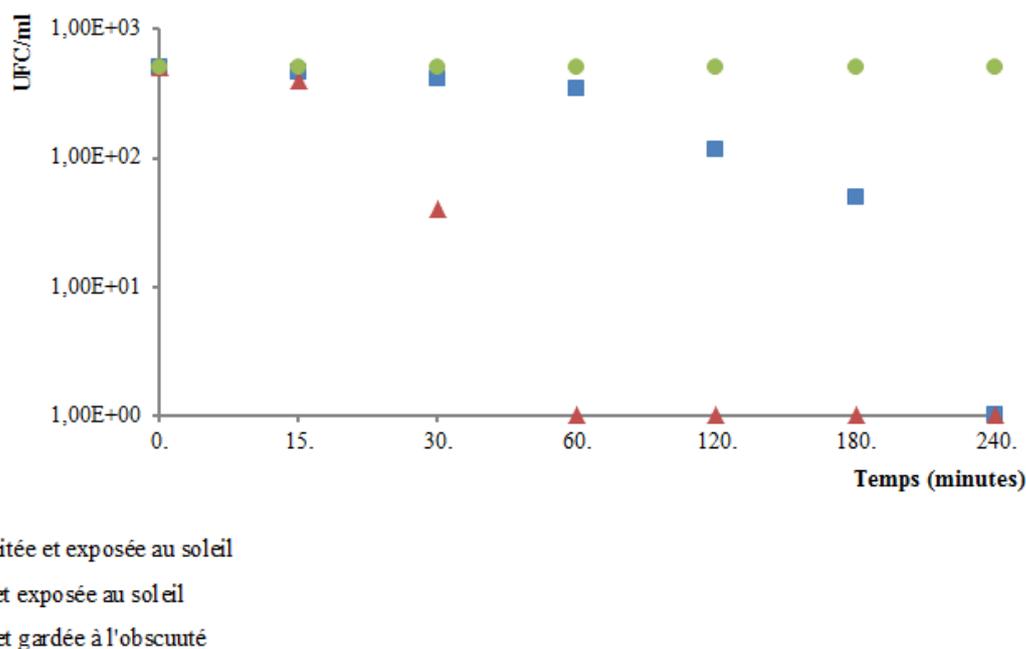


Fig. 5. Abattement des coliformes fécaux en fonction du temps en utilisant l'extrait de *Citrus maxima*

Nous avons remarqué une inhibition de l'ordre de 35% des coliformes fécaux après 15 minutes d'ensoleillement pour les extraits coumariniques de *Citrus reticulata*. 30 minutes après, celle-ci passe à 93%. L'inhibition est complète après 60 minutes d'exposition.

Quant aux échantillons traités avec l'extrait coumarinique de *Citrus maxima*, 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 aurantium*, 23 % d'inhibition est remarquée après 15 minutes et 90 % après 30 minutes. Après 60 minutes d'ensoleillement, nous n'avons relevé aucune colonie 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 16% après 30 minutes d'ensoleillement. Pour ce même temps, il est remarqué une inhibition de l'ordre de 90% pour les extraits coumariniques (*Citrus reticulata*, *Citrus aurantium* et *Citrus maxima*). L'inhibition complète des coliformes fécaux est notée après 60 minutes d'ensoleillement pour tous les extraits coumariniques (*Citrus reticulata*, *Citrus aurantium* et *Citrus maxima*); contrairement à la désinfection solaire, où une inhibition de l'ordre de 30 % 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, une furocoumarine photoactivable [24], [25]. Certaines maladies de la peau (le psoriasis, le vitiligo,...) sont de plus en plus soignées par cette molécule. 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 [26,27]. 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 triplet (3O_2). Ce dernier subit l'excitation et passe de l'état fondamental, triplet, à l'état excité, singulet (1O_2). L'oxygène singulet généré dans le milieu détruit les cellules bactériennes [28], [29].

3.2.2 SENSIBILITE D'ENTEROCOQUES FECAUX

Les résultats des tests de désinfection solaire sont repris dans les figures 6, 7 et 8.

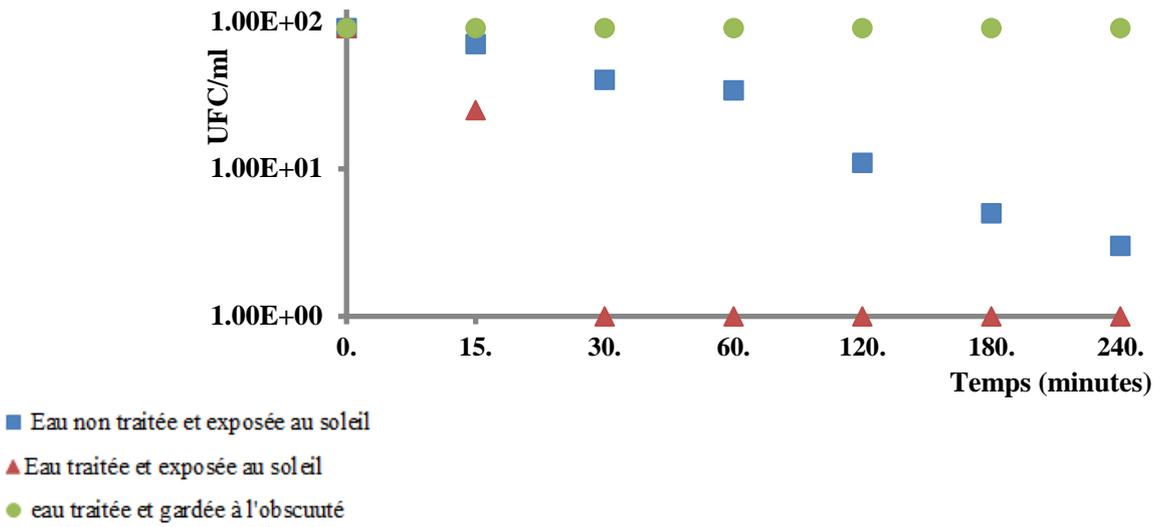


Fig. 6. Abattement d'entérocoques fécaux en fonction du temps en utilisant l'extrait de *Citrus reticulata*

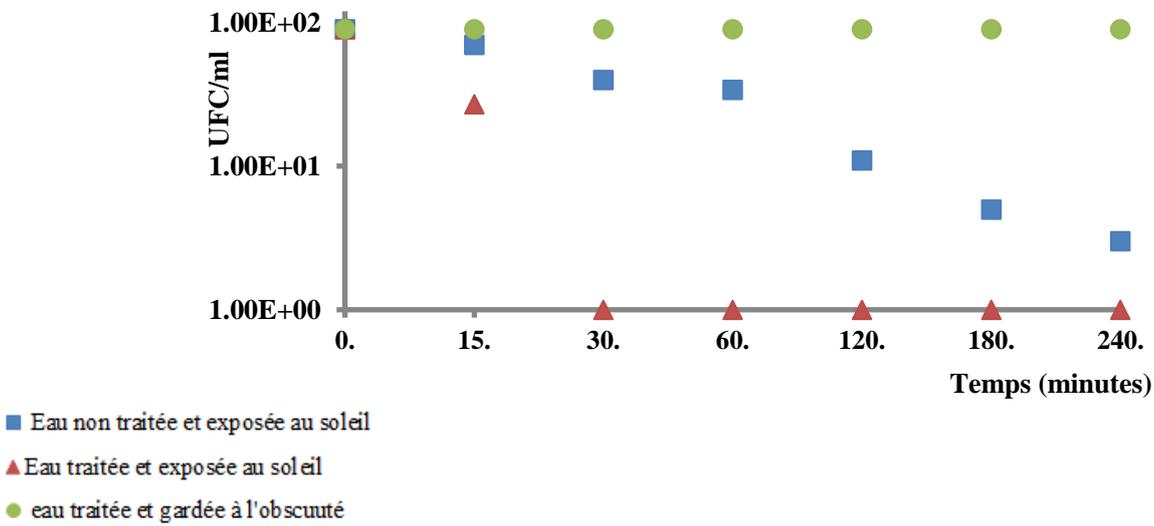


Fig. 7. Abattement d'entérocoques fécaux en fonction du temps en utilisant l'extrait de *Citrus aurantium*

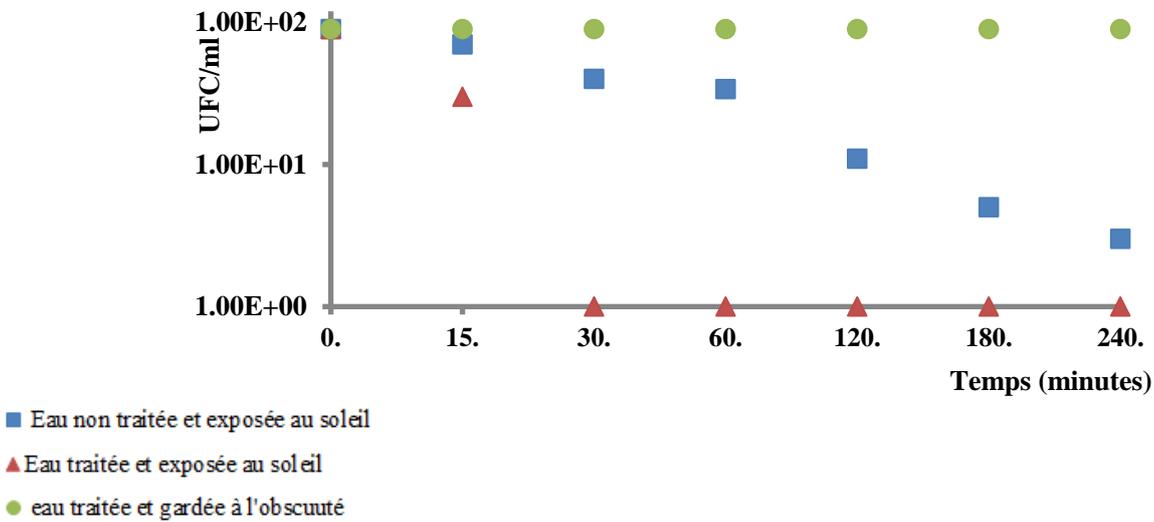


Fig. 8. Abattement d'entérocoques fécaux en fonction du temps en utilisant l'extrait de *Citrus maxima*

Ces résultats montrent la présence d'entérocoques fécaux du début à la fin des expériences pour la désinfection solaire. Par contre, pour la désinfection photodynamique, l'inhibition complète est notée après 30 minutes d'ensoleillement pour tous extraits utilisés (*Citrus reticulata*, *Citrus aurantium* et *Citrus maxima*).

Ceci montre une fois de plus que les substances photosensibilisatrices améliorent sensiblement la désinfection solaire. Ces résultats montrent également que les entérocoques fécaux (Gram+) sont plus sensibles à la désinfection photodynamique que les coliformes fécaux (Gram-). Ceci est dû à la différence de leurs parois cellulaires. En effet, la paroi cellulaire des bactéries Gram- est saturée en lipopolysaccharides [30]. Cette paroi ralentit le passage de l'oxygène singulet. Par contre, la paroi des bactéries Gram+ est dépourvue des lipopolysaccharides. Celle-ci est facilement traversée par l'oxygène singulet. Après son passage, l'oxygène singulet détruit les constituants cellulaires. Il s'en suit une mort certaine de la cellule bactérienne.

4 CONCLUSION

Ce travail a porté sur l'amélioration de la désinfection solaire de l'eau par l'utilisation des substances à activité photosensibilisatrice (extraits coumariniques de *Citrus reticulata*, *Citrus aurantium* et *Citrus maxima*).

La désinfection solaire montre une faible inhibition (16%) des coliformes fécaux présents dans l'eau après 30 minutes d'ensoleillement. Celle-ci passe à 30 % après une heure d'ensoleillement.

Par contre, pour les échantillons d'eau traités avec les extraits coumariniques (*Citrus reticulata*, *Citrus aurantium* et *Citrus maxima*) 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.

En ce qui concerne les entérocoques fécaux, nous avons noté une inhibition négligeable après 30 minutes d'ensoleillement pour la désinfection solaire. L'inhibition complète est notée après 30 minutes d'ensoleillement pour tous les extraits (*Citrus reticulata*, *Citrus aurantium* et *Citrus maxima*). Ceci montre que l'utilisation des substances photosensibilisatrices améliore sensiblement la désinfection solaire.

Les résultats trouvés dans ce travail montrent que les entérocoques fécaux sont plus sensibles à la désinfection photodynamique que les coliformes fécaux. Cette différence de sensibilité est liée la constitution de leurs parois cellulaires.

La sensibilité des entérovirus et des cryptosporidies vis-à-vis de ces extraits devrait être examinée. Les analyses de réactivation des microorganismes après la phase de désinfection devront également être réalisées.

REFERENCES

- [1] Fonds de Nations Unies pour l'Enfance (UNICEF), La réalité de l'accès à l'eau en quelques chiffres, CFU, 2024.
- [2] 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.
- [3] R. Meierhofer and M. Wegelin, Solar water disinfection: A guide for the application of SODIS, Ewag, 2002.
- [4] M. Sunda, F. Rosillon, 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.
- [5] 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 (2), pp. 199- 209, 2008.
- [6] Aquac, L'utilisation de l'oxygène singulet pour la désinfection de l'eau potable, Cordis, Octobre 2008.
- [7] 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.
- [8] 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, Nancy, France, 2009.
- [9] C.S. Foote, Photosensitized oxidation and singlet, consequences in biology systems, free radicals in biology; Ed.by W.A.Pryor, Academic Press, Berlin, Vol.3, 1984.
- [10] M. Sunda, F. Rosillon, K.M. Taba et B. Wathélet, Contribution à l'étude de la désinfection de l'eau par photosensibilisation avec le méthoxy-5 psoralène fixé sur le polystyrène, *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 39 (1), pp. 376-383, 2023.
- [11] M.Sunda, F. Rosillon, K.M. Taba et B. Wathélet, Désinfection de l'eau par photosensibilisation avec le méthoxy-5 psoralène fixé sur le polystyrène, *Afrique Sciences*, 17 (1), pp. 127-136, 2020.
- [12] 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.
- [13] L. Villen, F. Manjón, F. García and G. Orellana, Solar reactor for water disinfection by sensitized singlet oxygen production in heterogeneous medium, *Appl. Catal.*, 69, pp. 1-9, 2006.
- [14] M.C. Derosa and R.J. Crutchley, Photosensitized singlet oxygen and its applications, *Coordination Chemistry reviews*, 233-234, pp. 351-371, 2002.

- [15] 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, 10th edition, New York, Megraw Hill, 1079p, 2001.
- [16] I.A.Clark and W. Cowden, Antimalarias in oxidation stress, Academic Press, London, 201p, 1984.
- [17] K.M. Taba et E. Luwenga, L'effet de la photosensibilisation des extraits de plantes dans la désinfection de l'eau, Med. Fac., Landbouww, Gent Univ., 64 (1), 1999.
- [18] M.A. Pathak, D. Famington and T.Fizpatrick, The presently known distribution of coumarins (psoralens) in plants, *Journal of Investigation Dermatology*, 49 (3), pp. 225-239, 1962.
- [19] M Sunda et K.M. Taba, Amélioration de la désinfection solaire de l'eau par la photosensibilisation des extraits de plantes, *international journal of innovation and applied sciences*, 40 (4), pp. 1240-1245, 2023.
- [20] F. Bordin, Photochemical and photobiological properties of furocoumarins and homologous drug, *International Journal of Photoenergy*, 1, pp. 1-6, 1999.
- [21] 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.
- [22] 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 (3), pp. 487, 2007.
- [23] A. Garcia, R.A. Garcia, K. M. Guilgan and Javiermarugan, Solar water disinfection to produce safe drinking water. A review of parameters, enhancements and modeling approaches to make sodis faster and safer, *Molecules*, 26 (11), pp. 3431, 2021.
- [24] 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 (7), pp. 433, 1983.
- [25] 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.
- [26] C. Courseille, B. Georges et B. Jean, Etude des interactions Psoralène Acides Nucléiques, *Acta Cryst.*, 38, pp. 1252-125, 1982.
- [27] A.Seret, J. Piette, A. Jakobs and A. Vorst, Singlet oxygen quantum yield of sulfur and selenium analogs of psoralen, *Photochem Photobiol.*, 56 (3), pp.409-412, 1992.
- [28] C. Knox, E. Land, T. Truscott, Singlet oxygen generation by furocoumarin triplet state ((linear furocoumarin (psoralens)), *photochemistry and photobiology*, 43 (4), pp. 359-363, 1986.
- [29] A. Krasnovsky; L.Vladimir, A. Ya, photogeneration of singlet oxygen by psoralens, *bulletin of experimental biology and medicine*, 96 (9), pp. 59-61, 1983.
- [30] T. Dahl, W Midden. and P. Hartman, Comparison of killing of Gram-negative and Gram-positive bacteria by pure singlet oxygen, *J. Bacteriol.*, 171 (4), pp. 2188-2194, 1989.