

**Fotocatálisis basada en TiO<sub>2</sub> como una alternativa para la eliminación de  
*Saccharomyces cerevisiae*, utilizada en la industria de alimentos.**

Blanca Liliana Gutiérrez Pedraza

Directora de trabajo de grado:  
MsC. Mónica Sirley Hernández Laverde

Co-directora de trabajo de grado:  
Dra. Julie Joseane Murcia Mesa

Universidad Nacional Abierta y a Distancia  
Escuela de Ciencias Básicas Tecnología e Ingeniería  
Ingeniería de Alimentos

2024

---

Msc. Mónica Sirley Hernández Laverde  
Directora de trabajo de grado  
Universidad Nacional Abierta y a Distancia

---

Dra. Julie Murcia  
Co-directora de trabajo de grado  
Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia

---

Jurado

---

Jurado

2024

### **Dedicatoria**

A Dios por darme la vida, oportunidad de hacer parte de esta investigación, por ser mi guía día a día, por darme la fortaleza para afrontar las dificultades y darme la sabiduría e inteligencia para superarlas.

A mis padres Aura y Omar por ser el motor de mi vida, por cada una de sus enseñanzas, por ser mi refugio, por los valores inculcados y por la ayuda dada en todo momento. A mis hermanos por su apoyo incondicional y a todas aquellas personas que contribuyeron en mi formación como profesional.

Infinitas gracias, a ellos debo este logro alcanzado.

## **Agradecimientos**

Al Grupo de investigación Agroalimentaria de la UNAD (GIA-UNAD) y el semillero VITAL por permitirme hacer parte de esta investigación. A los integrantes del grupo de Catálisis de Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, por darme la oportunidad de realizar el proceso de investigación en sus instalaciones y en especial a mi directora, Msc. Mónica Sirley Hernández Laiverde y codirectora Dra. Julie Joseane Murcia por su asesoría, dedicación, entrega y porque gracias a sus conocimientos y enseñanzas fortalecieron mi aprendizaje y mi formación en el ámbito de la investigación.

Finalmente, agradecerle al Ministerio de Ciencia Tecnología e Innovación y Ministerio de Salud y Protección Social por la financiación del proyecto 110991891727 y al convenio interinstitucional 007 entre la UPTC y la UNAD por facilitar los recursos para el desarrollo de la presente investigación.

Gracias al desarrollo del presente proyecto de investigación, y al apoyo por parte de las instituciones, fue posible asistir a eventos científicos en calidad de ponente, esto permitió la apropiación y divulgación de conocimiento (ver apéndice A).

## Resumen

La fotocatalisis heterogénea ha tomado una mayor importancia durante los últimos años como una tecnología eficiente en la eliminación de microorganismos, gracias a que posee la capacidad de inactivar y eliminar, levaduras, bacterias, virus y hongos en presencia de un fotocatalizador. En esta investigación se usaron materiales fotocatalíticos a base de dióxido de titanio para la inactivación *Saccharomyces cerevisiae*, el  $\text{TiO}_2$  se obtuvo por el método de sol-gel, luego fue dopado con Cr y modificado por reducción fotoquímica de Pd y Ag, usando tres contenidos diferentes de metal en peso (0.1, 0.25 y 0.5%). La caracterización de los fotocatalizadores,  $\text{TiO}_2$ , Cr- $\text{TiO}_2$ , Ag (0,1%) / Cr- $\text{TiO}_2$ , Ag (0,2%) / Cr- $\text{TiO}_2$ , Ag (0,25%) / Cr- $\text{TiO}_2$ , Pd (0,1%) / Cr- $\text{TiO}_2$  y Pd (0,2%) / Cr- $\text{TiO}_2$ , Pd (0,25%) / Cr- $\text{TiO}_2$  realizó, por Difracción de rayos X (DRX), Espectrofotometría Ultravioleta-Visible de reflectancia difusa (UV-Vis DRS), Fisisorción de nitrógeno y Espectroscopia Infrarroja con transformada de Fourier (FTIR). Las pruebas de actividad fotocatalítica de los materiales mencionando anteriormente se realizaron en la eliminación de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* como microorganismo modelo presente en la industria de alimentos. Las reacciones fueron sometidas a irradiación UV-Vis por 4 horas con intensidad de luz de  $30 \text{ W/m}^2$ . Pasado el tiempo total de reacción se tomó muestra para análisis microbiológico de levaduras, la cuantificación se realizó por el método de siembra en superficie en medio Sabouraud Dextrose Agar, la incubación se realizó por 48 horas a  $28^\circ\text{C}$ , finalmente los resultados se expresaron en número estimado de levaduras/mL. El fotocatalizador que presentó la mejor efectividad fue el material Pd (0.5%) /Cr- $\text{TiO}_2$  con una eliminación del 99.71% de *Saccharomyces cerevisiae* los resultados obtenidos se atribuyen a que es uno de los materiales que presenta una mayor superficie específica y un número amplio de sitios activos para absorción del contaminante. Por otro lado, el paladio presenta solubilidad en lípidos, razón por la

que tiene una mayor penetración en membrana celular de la levadura, generando estrés oxidativo y especies reactivas de oxígeno que dañan la envoltura pared celular y provocan la inactivación y muerte de la levadura.

***Palabras clave:*** *S. cerevisiae*, Ag, Pd, fotodeposición, dopaje, inactivación.

## Abstract

Heterogeneous photocatalysis has become increasingly important in recent years as an efficient technology for the elimination of microorganisms, thanks to its ability to inactivate and eliminate yeasts, bacteria, viruses, and fungi in the presence of a photocatalyst. In this research, titanium dioxide-based photocatalytic materials were used for the inactivation of *Saccharomyces cerevisiae*. TiO<sub>2</sub> was obtained by the sol-gel method, then doped with Cr and modified by photochemical reduction of Pd and Ag, using three different metal contents by weight (0.1, 0.25 and 0.5%). Characterization of the photocatalysts, TiO<sub>2</sub>, Cr-TiO<sub>2</sub>, Ag (0.1%) / Cr-TiO<sub>2</sub>, Ag (0.2%) / Cr-TiO<sub>2</sub>, Ag (0.25%) / Cr-TiO<sub>2</sub>, Pd (0.1%) / Cr-TiO<sub>2</sub> and Pd (0.2%) / Cr-TiO<sub>2</sub>, Pd (0.25%) / Cr-TiO<sub>2</sub> performed, by X-ray diffraction (XRD), Ultraviolet-Visible diffuse reflectance spectrophotometry (UV-Vis DRS), nitrogen physisorption and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). The photocatalytic activity tests of the materials mentioned above were performed on the elimination of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a model microorganism present in the food industry. The reactions were subjected to UV-Vis irradiation for 4 hours with a light intensity of 30 W/m<sup>2</sup>. After the total reaction time, a sample was taken for microbiological analysis of yeasts, the quantification was performed by the surface seeding method in Sabouraud Dextrose Agar medium, the incubation was carried out for 48 hours at 28 °C, finally the results were expressed in estimated number of yeasts/mL. The photocatalyst that presented the best effectiveness was the material Pd (0.5%)/Cr-TiO<sub>2</sub> with an elimination of 99.71% of *Saccharomyces cerevisiae*, the results obtained are attributed to the fact that it is one of the materials that presents a greater specific surface area and a large number of active sites for absorption of the contaminant. On the other hand, palladium is soluble in lipids, which is why it

has greater penetration in the yeast cell membrane, generating oxidative stress and reactive oxygen species that damage the cell wall envelope and cause inactivation and death of the yeast.

***Keywords:*** *S. cerevisiae*, Ag, Pd, photodeposition, doping, inactivation.

## Tabla de Contenido

Introducción .....	14
Planteamiento del Problema .....	16
Justificación .....	18
Objetivos .....	20
Estado del arte.....	21
Marco teórico .....	22
Fotocatálisis heterogénea .....	21
Parámetros que afectan el desempeño fotocatalítico .....	22
El fotocatalizador .....	23
Efecto biocida de la fotocátalisis .....	24
Fotólisis.....	26
La levadura en la industria de alimentos.....	26
La desinfección en la industria de alimentos .....	27
Marco conceptual .....	28
Fotocatálisis .....	28
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	28
Desinfección .....	28
Dopaje .....	28
Fotodeposición .....	28
Marco normativo .....	29
Metodología .....	30
Síntesis de los fotocatalizadores .....	31

Caracterización de los Fotocatalizadores .....	33
Evaluación de la actividad fotocatalítica .....	34
Análisis microbiológico para cuantificación de levaduras .....	35
Resultados y discusión .....	38
Caracterización de los Fotocatalizadores.....	38
Actividad fotocatalítica.....	44
Conclusiones .....	53
Recomendaciones .....	54
Referencias bibliográficas.....	55
Apéndices .....	63

**Lista de Tablas**

<b>Tabla 1.</b> <i>Series de diluciones de la suspensión de levaduras.....</i>	37
<b>Tabla 2.</b> <i>Resultados de Caracterización de fotocatalizadores.....</i>	39
<b>Tabla 3.</b> <i>Analisis Varianza ANOVA.....</i>	44
<b>Tabla 4.</b> <i>pH de la suspensión de levaduras antes y después del tratamiento fotocatalítico.....</i>	50

## Lista de Figuras

<b>Figura 1.</b> <i>Mecanismo fotocatalítico para la eliminación de levadura</i> .....	25
<b>Figura 2.</b> <i>Metodología de preparación de los fotocatalizadores</i> .....	32
<b>Figura 3.</b> <i>Patrones de difracción de rayos X para los fotocatalizadores sintetizados</i> .....	38
<b>Figura 4.</b> <i>Espectros UV-Vis DRS de los fotocatalizadores sintetizados</i> .....	41
<b>Figura 5.</b> <i>Espectros FT-IR de todos los fotocatalizadores sintetizados</i> .....	43
<b>Figura 6.</b> <i>Número estimado de levaduras/mL antes y después de los diferentes tratamientos fotocatalíticos</i> .....	46
<b>Figura 7.</b> <i>Crecimiento de levaduras en cajas de petri</i> .....	47
<b>Figura 8.</b> <i>Población de levaduras después de cada reuso con el fotocatalizador Pd (0.5%) / Cr-TiO<sub>2</sub></i> .....	48
<b>Figura 9.</b> <i>Efecto de la población inicial de levaduras sobre la eficiencia del proceso fotocatalítico con Pd (0.5%)/Cr- TiO<sub>2</sub></i> .....	49

## Lista de Apéndices

<b>Apéndice A.</b> <i>Certificado de participación como ponente en el Congreso Internacional Calidad del agua, salud pública y cáncer</i> .....	63
<b>Apéndice B.</b> <i>Fotografía de la participación en el Congreso Internacional Calidad del agua, salud pública y cáncer</i> .....	64
<b>Apéndice C.</b> <i>Preparación de Artículo científico</i> .....	65

## Introducción

La *Saccharomyces cerevisiae* es levadura más utilizada en la elaboración de alimentos fermentados, durante los últimos años se ha extendido su aplicación en campos como la biotecnología (Ballet *et al.*, 2023). Es un microorganismo no patógeno, sin embargo, durante las últimas décadas se han presentado casos de contaminación en productos alimenticios por *Saccharomyces cerevisiae* generando daños graves en los productos afectados y pérdidas monetarias a los productores, basados en lo expuesto anteriormente, ha sido considerado como un patógeno oportunista emergente causante del deterioro de alimentos, presentando turbidez, fermentación y sedimentación en jugos, malos olores en yogur, rompimientos de envases en productos fermentados, razón por la que se hace necesaria la inactivación de este microorganismo en el procesamiento de alimentos (Liu, Huang, *et al.*, 2022).

Como alternativa a las tecnologías de desinfección convencionales, las Tecnologías Avanzadas de Oxidación con su sigla en inglés (AOTs) se han potencializado en la actualidad, entre ellas la fotocatalisis heterogénea, reconocida como un poderoso tratamiento antimicrobiano, con ventajas en su aplicación como, bajo consumo de energía, aprovechamiento de la luz solar y ausencia de efectos adversos al medio ambiente (Wang *et al.*, 2022).

El dióxido de titanio es el fotocatalizador más usado por su efecto antimicrobiano y su bajo costo; sin embargo, presenta limitantes como son la incapacidad de absorción de luz en la región visible del espectro electromagnético y la rápida recombinación de los pares electrón/hueco. Como opción para mejorar estas limitaciones en esta investigación se realizó; (i) el dopaje del TiO<sub>2</sub> con iones de Cr para modificar la estructura morfológica y electrónica del material original, mejorar el área superficial y porosidad, disminuir el ancho de banda prohibida y aumentar su capacidad fotocatalítica, y (ii) fotodeposición de metales nobles en la superficie

del TiO<sub>2</sub>, para aumentar la absorción de luz en la región visible y que a su vez las nanopartículas metálicas actúen como trampas de electrones a fin de disminuir la recombinación de los portadores de carga (Juárez-Cortazar *et al.*, 2022).

La fotocatalisis heterogénea se ha empleado en la eliminación de bacterias gram negativas como la *E. Coli*, encontrándose que esta bacteria es sensible a la permeabilidad por las especies reactivas de oxígeno (ERO), generando daños graves en la pared celular y la inactivación total de la bacteria, mientras que la levadura *Saccharomyces cerevisiae* tienen una mayor resistencia a los procesos fotocatalíticos, esto se debe a que la pared celular es más gruesa lo que impide que las ERO penetren al interior de la célula (Thabet *et al.*, 2014), es así como en la presente investigación se evalúan los materiales fotocatalíticos sintetizados en la eliminación de *S. cerevisiae* la cual ha sido menos estudiada en la literatura.

## Planteamiento del Problema

La industria de alimentos ha usado durante décadas los microorganismos en la elaboración de productos fermentados como vinos, cervezas y panes (Ostos *et al.*, 2019). Sin embargo, el manejo no controlado de estos microorganismos puede generar contaminación en la producción de alimentos no fermentados con alto contenido de azúcar, como jugos a base de fruta, gaseosas y en otros alimentos como agua carbonatada e incluso derivados cárnicos (Hernández *et al.*, 2018).

La *Saccharomyces cerevisiae* puede producir deterioro en la calidad de productos alimenticios, generando toxinas que ponen en riesgo la salud de los consumidores y la seguridad alimentaria (Hernández *et al.*, 2018). El deterioro de la calidad de los productos se puede presentar por la introducción del microorganismo de forma accidental durante cada una de las etapas el procesamiento, por adición de agua con contenido de levadura, por el contacto con superficies contaminadas o durante el empaque de los alimentos. Al entrar en contacto la levadura con el azúcar, este se convierte en etanol y gas carbónico, generando sabores indeseados, turbidez, sedimentación y formación de gas en el producto (Vella *et al.*, 2023).

Las levaduras son microorganismos que han evolucionado con el fin de sobrevivir en condiciones adversas en la naturaleza, razón por la que se mantiene por tiempos prolongados vivas en agua o sobre diferentes superficies. Por lo expuesto con antelación se hace necesario proponer métodos alternos a los tradicionales usados en limpieza y desinfección en la industria de alimentos, debido a que la *Saccharomyces cerevisiae* presenta resistencia a los desinfectantes clorados (Korukluoglu *et al.*, 2006).

Por otro lado, si la concentración de cloro se aumenta en el proceso de desinfección de alimentos se generan defectos en el sabor y olor de los productos tratados, por otro lado causan impactos negativos en el medio ambiente, en la salud humana y animal (Pedreira *et al.*, 2021).

Es así como surge la pregunta de investigación: ¿En qué medida los tratamientos fotocatalíticos basados en dióxido de titanio permiten la eliminación de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*?

### Justificación

Las Tecnologías Avanzadas de Oxidación durante los últimos años han presentado gran interés como alternativa a los métodos convencionales de desinfección química, en especial se han comprobado las propiedades biocidas de la fotocatalisis heterogénea, razón por la cual en esta investigación se propone el uso de esta tecnología como una opción para la eliminación de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, microorganismo usado en la industria alimentaria en la elaboración de bebidas alcohólicas y en la producción de panadera, sin embargo, también es causante de contaminación cruzada en la elaboración de bebidas y productos a base de frutas (Vella *et al.*, 2023).

Una de las ventajas de la fotocatalisis es la utilización de la luz solar como fuente de energía para la activación del fotocatalizador, el cual, al absorber luz ultravioleta y visible, generando un par electrón- hueco, los cuales migran a la superficie del fotocatalizador donde interactúan con el oxígeno y el agua formando reacciones de oxidación y reducción, provocando estrés oxidativo en las células de los microorganismos tratados (Sun y O'Connell, 2022). La exposición de microorganismos al tratamiento fotocatalítico genera daños en la membrana y los componentes celulares, lo que ocasiona la pérdida de la viabilidad celular (Bilal *et al.*, 2021; Thabet *et al.*, 2014).

Durante los últimos años la fotocatalisis ha ganado gran importancia por su capacidad de eliminación microbiológica. Aspectos que la catalogan como una tecnología alterna de bajo costo y no contaminante con el medio ambiente, siendo pertinente su aplicación en el tratamiento de agua o superficies en contacto con alimentos.

La presente investigación forma parte del proyecto financiado por Minciencias y Minsalud titulado “Saneamiento hídrico básico como foco de acción para la fotocatalisis heterogénea aplicada a la prevención de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) y de

enfermedad diarreica aguda (EDA)” que se desarrolla bajo el convenio interinstitucional 007 entre la Universidad Nacional Abierta y a Distancia-UNAD y la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia-UPTC.

## Objetivos

### Objetivo General

Estudiar la eficiencia del proceso fotocatalítico en la eliminación de *Saccharomyces cerevisiae* utilizada en la industria de alimentos.

### Objetivos Específicos

Obtener fotocatalizadores Cr-TiO<sub>2</sub>, Ag/Cr- TiO<sub>2</sub>, Pd/Cr- TiO<sub>2</sub> efectivos en la eliminación de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

Caracterizar los fotocatalizadores sintetizados con el propósito de determinar sus propiedades físicas, químicas, morfológicas y superficiales.

Analizar la efectividad cada uno de los materiales fotocatalíticos en la eliminación de *Saccharomyces cerevisiae* y mediante el análisis Anova rechazar o no la hipótesis nula.

### Estado del Arte

El estudio realizado por Giannakis y colaboradores (2016) se investigo los mecanismos de inactivación de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* mediante el proceso de Foto-Fenton con un pH neutro donde se obtuvo una eliminación total de la levadura en un tiempo de 45 minutos, demostrando que la penetración de las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  en las células genera un efecto oxidativo provocando daños en membrana interna de la levadura, la irradiación de luz UV provoca mutaciones a nivel del AND, las estructuras celulares sufren daños a nivel interno y externo dando como resultado la muerte celular y pérdida de viabilidad de las células (Giannakis et al., 2016).

Sana Thabet y colaboradores (2014) investigaron los efectos de la fotocatalisis sobre las células *Saccharomyces cerevisiae*, determinado que el contacto directo de las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  y la pared celular de la *S. cerevisiae* generaría un daño externo localizado, mientras que las nanopartículas no penetran las células los ROS generados directamente por las nanopartículas podrían llegar a la membrana celular a través de espacios de la pared celular causando daños oxidativo, produciendo una pérdida drástica de la viabilidad celular durante las primeras horas de exposición (Thabet et al., 2014).

## Marco Teórico

### Fotocatálisis Heterogénea

La fotocatalisis heterogénea es un proceso sostenible ambientalmente que usa luz ultravioleta o visible como medio de activación de las nanopartículas de los materiales semiconductores usados en la eliminación de microorganismos (Regmi *et al.*, 2018).

La luz UV-Vis es absorbida por el material semiconductor, formando pares electrón-hueco, los cuales se mueven a la superficie del material fotocatalítico y reaccionan con las moléculas de agua y oxígeno generando las especies reactivas de oxígeno (ERO), que son las generadoras del estrés oxidativo en los microorganismos (Thabet *et al.*, 2014).

### Parámetros que Afectan el Desempeño Fotocatalítico

El rendimiento de los procesos fotocatalíticos depende de factores como:

***El pH de la Solución:*** Es un factor importante en los procesos fotocatalíticos por que define la química de los compuestos orgánicos (por ejemplo, carga, acidez-pKa y coeficiente de partición) y afecta la carga en el fotocatalizador. Cualquier cambio en el pH estimula el punto isoelectrico o la carga superficial del material fotocatalítico, el proceso con TiO<sub>2</sub> es más eficiente en medio ácido  $3 < \text{pH} < 5$  debido a que la superficie se encuentra cargada positivamente por debajo del punto isoelectrico (6.5) y se favorece la interacción entre la superficie y el contaminante organico. El pH afecta las propiedades superficiales del catalizador esto se refleja en la velocidad de degradación. (Amakiri *et al.*, 2022).

***La Longitud de Onda de la Luz:*** la luz UV-Vis usada debe tener la suficiente energía para generar la excitación del fotocatalizador y promover la formación de los huecos (vacancias positivas) y electrones. El TiO<sub>2</sub> tiene una banda prohibida con una absorción óptica en la región de longitud de onda de 310 a 400 nm. (Amakiri *et al.*, 2022).

***La Carga del Fotocatalizador:*** la cantidad de fotocatalizador afecta la degradación del contaminante, al aumentar la cantidad de material fotocatalítico se incrementan los centros activos dando origen a un mayor número de ERO por lo tanto se obtendría una mayor eficiencia, sin embargo, la cantidad de fotocatalizador no puede ser demasiado alta debido a que la solución de vuelve turbia impidiendo la penetración de los rayos UV-Vis, lo que resulta en una reducción de la tasa de degradación (Amakiri *et al.*, 2022).

***La Concentración del Contaminante:*** la concentración inicial de los contaminantes determina el tiempo de irradiación para lograr la inactivación o degradación completa del contaminante, una concentración alta de los compuestos orgánicos afecta la eficiencia del material, esto da como resultado una falta de superficie disponible del catalizador para la formación de radicales hidroxilo, lo que reduce la actividad fotocatalítica. Además, aumentar la concentración inicial de compuesto orgánico reduce la cantidad de fotones que llegan a la superficie de material, en consecuencia, disminuye la eficiencia fotocatalítica (Amakiri *et al.*, 2022).

## **El Fotocatalizador**

El fotocatalizador está conformado por nanopartículas con características de semiconductor, como transferencia de carga, absorción de luz UV-Vis y una estructura eléctrica favorable, las nanopartículas fotoactivas son usadas como catalizadores en la producción de energía sostenible y remediación ambiental (Hassaan *et al.*, 2023). El fotocatalizador más usado es el TiO<sub>2</sub> debido a sus propiedades ópticas y electrónicas, a su alta actividad fotocatalítica y su estabilidad química, (Armaković *et al.*, 2023). Sin embargo, TiO<sub>2</sub> presenta varias limitantes, una amplia banda prohibida, la no absorción de luz visible, la rápida recombinación de los pares electrón/hueco, baja adsorción de contaminantes, limitando su aplicación. Para superar estas

limitantes se realiza el dopaje con metales, modificaciones estructurales, anclaje con otros semiconductores y fotodeposición de metales nobles (Klueb-arb *et al.*, 2018). En este caso específico el Cr se incluye en la estructura del  $\text{TiO}_2$  como agente dopante con el fin de promover una mejor absorción de luz en la región visible de espectro electromagnético (Mancuso *et al.*, 2022). La fotodeposición también busca favorecer la absorción en la región visible y aumentar el tiempo de vida media de los portadores de carga, al actuar las nanopartículas metálicas como trampas de electrones.

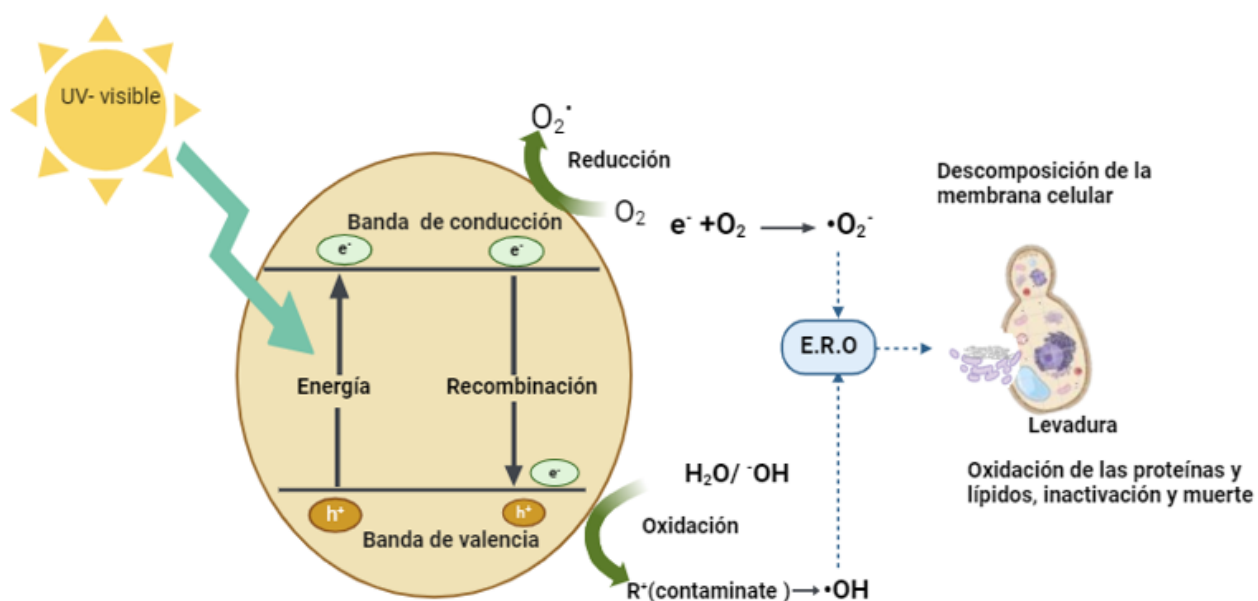
### **Efecto Biocida de la Fotocatálisis.**

El material semiconductor activado por la luz UV y visible, inactiva las células microbianas debido a daños causados por los radicales hidroxilo generados por las reacciones redox (De Pasquale *et al.*, 2020). El deterioro en la pared celular genera desequilibrio en la permeabilidad de la membrana, cambios en la forma celular, inhibición de proteínas, alteración en el metabolismo y daños en el ADN provocando la muerte celular de los microorganismos (Regmi *et al.*, 2018).

Como se muestra en la Figura 1, las ERO causan estrés oxidativo sobre las células de las levaduras, bacterias, hongos y virus, generando daños en la superficie de la pared celular, ocasionando pérdida de los compuestos internos y finalmente provocando la muerte o inactivación de las células (Thabet *et al.*, 2014).

**Figura 1**

Mecanismo fotocatalítico para la eliminación de levaduras.



Fuente: autora

Los estudios realizados sobre los efectos de los tratamientos fotocatalíticos en células de levaduras son limitados, revelando que las células de levaduras y hongos son más resistentes a la fotocatalisis en comparación con las células bacterianas, esto se debe a las diferentes propiedades de la pared celular (Thabet *et al.*, 2014). La pared celular de *S. cerevisiae* está compuesta por manoproteínas,  $\beta$ -1,3 glucano fibroso,  $\beta$ -1,6 glucano ramificado y en menor proporción quitina que contribuye a la insolubilidad de las fibras. El complejo de  $\beta$ -1,3 glucano-quitina conforma la pared interna y el  $\beta$ -1,6 glucano une los componentes de la pared interior y exterior, la superficie exterior de la pared está compuesta por manoproteínas que están ampliamente glicosiladas en oxígeno y nitrógeno, se encuentran densamente empaquetadas, lo que dificulta la permeabilidad de la pared celular (Lipke y Ovalle, 1998).

**Fotólisis.**

Es el proceso mediante el cual se realiza la aplicación de luz UV con una longitud de onda ( $\lambda$ ) comprendida entre 200-400 nm en una solución acuosa, con el fin de inactivar microorganismos. Las moléculas absorben la radiación, incrementando su energía, lo que genera efectos nocivos sobre la pared celular y provocando daño en la estructura interna de la célula, lo que desencadena en la muerte del microorganismo (Ni *et al.*, 2023).

**La Levadura en la Industria de Alimentos.**

La levadura es un microorganismo eucariota que puede vivir en diferentes medios ecológicos como agua, suelo, aire, superficies de plantas y frutos e intervine directamente en la descomposición de frutos maduros y en la fermentación de los mismos (Maicas, 2020).

**La *Saccharomyces cerevisiae*:** es una levadura muy usada en la industria alimentaria, tiene un tiempo de duplicación de una hora veinticinco minutos a dos horas, a una temperatura 30 °C. Es un microorganismo nómada sin ningún nicho establecido, produce la fermentación anaeróbica a partir del azúcar, formando alcohol y CO<sub>2</sub>, se usa en la fermentación de maltas y extractos de frutas a nivel industrial, por lo que el agua residual de estos procesos contiene una gran cantidad de esta levadura (Ballet *et al.*, 2023).

La inoculación de las frutas con *Saccharomyces cerevisiae* se puede generar ya sea durante el riego de los cultivos, en la manipulación o por el contacto directo de la fruta con superficies contaminadas con este microorganismo, siendo posteriormente inoculada el los productos procesados, generando fermentación de los jugos naturales pasteurizados y no pasteurizados provocando defectos como turbidez, producción de gas y sabor desagradable, deterioro debido a que el pH de los jugos naturales está entre 4,5 a 7,0 y la actividad acuosa

llega al 0,97 lo que favorece la actividad metabólica de la levadura, son microorganismos que se reproducen de manera rápida en líquidos con contenidos altos de azúcar, la contaminación puede alcanzar una cantidad de  $10^7$  a  $10^8$  UFC/mL (Vella *et al.*, 2023). Por todo lo anterior, el control de este tipo de levaduras es importante para la industria alimentaria a fin de garantizar la calidad en la producción de alimentos y evitar pérdidas económicas.

### **La Desinfección en la Industria de Alimentos.**

En la industria alimentaria se utilizan a diario sustancias químicas como hipoclorito de sodio (NaClO), dióxido de cloro (ClO<sub>2</sub>) y cloro (Cl) para la desinfección de frutas y vegetales, las sustancias son disueltas en agua y posteriormente se realiza la inmersión de los productos, con el fin de eliminar los microorganismos de la superficie. Pero el uso excesivo de desinfectantes genera mutación y cambios de permeabilidad de la pared celular de los microorganismos, generando resistencia microbiana a los desinfectantes químicos (Burguet Lago Nancy, 2013)(Rozman *et al.*, 2021). Por otro lado, el NaClO y los componentes orgánicos de los alimentos pueden formar compuestos nocivos para la salud humana, por ejemplo, el cloro es un poderoso oxidante de compuestos químicos, que al reaccionar con la materia orgánica genera subproductos cancerígenos razón por la que actualmente se busca otras alternativas más sanas y menos invasivas para los procesos de desinfección (Chica-Londoño, 2022).

Las fotocatalisis con TiO<sub>2</sub> se presenta como una alternativa para la eliminación de microorganismos en superficie de frutas y vegetales, según Kim y colaboradores, (2009) al usar el TiO<sub>2</sub> con radiación UV para la eliminación de microorganismos patógenos en vegetales frescos como lechuga y zanahoria se observó una reducción de 1,8 y 4,8 UFC/g después del tratamiento fotocatalítico por 20 minutos (Kim *et al.*, 2009).

## Marco Conceptual

**Fotocatálisis:** se puede definir como la aceleración de la fotorreacción en presencia de un fotocatalizador, el cual aprovecha la radiación UV-Vis de la luz solar o artificial usando la energía para su activación y degradar así diferentes sustancias contaminantes como ácidos orgánicos, estrógenos, pesticidas, colorantes y diferentes microorganismos (levaduras, bacterias, hongos y virus) (Ibhadon & Fitzpatrick, 2013).

***Saccharomyces Cerevisiae:*** microorganismo encontrado en la división Ascomycota, en la clase Saccharomycetes, posee un ADN genómico nuclear de 12068 kilobases organizado en 16 cromosomas y 6000 genes aproximadamente, posee buenas actividades enzimáticas de uso en la industria alimentaria y farmacéutica (Parapouli *et al.*, 2020).

**Desinfección:** tratamiento fisicoquímico o biológico aplicado a superficies en contacto con alimentos con el objetivo de destruir las células de microorganismos que pueden ocasionar riesgo para la salud y la inocuidad de los alimentos (Bhagwat, 2019)

**Dopaje:** introducción intencional de impurezas en un material, con el fin de cambiar su estructura, el tamaño de banda prohibida, regular las propiedades eléctricas y magnéticas de los materiales semiconductores (Liu, Li, *et al.*, 2022).

**Fotodeposición:** es la deposición de metales nobles sobre la superficie de un semiconductor mediante irradiación con luz UV-Vis con el fin de mejorar la eficiencia del material fotocatalítico (Lee *et al.*, 2018).

### **Marco Normativo.**

Durante la investigación se tomaron como referencia la siguiente normas técnicas

- Norma Técnica Colombiana 4132 (1997). Guía general para el recuento de mohos y levaduras. técnica de recuento de colonias a 25 °C
- Norma ISO 21527 Parte 1 (2015). Microbiología de los alimentos y piensos. Método horizontal para el recuento de levaduras y mohos. Parte 1: Técnica de recuento de colonias en productos con actividad de agua superior a 0,95.

## Metodología

Durante esta investigación se desarrolló un trabajo interdisciplinario en el que los materiales fueron preparados en la Universidad de Salerno en Italia por M. Hernández-Laverde y N. Morante y como complemento significativo de los conocimientos adquiridos como estudiante de ingeniería de alimentos, el trabajo experimental se centró en determinar cuál de los fotocatalizadores es más efectivo en la eliminación de *Saccharomyces cerevisiae* como microorganismo modelo presente en la industria de alimentos.

La presente investigación es de tipo cuantitativa, orientada al desarrollo de materiales fotocatalíticos y su aplicación en la eliminación de levaduras.

En este estudio la unidad experimental corresponde a la suspensión de levaduras. La variable de respuesta es la concentración de levaduras en número estimado/mL; el factor, es el tratamiento fotocatalítico.

El diseño experimental de la investigación fue un diseño completamente al azar con dos replicas el cual permitió obtener información relevante en relación con el efecto del factor sobre el porcentaje de eliminación de levaduras.

Todo lo anterior dirigido a corroborar las siguientes hipótesis:

Ho = Todos los fotocatalizadores utilizados tienen en promedio la misma eficacia en la eliminación de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

Ha = al menos uno de los fotocatalizadores usado tiene mayor eficacia en la eliminación de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

El modelo estadístico del diseño se observa en la ecuación 1:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde

$y_{ij}$  = Variable respuesta, en este caso el porcentaje de eliminación del número estimado de levaduras/ mL

$\mu$  = Es la media global.

$\tau_i$  = El efecto del material.

$\varepsilon_{ij}$  = Representa el error aleatorio.

Los experimentos se realizaron por duplicado para garantizar la reproducibilidad de los resultados.

### **Síntesis de los Fotocatalizadores.**

**Preparación de TiO<sub>2</sub> y Cr-TiO<sub>2</sub>:** Se utilizó el método sol-gel modificado, usado en el trabajo de investigación desarrollado por Mancuso y colaboradores (2022), el TiO<sub>2</sub> se preparó colocando 50 mL de agua destilada en agitación y agregando gota a gota 12,5 mL de tetraisopropóxido de titanio, a temperatura ambiente durante 10 min. La suspensión obtenida se centrifugó para la separación del precipitado, posteriormente se lavó tres veces, se seco a 100°C 8 horas y finalmente se calcinó a 400 °C por 2 horas (Mancuso et al., 2022).

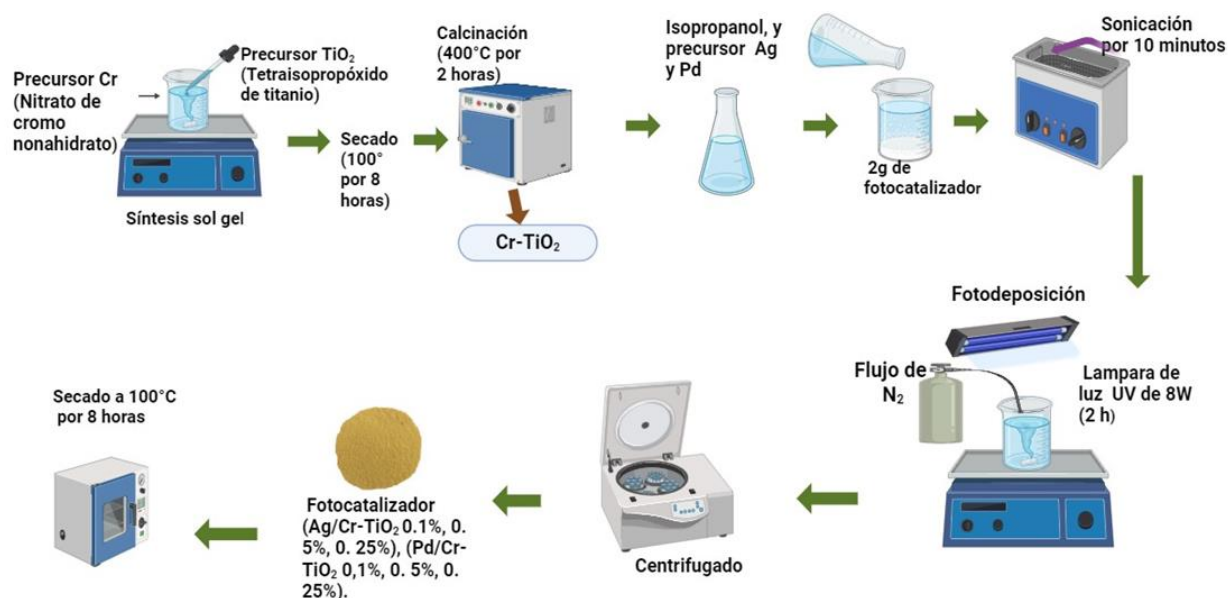
En el caso del Cr-TiO<sub>2</sub> se manejó una relación molar Cr/Ti de 0.019 y con un contenido nominal de Cr de 0.7% en peso. La cantidad de nitrato de cromo nonahidrato necesaria para obtener el contenido nominal en peso se disolvió al inicio de la síntesis en los 50 mL de agua destilada y luego se siguió el mismo proceso descrito anteriormente (Mancuso et al., 2022).

**Preparación de Fotocatalizadores Pd/Cr-TiO<sub>2</sub> y Ag/Cr-TiO<sub>2</sub>:** La preparación de los fotocatalizadores se realizó siguiendo el procedimiento desarrollado por Gil y colaboradores (2023), el proceso se muestra en la Figura 2. En un matraz de 250 mL se adicionaron 6,25 mL de isopropanol como agente de sacrificio y la cantidad necesaria del precursor metálico de Ag o Pd para obtención, 0.1%, 0.25% y 0.5% de Pd o Ag sobre el Cr-TiO<sub>2</sub>, respectivamente, se adicionó

la cantidad restante de agua destilada. La suspensión obtenida se vertió en un vaso de precipitado con 2g de fotocatalizador (Cr-TiO<sub>2</sub>) y se sónico durante 10 minutos, en un baño ultrasónico con una potencia del 90% a 20 °C. Posteriormente, la suspensión se colocó en un cristizador y se agitó durante 10 minutos en oscuridad con una atmósfera de nitrógeno. Luego, la suspensión se irradió durante 2 horas utilizando dos lámparas UV de 8 W, bajo agitación continua y flujo de N<sub>2</sub> constante. Finalmente, la suspensión se centrifugó y el sólido obtenido se secó a 100 °C durante 8 horas (Gil *et al.*, 2023).

## Figura 2.

Metodología de preparación de los fotocatalizadores



Fuente: autora

## Caracterización de los Fotocatalizadores

La caracterización de los fotocatalizadores se realizó por diferentes técnicas mediante las cuales se determinaron las características estructurales, morfológicas y superficiales de los materiales. Las técnicas de caracterización y el equipamiento que se usó fueron los que dispone el Grupo de Catálisis de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, el Instituto

para la Investigación e Innovación en Ciencia y Tecnología de los Materiales (INCITEMA) de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia y la Universidad de Salerno en Italia. Se recibió soporte técnico del personal del grupo de Catálisis y del INCITEMA para la comprensión y realización de los análisis. Las técnicas que se usaron en la caracterización se describen a continuación.

**La Difracción de Rayos X (DRX):** Técnica que se usó para la determinación de las características cristalinas de los materiales fotocatalíticos, como el tipo de estructura, las fases, el tamaño del cristal y la cristalinidad, características importantes de los fotocatalizadores porque definen el área superficial disponible para la adsorción y descomposición de la pared celular de los microorganismos (Alvarado-De La Vega *et al.*, 2021). El equipo que se usó para la caracterización fue el Difractómetro de rayos PW 1700 de Philips, utilizando radiación de Cu,  $K\alpha$  ( $\lambda = 1,54186$ ) con 35 mA y 40 KV. Todos los difractogramas se obtuvieron haciendo un barrido continuo de ángulo  $2\theta$  entre  $20^\circ$  y  $80^\circ$ .

**Fisisorción de Nitrógeno:** Se uso para la determinación superficie específica ( $S_{BET}$ ) de los fotocatalizadores, El equipo que se uso fue un analizador Costech Sorptometer 1042 mediante adsorción volumétrica de  $N_2$  a  $-196^\circ C$ . Antes de las mediciones, el pretratamiento de desgasificación de las partículas fotocatalíticas se llevó a cabo a  $150^\circ C$  durante 30 min en flujo de He.

**Espectrofotometría Ultravioleta Visible de Reflectancia Difusa (UV-Vis DRS):** Esta técnica permitió determinar la absorción de la luz por los materiales fotocatalíticos (Lavandero, 2018). El equipo que se utilizó para el análisis fue el espectrómetro Varian modelo Cary 100.

Para obtener el valor de la energía de band gap de los materiales a partir de los datos UV-Vis DRS se usó el modelo de Kubelka-Munk detallado en la siguiente ecuación.

$$\frac{K}{S} = \frac{(1-R)^2}{2R} \text{ (Ecuación 2)}$$

Donde  $R$  corresponde a la reflectancia difusa,  $K$  es el coeficiente de absorbancia y  $S$  es el coeficiente de dispersión (Landi *et al.*, 2022).

**Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR):** Técnica que se utilizó para medir la absorción de la radiación infrarroja por las nanopartículas de los materiales fotocatalíticos (Eddy y col, 2020). Este análisis cualitativo permite identificar los grupos funciones que conforman el material fotocatalítico. El equipo que se usó fue el espectrofotómetro Thermo Scientific Nicolet TM iS50 FT-IR. Se realizó el análisis en el intervalo de 4000-400  $\text{cm}^{-1}$ , con una resolución de 2 $\text{cm}^{-1}$  y una velocidad de retroceso de 10 y 6,2 kHz, respectivamente. Las muestras fueron analizadas usando la celda de ATR.

### **Evaluación de la Actividad Fotocatalítica**

**Reacción Blanco:** Tomando en consideración las propiedades biocidas que posee la luz ultravioleta, se realizaron experimentos de reacciones blanco sin catalizador para medir la capacidad de eliminación de *Saccharomyces cerevisiae* por el efecto de la luz UV-Vis. Las condiciones de reacción fueron: intensidad de luz de 30  $\text{W/m}^2$ , tiempo de reacción 4 horas, volumen de muestra a tratar 250 mL, agitación constante y flujo de aire de 35 L/h. Pasadas las 4 horas de tratamiento se hace la siembra en placa para cuantificación del número estimado de levaduras/ mL.

**Evaluación de la Actividad Fotocatalítica de los Materiales:** El proceso de evaluación fotocatalítica se realizó usando un reactor tipo Batch de 400 mL, la reacción se desarrolló con 250 mL de suspensión de levaduras, 1 g/L de catalizador con un flujo continuo de aire de 35 L/h, bajo agitación constante, inicialmente se deja un tiempo de 20 min en el equilibrio adsorción-desorción en oscuridad y luego se inicia la irradiación usando una lámpara Osram Ultra-Vitalux

con una intensidad de luz de 30 W/m<sup>2</sup>, el tiempo total de reacción fue de 4 horas. Luego de transcurrido el tiempo indicado se realizó el análisis microbiológico para evaluar la efectividad de los tratamientos (Hernández Laverde, 2017).

**Estudio del Efecto de la Población Inicial de Levaduras:** El efecto que tiene la población inicial de levaduras sobre la efectividad del tratamiento fotocatalítico se estudió variando la cantidad inicial de levadura activada así 3,9g, 1,5g y 0,79g en 100 mL, posteriormente se realizó el tratamiento fotocatalítico con el fotocatalizador que presentó el mejor desempeño de la evaluación fotocatalítica y con las condiciones anteriormente descritas, finalmente se realizó el conteo del número estimado de levaduras/mL.

**Análisis Microbiológico para Cuantificación de Levaduras:** Se realizó el análisis del crecimiento de levaduras tomado como referencia el procedimiento indicado en la Norma Técnica NTC 4132 por el método de siembra en superficie (NTC 4132, 1997) y la norma ISO 21527 Parte 1 (ISO 215227, 2015).

**Preparación de la Suspensión de Levaduras:** Se realizó la reconstitución de la levadura liofilizada activa de marca comercial Levapan® siguiendo las indicaciones del empaque de 3, 9g de levadura en 100 mL de agua a una temperatura 38-40°C y 3,14 g de azúcar. De esta forma se obtuvo un número estimado de levaduras de  $3,9 \times 10^5$ /mL.

Todas las preparaciones se dejaron reposar durante 10- 15 minutos a temperatura ambiente para su activación y posteriormente se realizó la siembra en el medio de cultivo o el tratamiento fotocatalítico.

**Preparación de Medio de Cultivo:** El medio de cultivo que se uso fue agar Sabouraud Dextrose (1% extracto de levadura, 1% peptona, 2% agar), el cual se preparó en agua estéril, se adicionaron 65,5 g por litro se mezcló y calentó hasta obtener una disolución homogénea del

agar, se dejó enfriar a 45-50 °C y se sirvió en las cajas de Petri estériles dejándolas en reposo hasta su solidificación. Dentro de su composición el medio de cultivo contiene Chloramphenicol antibiótico que inhibe el crecimiento de bacterias contaminantes, por otro lado para evitar el crecimiento de hongos se esterilizó en área de trabajo para evitar la contaminación del medio. Además siempre se tuvo una caja de control de las colonias blancas de levaduras para tener un comparativo y discriminar posibles contaminaciones con moho.

**Fase Analítica y Siembra en Placa:** Se esterilizó completamente el área de trabajo y el material. Para la siembra de las muestras sin dilución, se tomó un 1mL de la muestra de levadura inicial y se transfirió a las cajas Petri. Posteriormente se realizaron las diluciones descritas en la Tabla 1, se tomaron 90 mL de solución salina estéril y se completó a 100 mL tomando una alícuota de 10 mL de la suspensión de levaduras preparada y sometida a tratamiento fotocatalítico, posteriormente se adiciono 1 mL de cada una las diluciones el medio Sabouraud dextroce agar en la superficie y se homogenizo siguiendo la técnica de siembra en superficie descrita en la NTC 4132, posteriormente las cajas fueron llevadas a incubación por 48 horas a 28 °C. El crecimiento de la levadura se confirmó por conteo en placa el numero estimado de levaduras/mL, por siembra en superficie, las cuales se realizaron por duplicado, tanto de la muestra blanco, como de las muestras tratadas con los materiales fotocatalíticos, para la determinación de la efectividad del tratamiento (Giannakis *et al.*, 2016).

**Tabla1.** Series de diluciones de la suspensión de levaduras

Tipo de dilución	Volumen de la muestra (mL)	Volumen final (mL)	Dilución
I	10	100	-1
II	1	100	-2
III	0.1	100	-3

*Fuente.* Autora

Los resultados se expresan como número estimado de levaduras por 1 mL. Se contaron las cajas de menos de 150 colonias. Los cálculos se expresan usando la ecuación 3 (NTC 4132, 1997).

$$\frac{\Sigma C}{(n_1 + 0, 1n_2)d} \quad (\text{Ecuación 3})$$

$\Sigma C$ : es la suma de las colonias contadas en todas las cajas

$n_1$ : es el número de cajas contadas en la primera dilución

$n_2$ : es el número de cajas contadas de la segunda dilución

$d$ : es el factor de dilución con que se obtuvo el primer recuento

## Resultados y Discusión

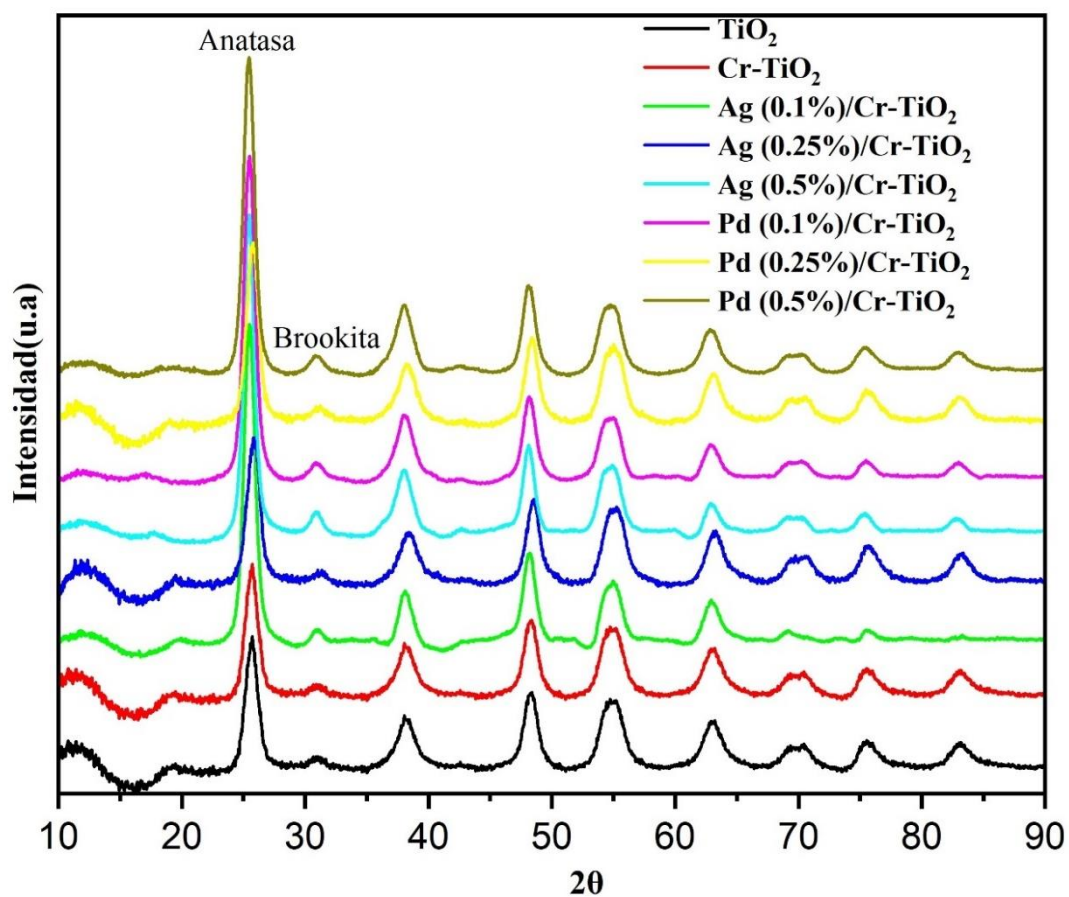
### Caracterización de los Fotocatalizadores

#### Difracción de Rayos X (DRX)

La cristalinidad de los materiales se determinó por DRX, los patrones de difracción obtenidos se representan en la Figura 3, se observan los patrones característicos de la fase cristalina Anatasa de los materiales fotocatalíticos, con su patrones principal localizado en  $2\theta = 25.78^\circ$  y el pico característico de Brookita ubicado en  $2\theta = 31.12^\circ$ .

#### Figura 3.

Patrones de difracción de rayos X para los fotocatalizadores sintetizados.



Fuente autora

En la Tabla 2 se presenta el tamaño de cristal de Anatasa para todos los fotocatalizadores, el cual se calculó utilizando la ecuación de Scherrer (ecuación 4).

$$D = \frac{k\lambda}{B \cos \theta} \quad (\text{Ecuación 4})$$

Donde se puede observar que el fotocatalizador que tiene menor tamaño del cristal de Anatasa es Ag (0.25%) /Cr-TiO<sub>2</sub> característica que puede influir en la efectividad de la actividad fotocatalítica, debido a que se ha reportado previamente que a menor tamaño del cristalito se obtiene una mayor capacidad redox, mejorando la efectividad del fotocatalizador (Danqi *et al.*, 2020), así se esperaría que este material presentara una excelente actividad en la eliminación de levaduras.

**Tabla 2.**

Resultados de Caracterización de los fotocatalizadores.

<b>Fotocatalizadores</b>	<b>D<sub>Anatasa</sub> (nm)</b>	<b>S<sub>BET</sub> (m<sup>2</sup>/g)</b>	<b>Band gap (eV)</b>
TiO <sub>2</sub>	7.71	107	3.22
Cr-TiO <sub>2</sub>	7.59	113	2.15
Ag (0.1%) /Cr-TiO <sub>2</sub>	7.68	91	2.17
Ag (0.25%) /Cr-TiO <sub>2</sub>	7.26	96	2.28
Ag (0.5%) /Cr-TiO <sub>2</sub>	8.14	92	2.12
Pd (0.1%) /Cr-TiO <sub>2</sub>	7.66	95	2.00
Pd (0.25%) /Cr-TiO <sub>2</sub>	7.64	106	2.01
Pd (0.5%) /Cr-TiO <sub>2</sub>	7.74	103	2.03

**Nota:** donde D<sub>ANATASA</sub> corresponde al tamaño de cristal de Anatasa y S<sub>BET</sub> es la superficie específica y Band gap es el ancho de banda de los materiales. *Fuente.* Autora

**Fisorción de Nitrógeno:** La medición de la superficie específica se realizó por el método BET. La Tabla 2 muestra los resultados obtenidos para todos los materiales, donde se determinó que el material fotocatalítico que tiene mayor superficie específica es Cr-TiO<sub>2</sub>, por lo que se espera que presente un número elevado de sitios activos expuestos y por ende una mayor área de contacto con la levadura, sin embargo después de hacer las modificaciones superficiales, el material Pd(0.25%)/Cr-TiO<sub>2</sub> fue el que presentó mayor área superficial, por tanto se esperaría que estos materiales fueran los más activos. La reducción del área superficial después de la fotodeposición de los metales es debida a que las nanopartículas de Ag o Pd ocupa un lugar sobre la superficie del Cr-TiO<sub>2</sub>.

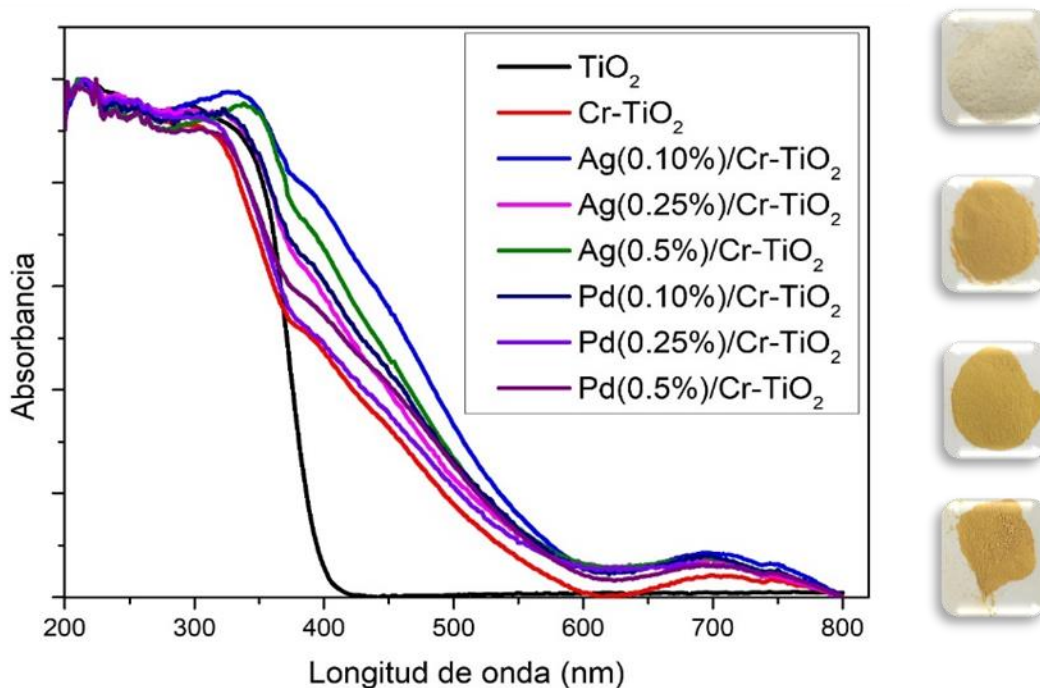
**Espectrofotometria Ultravioleta-Visible de Reflectancia Difusa (UV-Vis DRS):** La propiedad de absorción de luz de los fotocatalizadores fue evaluada por la técnica UV-Vis DRS, los resultados obtenidos se presentan en la Figura 4, donde se puede observar la banda de absorción de luz ultravioleta característica de TiO<sub>2</sub> que está entre 200 y 400 nm, mientras que para el material dopado con cromo se evidencia que se favorece notablemente la absorción en la región visible comparado en el material base TiO<sub>2</sub> sin modificación.

El desplazamiento hacia el rojo en los espectros de reflectancia de la muestra de Cr-TiO<sub>2</sub> se debe a la inclusión de Cr dentro de la red cristalina del TiO<sub>2</sub>. Este cambio también se observó mediante un cambio en el color de los polvos de TiO<sub>2</sub> (color blanco) a amarillo claro en los polvos de Cr-TiO<sub>2</sub>. En la parte superior derecha de la Figura 4 se muestran las fotografías de los fotocatalizadores analizados, en las cuales se observan claramente los cambios de color. De arriba hacia abajo en las fotografías se muestra el TiO<sub>2</sub> (de color blanco), debajo el Cr-TiO<sub>2</sub> (amarillo claro), luego el Ag (0.5%) /Cr- TiO<sub>2</sub> y finalmente Pd (0.5%) /Cr- TiO<sub>2</sub>, fue posible

identificar que las modificaciones con los metales oscurecen un poco el color amarillo de los polvos al final del proceso de fotodeposición.

**Figura 4.**

Espectros UV-Vis DRS de los fotocatalizadores sintetizados.



Fuente. Autora

Todos los materiales de  $\text{TiO}_2$  dopados con Cr muestran dos bandas en el visible: la banda principal que se observa en el rango de 400 a 600 nm debida a la transición electrónica de  $^4A_2(F) \rightarrow ^4T_1(F)$ , mientras que la segunda banda de 625 a 800 nm se debe a la transición de giro prohibido de  $^4A_2(F) \rightarrow ^4T_1(F)$ . En el campo cristalino octaédrico, los iones  $\text{Cr}^{+3}$  pueden exhibir este tipo de transición electrónica d-d (Ruzimuradov *et al.*, 2023).

Para los materiales fotocatalíticos modificados con Ag y Pd en la superficie se evidencia mayor absorción de luz visible que el material  $\text{Cr-TiO}_2$ , siendo  $\text{Ag}(0.10\%)/\text{Cr-TiO}_2$  el fotocatalizador que presenta una mayor absorción de luz visible de los 400 a 800 nm.

En la Tabla 2 se muestran los valores del ancho de banda, donde se puede observar que el  $\text{TiO}_2$  posee un band-gap de 3.2 eV y que el dopaje con partículas metálica en este caso cromo permitió generar una disminución del ancho de banda del material fotocatalítico a 2.15 eV confirmando lo expuesto en estudios reportados por Samsudin y Hamid (2017).

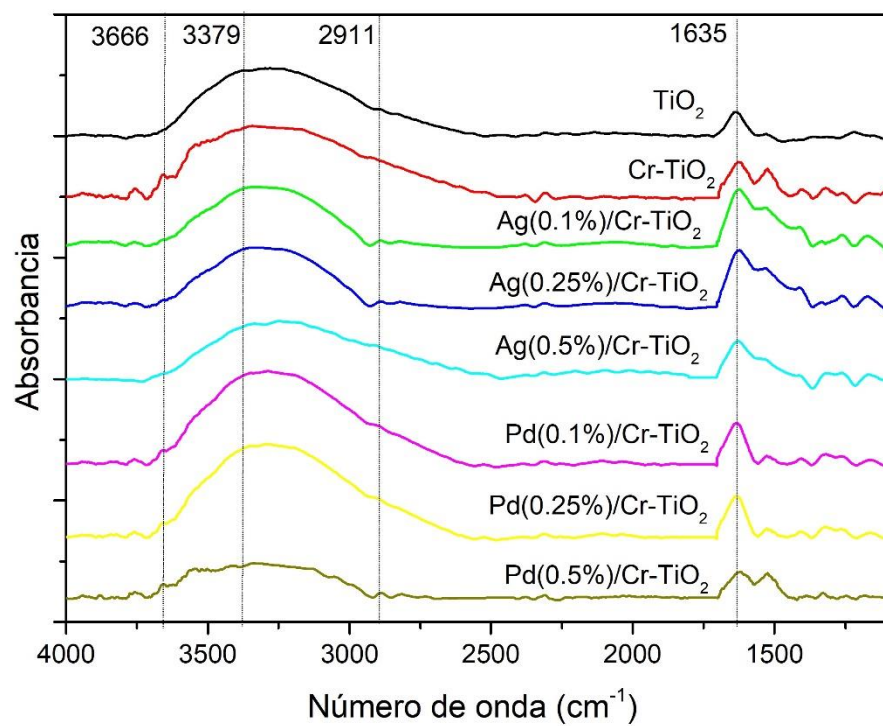
De igual forma los materiales fotocatalíticos con menor band gap son los modificados con Pd en superficies, aspecto que se espera contribuya de forma positiva a la mejora de la efectividad fotocatalítica del material en la eliminación de levaduras debido a una mayor absorción de luz visible en el espectro electromagnético.

### **Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR)**

Los grupos funcionales en la superficie de los materiales fotocatalíticos se identificaron por FTIR, en la Figura 5, se observan las bandas ubicadas entre 4000 y 2400  $\text{cm}^{-1}$  que indican la presencia de grupos hidroxilo específicamente a 3666  $\text{cm}^{-1}$  correspondiente a grupos hidroxilo aislados, presentes en todas las muestras analizadas (Rychtowski *et al.*, 2022). Las bandas localizadas entre 3379  $\text{cm}^{-1}$  y 2911  $\text{cm}^{-1}$  pertenecen a grupos Ti-OH y agua absorbida Ti-OH<sub>2</sub>. Las bandas ubicadas en la región entre 1800 y 1000  $\text{cm}^{-1}$  pertenecen a los modos normales de vibración de flexión de agua (Permpoon *et al.*, 2008). En nuestras muestras, esta banda se presenta en 1635  $\text{cm}^{-1}$ . En este caso el material que tiene mayor cantidad de grupos hidroxilo en superficies es el Pd (0.25%) /Cr-  $\text{TiO}_2$  representado por la intensidad de la banda en 3379  $\text{cm}^{-1}$ , característica positiva para generar mayor cantidad de grupos hidroxilo, lo que favorece el desempeño fotocatalítico del material por el ataque que ejercen sobre los componentes de pared celular de los microorganismos alterando su funcionalidad y provocando la muerte celular.

**Figura 5.**

Espectros FT-IR de todos los fotocatalizadores.



*Fuente. Autora*

### Actividad Fotocatalítica

Se realizó el análisis de varianza ANOVA para los datos del diseño completamente al azar con dos réplicas, como se indica en la Tabla 3.

**Tabla 3.**

Análisis de varianza ANOVA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	valor critico F
Entre grupos	2.6824E+11	9	29804399853	1024.9	0.001	3.02
Dentro de los grupos	290810576	10	29081057.6			
<b>Total</b>	<b>2.6853E+11</b>	<b>19</b>				

*Fuente:* autora

De acuerdo con el valor p (probabilístico) de  $0.001 > 0,5$  se rechaza la hipótesis nula, por lo cual en los resultados experimentales se procede a identificar cuál de los tratamientos fotocatalíticos presenta el mayor porcentaje de eliminación de levaduras.

#### **Evaluación de Reacción Blanco**

Se evaluó el efecto generado por la irradiación de luz ultravioleta y visible sobre la suspensión de levaduras *S. cerevisiae* y la inactivación de las células.

Los resultados obtenidos del conteo de las placas por siembra en superficie arrojaron un número estimado de levaduras de  $3.0 \times 10^4$ /mL después de la irradiación con luz UV-vis sin fotocatalizado y realizando una comparación del número estimado de levaduras de suspensión inicial, la cual fue de  $3.8 \times 10^8$ /mL. En la Figura 6 se observa una disminución del número de levaduras, esto se atribuye a los efectos nocivos provocados por la radiación UV-Vis sobre la pared celular y el rompimiento de la superficie externa e internamente de la célula dando origen

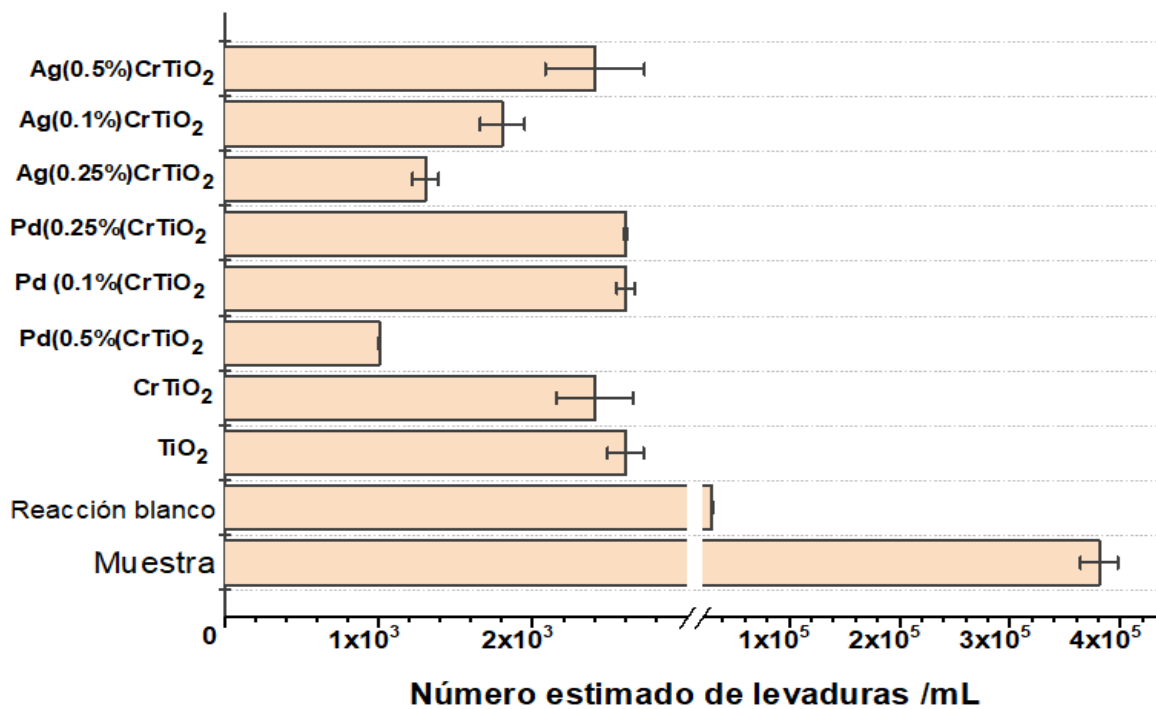
a la destrucción de la membrana plasmática y generando fugas de los componentes intracelulares, lo que desencadena la muerte celular (Niu *et al.*, 2021).

### **Evaluación de la Actividad de los Materiales Fotocatalíticos**

Se evaluó la serie de materiales fotocatalíticos sintetizados, en la eliminación de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Los resultados de eliminación de la *S. cerevisiae* después de las 4 horas de tratamiento fotocatalíticos se presentan en la Figura 6. mostrando una mayor eficiencia para el tratamiento con el material fotocatalítico Pd (0.5%) /Cr-TiO<sub>2</sub> con una eliminación del 99.71% de la levadura, seguido de Ag (0.25%) /Cr-TiO<sub>2</sub>, con una eliminación 99.67%. El mejor desempeño del material modificado con Pd puede ser atribuido a las propiedades antimicrobianas que tienen las nanopartículas de Pd, las cuales se han reportado previamente en la literatura (Chlumsky et al, 2021), este metal a diferencia de la plata presenta alta solubilidad en lípidos, lo que favorece por tanto su penetración en la pared celular de *S. cerevisiae*, razón por la cual el fotocatalizador modificado con Pd resulto ser más efectivo en la eliminación de levaduras.

**Figura 6.**

Número estimado de levaduras/mL antes y después de los diferentes tratamientos fotocatalíticos



Fuente: autora

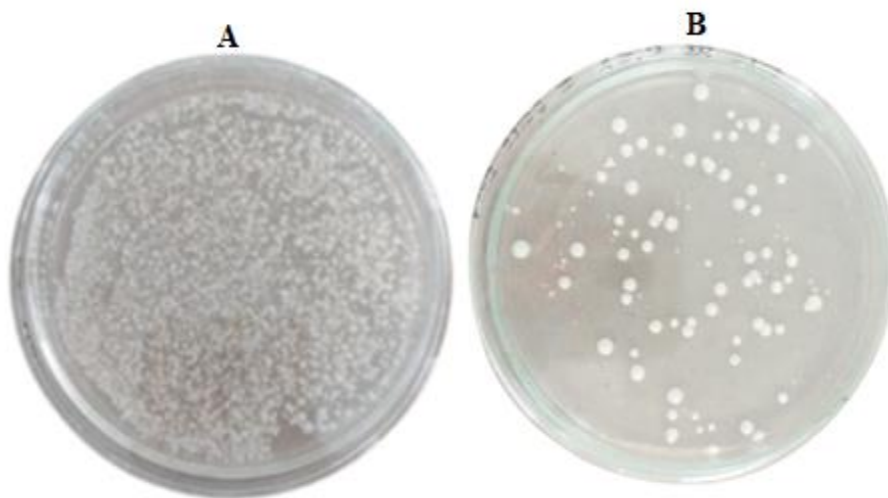
Inicialmente, el Pd(0.5%)/Cr-TiO<sub>2</sub> puede causar daños en la pared celular por la interacción de las células de levadura con el material fotocatalítico, lo que genera un estrés oxidativo causado por las especies reactivas de oxígeno generadas durante el proceso fotocatalítico y el efecto sinérgico con el Pd, dañando la envoltura celular y generando hiperproducción intracelular de Adenosín Trifosfato (ATP) y radicales de oxígeno lo que puede inhibir el crecimiento de las levaduras, seguidamente las nanopartículas del fotocatalizador logran penetrar la pared celular de la levadura y descomponer la membrana, causando daños a los organelos internos, oxidación de proteínas y lípidos y finalmente la inactivación y muerte de la *S. cerevisiae*.

La mayor eficiencia del material Pd (0.5%) /Cr-TiO<sub>2</sub> comparado con los demás materiales modificados, también se puede atribuir a sus propiedades fisicoquímicas como la de poseer una elevada área superficial, lo que proporciona más sitios activos en superficie que contribuyen a la eliminación de las levaduras (Mohtar et al., 2021). La fotodeposición de Pd sobre el material Cr-TiO<sub>2</sub> mejoró la absorción de luz UV-Vis característica que se confirmó con el análisis de UV-Vis DRS lo que influyó de forma positiva en la eliminación de las levaduras tras el material presentar una mayor eficiencia fotónica.

En la Figura 7 se puede observar de forma macroscópica la eficiencia en la eliminación de levaduras por su crecimiento en colonias en las cajas, antes y después del tratamiento con el mejor fotocatalizador.

**Figura 7.**

Crecimiento de levaduras en cajas de Petri. A) Antes del tratamiento fotocatalítico, B) Después del tratamiento fotocatalítico con Pd (0.5%) / Cr- TiO<sub>2</sub>.



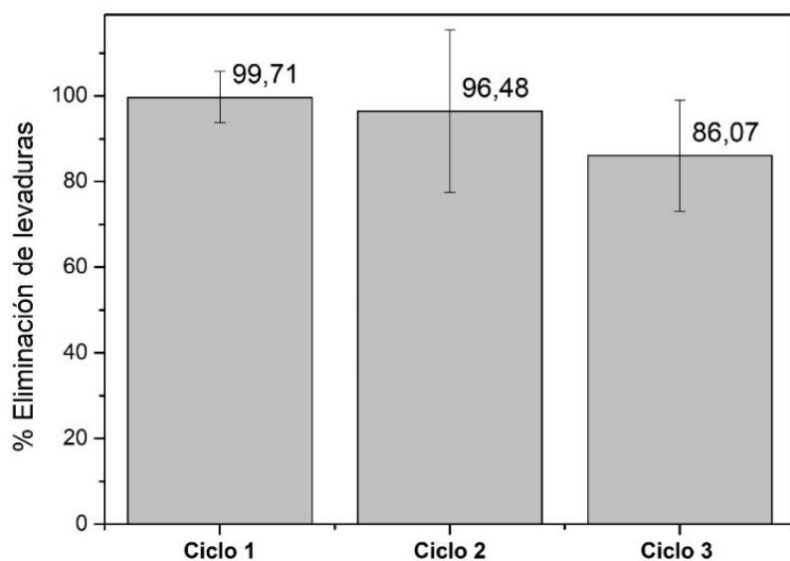
*Fuente:* autora

La estabilidad del fotocatalizador se evaluó hasta por 3 reúsos como se observa en la Figura 8, donde evidencia que pierde efectividad el fotocatalizador, dado que baja el porcentaje

de eliminación de levaduras del 99.71% en el primer ciclo, al 96.48% en el segundo reciclo y a 86.07% en el tercer ciclo, esto es debido a que a medida que el material tiene más usos se presenta la obstrucción de sitios activos por compuestos orgánicos provenientes del rompimiento de la pared celular de la levadura generando limitaciones en la inactivación del microorganismos.

### Figura 8.

Población de levaduras después de cada reuso con el fotocatalizador Pd (0.5%) /Cr- TiO<sub>2</sub>.



Fuente: Autora

### Estudio del Efecto de la Población Inicial de Levaduras

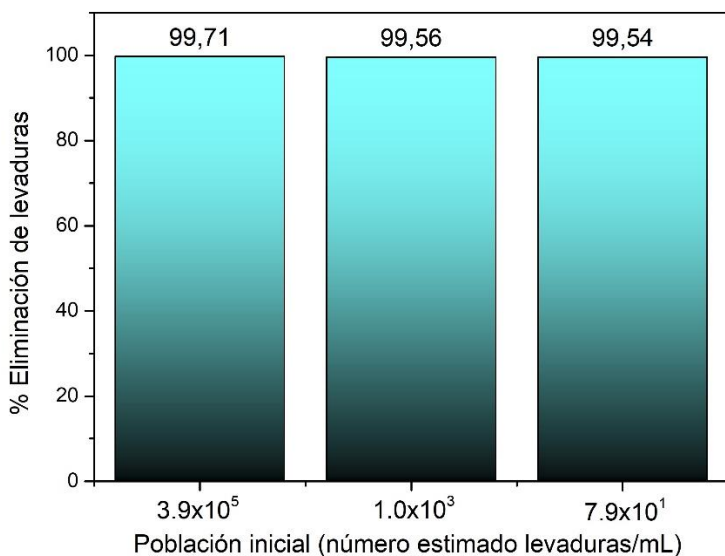
Con el fin de determinar si la cantidad inicial de levaduras tiene incidencia en la eficiencia del tratamiento fotocatalítico, se realizó el tratamiento con el fotocatalizador que tuvo el mejor desempeño, partiendo de tres suspensiones iniciales con las siguientes concentraciones de número estimado de levaduras por mililitro:  $3.9 \times 10^5$ /mL,  $1.0 \times 10^3$  /mL, y  $7.9 \times 10^1$ /mL. En la Figura 9 se observan los resultados finales expresados en porcentaje de eliminación de levaduras donde se evidencia que no hay diferencia significativa en la efectividad del proceso fotocatalítico con las concentraciones estudiadas, por lo que se puede determinar que la eliminación *S.*

*cerevisiae* concentración inicial del contaminante no condiciona la efectividad del material fotocatalítico sino que este depende de otros factores como, la permeabilidad del material en la pared celular de macroorganismo o la resistencia de la levadura a las ERO.

La no inactivación total de la *S. cerevisiae* se puede atribuir a que presenta resistencia al tratamiento fotocatalítico generando mecanismos de defensa al ataque de las ERO y a la penetración del fotocatalizador en la pared celular (Thabet et al., 2014). Por lo que no fue posible conseguir la eliminación total de esta levadura incluso con una población inicial baja, aspecto que condiciona el uso proceso fotocatalítico para disminuir la carga del número estimado de levaduras/mL y complementarlo con métodos convencionales de desinfección usados actualmente en la industria de alimentos para tener una inactivación total del contaminante.

### Figura 9.

Efecto de la población inicial de levaduras sobre la eficiencia del proceso fotocatalítico con Pd (0.5%)/ Cr- TiO<sub>2</sub>



Fuente: Autora

El pH de la suspensión inicial de levaduras antes y después del tratamiento fotocatalítico se reporta en la Tabla 4, donde se evidencia que el pH inicial es ácido y después de los

tratamientos fotocatalíticos no presenta una variación significativa, aunque en el material modificado con Pd, el valor de pH tiene un leve decrecimiento.

Cabe resaltar que un pH ácido puede afectar negativamente la reacción fotocatalítica en la eliminación de levaduras. En el estudio realizado por Giannakis y colaboradores (2016), se obtuvo una eliminación completa de *S. Cerevisiae* con un neutro de pH de 7.5 mediante el proceso foto-Fenton, de igual forma otros estudios han reportado que el pH neutro favorece la eliminación fotocatalítica de microorganismos (Thabet et al, 2014; Giannakis et al, 2016; Sridevi et al, 2020).

**Tabla 4.**

pH de la suspensión de levaduras antes y después del tratamiento fotocatalítico.

<b>Tratamiento</b>	<b>pH inicial</b>	<b>pH final</b>
Blanco	4.32	4.11
TiO <sub>2</sub>	3.63	4.05
Cr-TiO <sub>2</sub>	3.57	3.97
Pd (0.5%) /Cr- TiO <sub>2</sub>	4.12	3.46
Pd (0.25%) /Cr- TiO <sub>2</sub>	4.11	3.95
Pd (0.1%) /Cr- TiO <sub>2</sub>	4.11	3.99
Ag (0.5%) / Cr- TiO <sub>2</sub>	3.90	3.98
Ag (0.1%) / Cr- TiO <sub>2</sub>	3.81	3.91
Ag (0.25%) / Cr- TiO <sub>2</sub>	3.73	3.82

*Fuente. Autora*

La investigación realizada por Gil y colaboradores (2023) han reportado una eliminación total de *E. coli* y bacterias de tipo coliformes con materiales fotocatalíticos a base de Cr- TiO<sub>2</sub> modificados con nanopartículas metálicas de Pd o Ag (Gil et al., 2023), sin embargo en este estudio no fue posible obtener una eliminación total de levaduras de la especie *Saccharomyces cerevisiae*, lo cual puede ser atribuido a varios factores como son el pH ácido de la suspensión inicial de levaduras, a la estructura dinámica de la pared celular la cual presenta variaciones en su composición según la edad, las condiciones de cultivo o al estrés al que son sometidas las levaduras (Lipke & Ovalle, 1998b), la resistencia y adaptación a condiciones extremas (Thabet et al., 2014), lo que evidencia que la levadura puede desarrollar mecanismos de defensa al tratamiento fotocatalítico.

La resistencia de *S. cerevisiae* a los tratamientos fotocatalíticos se atribuye a la estructura de la pared celular, conformada por un 85% de polisacáridos y un 15 % de proteínas, con un espesor de 115 a 120 nm, una estructura estratificada con dos capas, una capa externa densa en electrones compuesta por manoproteínas, y una capa interna conformada en su gran mayoría por glucanos y quitina en menor proporción. La capa externa cumple la función de proteger la célula y limitar el acceso de agentes agresores, un aumento de hidrofobicidad de la pared celular influye en la floculación conduciendo a una mayor resistencia a los compuestos químicos (Ribeiro y col, 2022).

Otro factor que favorece la resistencia de las levaduras al tratamiento fotocatalítico es la adaptación al estrés oxidativo que presenta este microorganismo, el cual se da a través de la codificación enzimática de la superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPX), peroxiredoxinas (PRX) y glutatión S-transferasas (GST), contrarrestando las especies reactivas de oxígeno (ERO) y produciendo la homeostasis celular, igualmente la vía de

ácido gamma-aminobutírico formada por las enzimas glutamato y descarboxilasa (GAD), desempeñan un papel importante en la protección contra los daños celulares causados por el estrés oxidativo mediante la producción de Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) sustancia que causa resistencia al estrés en la levadura (Segal-Kischinevzky , 2022).

## Conclusiones

La *Saccharomyces cerevisiae* presentó resistencia a los procesos fotocatalíticos lo cual se atribuye a su estructura celular y a la capacidad de adaptación al estrés oxidativo mediante la codificación enzimática que posee este microorganismo, por lo cual no fue posible conseguir una eliminación total de la levadura incluso con una población inicial baja del microorganismo.

Se sintetizaron y caracterizaron materiales fotocatalíticos basados en TiO<sub>2</sub> por el método de sol-gel dopados con Cr y modificados en superficie por reducción fotoquímica de Ag o Pd, identificando que las modificaciones permitieron mejorar propiedades fisicoquímicas como aumentar la absorción de luz en la región visible y disminuir el ancho de banda.

Con la evaluación fotocatalítica se determinó que el material que presentó la mayor efectividad en la eliminación de *Saccharomyces cerevisiae* fue Pd (0.5%) /Cr-TiO<sub>2</sub>, con un porcentaje de eliminación del 99,71% bajo condiciones experimentales de 1g/L de fotocatalizador, intensidad de luz de 30 W/m<sup>2</sup>, tiempo de reacción 4 horas, volumen de muestra de 250 mL, agitación constante y flujo de oxígeno de 35 L/h.

### Recomendaciones

A partir de los resultados obtenidos se determina que es importante realizar una revisión bibliográfica más a fondo en el comportamiento de las células de levaduras frente a los procesos fotocatalíticos con los materiales sintetizados.

Realizar una exposición al tratamiento fotocatalítico por un tiempo superior a las 4 horas para determinar si el tiempo de exposición presenta cambios en la inactivación y eliminación de la *Saccharomyces cerevisiae*.

Trabajar con pH neutro o incluso alcalino los materiales fotocatalíticos para evaluar la efectividad de la fotocatálisis en la eliminación de *Saccharomyces cerevisiae* debido a que las levaduras presentan baja tolerancia a este tipo de pH.

Se recomienda seguir con la investigación enfocada a obtener una inactivación total *S. cerevisiae* con el fin de lograr la implementación del proceso fotocatalítico en una planta piloto a nivel industrial como una innovación sostenible en la industria de alimentos.

### Referencias Bibliográficas

- Alvarado-De La Vega, M. A., Meza-Gordillo, R., Villalobos-Maldonado, J. J., Pola-Albores, J. F., & Enciso-Sáenz, S. (2021). Effect of titanium's dioxide particle size immobilized on the photocatalytic oxidation of purple of bromocresol. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 37, 589–599. <https://doi.org/10.20937/RICA.54008>
- Amakiri, K. T., Angelis-Dimakis, A., & Canon, A. R. (2022). Recent advances, influencing factors, and future research prospects using photocatalytic process for produced water treatment. *Water Science and Technology*, 85(3), 769–788. <https://doi.org/10.2166/wst.2021.641>
- Armaković, S. J., Savanović, M. M., & Armaković, S. (2023). Titanium Dioxide as the Most Used Photocatalyst for Water Purification: An Overview. *Catalysts*, 13(1). <https://doi.org/10.3390/catal13010026>
- Ballet, N., Renaud, S., Roume, H., George, F., Vandekerckove, P., Boyer, M., & Durand-Dubief, M. (2023). *Saccharomyces cerevisiae*: Multifaceted Applications in One Health and the Achievement of Sustainable Development Goals. *Encyclopedia of Fungi*, January, 3(2), 602–613. <https://doi.org/10.3390/encyclopedia3020043>
- Bhagwat, V. R. (2019). Safety of water used in food production. In *Food Safety and Human Health*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816333-7.00009-6>
- Bilal, M., Sohaib, M., Sagir, M., & Rafique, M. (2021). Role of Nanotechnology in Photocatalysis. *Encyclopedia of Smart Materials*, January, 578–589. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815732-9.00006-1>

- Burguet Lago Nancy, L. C. B. G. (2013). Evaluación de la efectividad de un desinfectante mediante el método de placas de contacto Evaluation of the effectiveness of a disinfectant through the contact plate method. *Revista Cubana de Farmacia*, 47(2), 185–192.
- Chica-Londoño, V. (2022). Dióxido de cloro: la verdad toxicológica y el riesgo de las noticias falsas. *Iatreia*, 35(4), 424-424–432.
- Chlumsky, O., Purkrtova, S., Michova, H., Sykorova, H., Slepicka, P., Fajstavr, D., Ulbrich, P., Viktorova, J., & Demnerova, K. (2021). Antimicrobial properties of palladium and platinum nanoparticles: A new tool for combating food-borne pathogens. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(15). <https://doi.org/10.3390/ijms22157892>
- Danqi, Song, H., Meng, X., Shen, T., Sun, J., Han, W., & Wang, X. (2020). Effects of particle size on the structure and photocatalytic performance by alkali-treated TiO<sub>2</sub>. *Nanomaterials*, 10(3), 1–14. <https://doi.org/10.3390/nano10030546>
- De Pasquale, I., Lo Porto, C., Dell'edera, M., Petronella, F., Agostiano, A., Curri, M. L., & Comparelli, R. (2020). Photocatalytic TiO<sub>2</sub>-based nanostructured materials for microbial inactivation. *Catalysts*, 10(12), 1–46. <https://doi.org/10.2290/catal10121389>
- Giannakis, S., Ruales-Lonfat, C., Rtimi, S., Thabet, S., Cotton, P., & Pulgarin, C. (2016). Castles fall from inside: Evidence for dominant internal photo-catalytic mechanisms during treatment of *Saccharomyces cerevisiae* by photo-Fenton at near-neutral pH. *Applied Catalysis B: Environmental*, 185, 150–162. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2015.12.016>
- Gil, M. A., Murcia, J. J., Hernández-Laverde, M., Morante, N., Sannino, D., & Vaiano, V. (2023). Ag/Cr-TiO<sub>2</sub> and Pd/Cr-TiO<sub>2</sub> for Organic Dyes Elimination and Treatment of Polluted River Water in Presence of Visible Light. *Nanomaterials*, 13(16). <https://doi.org/10.3390/nano13162341>

- Hassaan, M. A., El-Nemr, M. A., Elkatory, M. R., Ragab, S., Niculescu, V. C., & El Nemr, A. (2023). Principles of Photocatalysts and Their Different Applications: A Review. In *Topics in Current Chemistry* (Vol. 381, Issue 6). Springer International Publishing.  
<https://doi.org/10.1007/s41061-023-00444-7>
- Hernández, A., Pérez-Nevaldo, F., Ruiz-Moyano, S., Serradilla, M. J., Villalobos, M. C., Martín, A., & Córdoba, M. G. (2018). Spoilage yeasts: What are the sources of contamination of foods and beverages? *International Journal of Food Microbiology*, 286(July), 98–110.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.07.031>
- Hernández, M. (2017). *Floculación y fotocatalisis como procesos combinados en el tratamiento de aguas residuales derivadas de la producción industrial de lacteos.*
- Ibhadon, A. O., & Fitzpatrick, P. (2013). Heterogeneous photocatalysis: Recent advances and applications. *Catalysts*, 3(1), 189–218. <https://doi.org/10.3390/catal3010189>
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC). (1997). Guía General para el Recuento de Mohos y Levaduras. Técnica de recuento de colonias a 25 °C (NTC 4132).
- International Organization for Standardization. Microbiology of food and animal feeding stuffs. (2008). — Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds — Part 1. ISO, 2008.
- Juárez-Cortazar, D. E., Torres-Torres, J. G., Hernandez-Ramirez, A., Arévalo-Pérez, J. C., Cervantes-Urbe, A., Godavarthi, S., de los Monteros, A. E. E., Silahua-Pavón, A. A., & Cordero-Garcia, A. (2022). Doping of TiO<sub>2</sub> Using Metal Waste (Door Key) to Improve Its Photocatalytic Efficiency in the Mineralization of an Emerging Contaminant in an Aqueous Environment. *Water (Switzerland)*, 14(9). <https://doi.org/10.3390/w14091389>

- Kim, Y., Choi, Y., Kim, S., Park, J., Chung, M., Song, K. Bin, Hwang, I., Kwon, K., & Park, J. (2009). Disinfection of iceberg lettuce by titanium dioxide-UV photocatalytic reaction. *Journal of Food Protection*, *72*(9), 1916–1922. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-72.9.1916>
- Klueb-erb, N., Chuangchote, S., Roongraung, K., Laosiripojana, N., & Sagawa, T. (2018). Fabrication of Several Metal-Doped TiO<sub>2</sub> Nanoparticles and Their Physical Properties for Photocatalysis in Energy and Environmental Applications. *Journal of Sustainable Energy & Environment*, *9*, 11–16.
- Korukluoglu, M., Sahan, Y., & Yigit, A. (2006). The fungicidal efficacy of various commercial disinfectants used in the food industry. *Annals of Microbiology*, *56*(4), 325–330. <https://doi.org/10.1007/BF03175025>
- Landi, S., Segundo, I. R., Freitas, E., Vasilevskiy, M., Carneiro, J., & Tavares, C. J. (2022). Use and misuse of the Kubelka-Munk function to obtain the band gap energy from diffuse reflectance measurements. *Solid State Communications*, *341*(July 2021), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.ssc.2021.114573>
- Lee, Y., Kim, E., Park, Y., Kim, J., Ryu, W. H., Rho, J., & Kim, K. (2018). Photodeposited metal-semiconductor nanocomposites and their applications. *Journal of Materiomics*, *4*(2), 83–94. <https://doi.org/10.1016/j.jmat.2018.01.004>
- Lipke, P. N., & Ovalle, R. (1998a). Cell wall architecture in yeast: New structure and new challenges. *Journal of Bacteriology*, *180*(15), 3735–3740. <https://doi.org/10.1128/jb.180.15.3735-3740.1998>
- Liu, J., Huang, T., Hong, W., Peng, F., Lu, Z., Peng, G., Fu, X., Liu, G., Wang, Z., Peng, Q., Gong, X., Zhou, L., Li, L., Li, B., Xu, Z., & Lan, H. (2022). A comprehensive study on

- ultrasonic deactivation of opportunistic pathogen *Saccharomyces cerevisiae* in food processing: From transcriptome to phenotype. *Lwt*, 170(October), 114069.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114069>
- Liu, J., Li, B., & Li, Q. (2022). Two-Dimensional Doped Materials. *Magnetochemistry*, 8(12).  
<https://doi.org/10.3390/magnetochemistry8120172>
- Maicas, S. (2020). The role of yeasts in fermentation processes. *Microorganisms*, 8(8), 1–8.  
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8081142>
- Mancuso, A., Morante, N., De Carluccio, M., Sacco, O., Rizzo, L., Fontana, M., Esposito, S., Vaiano, V., & Sannino, D. (2022). Solar driven photocatalysis using iron and chromium doped TiO<sub>2</sub> coupled to moving bed biofilm process for olive mill wastewater treatment. *Chemical Engineering Journal*, 450(P2), 138107. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.138107>
- Mohtar, S. S., Aziz, F., Ismail, A. F., Sambudi, N. S., Abdullah, H., Rosli, A. N., & Ohtani, B. (2021). Impact of doping and additive applications on photocatalyst textural properties in removing organic pollutants: A review. *Catalysts*, 11(10), 1–31.  
<https://doi.org/10.3390/catal11101160>
- Ni, Z., Chen, Z., Zhang, X., Yang, X., & Zhou, L. (2023). Photolysis of fungicide triadimefon: A combined experimental and theoretical investigation on homolytic C–O and C–N bonds dissociation mechanisms. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 436(September 2022), 114402. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2022.114402>
- Niu, L., Wu, Z., Yang, L., Wang, Y., Xiang, Q., & Bai, Y. (2021). Antimicrobial effect of UVC light-emitting diodes against *saccharomyces cerevisiae* and their application in orange juice decontamination. *Journal of Food Protection*, 84(1), 139–146. <https://doi.org/10.4315/JFP-20-200>

- Ostos 1, O. L. Ortiz, Arango1, S. M. R., & Johanna Lizeth González Devia. (2019). Aplicaciones biotecnológicas de los microorganismos. *Nova* (Vol. 17, Issue 31).  
<https://doi.org/10.22490/24629448.3629>
- Parapouli, M., Vasileiadis, A., Afendra, A. S., & Hatziloukas, E. (2020). *Saccharomyces cerevisiae* and its industrial applications. In *AIMS Microbiology* (Vol. 6, Issue 1).  
<https://doi.org/10.3934/microbiol.2020001>
- Pedreira, A., Taşkın, Y., & García, M. R. (2021). A critical review of disinfection processes to control sars-cov-2 transmission in the food industry. *Foods*, *10*(2), 1–16.  
<https://doi.org/10.3390/foods10020283>
- Permpoon, S., Houmar, M., Riassetto, D., Rapenne, L., Berthomé, G., Baroux, B., Joud, J. C., & Langlet, M. (2008). Natural and persistent superhydrophilicity of SiO<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub> and TiO<sub>2</sub>/SiO<sub>2</sub> bi-layer films. *Thin Solid Films*, *516*(6), 957–966.  
<https://doi.org/10.1016/j.tsf.2007.06.005>
- Regmi, C., Joshi, B., Ray, S. K., Gyawali, G., & Pandey, R. P. (2018). Understanding Mechanism of Photocatalytic Microbial Decontamination of Environmental Wastewater. *Frontiers in Chemistry*, *6*(February), 1–6. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00033>
- Ribeiro, R. A., Bourbon-Melo, N., & Sá-Correia, I. (2022). The cell wall and the response and tolerance to stresses of biotechnological relevance in yeasts. *Frontiers in Microbiology*, *13*(July), 1–25. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.953479>
- Rozman, U., Pušnik, M., Kmetec, S., Duh, D., & Turk, S. Š. (2021). Reduced susceptibility and increased resistance of bacteria against disinfectants: A systematic review. *Microorganisms*, *9*(12), 1–22. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9122550>

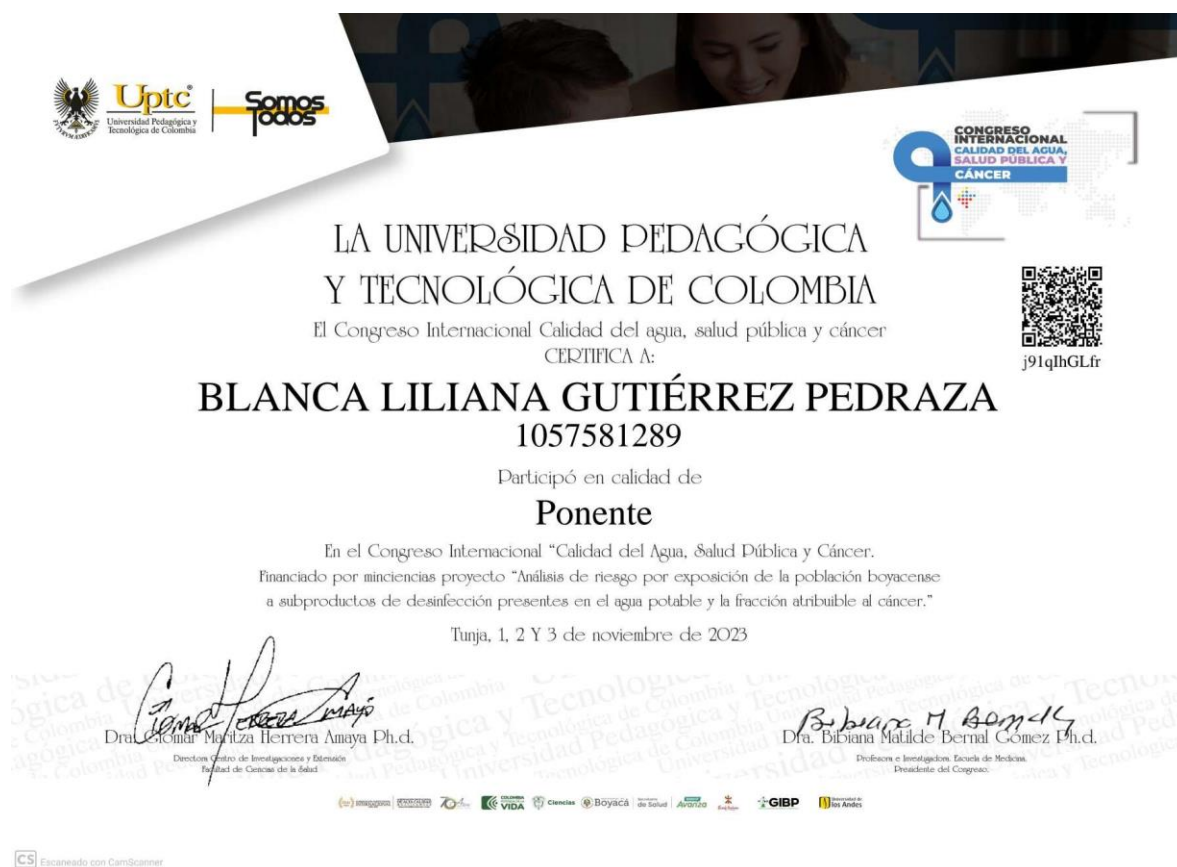
- Ruzimuradov, O., Musaev, K., Mamatkulov, S., Butanov, K., Gonzalo-Juan, I., Khoroshko, L., Turapov, N., Nurmanov, S., Razzokov, J., Borisenko, V., & Riedel, R. (2023). Structural and optical properties of sol-gel synthesized TiO<sub>2</sub> nanocrystals: Effect of Ni and Cr (co)doping. *Optical Materials*, *143*(August), 114203.  
<https://doi.org/10.1016/j.optmat.2023.114203>
- Rychtowski, P., Tryba, B., Skrzypaska, A., Felczak, P., Sreńscek-Nazzal, J., Wróbel, R. J., Nishiguchi, H., & Toyoda, M. (2022). Role of the Hydroxyl Groups Coordinated to TiO<sub>2</sub> Surface on the Photocatalytic Decomposition of Ethylene at Different Ambient Conditions. *Catalysts*, *12*(4). <https://doi.org/10.3390/catal12040386>
- Segal-Kischinevzky, C., Romero-Aguilar, L., Alcaraz, L. D., López-Ortiz, G., Martínez-Castillo, B., Torres-Ramírez, N., Sandoval, G., & González, J. (2022). Yeasts Inhabiting Extreme Environments and Their Biotechnological Applications. *Microorganisms*, *10*(4).  
<https://doi.org/10.3390/microorganisms10040794>
- Sun, Y., & O'Connell, D. W. (2022). Application of visible light active photocatalysis for water contaminants: A review. *Water Environment Research*, *94*(10).  
<https://doi.org/10.1002/wer.10781>
- Thabet, S., Simonet, F., Lemaire, M., Guillard, C., & Cotton, P. (2014). Impact of photocatalysis on fungal cells: Depiction of cellular and molecular effects on *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied and Environmental Microbiology*, *80*(24), 7527–7535.  
<https://doi.org/10.1128/AEM.02416-14>
- Vella, F. M., Calandrelli, R., Del Barone, A., Guida, M., & Laratta, B. (2023). Rapid evaluation of ergosterol to detect yeast contamination in fruit juices. *European Food Research and Technology*, *249*(2), 465–472. <https://doi.org/10.1007/s00217-022-04145-1>

Wang, H., Li, X., Zhao, X., Li, C., Song, X., Zhang, P., & Huo, P. (2022). A review on heterogeneous photocatalysis for environmental remediation: From semiconductors to modification strategies. *Chinese Journal of Catalysis*, 43(2), 178–214.  
[https://doi.org/10.1016/S1872-2067\(21\)63910-4](https://doi.org/10.1016/S1872-2067(21)63910-4)

## Apéndices

### Apéndice A

Certificado de participación como ponente en el Congreso Internacional Calidad del agua, salud pública y cáncer



Evento realizado los días 1,2 y 3 de noviembre 2023 por la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia UPTC (Tunja), con la ponencia titulada. Nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  modificadas con metales, como agentes bactericidas en el tratamiento de agua.

## Apéndice B.

Fotografía de la participación en el Congreso Internacional Calidad del agua, salud pública y cáncer (UPTC).



## **Apéndice C.**

### **Artículo Científico**

Los resultados del trabajo de investigación desarrollado hace parte del artículo: M. Hernández-Laverde , B. L. Gutiérrez, J.J. Murcia, N. Morante, D. Sannino, and V. Vaiano. *“Bacteria, yeast and organic pollutants elimination by enhanced Titania photoactivity. Study of effective Cr-doping agent and noble metals on the surface  $TiO_2$ ”*. El cual está en preparación y será sometido en una revista científica de alto impacto.