



Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica

Página principal: www.riit.com.mx

Optimización y Evaluación de Recubrimientos Fotocatalíticos con Nanopartículas de TiO₂ para la Eliminación de Microorganismos Patógenos en Entornos Críticos

Optimization and Evaluation of Photocatalytic Coatings with TiO₂ Nanoparticles for the Elimination of Pathogenic Microorganisms in Critical Environments

Meléndez-Anzures, F.E.^{1,3}, López-Cuellar, E.M.^{1*}, Martínez-de la Cruz, A.¹, Barrón-González, M.P.², Contreras-Hernández, L.A.²

¹ Facultad de Ingeniería Mecánica y Eléctrica. Universidad Autónoma de Nuevo León. C.P. 66455. San Nicolás de los Garza, Nuevo León. México.

² Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León. C.P. 66455. San Nicolás de los Garza, Nuevo León. México.

³ Instituto para el Futuro de la Educación. Tecnológico de Monterrey. C.P. 64700. Monterrey, Nuevo León. México.
frank.melendezan@uanl.edu.mx; enrique.lopezcl@uanl.edu.mx*; azael.martinezdl@uanl.edu.mx;
maria.barrongn@uanl.edu.mx; luis.contrerashdz@uanl.edu.mx

Innovación tecnológica: Implementación de metodologías avanzadas para evaluar y mejorar la eficacia de recubrimientos fotocatalíticos antibacterianos.

Área de aplicación industrial: Ambientes críticos como hospitales, escuelas y otras instalaciones públicas donde la reducción de patógenos es esencial para la salud pública y la seguridad.

Recibido: 20 enero 2025

Aceptado: 12 mayo 2025

Abstract

Humid indoor environments facilitate the proliferation of microorganisms, posing significant risks to public health. This study focuses on the efficacy of photocatalytic coatings with Degussa P25 titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles in eliminating *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* under UV irradiation. The aim was not only to demonstrate the effectiveness of these coatings but also to improve the evaluation methodology for future photocatalytic materials. Two methodologies were applied: the glass adhesion method, based on ISO 27447:2009, and a photocatalytic powder test in liquid suspension, adapted from the scientific literature. The results showed a significant reduction in the number of bacterial colony-forming units (CFUs) with the photocatalytic coatings, in contrast to the controls where

bacterial concentrations remained constant. Several relevant methodological improvements were implemented, such as extending the range of UV intensities and times, enhancing coating application methods, evaluating variable testing conditions, and optimizing inoculum and photocatalytic suspension distribution. These methodological improvements are crucial for the evaluation of new photocatalytic materials with potential applications in critical environments such as hospitals and schools, thus promoting public health and safety by reducing the spread of pathogens.

Keywords: TiO₂ photocatalysis, Antibacterial coatings, Pathogen elimination, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

Resumen

Los ambientes interiores húmedos facilitan la proliferación de microorganismos, lo que plantea riesgos importantes para la salud pública. Este estudio se centra en la eficacia de recubrimientos fotocatalíticos con nanopartículas de dióxido de titanio (TiO₂) Degussa p25 para eliminar *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* bajo irradiación UV. El objetivo fue no solo demostrar la efectividad de estos recubrimientos, sino también mejorar la metodología de evaluación para futuros materiales fotocatalíticos. Se aplicaron dos metodologías: el método de adhesión en vidrio, basado en la norma ISO 27447:2009, y una prueba con polvo fotocatalítico en suspensión líquida, adaptada con base en la literatura científica. Los resultados mostraron una reducción significativa en el número de unidades formadoras de colonias (UFC) bacterianas con los recubrimientos fotocatalíticos, en contraste con los controles donde las concentraciones bacterianas se mantuvieron constantes. Se implementaron varias mejoras metodológicas relevantes como la ampliación de la gama de intensidades y tiempos de exposición UV, métodos mejorados de aplicación de recubrimientos, evaluación de condiciones de prueba variables y optimización de la distribución del inóculo y la suspensión fotocatalítica. Estas mejoras metodológicas son cruciales para la evaluación de nuevos materiales fotocatalíticos, con aplicaciones potenciales en entornos críticos como hospitales y escuelas, promoviendo así la salud pública y la seguridad al reducir la propagación de patógenos.

Palabras clave: Fotocatálisis TiO₂, Recubrimientos antibacterianos, Eliminación de patógenos, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

1. Introducción

Los ambientes interiores con altos niveles de humedad, como baños, cocinas, hospitales y edificios con problemas de ventilación proporcionan condiciones ideales para la proliferación de microorganismos patógenos [1]. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS),

las infecciones asociadas a la atención médica afectan a 1 de cada 10 pacientes hospitalizados, constituyendo una de las principales causas de morbilidad y mortalidad a nivel global [2]. Estas infecciones generan un gasto económico significativo en los sistemas de salud debido a hospitalizaciones prolongadas y

tratamientos adicionales [3]. Asimismo, en entornos educativos como escuelas, los niños, cuyos sistemas inmunológicos están en desarrollo, son especialmente vulnerables a infecciones comunes, lo que resalta la importancia de estrategias efectivas y sostenibles para reducir la transmisión de enfermedades [4]. Entre los microorganismos más relevantes se encuentra *Escherichia coli*, una bacteria gramnegativa que forma parte de la microbiota intestinal normal. Algunas cepas, como las productoras de toxinas Shiga, pueden causar enfermedades gastrointestinales severas y, en casos graves, infecciones sistémicas como septicemia y meningitis [5]. Por otro lado, *Staphylococcus aureus* es una bacteria grampositiva ampliamente conocida por su capacidad para causar infecciones graves y desarrollar resistencia a múltiples antibióticos [6]. En particular, las cepas resistentes a meticilina (MRSA) se han asociado con altos índices de mortalidad y costos significativos en hospitales, afectando especialmente a pacientes inmunocomprometidos [7].

Los métodos convencionales de limpieza y desinfección, aunque efectivos, presentan limitaciones en superficies porosas o de difícil acceso y dependen en gran medida de agentes químicos, lo que aumenta el riesgo de resistencia microbiana y contaminación ambiental [8]. En este contexto, los recubrimientos fotocatalíticos basados en dióxido de titanio (TiO_2) emergen como una alternativa prometedora [9].

El TiO_2 es un material químicamente estable, no tóxico y seguro para los humanos, ampliamente utilizado por sus propiedades fotocatalíticas. Su durabilidad y capacidad para operar bajo irradiación UV lo convierten en una herramienta eficaz para aplicaciones en entornos críticos

como hospitales y escuelas, donde las superficies deben mantenerse desinfectadas de manera continua y eficiente [10].

Bajo irradiación UV, el TiO_2 absorbe fotones con una energía igual o superior a su banda prohibida (bandgap). Este proceso genera electrones excitados en la banda de conducción y vacantes (huecos) en la banda de valencia, que actúan como centros reactivos. En presencia de agua y oxígeno, estos centros catalizan la formación de especies altamente reactivas, como radicales hidroxilos (OH) y especies reactivas de oxígeno (ROS). Estas moléculas destruyen componentes esenciales de los microorganismos, como membranas celulares, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, llevándolos a su inactivación o muerte [11, 12]. Estudios previos han demostrado que este mecanismo es altamente eficaz contra una amplia gama de microorganismos, incluyendo bacterias, hongos y virus [13–15]. Su capacidad antimicrobiana continua y su bajo mantenimiento lo hacen ideal para aplicaciones en sistemas de ventilación, superficies de contacto y revestimientos arquitectónicos en entornos de alta sensibilidad [16]. En este contexto, el presente estudio tiene como objetivo evaluar la eficacia de los recubrimientos fotocatalíticos con nanopartículas de TiO_2 Degussa P25 para eliminar *E. coli* y *S. aureus* bajo irradiación UV, demostrando su potencial como herramienta de desinfección en entornos críticos, y optimizar la metodología existente para la evaluación de la actividad fotocatalítica. Lo anterior busca facilitar futuros estudios comparativos sobre materiales fotocatalíticos, mejorando la consistencia y aplicabilidad de los resultados obtenidos.

2. Metodología

Para evaluar la actividad antibacteriana de los recubrimientos fotocatalíticos de TiO₂, se emplearon dos métodos principales: el método de adhesión en vidrio y las pruebas con polvo fotocatalítico en suspensión líquida. El primero se diseñó siguiendo los lineamientos establecidos en la norma ISO 27447:2009 [17], mientras que el segundo se adaptó con base en las condiciones descritas en un artículo de referencia publicado en una revista indexada [18]. Ambos métodos incluyeron adaptaciones específicas para optimizar la precisión y reproducibilidad de los resultados en este estudio. A continuación, se detallan las adaptaciones y procedimientos empleados en cada método.

2.1 Materiales y microorganismos utilizados

El dióxido de titanio (TiO₂) utilizado en este estudio corresponde al producto comercial AEROXIDE® TiO₂ P25 (Evonik Industries, Alemania), reconocido por su eficiencia fotocatalítica y uso frecuente como material de referencia en estudios científicos. Este producto presenta una composición bifásica (anatasa ~75 %, rutilo ~25 %), un tamaño de partícula primaria entre 10 y 50 nm (principalmente entre 15 y 25 nm), y un área superficial específica de 35 a 65 m²/g, de acuerdo con la ficha técnica del fabricante. No se realizó caracterización estructural adicional, dado que el propósito del estudio fue evaluar la eficacia funcional de un producto comercial estandarizado bajo condiciones controladas. Esta decisión metodológica garantiza la comparabilidad con estudios

previos y permite enfocar el análisis en la validación experimental de metodologías de evaluación fotocatalítica.

Para los ensayos microbiológicos se utilizaron dos cepas bacterianas de referencia: *Escherichia coli* (ATCC® 25922™), y *Staphylococcus aureus* (ATCC® 29213™), seleccionadas por su relevancia clínica y su uso común en estudios de sensibilidad antimicrobiana. Las cepas se cultivaron en medios soya tripticasa, tanto en forma líquida (TSB) como sólida (TSA), bajo condiciones estandarizadas.

Todos los reactivos utilizados fueron de grado analítico o microbiológico, adquiridos de proveedores certificados como Sigma-Aldrich y BD Difco. Las soluciones salinas isotónicas se prepararon con NaCl al 0.85 % p/v en agua destilada estéril y fueron esterilizadas mediante autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Todas las etapas experimentales se realizaron en condiciones asépticas controladas, garantizando la integridad microbiológica y la reproducibilidad de los resultados.

2.2 Método de adhesión en vidrio

En este estudio se empleó el método de adhesión en vidrio para analizar la actividad antibacteriana de recubrimientos fotocatalíticos de TiO₂. El procedimiento incluyó una fuente de radiación UV de 365 nm colocada a 60 cm de distancia sobre la muestra, proporcionando una intensidad de 0.15 μW/cm² como se muestra en la figura 1.

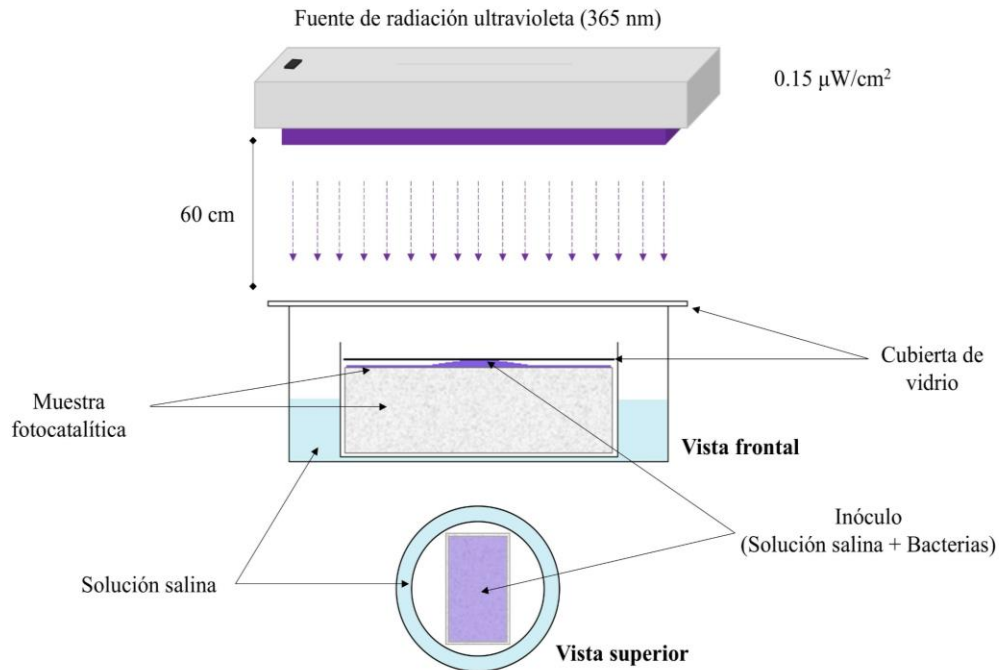


Figura 1. Método de adhesión en vidrio.

Los recubrimientos de TiO_2 se aplicaron en múltiples capas sobre un material de soporte, y se utilizó una lámina de vidrio con un espesor de ≤ 1.1 mm como cubierta. Esta cubierta, previamente esterilizada, actuó como barrera inerte, sin absorción de agua, y presentó una alta tasa de transparencia ($>85\%$) en el rango de 340-380 nm, asegurando una exposición uniforme bajo irradiación UV. En esta prueba se trabajó con las cepas descritas previamente (*E. coli* y *S. aureus*), empleando una suspensión bacteriana estandarizada preparada en solución salina al 0.85 %, con una concentración inicial de 10^5 células/mL. Esta preparación sin medio nutritivo evitó la proliferación bacteriana durante la prueba y permitió una comparación más precisa con el control. El procedimiento experimental se llevó a cabo utilizando muestras con dimensiones de $50 \text{ mm} \times 50 \text{ mm}$ y un espesor de 10 mm, las cuales fueron previamente esterilizadas. La inoculación se realizó aplicando 3 mL de suspensión bacteriana estandarizada, con una concentración inicial de 10^5 células/mL. Posteriormente, se

recuperó el volumen total de la muestra tratada y se realizaron diluciones seriadas en solución salina para garantizar un recuento bacteriano preciso mediante el método de recuento en placa. Para asegurar la reproducibilidad de los resultados, el conteo de colonias se mantuvo en un rango de 30-300 UFC/mL. El tiempo de exposición se evaluó a intervalos de 2 y 4 horas, seleccionados con base en pruebas preliminares que demostraron su capacidad para maximizar la eficacia antibacteriana y permitir una observación clara de la evolución de la actividad fotocatalítica bajo condiciones controladas. Este enfoque aseguró resultados confiables sobre la efectividad de los recubrimientos en la eliminación de bacterias. Las condiciones experimentales mencionadas anteriormente se diseñaron en base a las directrices de la norma ISO 27447:2009 [17], adaptándolas para optimizar la eficacia del recubrimiento. En la Tabla 1, se describen las principales adaptaciones realizadas en el estudio actual en comparación con la norma.

Tabla 1. Comparación de condiciones experimentales entre la norma ISO 27447:2009 y el estudio actual para evaluar recubrimientos fotocatalíticos.

Aspecto Evaluado	Norma ISO 27447	Estudio Actual
Intensidad de Luz UV	Rango permitido: 1-250 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$	Intensidad de luz UV utilizada: 0.15 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$, seleccionado como el más eficaz para eliminar <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i>
Tiempo de Exposición	4-8 horas dependiendo del material	Rango evaluado: 2-4 horas; selección de la duración óptima para maximizar la eficacia antibacteriana
Condiciones Ambientales	No especificadas en detalle; flexibilidad para ajustar temperatura y humedad relativa	Humedad relativa: 50-80%; Temperatura: 25 °C seleccionada para maximizar la eficacia y la estabilidad de resultados
Aplicación del Recubrimiento	No especificado en detalle; flexibilidad en técnicas de aplicación	Aplicación mediante técnica por capas (enlucido en capas), asegurando la uniformidad del recubrimiento con una primera capa de adhesión, seguida por capas de nivelación y alisado para garantizar un acabado liso y uniforme
Distribución del Inóculo	Inoculación mediante pipeteo uniforme, con dilución en medio nutritivo (caldo de digestión de caseína y soja) para asegurar el crecimiento durante la prueba	Distribución mejorada utilizando 2 mL de suspensión bacteriana estandarizada aplicada mediante pipeteo controlado, usando solución salina en lugar de medio nutritivo

2.1 Pruebas con polvo fotocatalítico en suspensión líquida

En este estudio, se utilizó el método de pruebas con polvo fotocatalítico en suspensión líquida para evaluar la actividad antibacteriana del TiO_2 . Al igual que en el experimento anterior, se empleó una fuente de radiación ultravioleta de 365 nm, posicionada a 55 cm sobre la muestra, con una intensidad de 0.15 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$, como se muestra en la figura 2.

El polvo fotocatalítico se disolvió en una solución salina fisiológica estéril y se añadió a vasos de precipitado estériles que contenían la suspensión bacteriana. Durante el ensayo, las muestras se mantuvieron en agitación constante mediante un agitador magnético para asegurar una distribución homogénea tanto del TiO_2 como de las bacterias. Los vasos de precipitado se colocaron bajo la fuente de luz UV, cubiertos con una película adherente inerte, no absorbente de agua, con propiedades de sellado óptimas y una transparencia superior al 85% en el rango de 340 a 380 nm, garantizando así la exposición adecuada al TiO_2 y evitando alteraciones externas.

Al igual que en el método anterior, se emplearon las cepas previamente descritas (*E. coli* y *S. aureus*), utilizando una suspensión bacteriana en solución salina al 0.85 % p/v (NaCl) con una concentración inicial de 10^5 células/mL. La prueba consistió en una mezcla de 27 mL de solución salina con 3 mL de suspensión bacteriana. Como control, se utilizó la misma mezcla sin la adición de TiO_2 , estableciendo la concentración del polvo fotocatalítico en 1 g/L. Para el análisis, se tomaron muestras de 1 mL tras 2 y 4 horas de exposición. Estas muestras se sometieron a diluciones seriadas en solución salina y, posteriormente, se realizó el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC/mL) mediante el método de recuento en placa. El rango de conteo se mantuvo entre 30 y 300 UFC/mL, garantizando la reproducibilidad y precisión de los resultados. Este enfoque metodológico permitió evaluar de manera confiable la eficacia antibacteriana del polvo fotocatalítico bajo condiciones controladas, proporcionando datos relevantes sobre su desempeño frente a las bacterias. En la Tabla 2, se describen las principales adaptaciones realizadas en el estudio actual en comparación con un artículo de referencia [18].

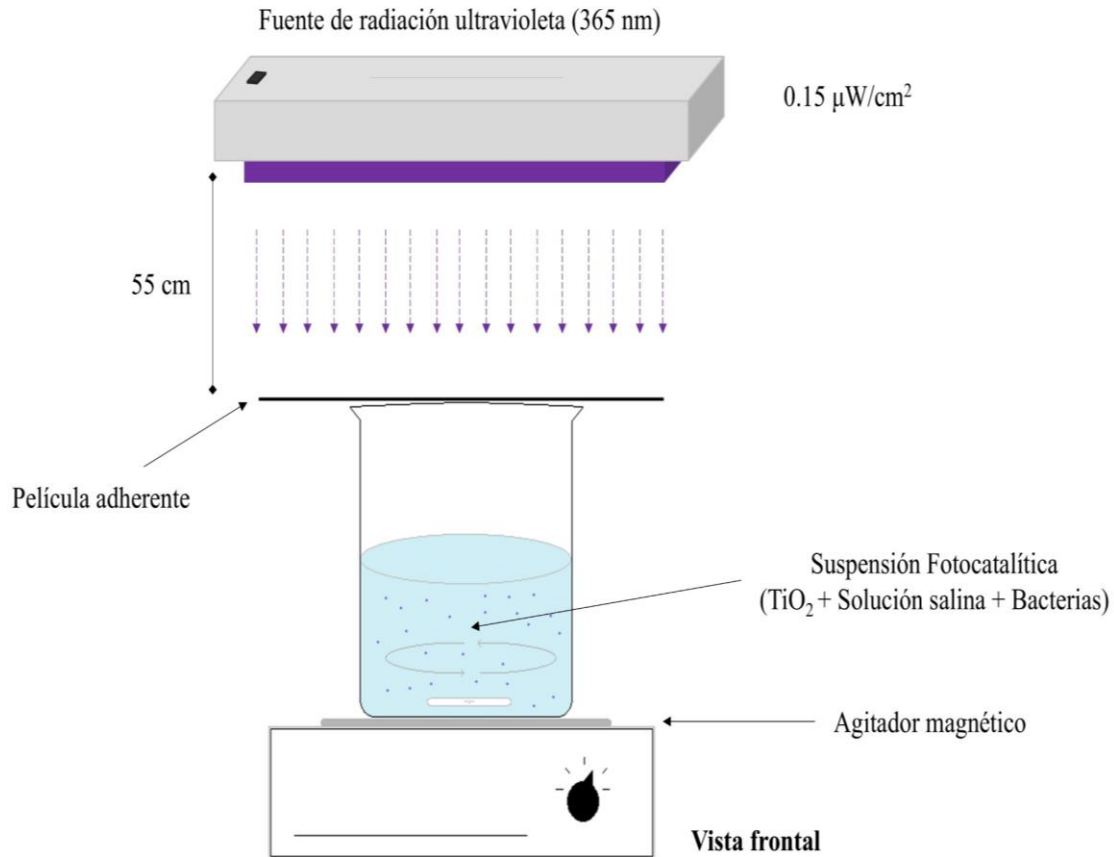


Figura 2. Método de pruebas con polvo fotocatalítico en suspensión líquida.

2.2 Tipos de muestras para evaluar la actividad antibacteriana

Para este estudio, se emplearon diferentes tipos de muestras con el objetivo de evaluar la actividad antibacteriana del TiO₂ bajo diversas condiciones experimentales. Estas muestras se utilizaron tanto en el método de adhesión en vidrio como en el método de pruebas con polvo fotocatalítico en suspensión líquida y se clasificaron de la siguiente manera:

- Control de bacterias: Muestra que contenía únicamente la suspensión bacteriana, sin tratamiento con TiO₂ ni exposición a irradiación UV. Esta condición sirvió como referencia para el crecimiento bacteriano en condiciones normales.
- Bacterias + TiO₂: Muestra que contenía la suspensión bacteriana en presencia de TiO₂, pero sin exposición a irradiación UV. Esta condición permitió evaluar el efecto del TiO₂ en ausencia de radiación.
- Bacterias + UV: Muestra de bacterias expuesta únicamente a irradiación UV, sin la presencia de TiO₂. Esta condición evaluó el efecto de la radiación UV sobre las bacterias en ausencia de un fotocatalizador.
- Bacterias + UV + TiO₂: Muestra de bacterias tratada con TiO₂ y expuesta simultáneamente a irradiación UV. Esta condición representó el tratamiento completo, combinando la acción del TiO₂ como fotocatalizador y la irradiación UV.

Tabla 2. Comparación de condiciones experimentales entre un artículo de referencia y el estudio actual para evaluación de polvos fotocatalíticos en suspensión líquida.

Aspecto Evaluado	Referencia	Estudio Actual
Intensidad de Luz UV	250 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$	0.15 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$
Tiempo de Exposición	6 horas	2-4 horas
Condiciones Ambientales	Humedad: 90%, Temp: 25-30 °C	Humedad: 50-80%, Temperatura: 25 °C
Preparación del Polvo Fotocatalítico	Caldo nutritivo (1/500 NB), con agitación inicial	Solución salina, con agitación continua
Suspensión Bacteriana e Inóculo	Caldo nutritivo, favorece la replicación bacteriana	Solución salina, manteniendo la concentración bacteriana constante

3. Resultados

En esta sección se presentan los resultados de tres experimentos independientes, realizados por triplicado, para evaluar la reducción de bacterias viables de *E. coli* y *S. aureus* utilizando el método de adhesión en vidrio y el método de pruebas con polvo fotocatalítico en suspensión líquida. Aunque se realizaron mediciones a 2 horas de tratamiento, no se observaron diferencias significativas en el crecimiento bacteriano bajo ninguna de las condiciones evaluadas, por lo que estos resultados no se presentan. Los resultados corresponden únicamente a las mediciones realizadas a las 4 horas de tratamiento, donde se observaron cambios significativos en la reducción de bacterias viables. Se realizó un ANOVA para evaluar diferencias significativas entre las condiciones experimentales. Posteriormente, se aplicó un análisis *post hoc* mediante la prueba de Tukey para determinar las comparaciones específicas entre las condiciones. Este enfoque permitió evaluar la eficacia del TiO_2 y su interacción con la irradiación UV en la reducción de bacterias viables.

3.1 Método de adhesión en vidrio

En este estudio, se evaluaron cuatro condiciones experimentales para analizar la actividad antibacteriana de recubrimientos de TiO_2 mediante el método de adhesión en vidrio. Los resultados obtenidos se presentan en la figura 3, donde el gráfico A muestra los resultados para *E. coli* y el gráfico B para *S. aureus*. Las muestras sin tratamiento (control

de bacterias) mostraron recuentos bacterianos constantes, con aproximadamente 350 UFC/mL para *E. coli* y valores similares para *S. aureus*. Estos resultados evidencian la consistencia y reproducibilidad de los experimentos, proporcionando un punto de referencia confiable para evaluar las demás condiciones. En las muestras tratadas únicamente con TiO_2 sin exposición a luz UV, no se observó una reducción significativa en los recuentos de células viables para ninguno de los microorganismos. Los valores se mantuvieron similares a los del control, indicando que el TiO_2 , en ausencia de irradiación, no genera efectos bactericidas bajo estas condiciones.

Por otro lado, la exposición a radiación UV sin la presencia de TiO_2 resultó en una ligera disminución de los recuentos bacterianos en ambos microorganismos. Sin embargo, esta reducción no es significativa, lo que sugiere que, aunque la radiación UV puede tener un efecto limitado, no es suficiente por sí sola para garantizar una desinfección efectiva en las condiciones evaluadas. Finalmente, la combinación de TiO_2 y radiación UV demostró un efecto fotocatalítico efectivo, logrando una reducción significativa en los recuentos de células viables de *E. coli* y *S. aureus*. Después de 4 horas de tratamiento, se observó una eliminación casi completa de las bacterias, lo que destaca la eficacia de los recubrimientos fotocatalíticos bajo estas condiciones experimentales.

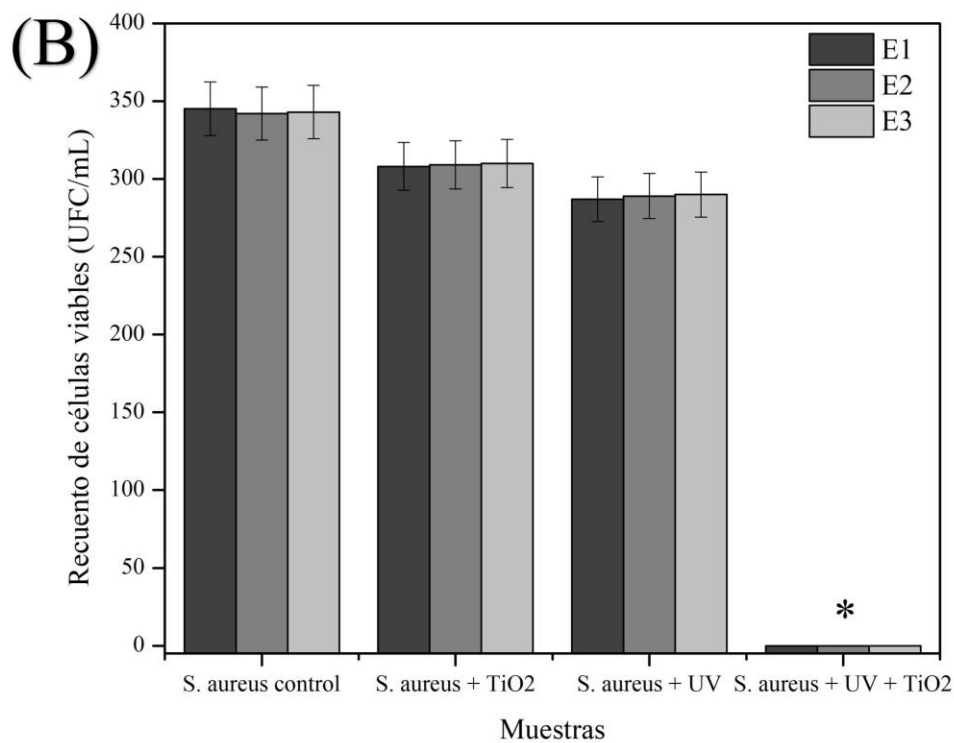
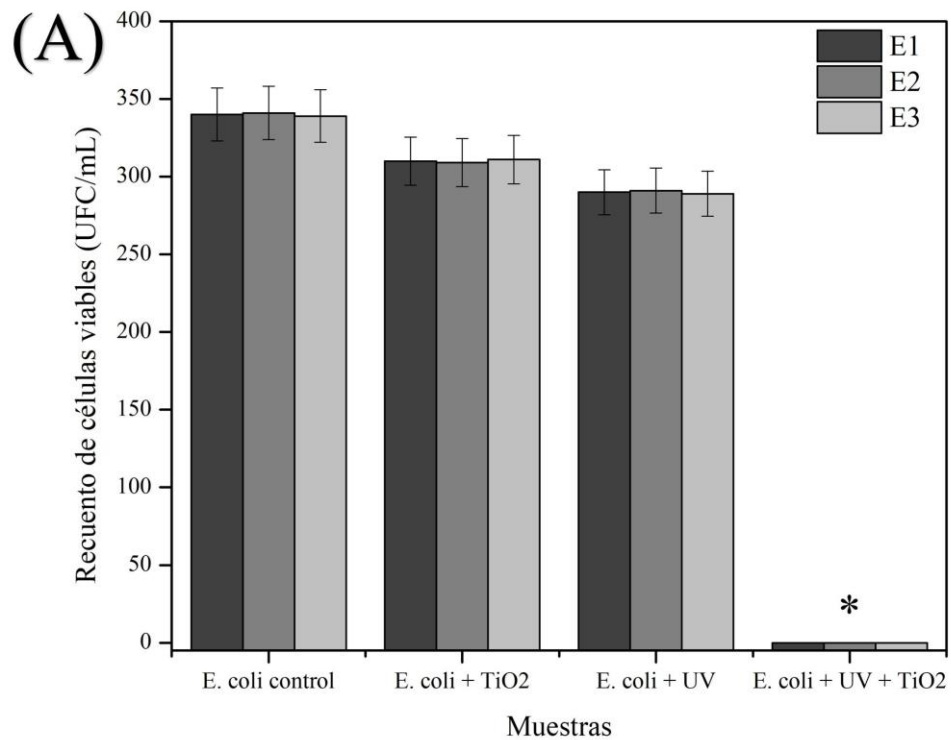


Figura 3. Recuento de células viables de *E. coli* (A) y *S. aureus* (B) después de 4 h de tratamiento utilizando el método de adhesión en vidrio. Las barras representan los datos promedio de tres experimentos independientes realizados por triplicado (E1, E2, E3). *Indica que la combinación de radiación UV y TiO₂ produjo una diferencia estadísticamente significativa en la reducción de las bacterias viables en comparación con las demás condiciones evaluadas.

3.2 Pruebas con polvo fotocatalítico en suspensión líquida

En este estudio, se evaluaron cuatro condiciones experimentales para analizar la actividad antibacteriana de polvos fotocatalíticos de TiO₂ en suspensión líquida. Los resultados obtenidos se presentan en la figura 4, donde el gráfico A muestra los resultados para *E. coli* y el gráfico B para *S. aureus*.

Las muestras sin tratamiento (control de bacterias) presentaron recuentos bacterianos normales y consistentes entre los tres experimentos, con valores de aproximadamente 50-60 UFC/mL para *E. coli* y niveles equivalentes para *S. aureus*. Estos resultados proporcionaron un punto de referencia confiable para evaluar el impacto de las demás condiciones experimentales.

En las muestras tratadas únicamente con TiO₂ sin exposición a luz UV, no se observó una reducción significativa en los recuentos de células viables para ninguno de los microorganismos. Los valores obtenidos fueron similares a los del control, indicando que el TiO₂, en ausencia de irradiación, no induce efectos bactericidas. La exposición a radiación UV sin la presencia de TiO₂ provocó una ligera disminución en los recuentos bacterianos tanto para *E. coli* como para *S. aureus*. Sin embargo, esta reducción no fue significativa, lo que indica que la radiación UV por sí sola tiene un efecto limitado y no suficiente para garantizar una desinfección efectiva bajo las condiciones evaluadas.

Finalmente, la combinación de luz UV y TiO₂ mostró un efecto fotocatalítico efectivo, logrando una reducción significativa en los recuentos de células viables para ambos microorganismos. En esta condición, se observó una eliminación casi completa de las bacterias después de 4 horas de tratamiento, evidenciando un efecto consistente y

reproducibile en los tres experimentos independientes para *E. coli* y *S. aureus*. Estos resultados destacan la capacidad de los polvos fotocatalíticos de TiO₂ para actuar como agentes antimicrobianos efectivos bajo irradiación UV, confirmando su potencial aplicación en la eliminación de patógenos en diversas superficies.

4. Discusiones

Los resultados obtenidos en este estudio demuestran la eficacia del TiO₂ como agente fotocatalítico para la inactivación de bacterias bajo irradiación UV, evaluado mediante dos enfoques experimentales: el método de adhesión en vidrio y las pruebas con polvo fotocatalítico en suspensión líquida. Ambos métodos revelaron una reducción significativa en el recuento de bacterias viables de *E. coli* y *S. aureus*, con una eliminación casi completa tras 4 horas de tratamiento. Este efecto fotocatalítico valida no solo la eficacia del TiO₂, sino también la relevancia de las metodologías implementadas como herramientas confiables para la evaluación de materiales antimicrobianos en entornos críticos. El método de adhesión en vidrio, diseñado para evaluar recubrimientos sólidos, demostró su eficacia al proporcionar un contacto uniforme entre las bacterias, el material y la radiación UV. Este enfoque es particularmente relevante para aplicaciones en superficies sólidas, como aquellas presentes en hospitales y laboratorios, donde se requiere una desinfección constante y confiable [19]. La aplicación de recubrimientos en capas uniformes no solo optimizó la interacción fotocatalítica, sino que también permitió una evaluación reproducible de la actividad antimicrobiana en configuraciones sólidas. Estos resultados son consistentes con estudios previos que han mostrado que recubrimientos de TiO₂ aplicados en superficies sólidas eliminan bacterias patógenas de manera eficiente bajo irradiación UV [20].

Por otro lado, las pruebas con polvo fotocatalítico en suspensión líquida ofrecieron un enfoque versátil, adecuado para evaluar materiales en suspensión.

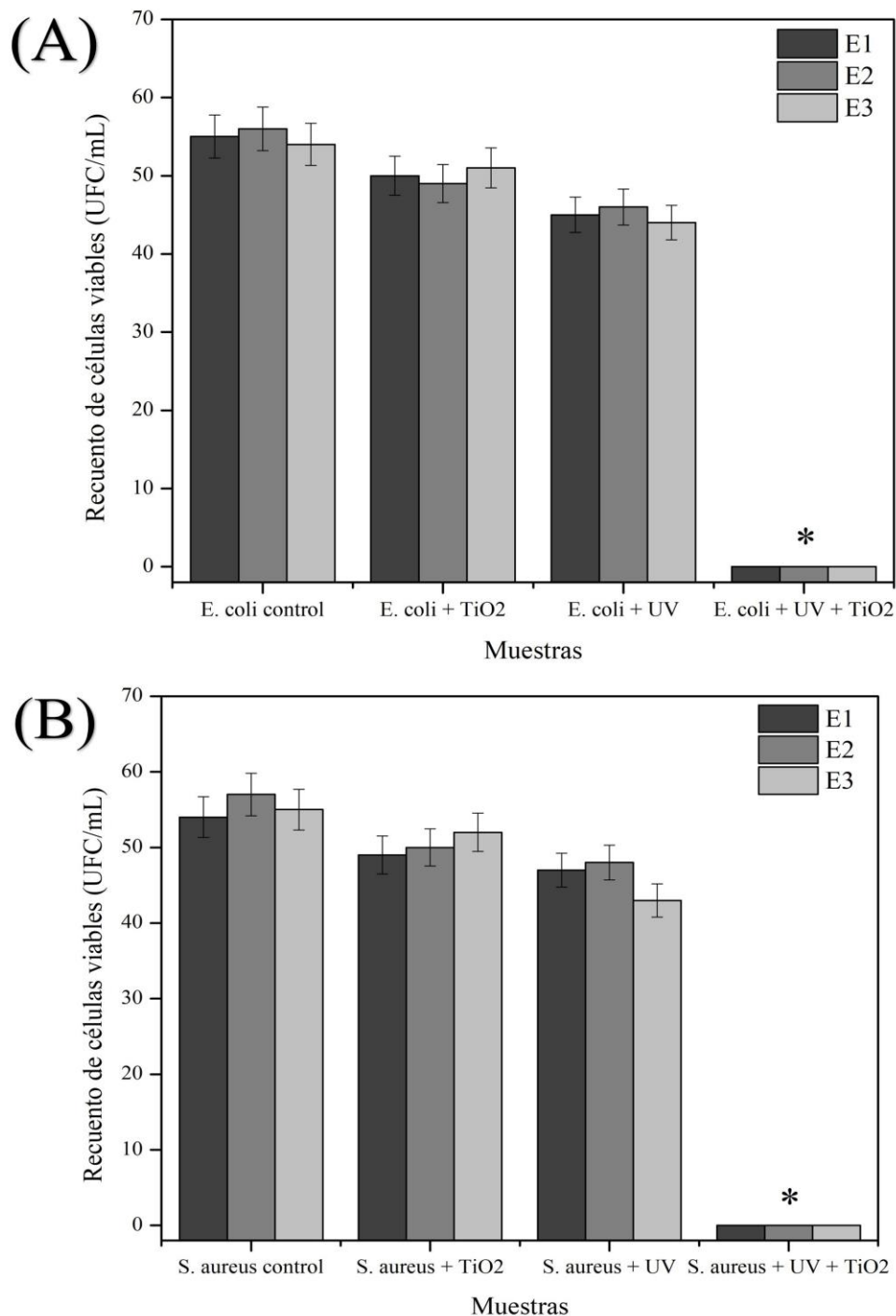


Figura 4. Recuento de células viables de *E. coli* (A) y *S. aureus* (B) después de 4 h de tratamiento utilizando el método de prueba polvo fotocatalítico en suspensión líquida. Las barras representan los datos promedio de tres experimentos independientes realizados por triplicado (E1, E2, E3). *Indica que la combinación de radiación UV y TiO₂ produjo una diferencia estadísticamente significativa en la reducción de las bacterias viables en comparación con las demás condiciones evaluadas.

Este método destacó por su capacidad para mantener una distribución homogénea del TiO₂

y las bacterias mediante agitación constante, asegurando la interacción uniforme entre ambas. Además de validar la eficacia del TiO_2 , esta metodología establece un marco sólido para la evaluación de materiales emergentes, como nanocompuestos funcionalizados, recubrimientos híbridos y materiales dopados. La adaptabilidad de este enfoque amplía su aplicabilidad hacia sistemas acuosos y líquidos, como el tratamiento de agua y la desinfección de aire, y contribuye al diseño de soluciones antimicrobianas innovadoras [21].

Un aspecto fundamental de este estudio fue la selección de una intensidad controlada de luz UV ($0.15 \mu\text{W}/\text{cm}^2$), significativamente menor al rango permitido por la norma ISO 27447:2009 [17] ($1-250 \mu\text{W}/\text{cm}^2$). Esta intensidad minimizó la acción bactericida directa de la radiación UV, lo que permitió demostrar que la reducción bacteriana observada era atribuible exclusivamente al efecto fotocatalítico del TiO_2 . Este enfoque no solo resalta la contribución específica del material, sino que también mejora la precisión al interpretar los resultados en comparación con estudios que emplean intensidades UV más altas.

El uso de solución salina en lugar de medio de cultivo representó otra mejora metodológica significativa. Mientras que el caldo nutritivo favorece la replicación bacteriana durante los ensayos, la solución salina permitió mantener una concentración bacteriana constante, eliminando posibles interferencias en los resultados [22, 23]. Esto aseguró que las diferencias observadas en los recuentos bacterianos fueran atribuibles únicamente al efecto del material fotocatalítico, mejorando así la reproducibilidad y validez de los datos obtenidos.

El control de las condiciones ambientales, como una humedad relativa del 50-80% y una temperatura constante de $25 \text{ }^\circ\text{C}$, también jugó un papel crucial en la optimización de la

actividad fotocatalítica del TiO_2 . Estas condiciones reproducen entornos reales en los que se podrían implementar estas tecnologías, como hospitales y laboratorios, y garantizan que los resultados sean relevantes para aplicaciones prácticas [24].

Además de estas condiciones, es importante considerar las diferencias inherentes entre los dos enfoques metodológicos empleados. Aunque ambos métodos emplearon concentraciones bacterianas iniciales equivalentes y se aplicaron bajo condiciones controladas, sus configuraciones experimentales difieren sustancialmente. El método de adhesión en vidrio fue diseñado para evaluar superficies planas en contacto directo con la suspensión bacteriana, mientras que el método con polvo fotocatalítico se desarrolló en un sistema en suspensión líquida con agitación constante, lo que modifica la dinámica de interacción entre el material y los microorganismos. Además, las superficies activas disponibles, los volúmenes de reacción y la distribución del TiO_2 en el medio son diferentes, lo que influye directamente en la exposición efectiva de las bacterias al material. Estas diferencias también se reflejan en el proceso de cuantificación microbiológica; se aplicaron diluciones seriadas adaptadas a cada configuración experimental para asegurar que el recuento de colonias se mantuviera dentro del rango aceptable de 30 a 300 UFC/mL, lo cual afecta la escala de lectura final. Como resultado, las diferencias observadas en los recuentos no reflejan una mayor o menor eficacia del tratamiento, sino que corresponden a la dinámica particular de interacción bacterias-material en cada sistema, influida por el entorno experimental y el modo en que se integra el material fotocatalítico. Es importante enfatizar que el objetivo de este estudio no fue establecer una comparación cuantitativa entre metodologías, sino validar la eficacia del TiO_2 utilizando dos enfoques complementarios, cada uno diseñado para adaptarse a la forma física del material evaluado y al modo de aplicación.

Mientras que el método de adhesión en vidrio es apropiado para analizar recubrimientos sólidos aplicados sobre superficies planas o materiales compactos, las pruebas con polvo fotocatalítico permiten evaluar formulaciones en forma dispersa o en suspensión, como polvos sueltos o nanocompuestos en medios líquidos.

En conjunto, estos resultados experimentales no solo validan ambos enfoques, sino que también coinciden con hallazgos previos que explican los mecanismos subyacentes de la acción fotocatalítica del TiO₂. Los resultados de este estudio son consistentes con investigaciones previas que han documentado la capacidad del TiO₂ para generar especies reactivas de oxígeno (ROS), como radicales hidroxilo y superóxido, bajo irradiación UV. Estas ROS atacan componentes esenciales de las bacterias, incluyendo sus membranas celulares, proteínas y ácidos nucleicos, lo que lleva a su inactivación [25–27]. La fase anatasa del TiO₂, es ampliamente reconocida como la más activa fotocatalíticamente, lo que explica la alta eficiencia observada [28]. Investigaciones previas en sistemas acuosos han reportado que configuraciones UV/TiO₂ son altamente eficaces para la eliminación de patógenos en efluentes tratados, lo que refuerza la versatilidad del TiO₂ para aplicaciones en superficies y sistemas líquidos [29–31]. Finalmente, las adaptaciones metodológicas realizadas en este estudio representan un avance significativo respecto a la norma ISO 27447:2009 [17], y el artículo de referencia [18]. Mientras que la norma y los trabajos previos ofrecen un rango amplio de parámetros experimentales, este estudio implementó condiciones específicas que optimizan la reproducibilidad y relevancia de los resultados. La evaluación meticulosa mediante estas metodologías no solo valida el efecto fotocatalítico del TiO₂, sino que también establece un marco confiable para la investigación de materiales emergentes con aplicaciones antimicrobianas. Este enfoque

contribuye directamente al desarrollo de tecnologías avanzadas para la desinfección y control de microorganismos, marcando un avance importante en la prevención de infecciones y la protección de la salud pública.

5. Conclusiones

Este estudio demuestra la eficacia del TiO₂ como agente fotocatalítico para la inactivación de bacterias bajo irradiación UV, validado a través de metodologías optimizadas que integran avances significativos en el diseño experimental. La aplicación uniforme mediante enlucido en capas fue fundamental para garantizar un contacto adecuado entre el material fotocatalítico y las bacterias, mientras que el uso de solución salina contribuyó a mantener la estabilidad de la concentración bacteriana, evitando su replicación durante las pruebas. Además, la agitación continua permitió una distribución homogénea del material fotocatalítico, asegurando una evaluación más precisa y reproducible. El ajuste de la intensidad de luz UV a niveles bajos, en contraste con los rangos más altos permitidos por normas como la ISO 27447:2009, excluyó la acción bactericida directa de la radiación UV y permitió atribuir la reducción bacteriana exclusivamente al efecto fotocatalítico del TiO₂. Este enfoque refleja escenarios más realistas para su implementación en entornos críticos, como hospitales, laboratorios y sistemas de saneamiento, donde las condiciones de irradiación pueden ser limitadas. Los resultados obtenidos con el método de adhesión en vidrio y las pruebas con polvo fotocatalítico en suspensión líquida no solo evidencian la efectividad del TiO₂, sino que también proporcionan una base metodológica robusta para la evaluación de nuevos materiales fotocatalíticos, incluyendo nanocompuestos y recubrimientos híbridos. La versatilidad del método con polvo fotocatalítico amplía las posibilidades de analizar materiales diseñados para aplicaciones antimicrobianas en sistemas

líquidos y superficies complejas, lo que lo posiciona como una herramienta clave para futuras investigaciones. Un aporte relevante de este estudio es que plantea la elección de la metodología en función de la forma del material y del tipo de aplicación prevista; mientras que el método de adhesión en vidrio resulta adecuado para recubrimientos sólidos aplicados sobre superficies, debido a que permite mantener un contacto controlado y reproducible con el inóculo bacteriano, las pruebas en suspensión líquida permiten evaluar formulaciones dispersas o polvos activos, ya que aseguran una distribución homogénea del material en el medio y una interacción efectiva con las bacterias. Esta adaptabilidad metodológica resulta esencial para facilitar la evaluación comparativa de materiales emergentes con potencial antimicrobiano, respondiendo a la diversidad de configuraciones presentes en los desarrollos actuales en fotocatalisis.

Por último, las mejoras implementadas en este estudio, como la precisión en la inoculación, el control de condiciones ambientales y la adaptación de parámetros experimentales específicos, contribuyen al avance hacia la estandarización de metodologías para evaluar la actividad fotocatalítica. Estas innovaciones no solo facilitan la reproducibilidad de los resultados, sino que también refuerzan la comparabilidad con estudios previos, permitiendo identificar materiales con un mayor potencial para aplicaciones en la desinfección y prevención de infecciones en entornos críticos. La validación y expansión de estas metodologías representan un paso esencial hacia la implementación práctica de tecnologías fotocatalíticas en escenarios diversos y realistas.

6. Perspectivas

El trabajo futuro se centrará en continuar con la estandarización de los parámetros de evaluación, un paso fundamental para

garantizar la reproducibilidad y la comparabilidad en el análisis de materiales fotocatalíticos. Ampliar el rango de microorganismos evaluados, incluyendo hongos y virus, permitirá explorar la efectividad del TiO_2 frente a una mayor diversidad de patógenos, lo que incrementará su aplicabilidad en escenarios críticos. Además, será crucial investigar cómo variaciones en la temperatura y la humedad relativa afectan la actividad fotocatalítica, replicando condiciones reales y ofreciendo un marco más completo para su implementación práctica.

La estabilidad a largo plazo de los recubrimientos fotocatalíticos también deberá ser objeto de estudio, evaluando su durabilidad estructural y funcional bajo condiciones prolongadas de uso. Paralelamente, el desarrollo de nuevas composiciones, como combinaciones de TiO_2 con nanocompuestos o materiales dopados, podría abrir posibilidades innovadoras para optimizar su desempeño antimicrobiano y ampliar sus aplicaciones en diferentes contextos.

Asimismo, será imprescindible realizar evaluaciones de toxicidad y biocompatibilidad en diversas superficies y entornos, asegurando que el material no solo sea efectivo sino también seguro para su uso en entornos sensibles. Por último, la validación en escenarios reales como hospitales, escuelas y sistemas de saneamiento será esencial para confirmar la efectividad del TiO_2 en condiciones prácticas, contribuyendo al diseño de soluciones sostenibles y efectivas para la reducción de patógenos y la mejora de la salud pública.

7. Referencias

1. Ni, J., Huang, S., Liang, Z., Chen, Z., Zhang, S., Li, G., & An, T. (2024). Concentration, pathogenic composition, and exposure risks of bioaerosol in large

- indoor public environments: A comparative study of urban and suburban areas. *Science of The Total Environment*, 957, 177790. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.177790>
2. World Health Organization. (2011). Report on the burden of endemic health care-associated infection worldwide. Geneva: World Health Organization. Retrieved from <https://apps.who.int/iris/handle/10665/80135>
 3. Asegu, L. M., Kitschen, A., Neuwirth, M. M., & others. (2024). The economic burden of nosocomial infections for hospitals: Evidence from Germany. *BMC Infectious Diseases*, 24, 1294. <https://doi.org/10.1186/s12879-024-10176-8>
 4. Kurt, G., & Serdaroğlu, H. U. (2024). Prevalence of infectious diseases in children at preschool education institutions and stakeholder opinions. *Children*, 11(4), 447. <https://doi.org/10.3390/children11040447>
 5. Rock, C., & Dannenberg, M. S. (2014). Human pathogenic Enterobacteriaceae. In Reference Module in Biomedical Sciences. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.00136-7>
 6. Seyyed Mousavi, M. N., Mehramuz, B., Sadeghi, J., Alizadeh, N., Ahangar Oskouee, M., & Samadi Kafil, H. (2017). The pathogenesis of *Staphylococcus aureus* in autoimmune diseases. *Microbial Pathogenesis*, 111, 503–507. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.09.028>
 7. Green, B. N., Johnson, C. D., Egan, J. T., Rosenthal, M., Griffith, E. A., & Evans, M. W. (2012). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: An overview for manual therapists. *Journal of Chiropractic Medicine*, 11(1), 64–76. <https://doi.org/10.1016/j.jcm.2011.12.001>
 8. Täubel, M., Castagnoli, E., Salthammer, T., Morawska, L., & Salonen, H. (2024). The impact of cleaning on the microbiomes of indoor surfaces. *Indoor Environments*, 1(3), 100021. <https://doi.org/10.1016/j.indenv.2024.100021>
 9. Foster, H. A., Ditta, I. B., Varghese, S., & Steele, A. (2011). Photocatalytic disinfection using titanium dioxide: Spectrum and mechanism of antimicrobial activity. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 90(6), 1847–1868. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3213-7>
 10. Ayorinde, T., & Sayes, C. M. (2023). An updated review of industrially relevant titanium dioxide and its environmental health effects. *Journal of Hazardous Materials Letters*, 4, 100085. <https://doi.org/10.1016/j.hazl.2023.100085>
 11. Tasisa, Y. E., Sarma, T. K., Krishnaraj, R., & Sarma, S. (2024). Band gap engineering of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles prepared via green route and its visible light driven for environmental remediation. *Results in Chemistry*, 11, 101850. <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2024.101850>
 12. Abu-Dalo, M., Jaradat, A., Albiss, B. A., & Al-Rawashdeh, N. A. F. (2019). Green synthesis of TiO₂ NPs/pristine pomegranate peel extract nanocomposite and its antimicrobial activity for water

- disinfection. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7(5), 103370. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103370>
13. Younis, A. B., Milosavljevic, V., Fialova, T., & others. (2023). Synthesis and characterization of TiO₂ nanoparticles combined with geraniol and their synergistic antibacterial activity. *BMC Microbiology*, 23, 207. <https://doi.org/10.1186/s12866-023-02955-1>
 14. Moradpoor, H., Safaei, M., Golshah, A., Mozaffari, H. R., Sharifi, R., Imani, M. M., & Mobarakeh, M. S. (2021). Green synthesis and antifungal effect of titanium dioxide nanoparticles on oral *Candida albicans* pathogen. *Inorganic Chemistry Communications*, 130, 108748. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2021.108748>
 15. Bregnocchi, A., Jafari, R., & Momen, G. (2022). Design strategies for antiviral coatings and surfaces: A review. *Applied Surface Science Advances*, 8, 100224. <https://doi.org/10.1016/j.apsadv.2022.100224>
 16. Wei, Y., Meng, H., Wu, Q., Bai, X., & Zhang, Y. (2023). TiO₂-based photocatalytic building material for air purification in sustainable and low-carbon cities: A review. *Catalysts*, 13(12), 1466. <https://doi.org/10.3390/catal13121466>
 17. ISO. (2009). ISO 27447:2009 - Test method for antibacterial activity of semiconducting photocatalytic materials. International Organization for Standardization.
 18. Verdier, T., Coutand, M., Bertron, A., & Roques, C. (2014). Antibacterial activity of TiO₂ photocatalyst alone or in coatings on *E. coli*: The influence of methodological aspects. *Coatings*, 4(3), 670–686. <https://doi.org/10.3390/coatings4030670>
 19. Hsu, C.-Y., Mahmoud, Z. H., Abdullaev, S., Ali, F. K., Naeem, Y. A., Mizher, R. M., Karim, M. M., Abdulwahid, A. S., Ahmadi, Z., Habibzadeh, S., & Kianfar, E. (2024). Nano titanium oxide (nano-TiO₂): A review of synthesis methods, properties, and applications. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, 9, 100626. <https://doi.org/10.1016/j.cscee.2024.100626>
 20. Kumaravel, V., Nair, K. M., Mathew, S., Bartlett, J., Kennedy, J. E., Manning, H. G., Whelan, B. J., Leyland, N. S., & Pillai, S. C. (2021). Antimicrobial TiO₂ nanocomposite coatings for surfaces, dental and orthopaedic implants. *Chemical Engineering Journal*, 416, 129071. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.129071>
 21. Nishu, & Kumar, S. (2023). Smart and innovative nanotechnology applications for water purification. *Hybrid Advances*, 3, 100044. <https://doi.org/10.1016/j.hybadv.2023.100044>
 22. Rotini, A., Tornambè, A., Cossi, R., Iamunno, F., Benvenuto, G., Berducci, M. T., Maggi, C., Thaller, M. C., Cicero, A. M., Manfra, L., & Migliore, L. (2017). Salinity-based toxicity of CuO nanoparticles, CuO-bulk and Cu ion to *Vibrio anguillarum*. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2076. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02076>
 23. Zeng, F., Cao, S., Jin, W., Zhou, X., Ding, W., Tu, R., Han, S.-F., Wang, C., Jiang, Q., Huang, H., & Ding, F. (2020). Inactivation of chlorine-resistant bacterial spores in

- drinking water using UV irradiation, UV/hydrogen peroxide and UV/peroxymonosulfate: Efficiency and mechanism. *Journal of Cleaner Production*, 243, 118666. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.118666>
24. Seiß, V., Thiel, S., & Eichelbaum, M. (2022). Preparation and real world applications of titania composite materials for photocatalytic surface, air, and water purification: State of the art. *Inorganics*, 10(9), 139. <https://doi.org/10.3390/inorganics10090139>
25. Pleskova, S. N., Golubeva, I. S., & Verevkin, Y. K. (2016). Bactericidal activity of titanium dioxide ultraviolet-induced films. *Materials Science and Engineering: C*, 59, 807–817. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.10.021>
26. Tong, Y., Shi, G., Hu, G., Hu, X., Han, L., Xie, X., Xu, Y., Zhang, R., Sun, J., & Zhong, J. (2021). Photo-catalyzed TiO₂ inactivates pathogenic viruses by attacking viral genome. *Chemical Engineering Journal*, 414, 128788. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.128788>
27. Rokicka-Konieczna, P., & Morawski, A. W. (2024). Photocatalytic bacterial destruction and mineralization by TiO₂-based photocatalysts: A mini review. *Molecules*, 29(10), 2221. <https://doi.org/10.3390/molecules29102221>
28. Ohno, T., Sarukawa, K., Tokieda, K., & Matsumura, M. (2001). Morphology of a TiO₂ photocatalyst (Degussa, P-25) consisting of anatase and rutile crystalline phases. *Journal of Catalysis*, 203(1), 82–86. <https://doi.org/10.1006/jcat.2001.3316>
29. Reddy, P. V. L., Kavitha, B., Reddy, P. A. K., & Kim, K.-H. (2017). TiO₂-based photocatalytic disinfection of microbes in aqueous media: A review. *Environmental Research*, 154, 296–303. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.01.018>
30. Armaković, S. J., Savanović, M. M., & Armaković, S. (2023). Titanium dioxide as the most used photocatalyst for water purification: An overview. *Catalysts*, 13(1), 26. <https://doi.org/10.3390/catal13010026>
31. Gatou, M.-A., Syrrakou, A., Lagopati, N., & Pavlatou, E. A. (2024). Photocatalytic TiO₂-based nanostructures as a promising material for diverse environmental applications: A review. *Reactions*, 5(1), 135–194. <https://doi.org/10.3390/reactions5010007>