



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE
VALENCIA



ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA
DEL DISSENY

DEGRADACIÓN FOTOCATALÍTICA DEL POLEN Y SUS ALERGENOS EN MATERIALES DE CONSTRUCCIÓN

Tesis Doctoral

María Sapiña Escrivá

Noviembre 2021

DIRECTORA : Marta María Castellote Armero

Instituto de Ciencias de la Construcción “Eduardo Torroja”, IETcc-CSIC
Departamento de Construcción
Madrid, España

Co-DIRECTORA: Eva Jiménez Relinque

Instituto de Ciencias de la Construcción “Eduardo Torroja” IETcc-CSIC
Departamento de Construcción
Madrid, España

SUPERVISOR UNIVERSIDAD: María Dolores Marcos

Universidad Politécnica de Valencia
Departamento de Química

Acknowledges–Agradecimientos

Agradecimiento se define como “sentimiento de gratitud que se experimenta normalmente como consecuencia de haber recibido de parte de alguien algo que se esperaba o que se necesitaba”. En mi caso ese “alguien” va mucho más allá. Durante este período de mi vida he aprendido de cada uno de ellos todo lo que soy hoy personal y profesionalmente.

En primer lugar, quería agradecerle a Marta Castellote, mi directora de tesis, la confianza depositada en mí desde el primer día. Gracias a ella conseguí creer en mis capacidades y poder desarrollarlas. Como gran investigadora y experta en fotocatalisis, me mostró que con ilusión y amor por lo que hace, la investigación es maravillosa. Siempre he dicho que todo lo que he conseguido laboralmente es, en gran parte, gracias a ella, por lo que estaré siempre agradecida. Además de sus conocimientos, imprescindibles para llevar a cabo este trabajo.

Del mismo modo, a Eva Jimenez, mi codirectora de tesis, sin ella todo esto no hubiera sido posible. Trabajar con tu “mitad científica” es lo más gratificante que tu puede ocurrir. Eva es todo apoyo continuo, tesón e inteligencia, que te llevan a desarrollar grandes trabajos con la mejor de las sonrisas. Ella es y será uno de mis pilares en este camino.

Por otro lado, Maria Dolores Marcos, la persona que me dio la oportunidad de empezar todo esto cuando yo, simplemente, era una joven que terminaba sus estudios con mucha ilusión. Ella me mostró el camino y hoy en día, muchos años después, sigue ahí en todos mis avances. Gracias a ella conseguí mi preciado título fin de carrera, fin de master y ahora mi queridísima tesis doctoral. Es decir que ella es parte de la ingeniera, investigadora y amante de la ciencia que llevo dentro.

No puedo dejarme a mis compañeros del Instituto “Eduardo Torroja” como Luis, Isaías, Fran Rubiano, a los compañeros de servicios generales, los “chicos de mantenimiento”, y, por supuesto, a todos los miembros de mi grupo de investigación ISCMA. Entre ellos Ángel Castillo, Isabel Martínez, Roman Nevshupa y Elisa Román como parte fundamental de esta tesis. Gracias por todo vuestro apoyo.

AGRADECIMIENTOS

Mención aparte merecen aquellos que han hecho que mi trabajo en el Torroja durante casi 5 años fuera inolvidable, cada sonrisa, cada gesto de apoyo han hecho que ya no sean solo compañeros, son parte de mí. Ellos son Maria Grande, Francisco Rozas, “mi astu” querida, Sara y Eva. Sin ellos esto no hubiera sido lo mismo.

Tampoco puedo dejarme mis inicios en este mundo, donde aprendí grandes cosas gracias a mis compañeros del IDM, Ramón, Félix, Andrea, Carmen, Elena, Cristina Sanfeliú, y Tatiana que tanto me enseñaron. A Dani, Cris, Vicky, Roman y un largo etcétera con los que tantos momentos de laboratorio he compartido. A mi compañera de batalla “Nurieta” con la que he compartido tantos y tantos kilómetros de aventuras, enseñanza y amistad.

A mis actuales compañeras de trabajo que siempre me han impulsado a seguir trabajando por conseguir este reto.

Con gente así como no voy a tener ese “sentimiento de gratitud”.

También a mis amigas de siempre, mis “cullywoodienses” queridas, locas aventureras que siempre me han mostrado su apoyo y admiración en cada uno de mis logros. A mis peques de la “Pinya Xusquer”, ya son parte de mi para siempre. Sentirte realmente especial a su lado es muy fácil, ellas siempre me han mostrado su confianza ciega en mí. Que me perdonen por esto, pero especialmente quiero agradecer a Maria Selfa, Maria Vallés, Vane, Inés y Zaira que sigan compartiendo esas locuras día a día conmigo. A esas cuatro personitas, Alma, Carles, Bernat y Lluç, con los que siempre disfruto de cada momento de juegos y diversión. A Lucas que nos enseñó el significado de ser tías y a ese Nico que nos muestra día a día que la sencillez y simpatía te llevan a mover montañas. Finalmente, a ese “SuperSancho” que me ha demostrado que el mundo es para los valientes. Y a los peques Julen, Gala y Tristán a los que espero aportarles parte de mis vivencias.

A mis madrileñas queridas, Laura, Cris, Clara, Amelia, Maria, Patri y Eva por esas charlas y risas en cada uno de nuestros momentos. Siempre seréis el pilar que me mantuvo en Madrid. A ese pilar me queda añadir, mi gran amiga Elena, Madrid me abrió las puertas gracias a ella. Siempre lo recordaré, gracias y mil gracias.

AGRADECIMIENTOS

Por último, a mi familia, de los que me siento orgullosa por encima de todo. A mis niños, Paula, Elsa, Álvaro, Axel, Maria, Lucia, Zoe, Mireia y mi nuevo gran amor CARLA, ellos son mi alegría y de los que sé que cada uno de ellos llevará una parte de mí en el futuro. A mi padre por mostrarme que la vida no es fácil pero que con trabajo duro todo se consigue. Su maravillosa frase “les voltes ixen al xicote” me ha ayudado a levantar la cabeza en cada uno de mis malos momentos. A mi madre por mostrarme siempre su cariño y comprensión. Por incitarme a disfrutar de la vida y por enseñarme todo lo que hoy soy. Y a mi hermano por estar ahí siempre que lo he necesitado y del que me siento muy orgullosa. A mi cuñada Ángeles por apoyarme y por traerme, junto a mi hermano, al ser más bonito que me podían dar como sobrina.

Como veis mi “sentimiento de gratitud por haber recibido algo de alguien” se multiplica, tengo mucho que agradecer y seguro que me he dejado muchas cosas. Con estas pequeñas palabras espero devolver solo un poco de lo recibido.

¡Muchas gracias a todos!

Maria Sapiña Escrivá

Valencia, 23 de Noviembre 2021

Abstract

Heterogeneous photocatalysis is a photochemical process that is part of the so-called "Advanced Oxidation Processes". This technology is based on the use of a semiconductor material as a catalyst, which is activated by light to generate redox reactions that give rise to highly oxidizing species that can degrade the compounds adsorbed on its surface, complete mineralization of the same. The application of photocatalysis in construction materials began in the early 1990s. In this field, the main properties are decontaminating (1; 2; 3; 4) and self-cleaning (5; 6; 7; 8) effect due to redox reactions promoted by sunlight on the surface of the photocatalyst.

However, in recent years this technology has focused on its application as disinfectant or sterilizing surfaces. Photocatalytic disinfection has been demonstrated mainly in viruses (5; 6; 7; 8), bacteria (9; 10; 11; 12) or algae (13; 14; 15). Due to the complexity of microorganisms, the complete inactivation mechanism exerted by photocatalysis on them is still unknown. What is accepted is that the prolonged attack of reactive oxygen species causes damage to the cell wall, subsequently to the cytoplasmic membrane and ends with the direct attack of intracellular components.

However, the study of the applicability of this technology for the degradation of the structure of pollen and its allergens has not been carried out to date. Currently, various studies point to pollen as the most frequent cause of immunological disorders in humans. It is estimated that 15-30% of the world population has adverse symptoms before exposure to pollen allergens, and in 5% of cases medical treatment is necessary.

Previous experiences have shown that the structure of pollen can only be altered by certain microorganisms and by some highly oxidizing species (16; 17; 18), such as Ozone, due to its great resistance (it supports temperatures of more than 300°C and the action of acids and bases) of its outer layer, exin. It should be noted that photocatalytic disinfection with TiO₂ is estimated to be 3 times stronger and more effective than chlorine and 1.5 times more than Ozone.

In this context, given the high oxidative capacity of heterogeneous photocatalysis, it is reasonable to suggest that the application of photocatalytic technology in construction

materials may be likely to involve the destruction of the protective outer layer of pollen grains, and even power inactivate its allergenic capacity.

This is the hypothesis on which this Doctoral Thesis is based. This global objective will be addressed based on the following partial objectives:

1. Study of the viability of heterogeneous photocatalysis as a technology for the degradation / elimination of pollen grains.
2. Evaluation of the yield and mechanisms of degradation / elimination of pollen grains depending on the type of plant species.
3. Study of the effectiveness of heterogeneous photocatalysis as a pollen allergen inactivation technology.
4. Analysis of the chemical semiconductor TiO₂-allergen interaction and potential applications.

The study has been carried out using pollen grains and allergens from seven different plant species. The study has been carried out using three working configurations: (a) Suspension of powdered photocatalyst in aqueous solution b) photocatalyst supported in a thin layer on glass or aluminum carrier, and (c) photocatalyst embedded in cement-based material.

In a first phase (results chapter 4), the viability of the photocatalyst activity as a viable technology for the reduction of pollen grains from two different plant species (*Cupressus arizonica* and *Platanus acerifolia*) was evaluated. The results obtained, mainly using characterization techniques such as X-ray diffraction (XRD), X-ray electron spectroscopy (XPS), fluorescence, infrared spectroscopy, scanning electron microscopy, showed that photocatalysis causes significant changes in the structure of the pollen and its allergenic viability.

In this first phase, two species were analyzed. Specifically, it is observed that there is a modification of the external layers (intine and exine) that protect the protoplasm of pollen grains. By means of the scanning electron microscopy technique it is shown that after the photocatalytic treatment the degradation of the exine and intine strata occurs and therefore the pollen grains suffer a clearly visible deterioration of their structure, reducing the number of viable grains. On the other hand, by means of the fluorescence staining technique with the fluorescein diacetate probe (FDA) it can be verified that there is a decrease in the

viability of the pollen studied or inactivation of their allergenicity. The experimental data showed a significant reduction (approximately 80-85%) in the fluorescence intensity (= inactivation) of the pollen after exposure to the photocatalytic process. These results are corroborated by the XRD patterns in which the characteristic pollen peaks disappear.

In a second part (chapter 5), the evaluation of this degradation process was studied in detail in a total of 7 pollen species analyzed with the same results. The species suffered a clear deterioration of their allergenic capacity, as shown by the images of the scanning electron microscope.

In a third phase of this thesis, a detailed analysis of the phases / decomposition mechanism of the allergen extracts of 7 the seven previous plant species were carried out (Chapters 6 and 7). In this phase, he confirmed that allergen extracts undergo almost complete decomposition giving rise to low molecular weight volatile products that are consistent with amino acid photodegradation mechanisms. The mechanisms of degradation of the enzymatic structures in amino acid compounds of each one of the species were described.

In a fourth phase it was found that the degradation of pollen proteins can lead to an unusual surface chemical modification of the photocatalyst that can be associated with a possible doping of TiO₂ with C and N from pollen extracts. This last result opens an additional field of research in relation to the enhancement of photocatalytic activity by the action of amino acids in pollen in modifying the structure of photocatalysts.

Resumen

La fotocatalisis heterogénea es un proceso fotoquímico que forma parte de los llamados “Procesos Avanzados de Oxidación”. Esta tecnología se basa en la utilización de un material semiconductor como catalizador, el cual se activa por luz para generar reacciones redox que dan lugar a especies altamente oxidantes que pueden degradar los compuestos adsorbidos en su superficie, completa mineralización de los mismos. La aplicación de la fotocatalisis en los materiales de construcción comenzó a principios de la década de 1990. En este campo, las principales propiedades son el efecto descontaminante (1; 2; 3; 4) y autolimpiante (5; 6; 7; 8) debido a reacciones redox promovidas por la luz solar sobre la superficie del fotocatalizador.

Sin embargo, en los últimos años esta tecnología se ha enfocado su aplicación en superficies desinfectantes o esterilizantes. La desinfección fotocatalítica se ha demostrado fundamentalmente en virus (9; 10; 11; 12), bacterias (13; 14; 15; 16) o algas (17; 18; 19). Debido a la complejidad de los microorganismos, se desconoce aún el mecanismo completo de inactivación que ejerce la fotocatalisis sobre ellos. Lo que sí está aceptado es que el ataque prolongado de las especies reactivas del oxígeno ocasiona el daño de la pared celular, posteriormente de la membrana citoplasmática y finaliza con el ataque directo de los componentes intracelulares. Sin embargo, el estudio de la aplicabilidad de esta tecnología para la degradación de la estructura del polen y sus alérgenos no se ha realizado hasta el momento. En la actualidad, diversos estudios señalan al polen como el causante más frecuente de trastornos inmunológicos en el ser humano. Se estima que un 15-30% de la población mundial presenta síntomas adversos antes la exposición a los alérgenos del polen, y en el 5% de los casos es necesario tratamiento médico.

Experiencias previas han demostrado que la estructura del polen sólo puede ser alterado por ciertos microorganismos y por algunas especies altamente oxidantes (20; 21; 22), tales como el Ozono, debido a la gran resistencia (soporta temperaturas de más de 300°C y la acción de ácidos y bases) de su capa exterior, la exina. Cabe resaltar que se estima que la desinfección fotocatalítica con TiO_2 es 3 veces más fuerte y efectiva que el cloro y 1,5 veces más que el Ozono.

En este contexto, dada la elevada capacidad oxidativa de la fotocatalisis heterogénea, es razonable plantear que la aplicación de la tecnología fotocatalítica en materiales de

construcción puede ser susceptible de implicar la destrucción de la capa externa protectora de los granos de polen, e incluso de poder inactivar su capacidad alergénica.

Esta es la hipótesis sobre la que se sustenta la presente Tesis Doctoral.

Este objetivo global se abordará en base a los siguientes objetivos parciales:

1. Estudio de la viabilidad de la fotocatalisis heterogénea como tecnología de degradación/eliminación de granos de polen.
2. Evaluación del rendimiento y mecanismos de degradación/eliminación de los granos de polen en función del tipo de especie vegetal.
3. Estudio de la efectividad de la fotocatalisis heterogénea como tecnología de inactivación de los alérgenos del polen.
4. Análisis de la interacción química semiconductor TiO_2 -alérgeno y potenciales aplicaciones.

El estudio se ha realizado usando granos de polen y alérgenos de siete especies vegetales diferentes. El estudio se ha realizado utilizando tres configuraciones de trabajo: (a) Suspensión de fotocatalizador en polvo en disolución acuosa b) fotocatalizador soportado en capa fina sobre vidrio o portador de aluminio, y (c) fotocatalizador embebido en material de base cemento.

En una primera fase (resultados capítulo 4), se evaluó la viabilidad de la actividad fotocatalítica como tecnología viable para la reducción de granos de polen procedentes de dos especies vegetales diferentes (*Cupressus arizonica* y *Platanus acerifolia*). Los resultados obtenidos, fundamentalmente utilizando técnicas de caracterización como la difracción de rayos X (DRX), espectroscopía electrónica de rayos X(XPS), fluorescencia, espectroscopía infrarroja, microscopía electrónica de barrido, evidenciaron que la fotocatalisis provoca cambios significativos en la estructura del polen y su viabilidad alergénica. En esta primera fase se analizaron dos especies. En concreto, se observa que existe una modificación de las capas externas (intina y exina) que protegen el protoplasma de los granos de polen. Mediante la técnica de microscopía electrónica de barrido se demuestra que tras el tratamiento fotocatalítico se produce la degradación de los estratos exina e intina y por tanto los granos de polen sufren un deterioro claramente visible de su estructura reduciéndose el número de granos viables. Por otro lado, mediante la técnica de

tinción por fluorescencia con la sonda diacetato de fluoresceína (FDA) se pudo comprobar que existe una disminución de la viabilidad de los pólenes estudiados o inactivación de la alergenicidad de los mismos. Los datos experimentales evidenciaron una reducción significativa (aproximadamente el 80-85%) de la intensidad de fluorescencia (=inactivación) del polen tras la exposición al proceso fotocatalítico. Estos resultados son corroborados por los patrones de DRX en los que los picos característicos del polen desaparecen.

En una segunda fase (capítulo 5) la evaluación de este proceso de degradación se estudió en detalle en un total de 7 especies de polen analizadas con iguales resultados. Las especies sufrían un claro deterioro de su capacidad alergénica, tal y como demuestran las imágenes del microscopio electrónico de barrido.

En una tercera fase de esta tesis se realizó un análisis detallado de las fases/ mecanismo de descomposición de los extractos de alérgenos de 7 las siete especies vegetales anteriores (Capítulos 6 y 7). En esta fase se confirmó que los extractos de alérgeno sufren una descomposición casi completa dando lugar a productos volátiles de bajo peso molecular que concuerda con los mecanismos de fotodegradación de aminoácidos. Los mecanismos de degradación de las estructuras enzimáticas en compuesto aminoácidos de cada una de las especies fueron descritos.

En una cuarta fase se comprobó que la degradación de las proteínas del polen puede dar lugar a una modificación química superficial inusual del fotocatalizador que puede asociarse a un posible dopaje de TiO_2 con C y N procedentes de los extractos de polen. Este último resultado abre un campo de investigación adicional en relación con la potenciación de la actividad fotocatalítica por acción de aminoácidos del polen en la modificación de la estructura de los fotocatalizadores.

Resum

La fotocàlisi heterogènia és un procés fotoquímic que forma part dels anomenats "Processos Avançats d'Oxidació". Aquesta tecnologia es basa en la utilització d'un material semiconductor com a catalitzador, el qual s'activa per llum per generar reaccions redox que donen lloc a espècies altament oxidants que poden degradar els compostos adsorbits a la superfície, completa mineralització dels mateixos. L'aplicació de la fotocàlisi en els materials de construcció va començar a principis de la dècada de 1990. En aquest camp, les principals propietats són l'efecte descontaminant (1; 2; 3; 4) i autonetejant (5, 6, 7; 8) a causa de reaccions redox promogudes per la llum solar sobre la superfície del fotocatalitzador.

No obstant això, en els últims anys aquesta tecnologia s'ha enfocat a la seva aplicació en superfícies desinfectants o esterilitzants. La desinfecció fotocatalítica s'ha demostrat fonamentalment en virus (5, 6, 7, 8) i bacteries (9, 10, 11; 12) o algues (13; 14; 15). A causa de la complexitat dels microorganismes, es desconeix encara el mecanisme complet d'inactivació que exerceix la fotocàlisi sobre ells. El que sí està acceptat és que l'atac prolongat de les espècies reactives de l'oxigen ocasiona el dany de la paret cel·lular, posteriorment de la membrana citoplasmàtica i finalitza amb l'atac directe dels components intracel·lulars. No obstant això, l'estudi de l'aplicabilitat d'aquesta tecnologia per a la degradació de l'estructura del pol·len i els seus al·lèrgens no s'havia realitzat fins al moment. En l'actualitat, diversos estudis assenyalen al pol·len com el causant més freqüent de trastorns immunològics en l'ésser humà. S'estima que un 15 -30% de la població mundial presenta símptomes adversos davant l'exposició als al·lèrgens del pol·len, i en el 5% dels casos és necessari tractament mèdic.

Experiències prèvies han demostrat que l'estructura del pol·len només pot ser alterat per certs microorganismes i per algunes espècies altament oxidants (16; 17; 18), com ara l'Ozó, a causa de la gran resistència (suporta temperatures de més de 300°C i l'acció d'àcids i bases) de la seva capa exterior, l'exina. Cal ressaltar que s'estima que la desinfecció fotocatalítica amb TiO_2 és 3 vegades més forta i efectiva que el clor i 1,5 vegades més que l'Ozó.

En aquest context, donada l'elevada capacitat oxidativa de la fotocàlisi heterogènia, és raonable plantejar que l'aplicació de la tecnologia fotocatalítica en materials de construcció

pot ser susceptible d'implicar la destrucció de la capa externa protectora dels grans de pol·len, i fins i tot de poder inactivar la seva capacitat al·lèrgica.

Aquesta és la hipòtesi sobre la qual se sustenta la present tesi doctoral.

Aquest objectiu global s'abordarà en base als següents objectius parcials:

1. Estudi de la viabilitat de la fotocàlisi heterogènia com tecnologia de degradació / eliminació de grans de pol·len.
2. Avaluació del rendiment i mecanismes de degradació / eliminació dels grans de pol·len en funció del tipus d'espècie vegetal.
3. Estudi de l'efectivitat de la fotocàlisi heterogènia com tecnologia d'inactivació dels al·lèrgens del pol·len.
4. Anàlisi de la interacció química semiconductor TiO_2 -al·lèrgen i potencials aplicacions. L'estudi s'ha realitzat usant grans de pol·len i al·lèrgens de set espècies vegetals diferents.

L'estudi s'ha realitzat utilitzant tres configuracions de treball: (a) Suspensió de fotocatalitzador en pols en dissolució aquosa b) fotocatalitzador suportat en capa fina sobre vidre o portador d'alumini, i (c) fotocatalitzador encastat en material de base ciment.

En una primera fase (resultats capítol 4), es va avaluar la viabilitat de l'activitat fotocatalítica com a tecnologia viable per a la reducció de grans de pol·len procedents de dues espècies vegetals diferents (*Cupressus arizonica* i *Platanus acerifolia*). Els resultats obtinguts, fonamentalment utilitzant tècniques de caracterització com la difracció de raigs X (DRX), espectroscòpia electrònica de raigs X (XPS), fluorescència, espectroscòpia infraroja, microscòpia electrònica de rastreig, van evidenciar que la fotocàlisi provoca canvis significatius en l'estructura del pol·len i la seva viabilitat al·lèrgica. En aquesta primera fase es van analitzar dues espècies. En concret, s'observa que hi ha una modificació de les capes externes (intina i exina) que protegeixen el protoplasma dels grans de pol·len. Mitjançant la tècnica de microscòpia electrònica de rastreig es demostra que després del tractament fotocatalític es produeix la degradació dels estrats exina i intina i per tant els grans de pol·len pateixen un deteriorament clarament visible de la seua estructura reduint el nombre de grans viables. D'altra banda, mitjançant la tècnica de tinció per fluorescència amb la sonda diacetat de fluoresceïna (FDA) es puc comprovar que hi ha una disminució de

la viabilitat dels pòl·lens estudiats o inactivació de la alergenidat dels mateixos. Les dades experimentals van evidenciar una reducció significativa (aproximadament el 80 - 85%) de la intensitat de fluorescència (= inactivació) del pol·len després de l'exposició al procés fotocatalític. Aquests resultats són corroborats pels patrons de DRX en els quals els pics característics del pol·len desapareixen.

En una segona part l'avaluació d'aquest procés de degradació es va estudiar en detall en un total de 7 espècies de pol·len analitzades amb iguals resultats. Les espècies patien un clar deteriorament de la seva capacitat al·lèrgica, tal com demostren les imatges de microscopi electrònic de rastreig.

En una tercera fase d'aquesta tesi es va realitzar una anàlisi detallada de les fases / mecanisme de descomposició dels extractes d'al·lèrgens de 7 les set espècies vegetals anteriors (Capítols 6 i 7). En aquestes fases es va confirmar que els extractes d'al·lèrgen pateixen una descomposició gairebé completa donant lloc a productes volàtils de baix pes molecular que concorda amb els mecanismes de fotodegradació d'aminoàcids. Els mecanismes de degradació de les estructures enzimàtiques en compost aminoàcids de cadascuna de les espècies van ser descrites.

En una quarta fase part es va comprovar que la degradació de les proteïnes del pol·len pot donar lloc a una modificació química superficial inusual del fotocatalitzador que pot associar-se a un possible dopatge de TiO₂ amb C i N procedents dels extractes de pol·len. Aquest últim resultat obre un camp d'investigació adicional en relació amb la potenciació de l'activitat fotocatalítica per acció d'aminoàcids del pol·len en la modificació de l'estructura dels fotocatalitzadors.

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 POLEN Y ALERGIAS	2
1.1.1 Polen: Definición y estructura	5
1.1.2 Tipos de polen	6
1.1.3 Medidas preventivas y técnicas de eliminación	17
1.2 FOTOCATÁLISIS HETEROGÉNEA	19
1.2.1 Consideraciones generales	19
1.2.2 ¿Qué es la fotocatalisis heterogénea?	21
1.2.3 Parámetros que influyen en la fotocatalisis	23
1.2.4 Fotocatalisis heterogénea usando TiO ₂ como semiconductor	25
1.2.4.1 Fases del TiO ₂	26
1.3 MATERIALES DE CONSTRUCCIÓN FOTOCATALÍTICOS CON TiO ₂ INCORPORADO: PROPIEDADES Y APLICACIONES REALES	27
1.3.1 Propiedades	29
1.4. FOTOCATÁLISIS EN ELIMINACIÓN DE POLEN	37
CAPITULO 2: OBJETIVOS	40
CAPITULO 3: MATERIALES Y MÉTODOS.....	42
3.1 MATERIALES	43
3.1.1 Polen y alérgenos.....	43
3.1.2 Fotocatalizador	44
3.2 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	44
3.2.1 SO1: “Control de los niveles de polen en el aire: ¿Puede la fotocatalisis heterogenea ayudar?”.....	45
3.2.2 SO2: Degradación del polen en materiales fotocataliticos nanofuncionalizados.....	46
3.2.3 SO3: Descomposición fotocatalitica de los extractos del alérgeno de polen del Cupressus arizonica y Platanus hybrida	47
3.2.4 SO4: Modificaciones químicas del fotocatalizador P25 por extractos enzimáticos de polen de gramíneas Asteraceae y Poaceae	48
3.2 TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN	49
3.2.1 SEM-EDS.....	49
3.2.2 XPS	51
3.2.3 Difracción Rayos X.....	53
3.2.4 FTIR.....	53
3.2.5 Fluorescencia (FDA).....	54
3.2.6 Potencial zeta.....	56
3.2.7 Microscopio óptico.....	58
3.2.8 Método gota sécil	59
3.2.9 CIELAB	60
3.2.10 Resumen de técnicas.....	61
BIBLIOGRAFÍA	63
CAPITULO 4: CONTROL DE LOS NIVELES DE POLEN EN EL AIRE: ¿PUEDE LA FOTOCATÁLISIS HETEROGENEA AYUDAR?	80
4.1. PARTE EXPERIMENTAL.....	81
4.1.1. Materiales.....	81
4.1.2. Diseño experimental.....	82
4.1.3. Técnicas de caracterización.....	83
4.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	84
4.2.1. Caracterización.....	84
4.2.2 Estudio preliminar.....	86
4.2.3. Polen en solución	86
4.2.4. En el soporte de cristal	89

4.2.5. En mortero	90
4.3. CONCLUSIONES PARCIALES OP1	92
REFERENCIAS CAPÍTULO 4	93
CAPITULO 5: DEGRADACIÓN DEL POLEN EN MATERIALES NANOFUNCIONALIZADOS	96
5.1 MATERIALES Y MÉTODOS	97
5.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	99
5.2.1 Degradación fotocatalítica de PG	99
5.2.2 Degradación fotocatalítica del núcleo de polen	104
5.2.2.1 Análisis espectrofotométrico	104
5.2.2.2 Método de gota sécil.....	105
5.2.3 Posibles mecanismos de degradación	106
5.3 CONCLUSIONES PARCIALES OP2.....	107
REFERENCIAS CAPÍTULO 5	108
CAPITULO 6: DESCOMPOSICIÓN FOTOCATALITICA DE LOS EXTRACTOS DEL ALÉRGENO DE POLEN DEL CUPRESSUS ARIZONICA Y PLATANUS HYBRIDA.....	114
6.1. PARTE EXPERIMENTAL	115
6.1.1. Materiales y métodos.....	115
6.1.2. Técnicas de caracterización.....	116
6.2. RESULTADOS	117
6.2.1. SEM-EDS.....	117
6.2.2. XPS	119
6.2.3. Actividad enzimática	122
6.3. DISCUSIÓN	122
6.3.1. El efecto de la irradiación UV en los PAEs	123
6.3.2. El efecto de PhC inactivado en los PAEs	129
6.3.3. El efecto de la fotocatálisis en los PAE.....	131
6.4. CONCLUSIONES PARCIALES OP3.....	132
REFERENCIAS CAPÍTULO 6	133
CAPITULO 7: REACCIONES DE FOTODEGRADACIÓN INUSUALES DE EXTRACTOS ENZIMÁTICOS DE POLEN DE PASTO DE ASTERACEAE Y POACEAE EN EL FOTOCATALIZADOR P25	138
7.1 MATERIALES Y MÉTODOS	139
7.1.1 Extractos alergénicos de polen y configuraciones experimentales.....	139
7.1.2. Métodos.....	140
7.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	141
7.2.1. SEM-EDX.....	141
7.2.2 Resultados XPS	145
7.2.3 Ancho de banda	150
7.2.4 Discusión.....	151
7.3. CONCLUSIONES PARCIALES OP4	153
REFERENCIAS CAPITULO 7	155
CAPITULO 8: CONCLUSIONES GENERALES	160
CAPÍTULO 9: DIFUSIÓN CIENTÍFICA.....	164
9.1 ARTÍCULOS PUBLICADOS.....	165

Revistas SCI.....	165
9.2 CONGRESOS, SEMINARIOS Y CURSOS.....	165
ANEXOS.....	168

CAPÍTULO 1: Introducción

1.1 Polen y alergias

El polen se define como “las células sexuales masculinas de las plantas con flores”. Su función biológica es alcanzar la parte femenina de una flor de su misma especie y hacer posible la fecundación de la ovocélula (23), lo que se conoce como polinización, la cual puede darse por el efecto del viento o mediante el transporte por insectos.

Este proceso precisa de una especial resistencia de los pólenes, ya que condiciones ambientales adversas pueden provocar su inviabilidad. El polen está recubierto por una pared muy resistente llamada exina que se constituye de uno de los materiales más inalterables de la naturaleza, la esporopolenina, la cual es capaz de resistir a la acción de ácidos, bases o cambios extremos en la temperatura.

Tal y como señala la Red Palinocam de la Comunidad de Madrid (24), el polen es uno de los desencadenantes exógenos más importantes de los procesos alérgicos entre la población. Durante las épocas de floración, la concentración de los granos de polen provoca serios trastornos en la población. Existen estudios que señalan al polen como el causante del “trastorno inmunológico más frecuente en el ser humano”, afecta entre un 15 -30% de la población mundial, y en el 5% de los casos es necesario tratamiento médico (25; 26).

En Estados Unidos el 54,6% de las personas tiene reacciones alérgicas y 34 millones padecen asma. Por otro lado, las alergias suponen más de 30 millones de dólares en gastos directos e indirectos a las administraciones (27). La Sociedad Española de Alergología e Inmunología ha clasificado las alergias en general como "la epidemia del siglo XXI", ya que se espera que en las próximas décadas el 50% de la población convivirá con la alergia (28).

El efecto alergénico del polen en el ser humano provoca síntomas muy variados en distintas partes del cuerpo como los ojos, la nariz, la garganta o los pulmones. Los síntomas más comunes son (29):

- estornudos, picor, congestión, secreción y obstrucción nasal.
- inflamación en los ojos (conjuntivitis), picor de paladar, de garganta y de oídos, lo que se conoce como "fiebre del heno".
- tos, dificultad para respirar, sensación de opresión torácica y pitidos, el llamado “asma polínico”.

La reacción alérgica se fundamenta en el siguiente principio: el polen libera proteínas solubles en agua, las cuales generalmente son inofensivas, pero en ocasiones el cuerpo las reconoce como sustancias nocivas. El cuerpo reacciona a esta amenaza mediante anticuerpos IgE que liberan histamina, que es la principal sustancia responsable de los síntomas de alergia al polen.

Sin embargo, es importante destacar que el efecto del alérgeno en el ser humano es dependiente del tamaño de partícula del polen. Tamaños de 10 micras o más ocasiona que las partículas queden retenidas en el árbol bronquial, y la respuesta sea a nivel de mucosa nasal y conjuntival; las partículas entre 2.5 y 10 micras son las que penetran con mayor facilidad en las vías respiratorias que las anteriores; las partículas entre 2.5 micras o menores de 2 micras pueden alcanzar las vías respiratorias inferiores y el árbol bronquial y provocar efectos más severos en la salud humana (30; 31; 32).

Existen estudios que relacionan las partículas “finas” (<2.5 micras) con problemas de salud significativos como muerte prematura en personas con problemas cardíacos, latido irregular del corazón, aumento de los problemas derivados del asma o irritación de las vías respiratorias. Sin embargo, en partículas “gruesas” (entre 2.5 y 10 micras) los problemas de salud son de menor importancia, pueden irritar ojos, nariz y garganta.

En España, las polinosis o alergias al polen más significativas las producen las gramíneas, el olivo, el platanus y las cupresáceas. Aproximadamente en 1995 se estimaba que solo el 2% de la población era alérgica al polen de las Cupresaceas. En la actualidad alrededor del 40% de la población es alérgico a este tipo de plantas. El Comité de Aerobiología de la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica (SEIAC) señala que la causa de esta subestimación se debía a que los efectos alérgicos de esta familia se confundían con catarros durante la estación de invierno. La parte positiva es que a diferencia de otros pólenes como el Platanus o las gramíneas, las cupresáceas no suelen producir síntomas asmáticos.

La figura 1 muestra un gráfico de la evolución de granos de polen recogidos en la estación de Madrid (Clínica Subiza) de la SEIAC donde se observa una evolución en las proporciones de producción de polen en función de la familia vegetal, con una reducción de la cantidad de granos de polen de gramíneas, mientras que el platanus sigue aumentando su presencia en ciudades como Madrid en los últimos 15 años.

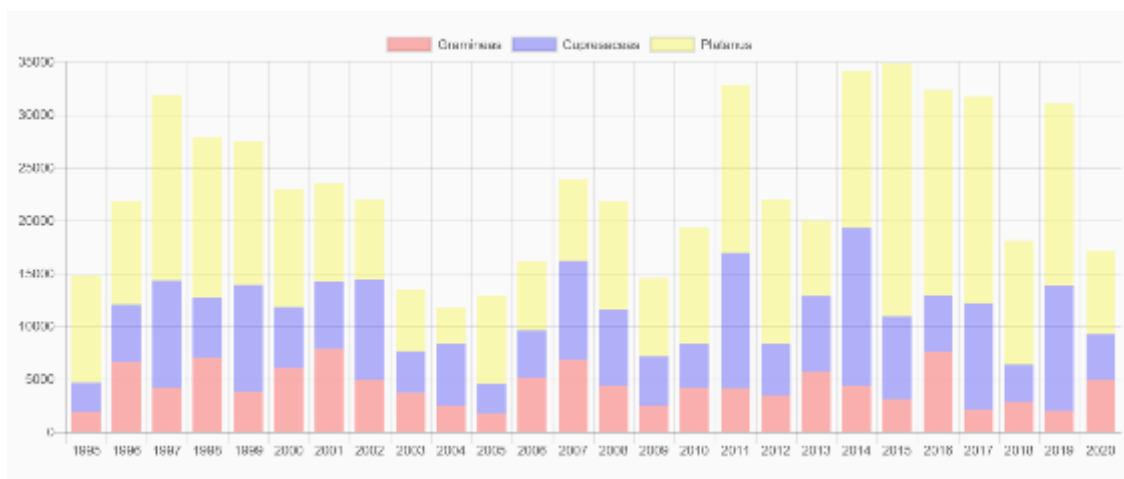


Figura 1: Evolución niveles de polen de cupresáceas, gramíneas y platanus en Madrid (33)

Del mismo modo, existen estudios que demuestran la relación directa entre el aumento de urgencias hospitalarias y los niveles de polen de gramíneas. Por ejemplo, en la figura 2 se observa dicha relación entre los años 1995 y 2000. Los datos pertenecen al Registro de Urgencias Hospital General Universitario Gregorio Marañón y a la Red PALINOCAM. En la gráfica se puede observar cómo claramente existe una coincidencia entre los picos de producción de gramíneas y de urgencias hospitalarias.

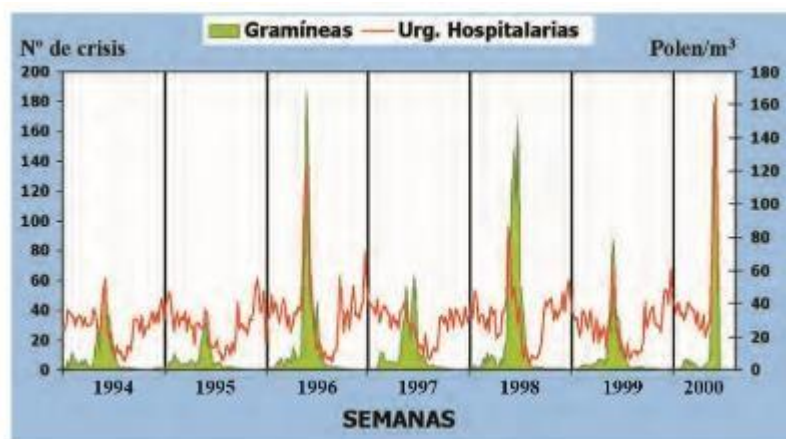


Figura 2: Relación entre niveles de polen y crisis hospitalarias (34)

Existen varios métodos para tratar o reducir los efectos de la alergia al polen aplicados directamente al ser humano:

- Inmunoterapia: tratamiento por vía subcutánea (vacuna) o sublingual.
- Antihistamínicos: medicamentos que permiten aliviar los síntomas de la alergia bloqueando la acción de la histamina.

- Productos paliativos de la congestión nasal: sprays nasal o descongestionantes con oximetazolina, cortisona...

Por otro lado, los últimos datos de la SEIAC estiman que las variaciones estacionales de temperatura relacionadas con el cambio climático están provocando un incremento en las cantidades de polen generadas por las especies vegetales o sobrepolinización- Esto está obligando a prolongar los tratamientos farmacológicos para reducir los efectos alérgicos en el ser humano. Para evitarlo, la solución propuesta es el uso de vacunas, una solución alternativa que disminuye el gasto en fármacos entre un 30% y un 40%.

Otros estudios señalan que las temporadas de polinosis están siendo "mucho más largas y agresivas" debido no solo a esas variaciones en los cambios de temperatura comentados anteriormente, sino que además la elevada contaminación que se registra fundamentalmente en grandes ciudades esta ocasionado nuevos episodios de sobrepolinización. La SEAIC, explica que "estos fenómenos van a alterar la fisiología de las plantas, potenciando la agresividad del polen" (35).

En un estudio comparativo entre la Ciudad de Madrid y Ciudad Real se ha comprobado que el polen de Madrid provoca efectos un 18% más agresivos en la población susceptible que el de Ciudad Real (36). "El estrés oxidativo producido por la polución y que convierte sus pólenes en más alérgicos, altera la estructura del polen haciendo que éste genere proteínas como mecanismo de defensa y aumentan su capacidad de inducir una respuesta alérgica en personas susceptibles". Javier Subiza et al. estiman que las partículas de polen son capaces de multiplicar por 27 la capacidad de un polen de ser alérgico en condiciones de estrés (35; 37).

1.1.1 Polen: Definición y estructura

Los granos de polen son las células sexuales masculinas de las plantas con flores (38; 39; 40; 41). Se trata de una estructura bi o tricelular con una cubierta formada por dos capas, una interna denominada intina y otra externa denominada exina:

- La **intina** es la responsable de la formación del tubo polínico y envuelve al protoplasma, es delicada, poco resistente, constituida de celulosa y pectina, es más gruesa generalmente a la altura de las aperturas. Su composición es muy similar a la de la pared primaria de una célula, constituida principalmente por polisacáridos, pectinas y proteínas (42).

- La **exina** cubre a la intina a través de una capa rígida y gruesa que da la forma al grano de polen. La esporopolenina es parte constituyente de la exina y es uno de los materiales más inalterables de la naturaleza, muy resistente a ácidos y bases y que no se ve afectado por las variaciones térmicas habituales en la naturaleza (43). Entre sus funciones se encarga de la protección al gametofito frente a posibles daños físicos en el proceso de transporte desde la antera al estigma de una flor o sirve de almacenamiento de aquellas proteínas capaces de realizar las reacciones de autoincompatibilidad (42).

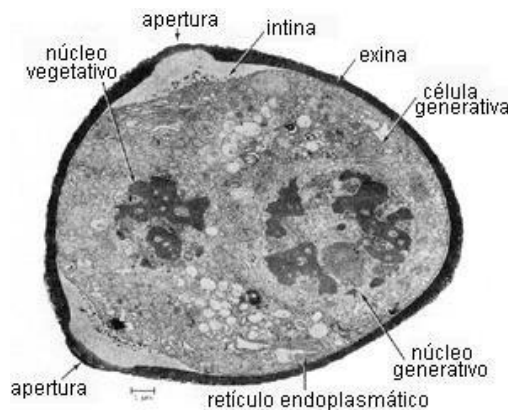


Figura 3: Estructura del grano de polen bicelular (44)

Existen distintos tipos de exina que se diferencian por el número, posición y características de las aperturas que posea, tal y como muestra la figura 4 (45).

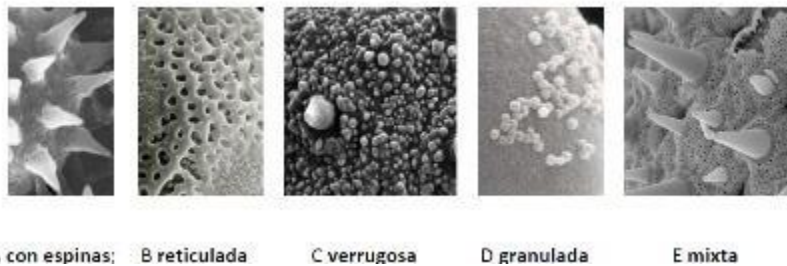


Figura 4: Tipos de exina (Información del Real Jardín Botánico- CSIC Madrid) (45)

1.1.2 Tipos de polen

Los diferentes pólenes se pueden clasificar en función del tipo de especie vegetal generadora. Existe una gran variedad a nivel mundial de tipos de especie y variedades vegetales con una elevada incidencia alérgica en la salud humana. En España, en concreto en la Comunidad de Madrid, lugar donde se ha realizado la presente investigación, 3 grupos vegetales se consideran los productores de alergias más comunes (46):

- Árboles: Olivo, ciprés y plátano de sombra principalmente. Pero existen otros como abedul, roble o el pino que también afectan a gran parte de la población.
- Gramíneas: Las gramíneas pueden ser silvestres o proceder de cultivos de cereales como el trigo, centeno, arroz o maíz. Pero hay que distinguir entre alergia al polen de la planta y alergia a la harina de estos cereales, por lo que se pueden comer con normalidad. Entre las gramíneas más alergénicas se encuentran *Poa pratensis*, *Lolium perenne*, *Phleum pratense* o *Cynodon dactylon*.
- Arbustos o malezas: parietaria, salsola, artemisia, chenopodium y plantago, principalmente.

A continuación, se detallan las características principales de algunos de las especies con mayor incidencia (47):

Cupresaceas: Cupressus Arizonica

Cupressus arizonica, o ciprés de Arizona, es una especie de la familia Cupressaceae. Son arbustos resinosos de hojas perennes. Se trata de un árbol que puede llegar a medir 20 metros de altura, con copa densa y ramificaciones horizontales. En estado salvaje se encuentra en bosquetes pequeños, dispersos, no en grandes bosques. No contienen flores verdaderas y sus órganos de reproducción pueden ser de dos tipos: monoicos (dos sexos en la misma planta) o dioicos (dos sexos, pero en planta distinta). La polinización es anemófila, capaz de eliminar grandes cantidades de polen desde la base hasta la copa. Las fructificaciones pueden ser leñosas (arizonica) o carnosas (tejo y enebro) (48).

El período de polinización cubre enero y febrero principalmente y su origen procede del sur de EE.UU. y México Norte. En la actualidad se utiliza como seto ornamental en zonas residenciales y se utiliza para repoblar varias zonas de monte de la Península Ibérica.

Se trata de una especie rústica, de gran resistencia y tolerancia, con altas capacidades para admitir su cultivo en distintas clases de suelos, arenosos, calizos y áridos. Le gustan los lugares soleados, aunque tolera perfectamente el frío. Crece rápidamente, aguanta la cercanía a la costa y la polución urbana (49).

La polinización de esta especie es anemófila, es decir se transporta por el viento. Sus granos son esferoidales, entre 19 y 38 micras, inaperturados, su superficie es muy lisa excepto en

determinadas zonas donde contiene una exina delgada granulada y una intina que puede llegar a tener un grosor de 6 micras (ver figura 5) y la estructura de la exina se considera GRANULADA. La exina puede romperse, liberando el protoplasto que envuelve la intina que se hincha y se hace más gruesa (50).

Se trata de un alérgeno identificado como una glicoproteína. Fue identificado por primera vez por Di Felice et al. demostrando que era el responsable de la alta reactividad cruzada con otros pólenes de coníferas (51).

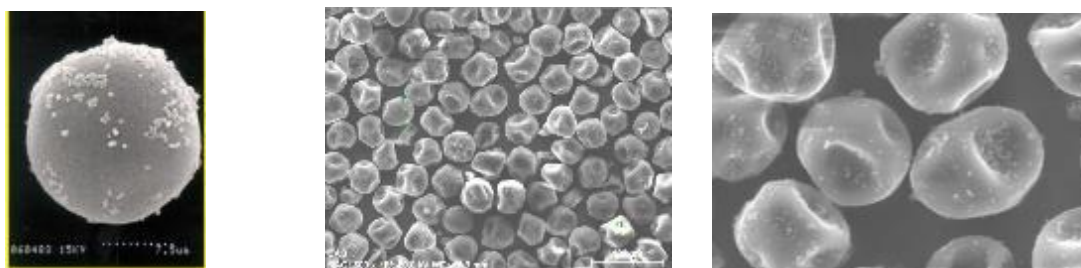


Figura 5: imágenes de microscópio SEM de Cupressus Arizona

En 2003, el Comité de Aerobiología de la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica (SEAIC) realizó un estudio multicéntrico en 13 ciudades españolas, el objetivo del estudio era valorar la prevalencia de sensibilización a los pólenes más relevantes. La mayor prevalencia para Cupressus arizonica se produjo en Madrid (55,91%) y las menores en La Coruña (1,28%) y Bilbao (2,27%) (50). El polen de las Cupresáceas representa en la Comunidad de Madrid el 16,1 % del total de polen anual y ocupa, por su elevada incidencia atmosférica, el segundo lugar detrás del plátano (52).

Platanaceas: Platanus Hybrida

Es un árbol corpulento que puede llegar a medir más de 40 m, su tronco es recto y su copa tupida, lo que permite proyectar una sombra densa. La corteza tiene forma de mosaico de tonos verdes, grises y amarillos, que pueden desprenderse con facilidad en placas grandes. Las hojas son caducas, simples, alternas y palmeadas en 5 lóbulos de picos agudos e irregulares. Son grandes, miden alrededor de 12-22 cm de largo y 12-30 cm de ancho. Las juveniles poseen un denso tomento que se va perdiendo con el paso del tiempo y la base del rabillo tiene forma de caperuza para proteger la yema de la hoja, que volverá a salir al año siguiente. Los frutos son compuestos y globosos, suelen aparecer en pares, miden 3-5 cm de diámetro y son colgantes. Frecuentemente se mantienen en el árbol al llegar el invierno, y con el tiempo se deshacen y

dan lugar a multitud de semillas con pelos finos, lo que permite su dispersión por el viento. Sus hojas se disponen alternamente y según el tipo de frutos se puede diferenciar esta especie de los arces ibéricos de hojas semejantes: *Acer pseudoplatanus* L. y *Acer platanoides* L. Como se puede apreciar, el nombre específico hace referencia al parecido de sus hojas con las del plátano (53).

Esta especie necesita suelos con elevada humedad y ligereza, capaz de aguantar las precarias condiciones de las ciudades. Puede soportar la contaminación atmosférica y la poda, e incluso llega a rebrotar la cepa después de ser talados.

Es oriundo del mediterráneo oriental, sudeste de Europa y oeste de Asia. Ampliamente difundido como ornamental, se encuentra en todo el territorio y se vuelve silvestre con facilidad en riberas y sotos, sobre todo en el norte peninsular (53).

Esta familia está formada por un único género con 9 especies distintas. En España, la alergia más problemática es la provocada por el platanus hispánica. Esto es debido a su uso como árbol ornamental. Tiene una polinización explosiva, con picos que pueden sobrepasar los 2000 granos de polen/m³ de aire.

El polen de *Platanus* es de tamaño pequeño (15 -20µm), son apolares con simetría radial y la exina es fina con microretículo e intina de grosor medio. La emisión de este polen es explosiva (8%–9% de sensibilizaciones (54)) y tiene lugar en un período corto, poco más de un mes en primavera, marzo/abril o abril/mayo, según las condiciones meteorológicas (55). Tal y como señala el Ayuntamiento de Madrid y la SEAIC, esta especie tiene una “polinización explosiva” que produce molestias en nariz y ojos y son los "causantes de los altos niveles de alergias ya que se adapta muy bien a las condiciones ambientales del entorno, admite bien la contaminación y el árbol requiere poco mantenimiento". El 40% de las personas alérgicas son alérgicas al plátano de sombra, solo en Madrid ya afecta a un millón de ciudadanos.

El tamaño de grano de polen es pequeño-mediano, en forma de esfera y con una superficie reticulada muy fina. Posee tres surcos longitudinales (es como un grano de café), tal y como muestra la figura 6.

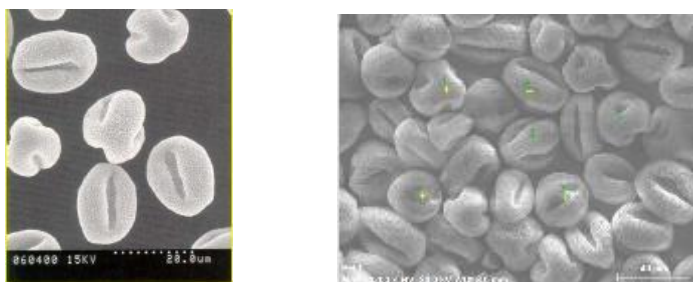


Figura 6: imágenes de microscopio SEM de *Platanus Hybrid*

Pinaceas: Cedrus Atlantica

Según ArbolApp (56), aplicación elaborada conjuntamente entre el CSIC y el Cabildo de Gran Canaria, el *Cedrus atlántica* es un árbol longevo y de gran talla, puede llegar hasta los 50 m de altura. Sus ramas forman pisos y la copa es prácticamente piramidal, aunque su forma se va perdiendo con los años. Su tronco es recto y tiene una corteza lisa que se vuelve rugosa con el paso de los años, es negro-pardo, gruesa y repleta de grietas. Las hojas son acículas de color verde azulado, persistentes, rígidas, puntiagudas y de tamaño variable (alrededor de 4 cm de longitud). Suelen aparecer en grupos, en manojos de forma radial sobre ramitas cortas. En una misma planta se encuentran conos masculinos (amarillo verdosos y con una longitud de 3-6 cm) y femeninos (de 1 cm y tono verde púrpura) los cuales pueden presentarse en solitario y erguidos en el centro de las rosetas de hojas. Las piñas, que aparecen erguidas, son grandes (5-8 cm de largo y 3-5 cm de ancho). Una vez formados tienen un aspecto consistente y liso por la disposición apretada de sus escamas, pero al madurar se van desintegrando. Contienen unas 100 semillas (piñones) casi triangulares y con un ala muy larga y ensanchada.

El cedrus del Atlas ocupa áreas reducidas y forma bosques en las laderas de las montañas que se encuentran entre los 1300 y los 2600 m de altitud. Crecen en suelos calizos y ricos en materia orgánica, se desarrolla bien en distintos terrenos, excepto los muy húmedos. Puede resistir veranos calientes y secos, inviernos con vientos fuertes y altas cuotas de nieve, aunque no soporta los ambientes marítimos. Se cultiva porque es más tolerante a condiciones secas y calientes que la mayoría de las coníferas.

Su nombre se debe a su origen, procede de las montañas del Atlas (Marruecos y Argelia) y en otras zonas como Canarias se ha plantado en zonas de cumbre, como en Las Cañadas del Parque Nacional del Teide (Tenerife) o las inmediaciones de la montaña de las Mejoranas, que forma

parte del Paisaje Protegido de Las Cumbres (Gran Canaria). Los botánicos del Jardín Botánico Canario "Viera y Clavijo", señalan que se encuentra asilvestrado en las dos islas (57).

La literatura sugiere que el polen de *Cedrus atlántica* varía significativamente en tamaño, lo que podría ser el resultado de diferencias climáticas. Bell et al. (58) estudiaron la morfología del polen de *Cedrus Atlantica* a través del microscopio electrónico de barrido (SEM) y el microscopio de luz (LM), principales técnicas utilizadas para analizar la morfología del polen. Según estas técnicas los granos son alargados, el cuerpo es típicamente prolado y la pared es gruesa. A través del LM, la superficie del cuerpo es rugosa y reticulada, mientras que la ornamentación es algo más lisa en el saco.

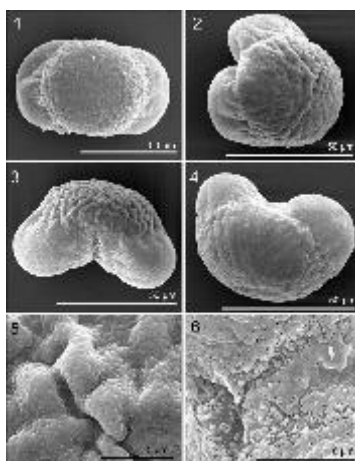


Figura 7: imágenes microscopio SEM de *Cedrus atlantica* (59)

Bajo SEM, la ornamentación de la superficie del cuerpo es rugosa, con apariencia fosilizada, con grupos de elementos irregulares, esferoidales a alargados que sobresalen, intercalados por profundas arboledas. Los sacos aparecen lisos con una superficie escamosa-perforada. La ornamentación de la superficie parece más definida después del tratamiento químico bajo LM y SEM. En resumen, son más grandes (80-100 μm), heteropolares, de simetría bilateral y con una pared de la exina más gruesa (2-4 μm); florece de marzo a julio.

Gramíneas

Las gramíneas son principalmente de porte herbáceo y perennes. Sus tallos tienen forma cilíndrica y hueca, y en caso de presentar ramificaciones las tienen a nivel del suelo, se extienden de forma lateral con rizomas subterráneos o estolones superficiales. Las hojas son liguladas, diferenciadas en vaina y limbo, su tamaño es muy variable y puede llegar a medir milímetros o varios metros. Las flores son hermafroditas y se agrupan en unas estructuras

conocidas como espiguillas, es decir que se agrupan en espigas.

Es una familia que se puede encontrar en cualquier formación vegetal terrestre. Son conocidas más de 230 especies que presentan una gran amplitud ecológica, y que se localizan en cualquiera ecosistema.

Al tratarse de un grupo tan variado, se pueden encontrar especies aflorando a lo largo de todo el año. No obstante, hay que tener en cuenta que florecen desde marzo hasta julio (60).

La familia de las gramíneas cuenta con unos 650-700 géneros y alrededor de 12.000 especies, son dominantes en formaciones vegetales importantes como las sabanas, estepas y vegetación acuática. Dominan en los prados, por lo que son la base de la alimentación de los animales, y del hombre, puesto que a esta familia pertenecen los trigos (*Triticum* sp.), la cebada (*Hordeum vulgare* L.), el arroz (*Oryza sativa* L.), el maíz (*Zea mays* L.), el centeno (*Secale cereale* L.), las avenas (*Avena* sp.) y el resto de los cereales. Pero además hay que tener en cuenta que son especies silvestres capaces de producir alergia (61).

En la figura 8 se muestran los cinco tipos de gramíneas analizadas en este estudio. Estas pertenecen a dos familias de Angiospermae: Asteraceae y Poaceae, y tres tribus: Astereae, Poae y Triticeae.

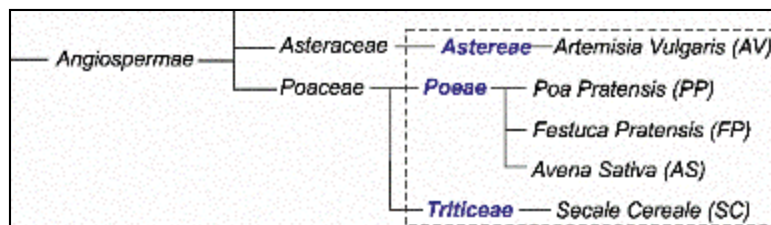


Figura 8: Esquema ilustrativo de familias estudiadas en esta tesis

Gramínea 1: *Secale cereale*

Planta anual o bienal, con una longitud entre 80-160 cm. Sus hojas son liguladas y con pequeñas aurículas. Inflorescencia en espiga compacta, con una espiguilla en cada nudo del raquis. Espiguillas con dos glumas estrechas y puntiagudas; tres flores por espiguilla, una de ellas estéril. Flores fértiles con lema aquillado y arista terminal.

Planta muy rústica y con facilidad de adaptación a diversas condiciones climáticas y edáficas. Puede resistir el frío, el calor y las precipitaciones. Su cultivo se encuentra en diversas regiones, ya sean zonas de montaña con duros inviernos o zonas mediterráneas con un clima árido o semiárido. Además, es capaz de desarrollarse en distintos tipos de suelos, incluidos los arenosos

y oligotrofos.

Su origen es Oriente Próximo y su cultivo se extiende por toda Europa, principalmente en las zonas de clima más frío. En la Península Ibérica es un cultivo frecuente en las regiones occidentales de suelos pobres (62).

El centeno (*Secale cereale*) es una planta de la familia de las gramíneas, se cultiva por su grano o como planta forrajera. Es un miembro de la familia del trigo y se relaciona estrechamente con la cebada.

Los granos de polen de esta familia son de tamaño mediano-grande, superficie granulada y una única apertura (ver figura 9). Sus semillas contienen proteínas con más de un factor antialimentario combinando con la susceptibilidad individual a causar daño.

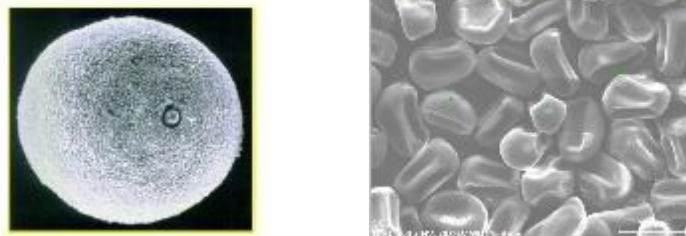


Figura 9: imágenes microscópico SEM de *Secale cereale*

Gramínea 2: Poa Pratensis

Se trata de planta perenne de longitud variable entre 10-100 cm, rizomatosa. Sus tallos tienen forma cilíndrica, con hojas planas, de hasta 5 mm de anchura, con lígula truncada, de hasta 3 mm de longitud. Inflorescencia en panícula con las ramas escábridas, generalmente abierta. Espiguillas pequeñas, comprimidas, de ovadas a oblongas, con 2-5 flores.

Entre sus requisitos ambientales se adapta mejor a climas templados. Tolerancia bien condiciones climáticas extremas como el frío y las heladas. Sin embargo, en condiciones de alto calor su crecimiento se detiene y no tolera la falta de agua. Tiene preferencia por condiciones de buena iluminación, no por la sombra. Su temperamento edáfico es amplio, y su pH óptimo se encuentra en torno a 6-7,5. Soporta texturas pesadas y terrenos mal drenados.

Se puede encontrar principalmente en Europa, pero naturaliza en diversas regiones templadas del planeta Y se extiende en zonas de cultivo de Norteamérica. Mientras que en la Península

Ibérica es poco utilizada para alimentar al ganado, pero sí que se utiliza para otros objetivos (63).

El polen de *Poa pratensis* es una gramínea perenne con estolones largos que crece de forma espontánea en prados y bordes de campos moderadamente húmedos, se utiliza en pastos y céspedes. También pueden desencadenar la fiebre del heno a personas con sensibilidad derivada del polen de gramínea.

Según la asociación de alergia e inmunología clínica las gramíneas de la familia **Poaceae** son heteropolaes y con simetría radial. Su morfología es circular y en ocasiones pueden ser ligeramente elíptico. Tamaño de pequeño a mediano, entre 16 y 47 μm , y su superficie es granulada (64), tal y como se observa en la Figura 10.

Entre las aplicaciones destacadas, determinados estudios experimentan con *Poa pratensis* expuesto a SO_2 , NO_2 y $\text{SO}_2 + \text{NO}_2$ en concentraciones encontradas en algunas áreas urbanas. Se sabe que tanto el SO_2 como el NO_2 reducen la fotosíntesis neta, y los análisis de crecimiento mostraron que los mecanismos compensatorios estaban funcionando para contrarrestar la eficiencia fotosintética reducida. Por tanto, se produce un crecimiento lento en invierno y se demuestra la resistencia a la contaminación por el NO_2 (65).

La *Poa pratensis* es una especie que comprende una variabilidad elevada debido a sus diversos usos y a su capacidad de distribución por todo el mundo; por lo que de ella se derivan muchas subespecies, variedades e híbridos con especies próximas (61).

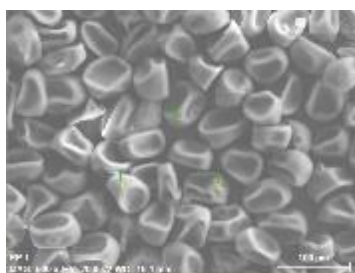


Figura 10: Imágenes microscópico SEM de *Poa pratensis*

Gramínea 3: Festuca Pratensis

Planta perenne de 30-120 cm. Hojas anchas, de hasta 8 mm, con limbo plano, con lígula membranosa y aurículas glabras. Inflorescencia en panícula laxa y estrecha, generalmente con curvatura unilateral. Espiguillas cilíndricas, con 5-14 flores; glumas y lemas no aristadas.

Se adapta a climas fríos. Resiste bien condiciones climáticas como el frío y las heladas y no resiste la sequía y el calor. Se desarrolla en zonas con precipitaciones superiores a los 600 mm anuales. Tolera un amplio rango de texturas, aunque vive mejor en los suelos arcillosos, profundos, ricos en materia orgánica y de pH neutro o ligeramente ácido. Incluso soporta el encharcamiento.

Es originaria de Eurasia, aunque su cultivo se ha extendido a otros continentes de climas templados y fríos. En la Península Ibérica se cultiva principalmente en la Cornisa Cantábrica y en áreas de montaña (66).

La Festuca se utiliza principalmente en la secuenciación del ADN mitocondrial de las plantas y contribuye significativamente a la fiebre del heno. El grano de polen de Festuca pratensis es de tamaño medio y granulada, tal y como se observa en la figura 11.

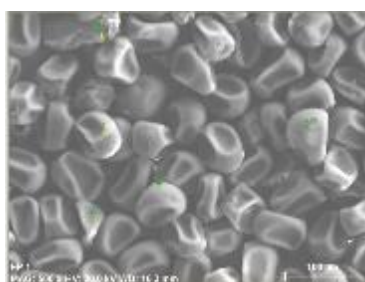


Figura 11: imágenes microscópio SEM de Festuca pratensis

Gramínea 4: Avena sativa

Planta anual de 40-150 cm. Hojas de 3-20 mm de anchura, glabras, ásperas en los bordes, con lígula de hasta 5 mm. Inflorescencia en panícula. Espiguillas de 17-30 mm, con 2-3 flores, casi completamente cubiertas por las glumas. Lema emarginado o con dos pequeños dientes, rara vez aristado. Glumas con 7-9 nervios. Las flores no se desarticulan en la madurez.

Poco resistente al frío, y completamente intolerante a las heladas intensas. Tiene preferencia por climas más frescos y de mayor humedad, aunque crece también en ambientes mediterráneos con bastantes lluvias típicas de la primavera. Su exigencia en suelos se centra en terrenos profundos que retengan bien la humedad pero que no se encharquen.

Su distribución es incierta (Asia menor o SE de Europa, aunque su cultivo está muy extendido en Europa y América del Norte. Es el cereal que más se utiliza en la Península Ibérica, principalmente en las zonas con bajo riesgo de heladas intensas (67).

La Avena sativa es un alergeno suave. Su polinización se produce de primavera a verano dependiendo de la latitud y la elevación. Es una especie hexaploide ($2n = 6x = 42$) y su polinización varía dependiendo de la latitud, suele darse de primavera a verano. El grano de polen de *Avena sativa* es de tamaño medio y granulada, tal y como se observa en la figura 12.

Se ha demostrado que se puede utilizar en nanobiotecnología ya que su biomasa se utiliza como una alternativa para recuperar iones Au (III) de soluciones acuosas debido a su capacidad de reducir las nanopartículas de Au (III) a Au (0). El efecto de este uso varía con el pH, el porcentaje de Au (III) decrece al mismo tiempo que el pH aumenta (68).

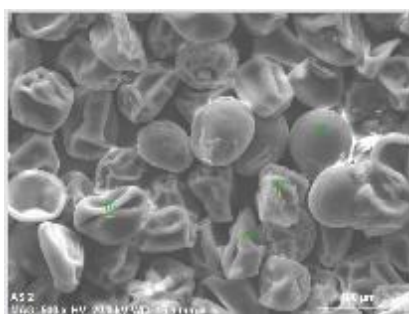


Figura 12: Imagen microscópio SEM de Avena Sativa

Graminea (Compuestas) 5: Artemisia vulgaris

Hierba perenne, cespitosa, aromática, con rosetas invernales. Tallos esparcidamente pubescentes o glabrescentes, generalmente rojizos. Hojas alternas, pinnatífidas, auriculadas en la base, segmentos lobulados, haz glabrescente, envés blanco-tomentoso, hojas inferiores cortamente pecioladas, hojas superiores sésiles. Inflorescencia paniculada, capítulos subsésiles, erectos o ligeramente recurvados. Involucro campanulado u ovoideo, brácteas grisáceas, aracnoideo-pubescentes, las externas lanceoladas, agudas, anchamente escariosas, las internas mayores, oblongas, obtusas. Receptáculo glabrescente. Corola generalmente pardo-rojiza. Fruto aquenio. Distribuida en Eurasia y América del Norte (69).

Es de la familia “compuestas”. La artemisia se trata de la compuesta más habitual en nuestro medio. Aparece en bordes de caminos u orillas de arroyos, florece desde julio hasta noviembre, más o menos. En la figura 13 se muestra que el grano de polen es de tamaño mediano, en forma de esfera, con aspecto de tres medias lunas y con una superficie granulada finamente.

La *Artemisia vulgaris* (AV) es la especie elegida en la familia Asteraceae. El grano de polen es isopolar, radiosimétrico, esferoidal, triangulo-tricolporado, de superficie granulada, de tamaño pequeño que va entre 18 y 24 micras, intina y exina gruesas (Figura 13). Debido a supeso no

puede recorrer grandes distancias y como toda planta anemófila produce mucho polen, es potencialmente alergénica (70).

Según la Universidad Autónoma de Barcelona (71) la Artemisia es una planta que provoca un elevado nivel de polinosis. Se encuentra en la Familia de las plantas Compuestas, es una de las más importantes formadoras de semillas por su número de especies y diversidad morfológica.

Es la causante de gran parte de los problemas alérgicos que afectan a la sociedad debido a su gran distribución atmosférica, pero los problemas alérgicos que provoca no se deben tanto a su polinosis sino a la reactividad cruzada que presenta con diversos alimentos. Incluso estudios recientes de la Universidad de Córdoba (UCO) descubrieron que las bacterias utilizan el polen de Artemisia como "taxi" para dispersarse (72), ya que la mayoría de las bacterias viajan adheridas a las partículas de polen. Lo que conlleva un aumento de los efectos de las alergias.

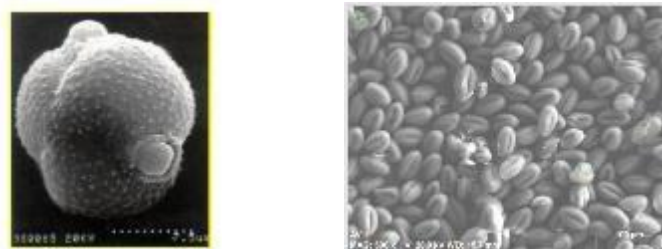


Figura 13: Imágenes microscopio SEM de Artemisia Vulgaris


1.1.3 Medidas preventivas y técnicas de eliminación

El problema de las alergias afecta a la población mundial, y entre las medidas aconsejadas por el Ministerio de Sanidad (29) para prevenir síntomas se encuentran las medidas preventivas o “remedios caseros”, o la utilización de sistemas de eliminación basados fundamentalmente en sistemas barrera mediante el uso de filtros, o el uso de tecnologías más específicas para la purificación del aire en espacios interiores.

En la tabla 1 se presenta un resumen de las técnicas más utilizadas, señalando sus ventajas e inconvenientes. En ella se puede apreciar que para ambientes interiores no existe ninguna técnica que realmente elimine el polen, sino que lo retiran del ambiente reteniéndolo en filtros o precipitándolo.

Para ambientes exteriores, en la actualidad no existe ninguna técnica que permita disminuir o eliminar la cantidad de polen o alérgenos en el ambiente, siendo el uso de mascarilla la única medida de prevención contra sus efectos.

Tabla 1: Técnicas para eliminar bacterias en ambientes interiores

Técnica	Ventajas	Inconvenientes
<p>Filtros antipolen: filtros fabricados con materiales de mayor densidad por lo que es capaz de retener partículas mucho más finas</p> 	<p>Fácil instalación</p> <p>Impide la entrada de partículas, evita la aparición de síntomas alérgicos o reduce riesgos de infecciones nasales, alergias y ataques de asma</p> <p>Purifica el aire en el interior ya que las partículas y el polvo del exterior quedan retenidos en el filtro.</p>	<p>Rápida saturación</p> <p>Es necesario limpiar los filtros o sustituirlos con asiduidad, lo que supone un gasto económico elevado y un control continuo del estado del filtro</p>
<p>Purificadores de aire:</p>	<p>Limpia el aire a través de filtros HEPA o de carbón</p> <p>Detectan cualquier tipo de alérgeno, ácaro o virus</p>	<p>El filtro se cambia cada mes ya que se llena de partículas</p>
<p>Purificadores de aire con ionizador:</p>	<p>Mejoran la calidad ambiental a través de partículas con carga eléctrica, sin emplear productos químicos</p> <p>Las partículas se unen a los iones negativos generados y los convierte en partículas más pesadas que caen al suelo</p>	<p>Poca capacidad de ionización, por lo que para una habitación, son necesarios varios ionizadores</p> <p>Es necesario aspirar o fregar, para evitar que estas partículas puedan volver a integrarse en el aire.</p>
<p>Purificadores de aire generadores de ozono:</p>	<p>Específicos instalaciones industriales y hosteleras</p> <p>Desinfectan aire, neutralizan olores ambientales y aumenta la cantidad de oxígeno</p> <p>Gran desinfectante, aplicable a fines medicinales, tratamientos y depuración del aire y aguas</p>	<p>Son necesarios sistemas combinados para conseguir la purificación</p>

1.2 Fotocatálisis heterogénea

1.2.1 Consideraciones generales

Los primeros artículos sobre fotocatalisis se publicaron en los años sesenta, con la utilización de óxido de zinc para oxidar monóxido de carbono (73) y alcohol metílico (74). Las investigaciones en fotocatalisis incrementaron exponencialmente (Figura 14) desde 1972 con el descubrimiento de la hidrólisis del agua en presencia de la luz, por medio de un ánodo de TiO_2 en una celda fotoquímica(75). Aunque el objetivo inicial era el almacenamiento de energía solar en forma de hidrógeno, posteriormente se demostró que las especies altamente reactivas que se generaban en este tipo de procesos (especies ROS) eran oxidantes de gran parte de las sustancias orgánicas e inorgánicas.

Principalmente los estudios sobre fotocatalisis heterogénea centran su temática en la degradación fotocatalítica tanto de compuestos orgánicos como inorgánicos en aguas residuales (76; 77; 78), así como la purificación fotocatalítica por la descontaminación y la desodorización de gases residuales y aire (79; 80; 81; 82), además de por la destrucción fotocatalítica de bacterias, virus y células cancerígenas (83; 84; 85).

Desde los años setenta investigadores como Frank y Bard demostraron la capacidad de oxidación fotocatalítica de ciertos contaminantes como el ion cianuro gracias al efecto del TiO_2 como fotocatalizador (86). Existen variedad de estudios que permiten demostrar que esta tecnología se puede aprovechar para eliminar gran parte de los contaminantes presentes en las zonas urbanas, como NO_x (87; 88), compuestos orgánicos volátiles (COVs) (89; 90), SO_x , CO (91; 92), metilmercaptano (93), formaldehído (94), compuestos orgánicos clorados (91) o compuestos poliaromáticos (95).

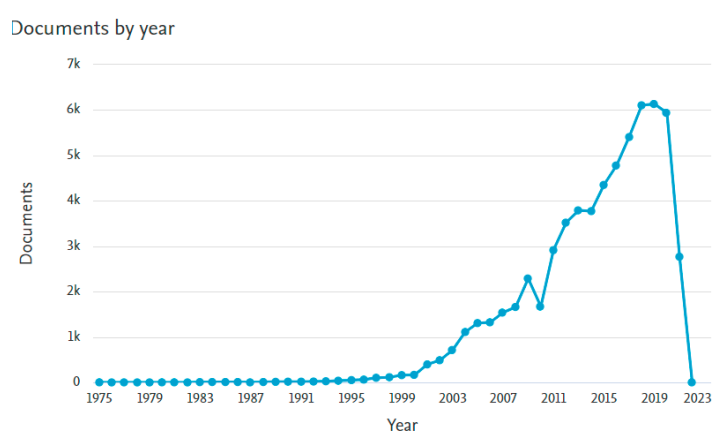


Figura 14: Evolución de las publicaciones relacionadas con la fotocatalisis , PALABRA CLAVE: “PHOTOCATALYSIS” (96)

A continuación, se presentan las definiciones más relevantes en relación con esta tecnología:

- Catálisis: proceso por el cual se aumenta la velocidad de una reacción química debido a la participación de una sustancia llamada catalizador, que no se consume durante todo el proceso.
- Catalizador: sustancia que se puede añadir a una reacción para aumentar la velocidad de reacción sin ser consumida en el proceso.
- Fotocatalizador: catalizador que se activa mediante la absorción de luz.
- Fotocatálisis: Reacción que provoca la absorción de luz por parte de un catalizador o sustrato.
- Semiconductor: elemento que se comporta como conductor o aislante dependiendo de varios factores, como pueden ser el campo eléctrico o el magnético, la presión, la radiación incidente, o la temperatura del ambiente en el que se encuentre. Las propiedades fotocatalíticas de un semiconductor se explican en base a:
 - estructura electrónica
 - propiedades de absorción de la luz
 - características de transporte de carga
 - estado de vida excitado.

La teoría de bandas describe la estructura electrónica de un material conductor, semiconductor y aislante. Debido al gran número de átomos que interactúan en un material sólido, el espacio entre niveles de energía forma bandas. Cada una de estas bandas tiene una energía diferente, y los electrones llenan estas bandas de energía desde lo más bajo a lo más alto. La banda más alta de energía llena se llama banda de valencia (BV), la siguiente se llama banda de conducción (BC), y ambas se encuentran separadas por un salto de energía denominado banda prohibida o band gap (E_g) (97).

El relleno de las bandas en un sólido y el tamaño del band gap determinan si un material es un conductor, un semiconductor o un aislante (Figura 15).

Un material conductor es aquel que tiene poca o ninguna separación entre la BV y la BC, de modo que pueden llegar a solaparse o los electrones pueden saltar entre las bandas.

En un semiconductor, la excitación de un electrón de la BV a la BC se realiza por absorción de un fotón de energía igual o superior a la banda prohibida de energía. La separación entre bandas permite el salto entre las mismas solo de algunos electrones.

En un aislante eléctrico, no hay ninguna posibilidad para el flujo de electrones, porque la BV está completamente llena de electrones, y la BC está muy lejos del acceso a la energía en estos electrones.

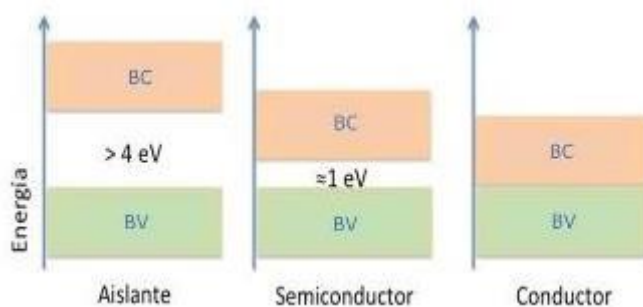


Figura 15: Diagrama de bandas de energía en un sólido (a) aislante, (b) semiconductor, y (c) conductor. BV: banda de valencia; BC: banda de conducción;

1.2.2 ¿Qué es la fotocatalisis heterogénea?

La fotocatalisis heterogénea (Figura 16) es una reacción fotoquímica de oxidación-reducción basada en la excitación de un fotocatalizador, el cual suele ser un semiconductor de banda ancha como el dióxido de titanio (TiO_2), a través de la irradiación con una energía igual o superior a su band-gap. Esta fotoexcitación produce la transición de un electrón de la banda de valencia

(BV) a la banda de conducción (BC) del semiconductor, formándose pares electrón-hueco (e^-/h^+). Estos pares e^-/h^+ fotogenerados pueden migrar a la superficie del catalizador y reaccionar con especies adsorbidas o próximas a la superficie, pero también pueden sufrir procesos de recombinación, que disminuirían la eficiencia de la reacción fotocatalítica. Los huecos (h^+) formados en la BV del semiconductor, pueden reaccionar con especies dadoras de electrones (D), generando radicales hidroxilo (OH^\bullet). Los electrones pueden reaccionar con especiesceptoras de electrones (A), como el O_2 , dando lugar a radicales $O_2^{\bullet-}$. Todas estas especies reactivas son capaces de descomponer o incluso completar la mineralización de compuestos orgánicos/inorgánicos adsorbidos en su superficie.

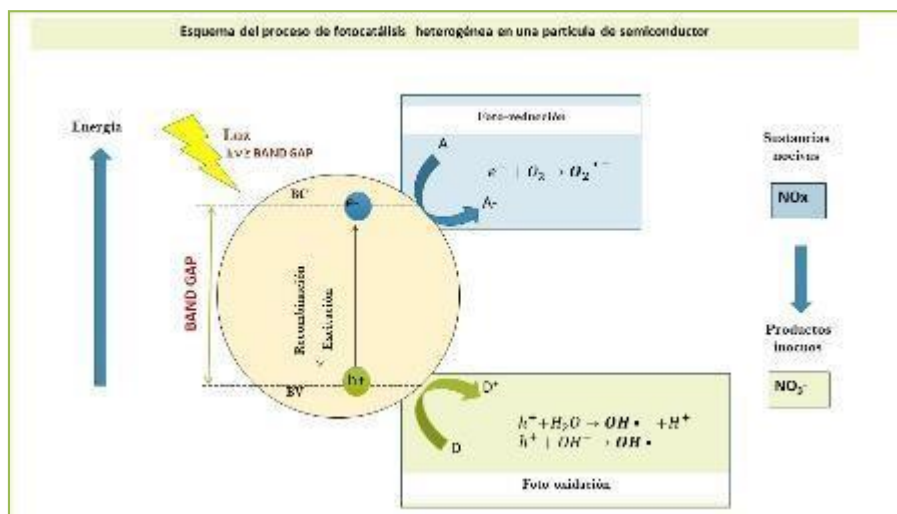


Figura 16: Ilustración esquemática de los principios básicos de la fotocatalisis.

A continuación, se describen las ecuaciones fundamentales que definen este proceso utilizando el TiO_2 como ejemplo de fotocatalizador (98; 99).

- Fotoexcitación: el TiO_2 es fotoactivado con fotones cuya energía es superior a su band-gap, dando lugar a huecos (h^+) en la banda de valencia (BV) y a electrones en la banda de conducción (BC):



- Reacción de fotooxidación: Los h^+ generados interactúan con moléculas de agua o iones OH^- adsorbidos en la superficie del catalizador, dando lugar a radicales hidroxilos (OH^\bullet). También pueden darse otras reacciones de oxidación dependiendo del entorno químico del fotocatalizador.

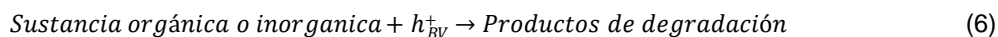
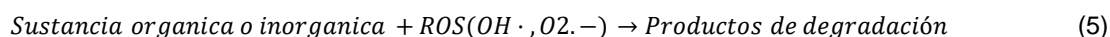




- **Reacción de fotoreducción:** los e- fotogenerados interaccionan con el oxígeno dando lugar a aniones superóxido. También pueden darse otras reacciones de reducción dependiendo del entorno químico del fotocatalizador.



- **Descomposición o mineralización:** La degradación de la sustancias contaminantes (inorgánicas u orgánicas) se produce a través de la oxidación de estas sustancias por parte de las ROS o mediante la oxidación directa de los h+:



1.2.3 Parámetros que influyen en la fotocatalisis

La eficiencia en los procesos fotocatalíticos se puede ver afectado en función de determinados parámetros como:

- **Catalizador:** Existen diferentes tipos de fotocatalizadores (TiO₂, ZnO, ZnS, GaN, MoWO, BiOx, perovskitas haluro-organometálicas, etc), pero como antes se ha mencionado el TiO₂ es uno de los más utilizados. Este óxido puede presentarse en diferentes formas que se diferencian fundamentalmente en su modo de preparación y, por tanto, en su grado de cristalinidad, tamaño, fases cristalinas o proporción de cada una de ellas (fundamentalmente anatasa o rutilo). Todos estos parámetros son determinantes en el comportamiento del fotocatalizador. Por otra parte, las propiedades texturales afectan el contacto entre el sustrato y el catalizador. Por lo que con una distribución uniforme de partícula y una mayor superficie específica se produce un crecimiento de la eficiencia fotocatalítica (100).

AMBIENTE: Dentro de este factor se puede distinguir pH, temperatura y humedad relativa:

- **pH:** El proceso fotocatalítico suele ser más eficiente en medio ácido (3 ≤ pH ≤ 5). El pH tiene un efecto sobre las propiedades de la superficie del catalizador y sobre la forma química del compuesto a degradar, y ello se manifiesta en alteraciones de la velocidad de degradación y en la tendencia a la floculación del catalizador. Por otro lado, el pH de la

solución también tiene sus efectos sobre la actividad fotocatalítica y sobre la superficie del fotocatalizador, ionizándola y produciendo una mejor adsorción de los sustratos, la cual varía según la electronegatividad de los sustratos.

- Temperatura: la variación de temperatura no es uno de los factores más determinantes en este tipo de procesos, pero si puede afectar a la velocidad de reacción. La energía de activación suele ser pequeña y funciona en condiciones óptimas si se encuentra entre los 8 y los 20°C. Si las temperaturas son bajas, la energía de activación aparente aumenta. Sin embargo, a altas temperaturas (por encima de los 80°C) se vuelve desfavorable la actividad y la energía de activación aparente pasa a ser negativa (101).
- Humedad relativa: En términos generales, a mayor cantidad de agua en el entorno del semiconductor, mayor formación de radicales OH•, los cuales son imprescindibles para producir una reacción fotocatalítica efectiva. También puede producir la recombinación del par hueco-electrón y, por tanto, incrementar la eficacia del proceso (102). Sin embargo, una humedad elevada puede ocasionar el efecto adverso debido a que las moléculas de agua adsorbidas pueden ocupar los centros activos del fotocatalizador disminuyendo de esta forma el número de dichos centros disponibles para absorber moléculas contaminantes (103).
- Intensidad de la radiación: La irradiación del catalizador influye directamente en la eficiencia de la fotocatálisis. Es imprescindible que la irradiación sea suficientemente energética para superar la distancia energética (band gap) entre la BV y la BC. Siempre y cuando la longitud de onda, λ , de la luz incidente sobre la superficie del fotocatalizador sea suficientemente energética, a mayor intensidad de luz, más centros activos serán activados y aumentará la eficiencia de degradación (104). Sin embargo, a ciertos niveles de irradiancia comienza a favorecerse la recombinación e^-/h^+ de manera que la eficacia del proceso disminuye.
- Naturaleza y la concentración del contaminante: Son factores determinantes en el tratamiento fotocatalítico. El límite de la concentración dependerá de la naturaleza de los contaminantes. A bajas concentraciones la reacción suele tener un comportamiento de primer orden, mientras que a altas concentraciones la reacción suele ser de orden cero. Cuanto la concentración se hace demasiado elevada, el proceso fotocatalítico se dificulta por saturación de los sitios activos del fotocatalizador (105).

- Velocidad del viento: En ambientes exteriores, en términos generales, a mayor velocidad, menor contacto con la superficie fotocatalítica, por lo que el tiempo de residencia no será suficiente para que se produzca la reacción. Por este motivo, en experimentos a escala real se utilizan calles funcionalizadas con una estructura específica denominadas “calles cañón” que permiten que el aire quede más tiempo confinado en la zona tratada fotocatalíticamente, aumentando de esta forma el tiempo de contacto y facilitando la monitorización de los mismos (106).

1.2.4 Fotocatalisis heterogénea usando TiO₂ como semiconductor

Existen muchos materiales semiconductores que pueden actuar como fotocatalizador, los cuales potencialmente deben ser química y biológicamente inertes, fáciles de producir y usar, activos por la luz solar y económicos (107). No existe ningún semiconductor que cumpla con todas las condiciones idóneas, el fotocatalizador denominado dióxido de titanio (TiO₂) es uno de los más utilizados. Sin embargo, presenta el inconveniente de que prácticamente no absorbe la luz visible (absorbe solo la luz UV). El TiO₂ tiene limitaciones, pero aun así se ha convertido en el material semiconductor más utilizado en el campo de la fotoquímica, tanto para aplicaciones en laboratorio como comerciales. Además, es uno de los materiales más investigados debido a sus propiedades fotocatalíticas, como pueden ser la degradación fotocatalítica de contaminantes orgánicos (108; 109; 110), generación de hidrógeno fotocatalítico (111) o la oxidación fotocatalítica selectiva (112; 113). Es capaz de descomponer diversos tipos de contaminantes del aire: compuestos orgánicos volátiles (COVs) como benceno, aldehídos y tolueno (114; 115); y varios compuestos inorgánicos, tales como NO_x (óxidos de nitrógeno), SO_x y NH₃, a concentraciones relativamente bajas (116; 117). Tanto COV como NO_x son las principales causantes de problemas de calidad del aire exterior (118; 119; 120). Por otro lado, el aire interior presenta concentraciones altas de productos químicos orgánicos (que suelen ser altamente volátiles) producidos por la actividad humana.

Los fotocatalizadores, tanto de TiO₂ como de otros compuestos suelen encontrarse en forma de nanopartículas. Cabe señalar que recientemente, la Unión Europea tipificó la exposición a las nanopartículas como uno de los riesgos emergentes, y el Comité de Evaluación de Riesgos en su dictamen de 14 de septiembre de 2017 propuso clasificar el TiO₂ respirable como carcinógeno de categoría 2 por inhalación a mezclas en forma de polvo que contengan un 1% o más de TiO₂ que está en forma de partículas o incorporado a ellas con diámetro aerodinámico ≤10 μm (121)

En (122) un estudio en una calle en Madrid, no se detectaron mayores niveles de nanopartículas después de su aplicación como fotocatalizador, siendo mayor el conteo en la calle fotocatalítica que en las de control durante su aplicación en spray.

1.2.4.1 Fases del TiO_2

El TiO_2 es un óxido metálico abundante en la corteza terrestre. En la figura 17 se observan las tres fases cristalográficas que se pueden encontrar en la naturaleza: anatasa (estructura octaédrica), rutilo (estructura tetragonal) y brookita (estructura ortorrómbica).

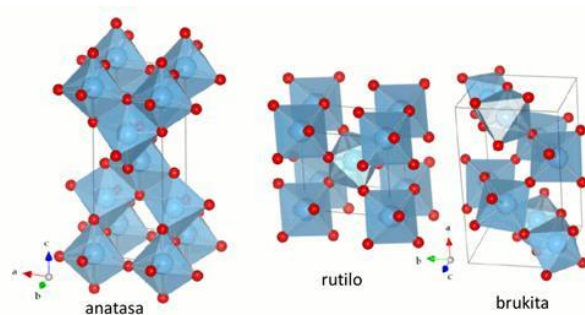


Figura 17: Estructuras cristalinas de las dos formas de dióxido de titanio (123).

El rutilo tiene cristales empaquetadas de TiO_2 que reflejan bien la luz y se utilizan como pigmentos. La anatasa tiene una estructura cristalina más abierta, es altamente fotocatalítico y se utiliza principalmente en sistemas de recubrimiento. Mientras que la brookita es una estructura rara e inestable, por lo que no se utiliza comercialmente.

Las diferencias entre las fases se basan en las siguientes propiedades:

- **Estructura del cristal:** Las dos estructuras cristalinas difieren en la distorsión de cada octaedro y en el patrón de ensamblaje de las cadenas de octaedros. En el caso de la anatasa, las distancias de Ti-Ti son mayores y cada octaedro está en contacto con ocho vecinos, por otro lado, el rutilo se distancia más el Ti-O y cada octaedro está en contacto con diez octaedros vecinos. Las desviaciones entre las dos formas de estructuras reticulares de TiO_2 causan diferencias en las densidades de masa y en las estructuras de bandas electrónicas (124).
- **Estabilidad:** El rutilo constituye la fase más estable termodinámicamente, sin embargo, la anatasa es la fase más estable para nanopartículas por debajo de 11 nm. Por otro lado, la brookita es la más estable en el rango de nanopartículas de 11-35 nm (125).

- **Fotoactividad:** Aunque la anatasa es la fase más fotoactiva (126), las mezclas sinérgicas de anatasa y rutilo poseen una actividad aún mayor. La diferencia en la estructura de la banda entre anatasa y rutilo (Eg. Rutilo ~ 3.0 eV y Eg. Anatasa ~ 3.2 eV) y la posición de la energía del borde de la banda puede explicar en cierta medida la diferencia en la fotoactividad. Tanto anatasa como rutilo se utilizan para aplicaciones prácticas en fotocatalisis debido a su alta fotoactividad y mayor estabilidad en comparación con la brookita.

1.3 Materiales de construcción fotocatalíticos con TiO₂ incorporado: propiedades y aplicaciones reales

La aplicación de la fotocatalisis a los materiales de construcción comenzó a principios de la década de 1990 (75). En este campo, las principales propiedades relacionadas con la naturaleza del catalizador de TiO₂ fotoactivado son:

- a) Efecto de descontaminación y de autolimpieza debido a reacciones redox promovidas por la luz solar (o en general, luz ultravioleta) en la superficie del fotocatalizador (127);
- b) Hidrofilicidad fotoinducida de la superficie del catalizador (128), que puede producir propiedades de enfriamiento y antivaho. La superhidrofilia también mejora el efecto de autolimpieza (los compuestos que causan suciedad y manchas en las superficies pueden eliminarse fácilmente debido al agua de lluvia que se localiza entre la sustancia adsorbida y la superficie de TiO₂ ayuda a disminuir la adherencia).

Las principales razones por las que el TiO₂ es el fotocatalizador más utilizado para este tipo de aplicaciones son:

- a) Su color blanco brillante, de ahí que sea muy adecuado para obtener materiales blancos;
- b) Alta eficacia fotocatalítica;
- c) Precio económico en comparación con otros fotocatalizadores;
- d) Estable químicamente y compatible con materiales de construcción tradicionales (75).

Las versatilidad del TiO₂ promueve su aplicación en la envolvente de edificios (pinturas, azulejos, vidrio, plásticos y paneles), mobiliario interior (pinturas, azulejos, papel de pared,

persianas y revestimientos de acabado) y construcción de carreteras (pinturas, pavimentos de hormigón, muros insonorizados, muros de túneles, bloqueos de carreteras) (129).

La funcionalización se realiza en una amplia variedad de materiales pinturas, azulejos, vidrio, plásticos, mobiliario (pinturas, azulejos, papel de pared, persianas y revestimientos de acabado) y en la construcción de carreteras (pinturas, pavimentos de hormigón) o paredes insonorizadas (7).

Dentro de los tipos de materiales existentes, los materiales de base cemento se han convertido en el material más ampliamente modificado con TiO_2 en el campo de la construcción debido a que la naturaleza de la matriz es adecuada para la adición de partículas de TiO_2 (130) y el amplio uso de estos materiales en el campo de la construcción tradicional. Existen diferentes formas de conseguir la funcionalización de estos materiales, entre las que destacan la adicción de TiO_2 como agregado a la mezcla de materiales de base cemento o como revestimiento de superficie en:

- Materiales premezclados: paredes, columnas, vigas y pavimentos.
- Materiales prefabricados: paneles, columnas, barreras de carretera, paneles de adsorción de sonido, adoquines, GFRC (cemento reforzado con fibra de vidrio).
- Revestimientos de premezcla: revestimiento y recubrimientos finos.

El uso del TiO_2 como un recubrimiento de superficie reduce la cantidad total de TiO_2 empleado (131). Sin embargo, aunque muestran una mejor fotoeficiencia y una mayor explotación de la mezcla fotoactiva (132), estos muestran severos problemas de durabilidad de la capa superficial, en particular, la eliminación del componente fotoactivo provocado por la erosión (viento, lluvia...). Por otro lado, las mezclas en el seno del material exhiben mayor estabilidad de su actividad fotocatalítica ya que los fenómenos negativos de la erosión son minimizados por la presencia de fotocatalizador en toda la masa del material. Sin embargo, el uso de TiO_2 en masa supone que una elevada cantidad del fotocatalizador no puede ser fotoactivado. La adición de TiO_2 en formato bicapa puede ser un buen compromiso para evitar problemas de durabilidad en revestimientos superficiales y el uso excesivo de material fotoactivo en mezclas (133).

1.3.1 Propiedades

En el campo de los materiales de construcción fotocatalíticos sus principales propiedades están relacionadas con la naturaleza del catalizador fotoactivado:

Efecto descontaminante: los materiales de construcción modificados con TiO_2 son capaces de fotodegradar los gases contaminantes que se emiten en los procesos de combustión de los vehículos a motor, así como en instalaciones industriales de alta temperatura y de generación eléctrica (134). En el caso de un compuesto inorgánico como los óxidos de nitrógeno, las principales reacciones que tienen lugar en la superficie del TiO_2 son (135):



La figura 18 incluye un esquema ilustrativo de las fases principales que se producen en un proceso de descontaminación de NO_x procedentes de los gases de combustión de vehículos de motor en el caso de un pavimento fotocatalítico (Fotoactivación-reacción- lavado). En la etapa de “reacción” el NO reacciona con los radicales formados en la superficie del pavimento nanofuncionalizado para formar el producto intermedio NO_2 o directamente dando lugar a nitratos (productos inocuos) por la completa mineralización de los gases contaminantes. Estas sales pueden ser fácilmente lavadas por el agua de lluvia dejando los centros de reacción de la superficie activos de nuevo.

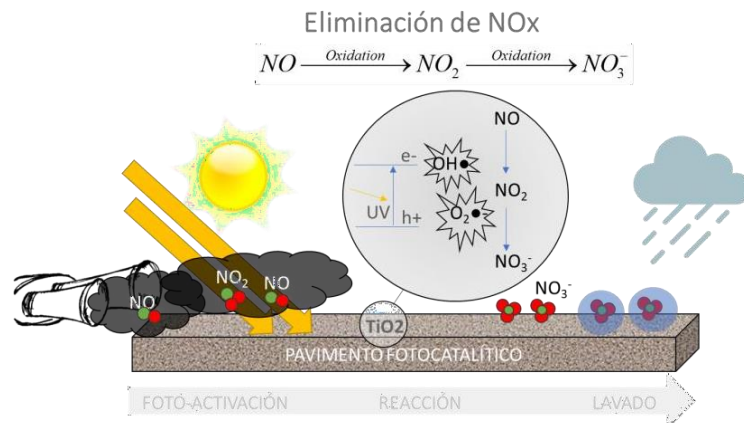


Figura 18: Ilustración del efecto descontaminante de gases de vehículos de motor en pavimentos fotocatalíticos

Esta aplicación se ha demostrado en materiales de construcción a escala laboratorio. El efecto (136; 137; 138; 139) (140) fundamentalmente centrada en los óxidos de nitrógeno (NO_x) y los compuestos orgánicos volátiles (COV).

El proyecto europeo PICADA (Photocatalytic Innovative Coverings Applications for De - pollution Assessment, Figura 3) fue un ejemplo pionero, en el que se pretendió verificar los beneficios que aporta el uso de materiales cementosos fotocatalíticos a base de TiO₂ en un calle simulada de tipo cañón (superficies verticales y pavimentos fotocatalíticos). Las evidencias experimentales demostraron que la reducción de gases contaminantes peligrosos como NO_x (en condiciones climáticas típicas del sur de Europa) puede alcanzar y, en algunas condiciones óptimas de exposición a la luz, circulación del viento, concentración inicial de contaminantes dependiendo de las condiciones del tráfico, etc. romper el umbral del 60%.

En los últimos años se han realizado en Madrid (España) diversos proyectos LIFE cuyo objetivo se basaba en la aplicación de materiales fotocatalíticos en la construcción.

I. Life Minox-street (2013): se encarga de monitorear y modelar la eficiencia de eliminación de NO_x de materiales fotocatalíticos.

ii. Life-Equinox (2013): Aplicación en pavimentos asfálticos para la eliminación de óxidos de nitrógeno

iii. Life-Photoscaling (2014): Analiza la sostenibilidad de tecnologías fotocatalíticas en pavimentos urbanos: criterios de cumplimiento desde escala laboratorio a escala real [19].

A escala real, en Bérgamo (Italia), se pavimentaron 12.000m² de una calle con adoquines de hormigón fotocatalítico donde se monitorizaron el área de colocación de los bloques fotocatalíticos y la extensión de la carretera pavimentada con concreto bituminoso normal que se utilizó como referencia. La concentración de NO_x se midió mediante analizadores de quimioluminiscencia durante dos semanas, mostró una reducción media de NO_x del 45% (141). Un proyecto similar se llevó a cabo en Amberes (Bélgica), en el que se colocaron bloques de pavimento fotocatalítico de 10.000 m² en un carril de estacionamiento. Las mediciones indicaron una disminución evidente de la concentración máxima de NO_x debido a la presencia de los materiales fotocatalíticos (142). En Guerville (Francia) se construyeron tres calles cañón para evaluar el comportamiento de descontaminación de muros revestidos con mortero

fotocatalítico. Las concentraciones de NO_x registradas fueron entre un 36,7% y un 82,0% más bajas que las observadas en las calles cañón que se utilizaron como referencia.

Otra de las aplicaciones fue la realizada por Maggos et al. (88). Estos probaron la eficacia descontaminante de una pintura con TiO₂ en un aparcamiento interior. El techo del aparcamiento se pintó con pintura acrílica blanca con TiO₂. El área artificialmente cerrada del estacionamiento fue contaminada por los gases de escape de los automóviles durante el período de prueba. Tan pronto como el sistema alcanzó un estado estable, las lámparas UV se encendieron durante 5 h. Los resultados mostraron que la oxidación fotocatalítica de los gases NO_x fue significativa. La eliminación fotocatalítica de NO y NO₂ fue del 19% y 20%, respectivamente.

Estudios recientes como el de Goswami et al. (143) señalan la oxidación fotocatalítica combinada con la filtración como una de las soluciones más viables al problema de la contaminación del aire interior por microorganismos y productos químicos orgánicos volátiles (COV). Este artículo describe efectos de la tecnología y los resultados de su eficacia contra los COV, bacterias, esporas y alérgenos de ácaros del polvo.

Efecto autolimpiante: Los materiales de construcción con TiO₂ dan lugar a reacciones redox que producen la degradación o mineralización de los depósitos que se acumulan en su superficie. Esta función ayuda a la conservación del color original de las fachadas de los edificios y a reducir los gastos en mantenimiento de los inmuebles (144; 75; 145).

Uno de los casos más habituales es la acumulación de hollín en las fachadas de edificios procedentes de la combustión de los vehículos. El posterior lavado de dichos materiales por el agua de lluvia en contacto con la capa superficial permite el lavado de estos compuestos (145). La figura 19 muestra un ejemplo del efecto de la autolimpieza al aplicar el material fotocatalítico en una parte de la pared y permite compararlo con el material convencional sin aditivo.



Figura 19: Ejemplo del efecto autolimpiante de una pared con material fotocatalítico y sin material fotocatalítico tras 3 semanas desde la aplicación del producto (146)

Los primeros que pudieron demostrar el efecto de la autolimpieza en revestimientos fotocatalíticos fueron Watanabe, Hashimoto y Fujishima (147) mediante el uso de tintes o colorantes. La capacidad de degradación fotocatalítica se realizó usando los tintes naranja II (OII) y rodamina B (RhB) con TiO_2 bajo irradiación de luz visible ($\lambda > 400 \text{ nm}$). Los resultados demostraron que la oxidación de OII y RhB ocurrió principalmente por la oxidación directa de los radicales h^+ y O^- , mientras que los radicales OH^- jugaron solo un papel relativamente menor en el proceso de oxidación directa. En 2011 los investigadores Chen et al, estudiaron el efecto de la autolimpieza en morteros utilizando la Rodamina B como contaminante, observando cambios significativos en aquellos morteros que contenían TiO_2 (148). Se descubrió que el mortero modificado con TiO_2 es eficaz en la decoloración de la rodamina B bajo radiación ultravioleta y fuerte irradiación de luz halógena.

Wang et al. (149), observaron que el efecto autolimpiante de las superficies de TiO_2 puede aumentar con los procesos de limpieza con agua o lluvia periódicos. Lo que se atribuye a las propiedades superhidrofílicas de estos materiales. (150; 149; 125).

En el trabajo realizado por Jimenez et al. Se analizó el efecto de las propiedades superficiales de un material de base cemento en la capacidad autolimpiante del mismo. Se obtuvo que la superficie activa disponible es un parámetro más influyente que la rugosidad superficial para evaluar la eficiencia fotocatalítica (130). En cuanto a la composición de las mezclas, la clasificación según la eficiencia fotocatalítica es la misma para su función descontaminante y autolimpiante, siendo, en orden decreciente: cemento Portland (bastante similar al cemento de aluminato de calcio para NO_x), cenizas volantes y morteros de escoria. La diferencia se ha explicado sobre la base de los potenciales de oxidación-reducción y la energía de fotoabsorción de los diferentes constituyentes de la matriz cementante (151).

En cuanto a ensayos de autolimpieza a escala piloto, el Proyecto PICADA anteriormente mencionado, también evaluó la capacidad autolimpiante en base a la degradación del colorante rodamina B mediante mediciones colorimétricas. Tras diversos estudios experimentales se demostró que las muestras se recuperan en un 65% de su coloración inicial después de 24h de exposición a la luz solar artificial. En 1998 se realizó una de las primeras pruebas de autolimpieza a escala real en uno de los edificios más emblemáticos dentro del campo de la fotocatalisis en materiales de construcción, la Iglesia de la Misericordia en Roma, en la cual se monitorizaron las variaciones de NO_x y de color de la superficie durante seis años. Los resultados indicaron que la superficie interiores mantenía su color casi inalterado en el tiempo (152). Otro ejemplo es la Cité de la Musique et des Beaux-Arts en Chamberí, que se completó en el año 2000. El seguimiento durante aproximadamente cinco años indicó que el color primario permaneció casi constante en diferentes posiciones de la fachada (en el oeste, norte, este y sur) (153). En 2003, las baldosas autolimpiantes a base de TiO₂ ya se habían utilizado en más de 5000 edificios en Japón. Entre ellos, el más famoso es el edificio Maru, ubicado en el principal distrito de negocios de Tokio (154). En el caso del ayuntamiento del arte en Chamberí (Francia), su color primario casi se mantuvo constante durante más de 5 años en diferentes posiciones de la fachada (Oeste / Norte / Este / Sur) (8).

Efecto desinfectante: Los microorganismos pueden provocar cambios químicos y estéticos no deseados, y el crecimiento biológico depositado en las superficies de los materiales de construcción (155; 131). El efecto de estos microorganismos se debe a que usan el material del sustrato como un nutriente o generan metabolitos que inducen dicho deterioro (156). La mayoría de los estudios se ha realizado para comprobar su efectividad en la destrucción de bacterias y virus, pero también se ha comprobado su eficiencia en hongos, algas, protozoos e incluso células cancerígenas. La oxidación fotocatalítica como técnica para la desinfección microbiana fue demostrada por primera vez por Matsunaga (157). Existe un alto número de publicaciones que investigan la efectividad de la oxidación fotocatalítica de varios microorganismos como *Lactobacillus acidophilus* (158; 159) o la *Escherichia coli* (160; 161; 162). En 1999, Masaki y sus colaboradores (163) informaron sobre la destrucción de bacterias y mal olor en el aire utilizando placas de acero inoxidable recubiertas con películas delgadas de TiO₂. La mayoría de los estudios se han realizado en agua, mientras que, en aire, el trabajo pionero fue publicado por Goswami (164). Su grupo demostró la destrucción de *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Aspergillus niger* y el bacteriófago MS2 en un reactor

fotocatalítico con recirculación de aire utilizando como catalizador TiO_2 dopado con plata (165; 166).

No se ha clarificado porque las células mueren, pero si existen evidencias de que, en el caso de bacterias, el contacto con el TiO_2 puede producir un daño oxidativo en la membrana celular que altera el transporte de membrana y afecta a la actividad respiratoria.

En el estudio de Achudlan et al. publicado este 2020, se demuestra el efecto antibacteriano contra la bacteria *C. freundii* y contra la larva de mosquito (167). Ampliando las propiedades desinfectantes del fotocatalizador contra la larva de mosquito. Leyland et al. prepararon un nuevo recubrimiento transparente, inmovilizado y superhidrófilo de dióxido de titanio, dopado con flúor y cobre sobre sustratos de vidrio flotado lo que permitió demostrar la reducción de la actividad bacteriana (168). Otros estudios combinan un filtro recubierto con nanopartículas de plata con un fotocatalizador nano- TiO_2 para uso en hospitales con el objetivo de purificar el aire (169) o de degradar la amoxicilina en las aguas residuales hospitalarias (170).

Nakano et al., demostraron la inactivación de varios virus mediante fotocátalisis utilizando nanopartículas de TiO_2 inmovilizadas en una placa de vidrio. Se observó una alta reducción viral en un corto tiempo de irradiación, incluso con una de baja intensidad UV-A. (171).

El efecto autodesinfectante en materiales de construcción funcionalizados con TiO_2 también se ha centrado en el estudio antibacteriano (172; 165; 167) y antifúngico (173; 174).

Después de la inactivación viral en el fotocatalizador de TiO_2 descubierto por Sierka y Sjogren en 1994, la fotocátalisis heterogénea ha recibido un reconocimiento generalizado como una tecnología sobresaliente en el campo de la desinfección viral (175). Los ROS creados por procesos fotocatalíticos destruyen el caparazón y / o cápside de los virus, lo que resulta en la liberación de materiales genéticos, minerales y proteínas dentro de los virus. Además, los compuestos orgánicos presentes en la estructura de los virus podrían estar completamente mineralizados, lo que provoca su inactivación / desinfección. Zhang et al. sugirieron tres mecanismos para la desinfección viral en procesos fotocatalíticos, que incluyen daño físico de virus, toxicidad de iones metálicos obtenida de fotocatalizadores que incluyen metales y oxidación química por ROS generados sobre los fotocatalizadores (176). Estos mecanismos se ven afectados cuando la superficie del fotocatalizador y el virus entran en contacto, lo que conduce a un aumento de la eficiencia fotocatalítica. El contacto acumulado entre las células

virales y las partículas de fotocatalizador en suspensión puede proporcionar una superficie extendida para la producción de más ROS (177; 178)

Efecto antiempañamiento: está relacionado con el efecto superhidrofílico. La prevención del empañamiento mejora a medida que aumenta la hidrofilia (179). El empañado de las superficies ocurre cuando el aire húmedo se condensa. En una superficie superhidrofílica, se forma una película uniforme de agua sobre la superficie, y esta película no dispersa la luz. Debido a que el empañamiento solo se forma en superficies con ángulos de contacto superiores a 20° , los materiales fotocatalíticos antiempañamiento cambiarán el ángulo de contacto del agua a casi 0° durante la irradiación. El ejemplo más conocido es el del vidrio antivaho, y se usa generalmente en espejos de baño y en los espejos retrovisores de los automóviles (Figura 20).

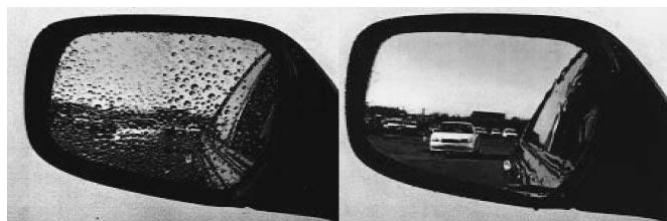


Figura 20: Efecto antiniebla del espejo retrovisor de automóvil: espejo convencional (izquierda) y espejo revestido de TiO_2 (derecha) (180).

Duan et al., estudiaron el efecto superhidrofílico de una película de TiO_2 sin irradiación UV. Estas películas almacenadas en la oscuridad se analizaron midiendo el ángulo de contacto del agua y se demostró que las gotas de agua se podían extender rápidamente sobre la superficie de la película dando un ángulo de contacto muy bajo, por lo que tiene buena capacidad superhidrofílica sin ninguna activación UV. Además, exhibía un buen efecto fotocatalítico frente al colorante naranja de metilo (181).

En (167) se estudiaron las propiedades de antiempañamiento a través de placas de vidrio con y sin TiO_2 . Inmediatamente se observó que la placa sin fotocatalizador se empañaba, mientras que el vidrio recubierto permanecía transparente debido a la capacidad superhidrofílica de la muestra.

Efecto desodorizante: El efecto desodorizante fue estudiado por Alberici et al. (90), los cuales estudiaron la relación entre la fotocatálisis y la destrucción de compuestos nitrogenados responsables del mal olor. Compuesto como el NH_4^+ como el NO_3^- quedan encapsulados en la superficie del TiO_2 . Por otro lado, Suzuki et al. (182), estudiaron la descomposición de compuestos orgánicos que contienen nitrógeno y azufre. No se puede dejar de lado que COVs

en muchas ocasiones producen olores (tabaco, cloroformo o aldehídos), los cuales son capaces de degradarse gracias al efecto fotocatalítico mediante las reacciones redox que ocurren en la superficie de los materiales modificados con TiO₂ durante su fotoactivación. Otro estudio relevante fue el de Canela et al. (183) que estudia la oxidación de compuestos sulfurados. En el cual se realizó una oxidación fotocatalítica de los compuestos que contienen azufre, sulfuro de trimetileno (C₃H₆S), tiofeno (C₄H₄S) y disulfuro de metilo (C₂H₆S₂), utilizando un reactor de flujo pistón anular con TiO₂ en forma soportada. La formación de productos y subproductos se controló en tiempo real utilizando un sistema de espectrometría de masas. La mineralización de los compuestos que contienen azufre se confirmó mediante el balance de masa de CO₂ y SO₂. Se observó una oxidación parcial del tiofeno y el disulfuro de metilo, lo que generó dióxido de azufre (SO₂) y óxido de azufre (SO) como subproductos. El análisis sensorial mostró que para el sulfuro de trimetileno y el sulfuro de propileno, la intensidad del olor después del tratamiento con TiO₂/UV estaba por debajo del límite del umbral olfativo del panel.

A continuación, se muestra una tabla (Tabla 2) resumen de trabajos de investigación y aplicaciones reales en los que se ha utilizado la fotocatalisis en materiales de construcción como una técnica de degradación de contaminantes:

Tabla 2: Resumen de trabajos de investigación y aplicaciones reales en los que se ha utilizado la fotocatalisis en materiales de construcción

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN			
PROYECTO	CONTAMINANTE	MATERIAL DE CONSTRUCCIÓN	% DESCONTAMINACIÓN
PICADA (184)	NOx	Paredes con materiales cementosos fotocatalíticos	60%
PHOTOPAQ(185)	NOx	Cristales, paredes y pavimentos fotocatalíticos	1-33%
LIFE MINOX (186)	NOx	Emulsión fotocatalítica en calzadas, aceras y fachadas	Entre 10 y 30%
LIFE EQUINOX (187)	NOx	Pavimentos asfálticos fotocatalíticos	Entre 25 y 42%
LIFE PHOTOSCALING (188)	NOx	Pavimentos asfálticos fotocatalíticos	≈45%

PROYECTOS REALES			
UBICACIÓN	CONTAMINANTE	MATERIAL DE CONSTRUCCIÓN	% DESCONTAMINACIÓN
4000 m ² Parking Milan (189)	NOx	Emulsión fotocatalítica sobre asfalto	49%
2500 m ² Carretera Forli- Cessena (189)	NOx	Asfalto fotocatalítico	46%
11000 m ² Tunel Milan (189)	NOx	Emulsión fotocatalítica sobre asfalto	46%
10000m ² Antwerp (Belgium) (142)	NOx	Adoquines fotocataliticos	20%

1.4. Fotocatálisis en eliminación de polen

En una búsqueda bibliográfica en Scopus, con la palabra clave “photocatalysis” contenida en su título, keywords o abstract, aparecen 71911 documentos. Si se añade “pollen” el número de documentos baja a 23. De estos 23, 4 son los correspondientes a los distintos objetivos parciales de esta Tesis doctoral “Degradación fotocatalítica del polen en materiales de construcción”. En cuanto a los otros 19, la mayor parte de ellos utilizaron los granos de polen de distintas plantas como biomolde para producir microesferas huecas de distintos semiconductores para degradación fotocatalítica (190; 191; 192; 193; 194; 195; 196; 197; 198; 199).

En (200) utilizan polen de colza tratado como fotocatalizador para desinfección del agua.

En (201) preparan un biocomposite de ZnO recubriendo polen de pino con funcionalidad fotocatalítica.

En (202) sintetizaron nanodots de carbono a partir de polen de abeja de la flor de la colza y los acoplaron a nanoláminas ultradelgadas de g-C₃N₄ para preparar fotocatalizadores de tipo 2D/0D.

En (203) desarrollaron un sistema de limpieza del aire de alta eficiencia para los contaminantes del aire interior, entre los que se incluye el polen, basado en plasma de descarga pulsada combinado con fotocatálisis mediante TiO₂.

(204) Es un libro en el que se reseña la posibilidad de la eliminación de polen a través de cita de un artículo de la presente tesis (205).

Así pues, queda demostrado el carácter completamente novedoso de la presente Tesis Doctoral, que ha abierto una línea de investigación, siendo los 4 artículos correspondientes a la misma los únicos encontrados en la bibliografía en relación con la viabilidad de la fotocatalisis para eliminar el polen y sus alérgenos del aire en general y sobre materiales de construcción en particular.

CAPITULO 2: Objetivos

El objetivo global de la Tesis Doctoral que se presenta es la **evaluación de la fotocatalisis heterogénea sobre materiales de construcción como una tecnología viable para degradar o eliminar granos de polen y alérgenos del aire.**

Este objetivo global se abordará en base a los siguientes objetivos parciales:

1. Viabilidad de la fotocatalisis heterogénea con TiO_2 como técnica de degradación/eliminación de granos de polen
2. Evaluación del rendimiento y mecanismos de degradación/ eliminación de los granos de polen en función del tipo de especie vegetal.
3. Estudio de la efectividad de la fotocatalisis heterogénea como técnica de inactivación de los alérgenos del polen.
4. Análisis de las interacciones TiO_2 -alérgeno y potenciales aplicaciones.

Cada uno de los objetivos parciales ha dado lugar a una publicación en una revista indexada en la base de datos del JCR (Journal Citation Report) (Tabla 3). Cada artículo publicado se incluye en la presente tesis como un capítulo.

Tabla 3: Resumen de artículos surgidos de esta tesis doctoral

Artículo	Revista	Quartil	Percentil más elevado Ranking	Capitulo tesis
Controlling the levels of Airborne Pollen: Can Heterogenous Photocatalysis Help?	Environmental Science and Technology	Q1	95% 6/122 Environmental Chemistry	4
Degradation of pollen nanofunctionalized photocatalytic materials	Journal of Chemical Technology and Biotechnology	Q1	79% 59/279 General Chemical Engineering	5
Photocatalytic decomposition of pollen allergenic extracts of Cupressus arizonica and Platanus hybrida	Chemical Engineering Journal	Q1	99% 3/336 Industrial and Manufacturing Engineering	6
Unusual photodegradation reactions of Asteraceae and Poacea grass pollen enzymatic extracts on P25 photocatalyst	Environmental Science and Pollution Research	Q1	79% 28/132 Pollution	7

CAPITULO 3: Materiales y Métodos

A continuación, se describen brevemente los materiales utilizados (granos, alérgenos y material fotocatalítico) y el fundamento teórico de las diferentes técnicas experimentales utilizadas a lo largo de esta Tesis Doctoral. Las características específicas de los materiales e instrumentos, y de las configuraciones de trabajo empleadas han sido en su mayoría omitidas en este apartado dado que se describirán a continuación en cada uno de los capítulos correspondientes.

3.1 Materiales

3.1.1 Polen y alérgenos

Los tipos de polen y alérgenos usados en este estudio se seleccionaron en función de su grado de impacto negativo en la salud humana en los países mediterráneos y de su amplio uso en medicina con fines de diagnóstico e inmunoterapia.

a) Granos de polen (pollen grains, PG)

Los granos de polen utilizados en una primera fase, en concreto *Cupressus arizónica* y *Platanus hybrida*, fueron recolectados en abril de 2012 directamente de árboles ubicados en el jardín botánico del Departamento de Biología Vegetal II de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid.



Figura 21: Imagen del polen de Cupressus arizónica y Platanus hybrida respectivamente (206; 207).

b) Extractos de alérgeno de polen (Pollen Allergen Extracts, PAE)

Los extractos alérgicos de polen liofilizado (PAE) se adquirieron en el laboratorio Greerlab. Estos materiales se mantuvieron en condiciones de temperatura de aproximadamente 5°C y en frascos de vidrio en una atmósfera inerte (figura 22).



Figura 22: Ejemplo granos de polen del *Cupressus arizónica*

Se han analizado 7 tipos de PAE.

Tabla 4: Comparativa polen vs estructura, tamaño y familia

		ESTRUCTURA EXINA	TAMAÑO	FAMILIA
CUPRESSUS ARIZONICA	CA	granulada	Pequeño/medio	cupresáceas
PLATANUS HYBRIDA	PH	reticulada	Pequeño/medio	platanaceas
SECALE CEREALE	SC	granulada	Pequeño/medio	gramíneas
POA PRATENSIS	PP	granulada	Pequeño/medio	gramíneas
FESTUCA PRATENSIS	FP	granulada	Pequeño/medio	gramíneas
AVENA SATIVA	AS	granulada	Pequeño/medio	gramíneas
ARTEMISIA VULGARIS	AV	granulada	medio	compuestas

3.1.2 Fotocatalizador

El fotocatalizador (PhC) seleccionado fue el dióxido de Titanio (TiO₂) **Aeroxide® P25** Degussa-Evonik. Es un TiO₂ puro de partículas finas con un área de superficie específica alta (50 mg/g). Debido a su alta pureza, su gran área de superficie específica y su combinación única de anatasa y estructura de cristal de rutilo ($\approx 75\%$, 25%), este fotocatalizador es el más utilizado en aplicaciones catalíticas y fotocatalíticas (208) y se puede considerar un fotocatalizador referencia para comparar entre distintas aplicaciones.

3.2 Procedimiento experimental

El procedimiento experimental utilizado en cada capítulo de esta tesis, que corresponde a cada uno de los subobjetivos (SO) y se ha publicado de forma independiente, depende de las condiciones y objetivos del trabajo. A continuación, se describen de una forma resumida los diferentes procedimientos realizados.

3.2.1 SO1: “Control de los niveles de polen en el aire: ¿Puede la fotocatalisis heterogénea ayudar?”

- a) Fotocatalizador: El fotocatalizador utilizado es el TiO₂ Degussa
- b) Polen: Se utilizan 2 tipos de pólenes, *Platanus hybrida* y *Cedrus atlántica*, granos recolectados directamente del árbol
- c) Iluminación: Luz UV (Philips Actinic BL 15W/10 SLV). Intensidad de irradiación =10W/m².

El análisis experimental se ha llevado a cabo usando tres configuraciones diferentes del fotocatalizador TiO₂: fotocatalizador (PhC) en disolución, soportado en vidrio e incorporado como aditivo en materiales de base cemento.

Tabla 5: Procedimiento experimental SO1

Tipo de polen	Técnica de análisis	Método experimental
Caracterización polen en grano	SEM Zetametro	
En Solución	Fluorescencia con sonda FDA - DRX	

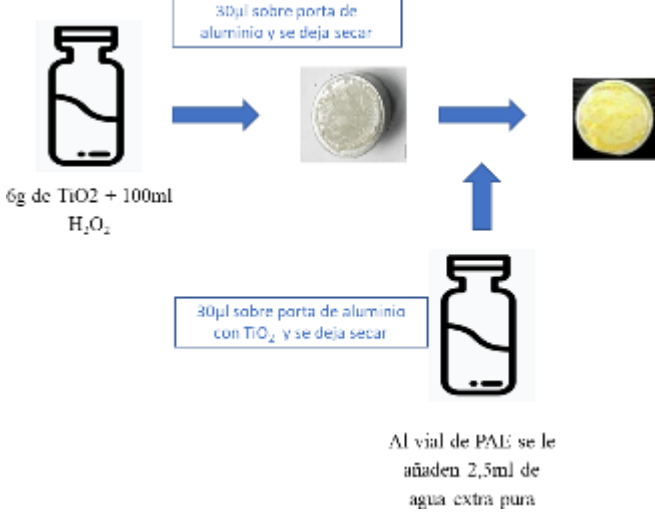
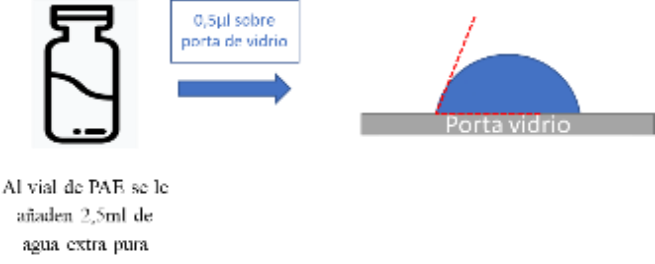
<p>Sobre soporte de vidrio</p>	<p>SEM Microscopio óptico</p>	
<p>En mortero</p>	<p>Microscopio óptico CIELAB</p>	

3.2.2 SO₂: Degradación del polen en materiales fotocatalíticos nanofuncionalizados

- a) Fotocatalizador: El fotocatalizador utilizado es el TiO₂ Degussa
- b) Polen: Se utilizan 2 tipos de pólenes, *Platanus hybrida* y *Cupressus arizónica* en 2 estados distintos:
 - recolectados directamente del árbol
 - Extractos liofilizados comprados a laboratorio Greerlab (PAE).
- c) Iluminación: UV LED que emite a 365 nm. Intensidad de irradiación=10 W/m²

Tabla 6: Procedimiento experimental SO₂

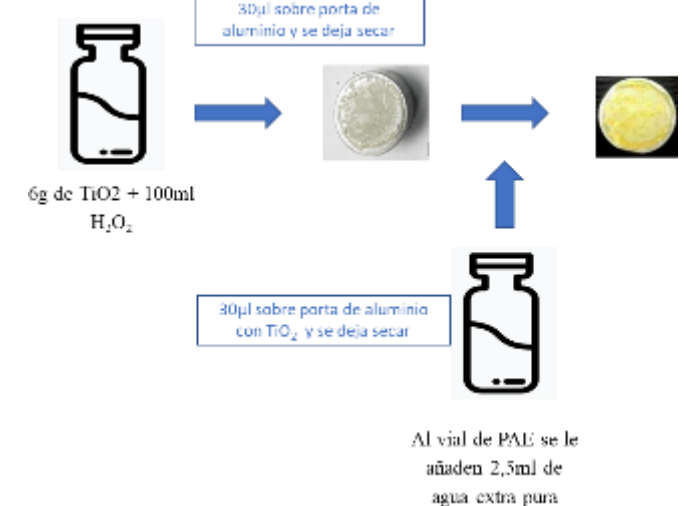
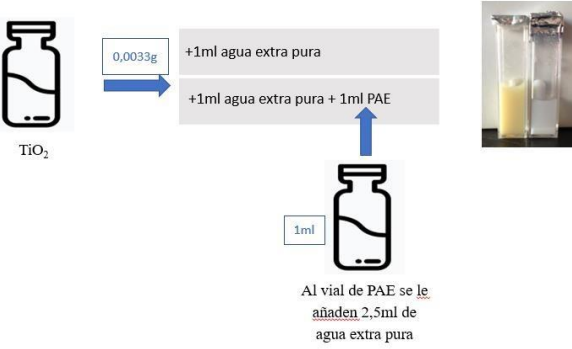
Tipo de polen	Técnica de análisis	Método experimental
<p>Polen directamente del árbol</p>	<p>IR</p>	<p>1mg polen + 300mg KBr</p>

<p>PAE</p>	<p>SEM</p>	 <p>6g de TiO₂ + 100ml H₂O₂</p> <p>30µl sobre porta de aluminio y se deja secar</p> <p>30µl sobre porta de aluminio con TiO₂ y se deja secar</p> <p>Al vial de PAE se le añaden 2,5ml de agua extra pura</p>
<p>PAE</p>	<p>Método gota sésil</p>	 <p>0,5µl sobre porta de vidrio</p> <p>Al vial de PAE se le añaden 2,5ml de agua extra pura</p> <p>Porta vidrio</p>

3.2.3 SO3: Descomposición fotocatalítica de los extractos del alérgeno de polen del Cupressus arizonica y Platanus hybrida

- a) Fotocatalizador: El fotocatalizador utilizado es el TiO₂ Degussa
- b) Polen: Se utilizan 2 tipos de pólenes, *Platanus hybrida* y *Cupressus arizonica* comprado a laboratorio Greerlab (PAE).
- c) Iluminación: LED UV que emite a 365 nm. Intensidad de irradiación=5 W/m²

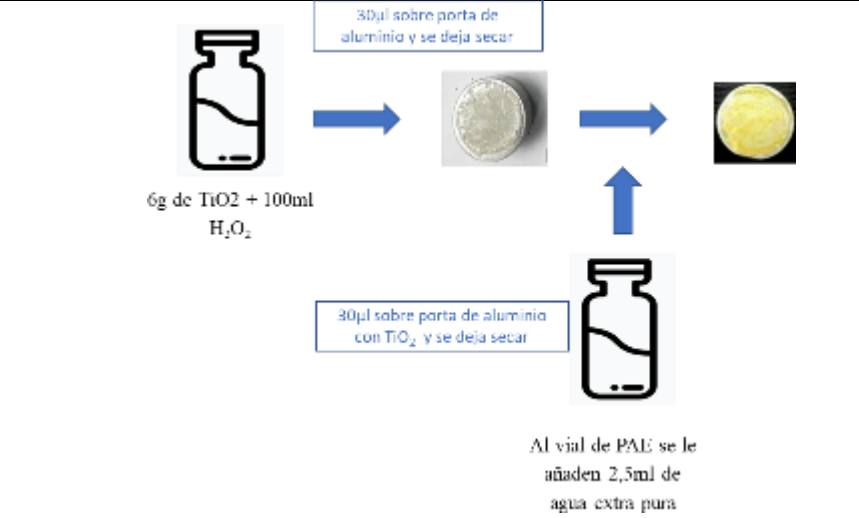
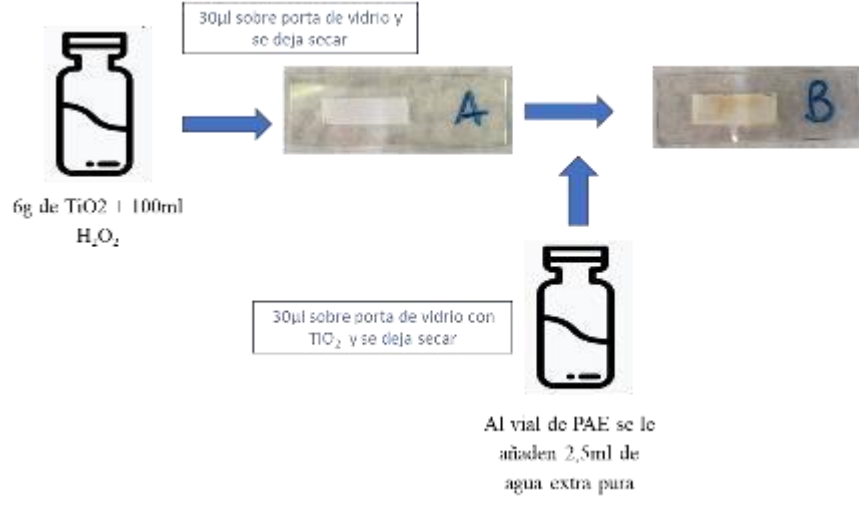
Tabla 7: Procedimiento experimental SO3

Tipo de polen	Técnica de análisis	Método experimental
PAE	SEM XPS	 <p>6g de TiO₂ + 100ml H₂O₂</p> <p>30µl sobre porta de aluminio y se deja secar</p> <p>30µl sobre porta de aluminio con TiO₂ y se deja secar</p> <p>Al vial de PAE se le añaden 2,5ml de agua extra pura</p>
PAE	Fluorescencia con sonda FDA	 <p>TiO₂</p> <p>0,0033g</p> <p>+1ml agua extra pura</p> <p>+1ml agua extra pura + 1ml PAE</p> <p>1ml</p> <p>Al vial de PAE se le añaden 2,5ml de agua extra pura</p>

3.2.4 SO4: Modificaciones químicas del fotocatalizador P25 por extractos enzimáticos de polen de gramíneas Asteraceae y Poaceae

- Fotocatalizador: El fotocatalizador utilizado es el TiO₂ Degussa
- Polen: Se utilizan 7 tipos de pólenes comprado a laboratorio Greerlab (PAE): *Cupressus arizonica*, *Platanus hybrida*, *Artemisia vulgaris*, *Poa pratensis*, *Festuca pratensis*, *Avena sativa* y *Secale cereale*.
- Iluminación: UV LED que emite a 365 nm. Intensidad de irradiación=10W/m²

Tabla 8: Procedimiento experimental SO4

Tipo de polen	Técnica de análisis	Método experimental
<p>PAE</p>	<p>SEM XPS</p>	 <p>6g de TiO₂ + 100ml H₂O₂</p> <p>30µl sobre porta de aluminio y se deja secar</p> <p>30µl sobre porta de aluminio con TiO₂ y se deja secar</p> <p>Al vial de PAE se le añaden 2,5ml de agua extra pura</p>
<p>PAE P25</p>	<p>UV- vis espectroscopia (absorbancia - Band gap)</p>	 <p>6g de TiO₂ + 100ml H₂O₂</p> <p>30µl sobre porta de vidrio y se deja secar</p> <p>30µl sobre porta de vidrio con TiO₂ y se deja secar</p> <p>Al vial de PAE se le añaden 2,5ml de agua extra pura</p>

3.2 Técnicas de caracterización

En esta sección se detalla los aspectos fundamentales de las principales técnicas utilizadas. Los detalles de la configuración y los parámetros usados se detallan en cada capítulo correspondiente.

3.2.1 SEM-EDS

El microscopio electrónico de barrido (SEM) permite la observación directa de todo tipo de superficies, así como extender el rango de resolución de las imágenes hasta la escala nanométrica.

El concepto de microscopia electrónica de barrido conlleva el paso de electrones emitidos por un cátodo de tungsteno a través de una columna con un vacío alrededor de 10^{-7} Torr. En ella el haz inicial es concentrado por una serie de lentes electromagnéticas que producen una disminución de su diámetro hasta hacerse casi puntual (hasta unos 10 nm). Del mismo modo, la intensidad de corriente se reduce de 10^{-14} Å a 10^{-10} Å. Esta reducción de intensidad implica una aportación menor de electrones primarios. El haz de electrones se desplaza por toda la superficie de la muestra como una pincelada.

Las imágenes resultantes corresponden a electrones secundarios o electrones retrodispersados emitidos tras la interacción con la muestra del haz incidente de entre 5 y 30 KeV.

El haz de electrones se mueve sobre la muestra realizando un barrido en las direcciones X e Y de tal modo que la posición en la que se encuentra el haz en cada momento se relaciona con la aparición de brillo, proporcional a la señal emitida, en un punto específico de la pantalla.

La señal de electrones secundarios se forma en una delgada capa superficial, del orden de 50 a 100 Å. Los electrones de menos de 50 eV se desvían fácilmente de su trayectoria emergente inicial y dan información de zonas que no están a la vista del detector. Lo que permite aportar información “en relieve”.

El SEM puede equiparse con varios detectores como:

- Detector de electrones secundarios para obtener imágenes de alta resolución SEI (Secondary Electron Image)
- Detector de electrones retrodispersados que permite la obtención de imágenes de composición y topografía de la superficie BEI (Backscattered Electron Image)
- Detector de energía dispersiva EDS (Energy Dispersive Spectrometer) que permite recolectar los rayos X generados por la muestra y realizar diversos análisis e imágenes de distribución de elementos en superficies pulidas.

En esta tesis se utiliza el SEM-EDS (figura 23) que permite observar directamente la superficie de la muestra (SEM) y proporcionar información acerca de la composición química de las partículas (EDS) (209). El equipo utilizado es un Hitachi S-4800.

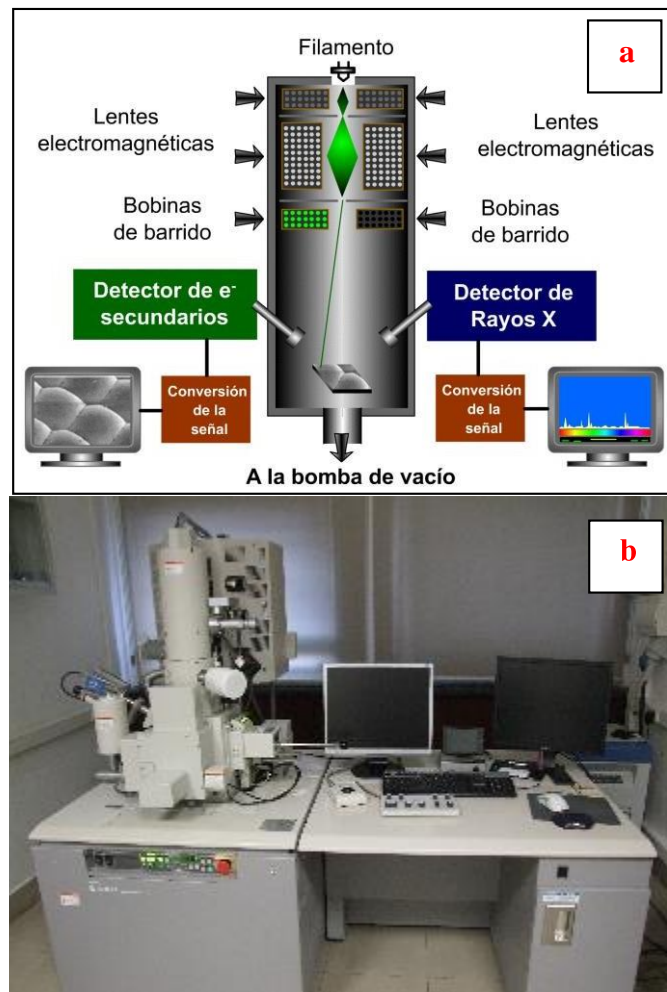


Figura 23: a) Esquema general SEM y b) equipo SEM IETcc

3.2.2 XPS

Principalmente la técnica de espectroscopía fotoelectrónica de rayos-X consiste en excitar mediante un haz de rayos-X de los niveles más internos de los átomos, lo que provoca la emisión de fotoelectrones que nos dan información sobre la energía en cada uno de los niveles y, por tanto, sobre la naturaleza de cada átomo emisor. Proporciona información tanto cualitativa, como cuantitativa de todos los elementos presentes, excepto H y He.

Sirve para caracterizar superficies y es el método más utilizado en la actualidad para este fin. Lo que se deriva del alto contenido de información que proporciona y de la flexibilidad para ser utilizada en distintos tipos de muestras.

La energía del haz es $h\nu$ y el fotoelectrón sale con una energía cinética E_K , si restamos ambos parámetros nos da la energía de ligadura (E_L) del átomo, información específica de cada elemento. En resumen, se trata de medir la velocidad de los electrones emitidos

mediante el espectrómetro:

$$EL = hv - EK$$

Es necesario tener en cuenta que se debe trabajar en condiciones de Ultra Alto Vacío UHV (ultra high vacuum), lo que se consigue gracias al uso de bombas turbo-moleculares y bombas iónicas apoyadas con vacíos previos obtenidos por bombas rotatorias de aceite.

Para realizar el análisis de un espectro de XPS se dispone de un sistema de espectroscopía de electrones SPECS GmbH con sistema UHV (presión aproximada de 10^{-10} mbar), con analizador de energía PHOIBOS 150 9MCD, fuentes de rayos X monocromática (con ánodo doble Al/Ag) y no monocromática (con ánodo doble Al/Mg), fuente de electrones para compensación de cargas, fuente de fotones ultravioleta, fuente de iones y cámara de pretratamiento de muestras (figura 24). Es necesario realizar un amplio barrido del espectro, que cubra un rango de unos 1000 eV, y que posteriormente se centre con más detalle en rangos más pequeños, alrededor de 20 eV.



Figura 24: Instalación de XPS

Los valores de energía de enlace aparecen en el eje horizontal, mientras que la intensidad se representa en el eje vertical.

Dichos registros XPS permiten aportar información de interés en el análisis de sistemas orgánicos e inorgánicos.

Los análisis se realizan cuantitativamente mediante el estudio de la relación de áreas encerradas bajo cada pico para cada uno de los elementos. Al introducir los factores de corrección apropiados se puede obtener el porcentaje de cada uno de los elementos presentes (210).

Esta técnica nos ha permitido analizar la superficie y la composición, tanto cualitativa como cuantitativa, de los elementos que se encuentran en las distintas muestras, principalmente C, N y O.

Tanto el XPS como el SEM-EDS nos permiten estudiar la composición química de PAE en muestras de fotocatalizadores soportados para diversas configuraciones experimentales.

3.2.3 Difracción Rayos X

La técnica de difracción de rayos X (DRX) es una de las más eficaces para obtener un análisis cuantitativo y cualitativo de las de fases cristalinas de cualquier material, ya sea natural o sintético. Permite obtener información de la estructura, la composición química, la deformación u orientación, el tamaño de los cristales, y el espesor de las capas.

En este caso la difracción de rayos X se llevó a cabo usando un Bruker D8 Tiger con vehículo de monocristal de Si (figura 25).



Figura 25: Equipo DRX CSIC

3.2.4 FTIR

La espectroscopia de transmisión de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) se utiliza para caracterizar diferentes compuestos identificando sus grupos funcionales. La técnica es sensible a la estructura ya que puede provocar vibraciones características de los grupos de átomos, por este motivo se suelen emplear para identificar especialmente grupos orgánicos (211).

Una vez la radiación infrarroja incide sobre la muestra, parte de la radiación la absorbe la muestra y la otra parte es transmitida produciendo una señal resultante. Esta señal se detecta como un espectro que representa la «huella» molecular de la muestra. Su función principal

es que nos permite distinguir entre distintas estructuras químicas, ya que producen distintas huellas espectrales.

En la figura 26 se muestra el equipo utilizado por el Instituto de Cerámica y Vidrio (ICV CSIC) es el Universal ATR y microscopio Spectrum Spot Light 200. El espectrofotómetro trabaja en un intervalo de números de onda entre 400 -4000 cm^{-1} y está equipado con diferentes formas de medida: transmisión/absorción, reflexión difusa, Reflexión Total Atenuada (ATR) que mide entre 600-4000 cm^{-1} y un microscopio que permite realizar un análisis de los perfiles de composición o distribución de cada uno de los elementos (211).



Figura 26: FTIR Perkin Elmer Spectrum 100

3.2.5 Fluorescencia (FDA)

La técnica de hidrólisis del diacetato de fluoresceína (FDA) está reconocida como un método simple, pero de gran precisión para medir la actividad microbiana total en distintas muestras ambientales. El diacetato de fluoresceína incoloro es hidrolizado por enzimas libres y unidas a la membrana, liberando un producto final coloreado de fluoresceína que permite medir la actividad por espectrofotometría.

Inicialmente Heslop-Harrison (212; 213) presentaron la FDA como técnica para evaluar la viabilidad del polen gracias a la fuerte relación encontrada entre la reacción fluorocromática y la germinación in vitro de varios tipos de polen. Pero se encontró que carecía de especificidad en algunos aspectos esenciales que permitieran comparar simultáneamente la viabilidad de diferentes fuentes de polen. Ya en el año 2008 Pinillos et al (214) estandarizaron esta prueba de reacción como técnica para evaluar la viabilidad del polen, gracias a que determinaron el tiempo necesario para que se produzca y se desvanezca la

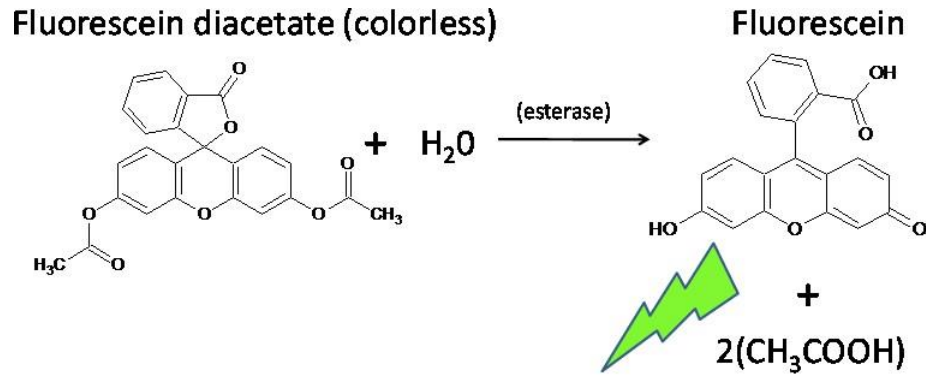
reacción fluorocromática, y la vida útil y la concentración más eficaz de la solución de trabajo FDA.

Por tanto, la reacción fluorocromática que presentan los granos de polen viables cuando se exponen al diacetato de fluoresceína (FDA) es una herramienta fácil, rápida y precisa para evaluar la viabilidad del polen en muchas plantas.

En este trabajo las medidas de fluorescencia se realizaron usando un espectrofotómetro de fluorescencia LS55.

La viabilidad del polen se ha estimado usando la tinción de diacetato de fluoresceína (FDA).

El FDA se ha utilizado como marcador visual para la determinación de la viabilidad específica de células desde hace años (215). Se trata de un compuesto no fluorescente que, cuando se hidroliza por la actividad enzimática biológica, produce fluoresceína, un compuesto altamente fluorescente que marca claramente las células "vivas" con una emisión fluorescente verde inducida ópticamente (Fig. 27). Hay que tener en cuenta que la técnica del FDA no es un procedimiento de tinción, el producto de reacción, la fluoresceína, no se une químicamente a dianas específicas dentro de la célula. El FDA y la fluoresceína pasan fácilmente de forma difusa a través de las membranas celulares, lo que hace que la carga de la FDA en el interior del tejido celular sea una tarea sencilla en las suspensiones celulares acuosas (216).



Good point:
FDA tags 'live' organisms

Bad Point:
Fluorescein leaks out of cells



Figura 27:Reacción FDA (216)

Esta reacción fluorocromática produjo fluorescencia que resulta de la presencia de la esterasa activa y una membrana plasmática intacta, ambas necesarias para la viabilidad de una célula (10). Los granos de polen viables exhibieron una fluorescencia verde brillante, y los granos no viables emitieron un bajo nivel de fluorescencia.

3.2.6 Potencial zeta

El potencial zeta permite medir la magnitud de la repulsión o atracción electrostática entre partículas, y la estabilidad de una partícula. En otras palabras, permite comprender y controlar las suspensiones coloidales.

Cada partícula cargada está rodeada por una capa difusa de iones neutralizantes. Esto hace que se desarrolle un potencial eléctrico a través de la capa difusa entre el coloide y la disolución. La magnitud de este potencial es aproximadamente proporcional a la carga superficial en el coloide, y se llama potencial zeta. Como resultado, el potencial zeta es una medida importante de las fuerzas electrocinéticas involucradas (217).

Existen varios mecanismos por los que se puede generar la carga:

- Disolución de algunos iones que se encuentran presentes en la superficie del sólido.
- Disociación o ionización de grupos superficiales.

- Adsorción específica de iones presentes en la disolución.
- Sustitución de iones en la red cristalina.

Al analizar la superficie del sólido se observa un exceso de carga por unidad de área, lo que deberá compensarse por otra carga equivalente, pero de signo contrario en la fase acuosa en torno a la partícula sólida de tal forma que se mantenga la electroneutralidad del sistema. Las dos distribuciones de carga forman lo que se conoce como doble capa eléctrica. Este término de “doble capa” se utiliza para describir la ordenación de cargas y dipolos orientados que forman la interfase en los límites de un electrolito. Además, es una consecuencia del contacto entre las dos fases limitantes.

A continuación, se observa un figura representativa (figura 28) de este tipo de partículas y de las interacciones que se producen con los demás componentes del sistema.

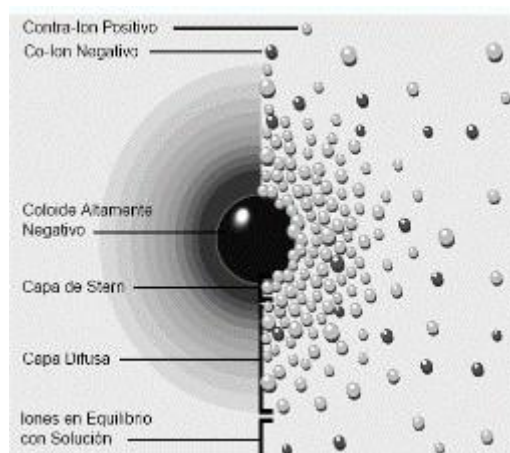


Figura 28: Distribución de iones positivos y negativos alrededor del coloide (218)

Al considerar la interfase sólido-disolución representada en la figura anterior, la capacidad de atracción de una partícula negativa produce la formación de una capa rígida alrededor de la superficie del coloide, conocida también como la capa de Stern.

Tal y como nos vamos alejando de la capa de Stern entramos en una región ocupada principalmente por iones solvatados, cuyo lugar geométrico de sus centros recibe el nombre de plano exterior de Helmholtz. Aunque existan estos iones solvatados, algunas especies son capaces de encontrar el camino para acercarse a la partícula sólida, esto es posible en iones que carecen de una capa de solvatación, como sucede con la mayoría de los aniones y cationes grandes. El lugar geométrico de los centros de estos iones capaces de aproximarse a la partícula negativa recibe el nombre de plano interior de Helmholtz.

Las medidas directas de potencial zeta por micro-electroforesis se han realizado con un dispositivo comercial llamado Zeta Meter 3.0+ (Zeta Meter Inc., New York) (figura 29).

El zetametro está formado por una celda electroforética de cuarzo que contiene la muestra en suspensión y un microscopio de alta calidad que permite observar las partículas coloidales. En los extremos de la celda se colocan dos electrodos de titanio y de molibdeno conectados a una fuente de tensión, de este modo se crea un campo eléctrico que atraviesa el sistema. Los coloides cargados migran bajo la acción del campo eléctrico, lo que permite relacionar la velocidad y la dirección con el potencial zeta. El dispositivo además proporciona información sobre la conductividad de la muestra.



Figura 29: Zeta Meter 3.0, celda micro-electroforética y electrodos utilizados en las medidas de potencial zeta (217).

El microscopio permite seleccionar la escala de medida más adecuada en función del número y del tamaño de los coloides, así es posible seguir el movimiento de coloides de tamaño reducido al aumentar el zoom del microscopio.

3.2.7 Microscopio óptico

Se trata de un conjunto de técnicas que permiten visibilizar todo tipo de material a pesar de que el tamaño de partícula se encuentre fuera del rango de resolución del ojo normal.

Se trata del microscopio NIKON elipse ME600, microscopio óptico equipado con tres objetivos (20x, 50x y 100x), con sistemas de iluminación reflejada (epi) y transmitida (día). El microscopio se puede utilizar en imágenes de contraste de interferencia diferencial (DIC), que es un método de imágenes basado en la diferencia de contraste de las muestras, y en modo de campo oscuro (DF). Con DIC y DF, es posible ver detalles de muestras ópticamente

transparentes que son invisibles en las imágenes microscópicas ordinarias. También está equipado con una cámara CMOS en color de 1.3 megapíxeles, adecuada para captura de imágenes / video y mediciones de línea / superficie / ángulo.



Figura 30: Microscopio óptico NIKON elipse ME600

3.2.8 Método gota sésil

La Real Academia de Ingeniería (219) define el método de la gota sésil como un “método experimental usado para determinar la tensión superficial de una superficie sólida, consistente en la colocación de una gota sobre la superficie, de un líquido del que se conocen su tensión superficial, para medir el ángulo de contacto de la gota con las superficie sólida”.

En el campo de la tribología es importante conocer la interacción entre un líquido en contacto con la superficie de un sólido para poder estudiar ciertos fenómenos como el de lubricación. El objetivo es medir la capacidad que posee un líquido para esparcirse sobre una superficie dada, otros la definen como un “fenómeno de interacción interfacial que determina el ángulo de contacto formado entre una gota de líquido y la superficie de un sólido”. En biomedicina se utiliza en múltiples estudios ya que permite comprender el comportamiento natural de los tejidos vivos (220).

Este método consiste en colocar una gota pequeña de líquido en una superficie sólida y ver el comportamiento del líquido al estar en contacto con el porta de vidrio (con el sólido) (Figura 31).

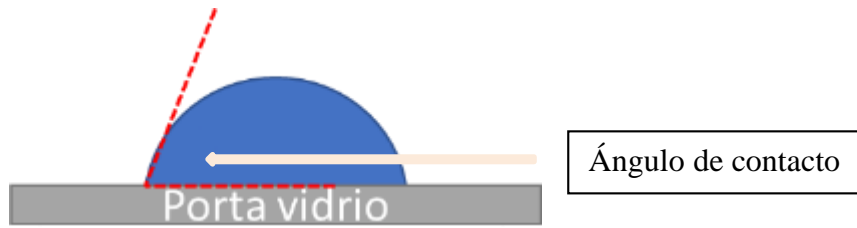


Figura 31: Esquema montaje análisis método gota sésil

La metodología utilizada es un tensiómetro digital cuya composición comprende varios componentes mecánico, óptico y tratamiento de imagen. En la Figura 32, se observa un esquema general de la composición del tensiómetro, el cual está formado por (1) lámpara extendida de luz difusa, (2) gota de líquido yacente, (3) sustrato sólido, (4) micropipeta, (5) cámara de video digital CCD y zoom, (6) sistema de adquisición y tratamiento de imagen (220).

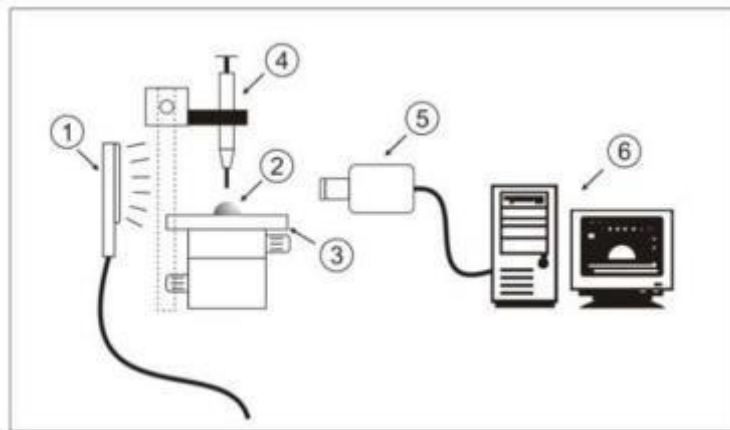


Fig. 32. Esquema general de los componentes del tensiómetro digital (220).

3.2.9 CIELAB

El espacio de color CIELAB también conocido como $L^* a^* b^*$ es un espacio de color definido por la Comisión Internacional de Iluminación (abreviado CIE) en 1976 (221). Los tres parámetros en el modelo representan la luminosidad del color (L^* , $L^*=0$ produce negro y $L^*=100$ indica blanco), su posición entre rojo y verde (a^* , los valores negativos indican verde, mientras que los valores positivos indican rojo), y su posición entre amarillo y azul (b^* , los valores negativos indican azul y los valores positivos indican amarillo) (Figura 33).

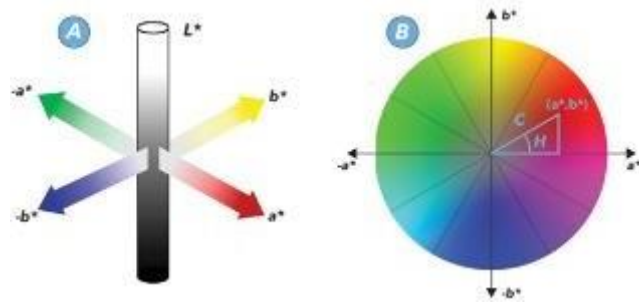


Fig. 33 A: Espacio de color CIELAB tridimensional donde el eje L^* representa la claridad del color; **B:** Plano CIELAB bidimensional $a^* b^*$ donde C representa el cromatismo y H representa el tono (222).

El sistema CIELAB es un estándar internacional importante para medir los errores de reproducción del color. La evaluación de los resultados, además de la inspección visual, se ha realizado midiendo el color y el brillo de acuerdo con el espacio de color CIELAB mediante un espectrofotómetro. CIELAB es un modelo cromático utilizado normalmente para describir todos los colores que el ojo humano puede percibir.

3.2.10 Resumen de técnicas

A continuación, se presenta una tabla resumen con todos los experimentos realizados en cada uno de los artículos surgidos a raíz del trabajo de esta tesis doctoral (tabla 8) :

Tabla 8: Resumen técnicas experimentales utilizadas en la presente tesis doctoral

Técnica	Objetivo	OP
SEM-EDS	Observar el tamaño, morfología, distribución y composición de los granos de polen y obtener información sobre su composición química de los alérgenos	1, 2, 3, 4
XPS	Obtener información cualitativa y cuantitativa sobre la composición superficial de los granos de polen y alérgenos y las modificaciones composicionales del fotocatalizador	3, 4
DRX	Analizar estructuralmente las fases cristalinas de los granos de polen	1

FTIR	Caracterizar cada uno de los componentes de una muestra de alérgenos a través de la identificación de sus grupos funcionales	2
Fluorescencia (FDA)	Medir la actividad enzimática de los alérgenos	1, 3
Potencial Zeta	Medir la magnitud de la repulsión o la atracción electrostática entre los granos de polen y las nanopartículas de semiconductor	1, 4
Microscopio óptico	Visualizar el tamaño, morfología y distribución de los granos de polen	1
Método gota sésil	Medir la tensión superficial a través de la interacción entre un líquido en contacto con la superficie de un sólido	1,2
Color - CIELAB	Medir diferencias en la reproducción del color antes y después del tratamiento fotocatalítico	1
UV vis Band gap	Permite clasificar un material como semiconductor o aislante y en base a ello aplicarlo a procesos fotocatalíticos o no	4

BIBLIOGRAFÍA

1. *Applications of Photocatalytic Disinfection*. Zhang, Joanne Gamage and Zisheng. s.l. : International Journal of Photoenergy, 2010.
2. *Heterogeneous photocatalytic degradation of organic contaminants over titanium dioxide: A review of fundamentals, progress and problems*. U. Ibrahim Gaya, A. Halim Abdullah. s.l. : Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews, 2008, Vol. 9.
3. *Diffused sunlight driven highly synergistic pathway for complete mineralization of organic contaminants using reduced graphene oxide supported photocatalyst*. al, S. Ganesh et. s.l. : Journal of Hazardous Materials, 2015, Vol. 291.
4. *Roles of titanium dioxide and ion-doped titanium dioxide on photocatalytic degradation of organic pollutants (phenolic compounds and dyes) in aqueous solutions: A review*. C. Min Teh, A. Rahmna Mohamed. s.l. : Journal of Alloys and Compounds, 2011, Vol. 509.
5. *Self-cleaning applications of TiO₂ by photo-induced hydrophilicity and photocatalysis*. S. Banerjee, D. Dionysiou, S. Pillai. 396-428, s.l. : Applied Catalysis B: Environmental, 2015, Vols. 176-177.
6. A. Folli, C. Pade, T.B. Hansen, T. De Marco and D.E. Macphee, 2012) 539. 539, s.l. : *Cement and Concrete Research*, 42, 2012.
7. *TiO₂ photocatalysis in cementitious systems: Insights into self-cleaning and depollution chemistry*. Andre aFolli, Claus Pade, Tommy Bæk Hansen, Tiziana De Marco, Donald E.Macphee. 539-548, s.l. : *Cement and Concrete Research*, 2012, Vol. 42.
8. *Use of photocatalytic cementitious materials for self-cleaning applications*. . Guerrini, G. s.l. : *Newsletter*,, 2016.
9. *Photocatalysis effect of nanometer TiO₂ and TiO₂ -coated ceramic plate on Hepatitis B virus*. L. Zan, W. Fa, T. Peng, Z. Gong. s.l. : *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2007, Vol. 86.
10. *Photocatalytic inactivation of influenza virus by titaniumdioxidethin film* . al, R. Nakano et. s.l. : *Photochemical & Photobiological Sciences* , 2012.
11. *Photocatalytic inactivation of viruses using titanium dioxide nanoparticles and low-pressure UV light*. D. Gerrity, H. Ryu, J. Crittenden and M. Abbaszadegan. s.l. : *Journal of Environmental Science and Health*, 2008, Vol. 43.
12. *Photocatalytic inactivation of diarrheal viruses by visible-light-catalytic*. al, X. Sang et. s.l. : *Clinical Laboratory*, 2007.

13. *Kinetics and influence of water composition on photocatalytic disinfection and photocatalytic oxidation of pollutants.* J. Marugan, R. van Grieken and C. Pablos. s.l. : *Environmental technology*, 2010, Vol. 31.
14. *Photocatalytic Disinfection of Bacterial Pollutants Using Suspended and Immobilized TiO₂ Powders .* Sarah Ede, Louise Hafner, Patrick Dunlop, John Byrne, Geoffrey Will. s.l. : *Photochemistry and photobiology*, 2012.
15. *A review of solar and visible light active TiO₂ photocatalysis for treating bacteria, cyanotoxins and contaminants of emerging concern.* al, R. Fagal et. s.l. : *Materials Science in Semiconductor Processing*, 2016, Vol. 42.
16. *Bactericidal effect of TiO₂ photocatalyst on selected food-borne pathogenic bacteria.* B. Kim, D. Kim, D. Cho, S. Cho. s.l. : *Chemosphere*, 2003, Vol. 52.
17. *Photocatalytic Inhibition of Algae Growth Using TiO₂, WO₃, and Cocatalyst Modifications.* al, Clovis A. Linkous et. s.l. : *Environmental Science Technology*, 2000, Vol. 34.
18. *Responses of algae to photocatalytic nano-TiO₂ particles with an emphasis on the effect of particle size.* D. Metzler, M. Li, A. Erdem, C. P. Huang. s.l. : *Chemical Engineering Journal*, 2011, Vol. 170.
19. *Photocatalytic inactivation and removal of algae with TiO₂ -coated materials.* al, Tsuyoshi Ochiai et. s.l. : *Journal of Applied Electrochemistry*, 2010, Vol. 40.
20. *Pollen sporopollenin: degradation and structural elucidation.* Eva Domínguez, José A. Mercado, Miguel A. Quesada, Antonio Heredia. s.l. : *Sexual Plant Reproduction*, 1999, Vol. 12.
21. *The fundamental structure of the pollen exine.* Rowley, John R. s.l. : *Plant Systematics and Evolution* , 1990, Vol. 5.
22. *Biologic Degradation of Fossil Pollen Grains and Spores .* Elsik, William C. s.l. : *Micropaleontology* , 1966, Vol. 12.
23. *Aerobiológica, Punto de Información.* <https://lap.uab.cat/aerobiologia/es/pollen>. [Online]
24. *RED PALINOCAM: VIGILANCIA EN MADRID DEL POLEN AEROVAGANTE.* Cervigón, Patricia. 131-136, s.l. : *Rev. salud ambient.* 2005;5(2), 2005, Vol. 5.
25. *Encuesta de Prevalencia de Asma de la Comunidad de Madrid, . al., Galán et.* 1994.
26. *Alergia, pólenes y medio ambiente.* Luis Manuel Terán, Michelle Marie Margarete Haselbarth-López y David Leonor Quiroz-García. 3, s.l. : *Gac Méd Méx* , 2009, Vol. 145.
27. *American Academy of Allergy Asthma & Immunology (AAAAI) (1996–2009) Allergy.* [Online] <http://www.aaaai.org/media/statistics/>.

28. *La alergia: una epidemia del siglo XXI*. Villalba, Mayte. s.l. : Soc. Esp. de Bioquímica y Biología Molecular Divulgación, 2011.
29. *Alergias*. Ministerio de Sanidad.
<https://www.mscbs.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfNoTransmisibles/alergias.htm>.
[Online]
30. *Estudio multicéntrico ISAAC, 1998; . 1998;.*
31. *Arguinaga*. 1999.
32. *Galan*. 2001.
33. <https://www.polenes.com/home>. *Polenes SEIAC*. [Online]
34. <http://www.madrid.org/bvirtual/BVCM009130.pdf>. *Polen atmosférico en la Comunidad de Madrid*. [Online] Documentos Técnicos de Salud Pública.
35. *la contaminación dispara las alergias*. [Online] <https://www.quo.es/salud/a19563/la-contaminacion-dispara-las-alergias/>.
36. *polen ciudad real*. <https://www.latribunadeciudadreal.es/noticia/Z1A18483C-B4CA-774A-F990966F179BE4C6/El-polen-enCiudad-Real-es-18-menos-alergeno-que-en-Madrid>. [Online]
37. *Cómo interpretar los recuentos de pólenes*. Subiza, J. 59-65, s.l. : *Alergol Inmunol Clin*, 2001, Vol. 16.
38. E. Díaz Losada, E. Fernández Gómez, C. Álvarez Carro and P. Saa Otero,. 195, s.l. : *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural. Sección Biológica.*, 1996, Vol. 92.
39. J. Serra Bonvehi, J. Gonell Galindo and A. Gomez Pajuelo,. s.l. : *Alimentaria.*, 1986.
40. L. Almeida-Muradian, L.C. Pamplona, S.I. Coimbra and O.M. Barth, ,. 105, s.l. : *Journal of food composition and analysis*, 2005, Vol. 18.
41. L. Duque, F. Guimarães, H. Ribeiro, R. Sousa and I. Abreu,. 296, s.l. : *Atmospheric Environment.*, 2013, Vol. 75.
42. <http://www.encuentros.uma.es/encuentros46/polen.html>. [Online]
43. *El grano de polen: Morfología, estructura y diversidad*. [Online] https://www.saludcastillayleon.es/es/polen/polen-alergia-castilla-leon.ficheros/113491-3%20El%20grano%20de%20polen_morfolog%C3%ADa%20Cestructura%20y%20diversidad.pdf.
44. *Anatomía de las plantas con semilla*. 2. [book auth.] Esau K. s.l. : *Hemisferio Sur.* , 1982. .

45. Real Jardín Botánico. [Online]
<http://www.rjb.csic.es/jardinbotanico/ficheros/documentos/pdf/didactica/plantasyalergias.pdf>.
46. SEICAP Tipos de polenes. http://pacientes.seicap.es/es/alergia-a-pólenes_40115#que-polenes-son-los-que-causan-alergia-mas-frecuentemente. [Online]
47. RJB CSIC. <http://www.rjb.csic.es/jardinbotanico/jardin/index.php?Pag=567&len=>. [Online]
48. *La alergia a las cupresáceas: Pasado y Futuro*. Panzani, R.C. 24 -44, s.l. : *Alergología e Inmunología Clínica*, 2003, Vol. 18.
49. Árboles ornamentales. <https://www.arbolesornamentales.es/Cupressusarizonica.htm>. [Online]
50. *Los aeroalérgicos como factor condicionante de la alergia respiratoria*. Cano, María del Mar Gandolfo. s.l. : *Unidad de Alergología. Hospital Universitario de Fuenlabrada*.
51. *Allergens of Arizona cypress (Cupressus arizonica) pollen: characterization of the pollen extract and identification of the allergenic component*. Di Felice G, Caiaffa MF, Bariletto G, et al. 547-555, s.l. : *Allergy Clinical Immunology*, 1991, Vol. 94.
52. Cupresáceas Comunidad de Madrid. [Online]
<http://www.madrid.org/cs/Satellite?blobcol=urldata&blobheader=application%2Fpdf&blobheadername1=Content-disposition&blobheadername2=cadena&blobheadervalue1=filename%3Dcupressaceae.pdf&blobheadervalue2=language%3Des%26site%3DPortalSalud&blobkey=id&blobtabl>.
53. *Platanus Hybrida*. <http://www.arbolapp.es/especies/ficha/platanus-hispanica/>. [Online]
54. *Behavior of Platanus hispanica Pollen, an Important Spring Aeroallergen in Northwestern Spain*. Iglesias, FJ Rodríguez-Rajo, J Méndez. s.l. : *Department of Plant Biology and Soil Sciences, University of Vigo, As Lagoas Campus, Ourense, Spain*.
55. Laboratorios Esteve. [Online]
http://www.esmonformacion.com/aeroalergenosen/cursos/54/U3_Polen_de_platanero.pdf.
56. ArbolAPP. <http://www.arbolappcanarias.es/>. [Online]
57. *Cedrus Atlantica*. <http://www.arbolappcanarias.es/especies/ficha/cedrus-atlantica/>. [Online]
58. *Cedrus atlantica pollen morphology and investigation of grain size variability using laser diffraction granulometry*. al, Benjamin A. Bell et. 3, s.l. : *Palynology* , 2018, Vol. 42.
59. —.Bell, B. A., et al. 339–353, s.l. : *Palynology* , 2018, Vol. 42.

60. *Aerobiología. Universidad de Granada.* <https://www.ugr.es/~aerobio/gramineas.htm>. [Online]
61. *Polinosis y Alergia.* [Online] https://lap.uab.cat/aerobiologia/general/pdf/books/2002_Polinosis.Polen_y_alergia.pdf.
62. *Herbario Universidad de Navarra.* https://www.unavarra.es/herbario/pratenses/htm/Seca_cere_p.htm. [Online]
63. *Herbario Universidad de Navarra.* https://www.unavarra.es/herbario/pratenses/htm/Poa_prat_p.htm. [Online]
64. *Red Española de Aerobiología.* <https://www.uco.es/rea/part-alergogenas/graminea.htm>. [Online]
65. *Effects of long-term exposures to SO₂ and NO₂ on Poa pratensis and other grasses.* E.WhitmoreT.A.Mansfield, Mary. 217-235, s.l. : *Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological*, 1983, Vol. 31.
66. *Herbario Universidad de Navarra.* https://www.unavarra.es/herbario/pratenses/htm/Fest_prat_p.htm. [Online]
67. *Herbario Universidad de Navarra.* https://www.unavarra.es/herbario/pratenses/htm/Aven_sati_p.htm. [Online]
68. *Size controlled gold nanoparticle formation by Avena sativa biomass: use of plants in nanobiotechnology.* Veronica Armendariz, Isaac Herrera,Jose R. peralta-videa,Miguel Jose-yacaman, Horacio Troiani, Patricia Santiago, Jorge L. Gardea-Torresdey. 377-382, s.l. : *Journal of Nanoparticle Research*, 2004, Vol. 6.
69. *Artemisia Vulgaris.* http://www.plantasyhongos.es/herbarium/htm/Artemisia_vulgaris.htm. [Online]
70. *Polinosis Polen y Alergias. Compuestas/Asteráceas.* Guilarte, M. s.l. : *S. L y Laboratorios Menarini*, 2002.
71. *Influencia de la precipitación en la polinización de la artemisia.* [Online] https://ddd.uab.cat/pub/trerecpro/2015/hdl_2072_259890/PFC_VanniaQuevedoCorcuypdf.
72. *Artemisia pollen is the main vector for airborne endotoxin.* al, JoseOteros et. 369-377, s.l. : *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2019, Vol. 143.
73. *Heterogeneous photocatalysis I. The influence of oxidizing and reducing gases on the electrical conductivity of dark and illuminated zinc oxide surfaces .* Doerffler, W., Hauffle, K., 156-170, s.l. : *Journal of Catalysis*, 1964, Vol. 3.

74. Oxidation of carbon monoxide and methyl alcohol photosensitized in the gas phase by zinc oxide. Schwab, G. M., Noller, H., Steinbach, F., Venugoplan, M. 774-775, s.l. : *Nature*, 1962, Vol. 193.
75. *TiO₂ Photocatalysis: Fundamentals and Application*,. A. Fujishima, K. Hashimoto and T. Watanabe. 1999.
76. Heterogeneous photocatalytic oxidation of cyanide ion in aqueous solutions at titanium dioxide powder. Frank, S.N, Bard, A.J. 303-304, s.l. : *Journal of the American Chemical Society*, , 1977, Vol. 99.
77. *Bibliography of work on the heterogeneous photocatalytic removal of hazardous compounds from water and air*. . Blake, D.M. s.l. : *Technical report, National Renewable Energy Laboratory*, 2001.
78. *Photocatalytic degradation for environmental applications- A review*. . Bhatkhande, D.S., Pangarkar, V.G., Beenackers, A.A.C.M. 102 -106, s.l. : *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 2001, Vol. 77.
79. *Applications in photocatalytic purification of air.Semiconductor nanoclusters. Studies in surface science and catalysis*. . Fu, X., Zeltner, W.A., Anderson, M.A. 445 -461, s.l. : *Studies in surface science and catalysis*, 1997, Vol. 103.
80. *Heterogeneous photocatalysis for purification, decontamination and deodorization of air*. Peral, J., Domènech, X., Ollis, D.F. 117-140,, s.l. : *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, , 1997, Vol. 70.
81. *Photocatalytic oxidation for indoor air purification: A literature review*. . Zhao, J., Yang, X. 645-654, s.l. : *Building and Environment journal*, , 2003, Vol. 38.
82. *Photocatalytic water treatment: fundamental knowledge for its practical application*. . Hufschmidt, D., Liu, L., Selzer, V., Bhnemann, D. 135 -140, s.l. : *Water Science and Technology*, , 2004, Vol. 49.
83. *An overview of semiconductor photocatalysis*. . Mills, A., Le Hunte., S. 97 -101, s.l. : *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 1997, Vol. 108.
84. *Application of the photocatalytic chemistry of titanium dioxide to disinfection and the killing of cancer cells*. lake, D.M., Maness, P., Huang, Z., Wolfrum, E.J., Huang, J. 1-50, s.l. : *Separation and Purification Technology Journal*, 1998, Vol. 28.
85. *Photocatalytic oxidation of bacteria, bacterial and fungal spores, and model biofilm components to carbon dioxide on titanium dioxide-coated surfaces*. Wolfrum, E.J., Huang, J., Blake, D.M., Maness, P., Huang, Z., Fiest, J., Jacoby, W.A. 3412-3419,, s.l. : *Environmental Science and Technology*, 2002.

86. *Heterogeneous photocatalytic oxidation of cyanide ion in aqueous solutions at titanium dioxide powder.* Frank, S.N., Bard, A.J., 303-304, s.l. : *Journal of the American Chemical Society*, 1977, Vol. 99.
87. *Evaluation of the influence of environmental conditions on the efficiency of photocatalytic coatings in the degradation of nitrogen oxides (NOx).* Staub, J.V., Triches, G., 117-123, s.l. : *Building and Environment*, 2012, Vol. 49.
88. *Photocatalytic degradation of NOx gases using TiO₂ -containing paint: A real scale study.* Maggos, Th., Bartzis, J.G., Liakou, M., Gobin, C. 668-673, s.l. : *Journal of Hazardous Materials*, 2007, Vol. 146.
89. *Photocatalytic oxidation for degradation of VOCs.* Lin, L., Chai, Y., Zhao, B., Wei, W., He, D., He, B., Tang, Q., s.l. : *Open Journal of Inorganic Chemistry*, 2013, Vol. 3.
90. R.M. Alberici, M.C. Canela, M.N. Eberlin, y W.F. Jardim, 389-397, s.l. : *Applied Catalysis B*, 2001, Vols. 30,.
91. *Contaminant degradation in water.* Ollis, D.F. 480 -484, s.l. : *Environmental Science and Technology*, 1985, Vol. 19.
92. *TiO₂/in-situ reduced GO/functionalized with an IL-Cr complex as a ternary photocatalyst composite for efficient carbon monoxide deterioration from air.* Seifvand, N., Kowsari, E., 184-193, s.l. : *Applied Catalysis B: Environmental*, 2017, Vol. 206.
93. *Photocatalytic activity of hydroxyapatite for methyl mercaptane.* Nishikawa, H., Omamiuda, K., 193-200, s.l. : *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 2002, Vol. 179.
94. *Photocatalytic Degradation of Gaseous Formaldehyde Using TiO₂ Film.* Noguchi, T., Fujishima, A., Sawunyama, P., Hashimoto, K. 3831-3833, s.l. : *Environmental Science and Technology*, 1998, Vol. 32.
95. *Photocatalytic degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons on soil surfaces using TiO₂ under UVlight.* Zhang, L., Li, P., Gong, Z., Li, X., 478-484, s.l. : *Journal of Hazardous Materials*, 2008, Vol. 158.
96. *Fotocatálisis: inicio, actualidad y perspectivas a través del TiO₂.* . Nevárez-Martínez, M.C., Espinoza-Montero, P.J., Quiroz-Chávez, F.J., Ohtani, B. 45-59, s.l. : *Avances en Química*, 2017, Vol. 12.
97. *BANDAS DE ENERGIA, ORIGEN Y CONSECUENCIAS.* Rojas, I., Mora, C. and Herrera-Suarez, HJ. s.l. : *Latin-American Journal of Physics Education*, 2013.
98. *Mineralización fotocatalítica de aguas residual contaminada con dicloxacilina comercial en un reactor solar CPC a escala piloto.* José Á. Colina-Márquez, Deyler R. Castilla-Caballero. s.l. : *Ingeniería y competitividad*, 2013, Vol. 15.

99. *Photocatalytic degradation of amoxicillin, ampicillin and cloxacillin antibiotics in aqueous solution using UV/TiO₂ and UV/H₂O₂/TiO₂ photocatalysis.* Emad S. Elmolla, Malay Chaudhuri. 46–52, s.l. : *Desalination*, (2010), Vol. 252.
100. *PURIFICACIÓN DE AGUAS POR FOTOCATÁLISIS HETEROGÉNEA: estado del arte.* Julián Blanco Gálvez, Sixto Malato Rodríguez, Claudio A. Estrada Gasca, Erick R.
101. *Estudio de la fotocatalisis y su aplicación en el tratamiento de aguas residuales.* Balaguera, S. Ruiz. s.l. : *ECAPMA Working Papers*.
102. *MATERIALES FOTOCATALÍTICOS Y SUS APLICACIONES.* Lisbona, L. Espiga. 2016.
103. *Photocatalytic activity for NO degradation by construction materials: Parametric study and multivariable correlation.* Bengtsson, N., Castellote Armero, M. s.l. : *Journal of Advanced Oxidation Technologies*, 2010, Vol. 13.
104. *Delgado, A. Fotocatalizadores nanoestructurados de TiO₂ y Fe-TiO₂ para la degradación de compuestos aromáticos en medio acuoso empleando luz solar.* s.l. : *Universidad Autónoma de Madrid*, 2008.
105. *Estudio del efecto de los parámetros de síntesis sobre las propiedades fisicoquímicas y fotocatalíticas de sistemas Pt-F-TiO₂.* Macias, A. Cely. 2018.
106. *Fotocatálisis y su capacidad descontaminante. Aplicación en Gran Vía.* Fernández, M. Bermejo. 2018.
107. *Hunte, A. Mills and S. Le. 1997, Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 108.
108. *A.L. Linsebigler, G. Lu and J.T. Yates., 1995, Chemical Reviews*, 95, p. 735.
109. *Titanium dioxide nanomaterials: synthesis, properties, modification, and applications.,* Chen, X.B., Mao, S.S.,. 2891–2959., s.l. : *Chem. Rev.*, 2007, Vol. 107.
110. *Hydrothermal growth of free standing TiO₂ nanowire membranes for photocatalytic degradation of pharmaceuticals, .* Hu, A.M., Zhang, X., Oakesb, K.D., Peng, P., Zhou, Y.N., Servos, M.R.,. 278–285, s.l. : *Hazard. Mater.*, 2011, Vol. 189.
111. *Semiconductor-based photocatalytic hydrogen generation.,* Chen, X.B., Shen, S.H., Guo, L.J., Mao, S.S. 6503–6570, s.l. : *Chem. Rev.*, 2010, Vol. 110.
112. *Nanostructured rutile TiO₂ for selective photocatalytic oxidation of aromatic alcohols to aldehydes in water.,* Yurdakal, S., Palmisano, G., Loddo, V., Augugliaro, V., Palmisano, L.,. 1568–1569., s.l. : *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, Vol. 130.
113. *Selective formation of imines by aerobic photocatalytic oxidation of amines on TiO₂.* Lang, X.J., Ji, H.W., Chen, C.C., Ma, W.H., Zhao, J.C. 3934–3937., s.l. : *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2011.

114. Removal of VOCs by photocatalysis process using adsorption enhanced TiO₂ –SiO₂ catalyst. Linda Zou, Yonggang Luo, Martin Hooper, Eric Hu. 11, s.l. : *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 2006, Vol. 45.
115. Photocatalytic destruction of VOCs in the gas-phase using titanium dioxide. Rosana M. Alberici, Wilson F. Jardim. 1-2, s.l. : *Applied Catalysis B: Environmental*, 1997, Vol. 14.
116. NO_x and SO_x Removal by Low Temperature Plasma-Photocatalysts Hybrid System. *al*, Dong Joo Kim et. 91-94, s.l. : *Material Science Forum*, 2007, Vols. 544-545.
117. State of the art and perspectives on materials and applications of photocatalysis. PICHAT, ALEXANDER G. AGRIOS and PIERRE. 655-663, s.l. : *Journal of Applied Electrochemistry*, 2005, Vol. 35.
118. F. Toma, G. Bertrand, D. Klein and C. Coddet. 2004, *Environmental Chemistry Letters*, 2, p. 117.
119. W.-K. Jo, J.-H. Park and H.-D. Chun. 2002, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 148, p. 109.
120. E. Jimenez-Relinque and M. Castellote. 2014, *Environmental Science and Pollution Research*, 21, p. 11198.
121. Commission Delegated Regulation (EU) 2020/217 of 4 October 2019 Amending, for the Purposes of its Adaptation to Technical and Scientific Progress, .
122. Assessment of urban air pollution related to potential nanoparticle emission from photocatalytic pavements, . R. Nevshupa, E. Jimenez-Relinque, M. Grande, E. Martinez, M. Castellote. 111, s.l. : *Journal of Environmental Management*, 2020, Vol. 272.
123. http://asesorias.cuautitlan2.unam.mx/inorganica/profes/asp/apuntes/estruct_crist.pdf. Estructuras cristalinas. [Online]
124. Mao, X. Chen and S.S. 2007, *Chem. Rev*, 107, p. 2891.
125. A. Fujishima, X. Zhang and D.A. Tryk. 2008, *Surface Science Reports*, 63, p. 515.
126. T. Ohno, K. Sarukawa and M. Matsumura. 2001, *The Journal of Physical Chemistry B*, 105, p. 2417.
127. TiO₂ Photocatalysis: Fundamentals and Application. Fujishima, A., Hashimoto, K., Watanabe, T.,. 1365-1368, s.l. : *Advanced Materials*, 1999, Vol. 11.
128. Enhanced effect of vacuum-deposited SiO₂ overlayer on photo-induced hydrophilicity of TiO₂ film. K. Miyashita, S. Kuroda, T. Ubukata, T. Ozawa & H. Kubota. 3877-3884, s.l. : *Journal of Materials Science*, 2001, Vol. 36.
129. State of the art and perspectives on materials and applications of photocatalysis. Agrios, A.G., Pichat, P.,. 655-663, s.l. : *Journal of Applied Electrochemistry*, 2005, Vol. 35.

130. E. Jimenez-Relinque, Rodriguez-Garcia, J.R, Castillo, A., Castellote, M. 2015, *Cement and Concrete Research*.
131. C.A. Linkous, G.J. Carter, D.B. Locuson, A.J. Ouellette, D.K. Slattery and L.A. Smitha. 4754, s.l. : *Environmental Science and Technology-Columbus*, 2000, Vol. 34.
132. *Construction and Building Materials*. M. Diamanti, B. Del Curto, M. Ormellese and M. Pedferri. 167, 2013, Vol. 46.
133. *Cement and Concrete Research*. M.V. Diamanti, M. Ormellese and M. Pedferri. 1349, 2008, Vol. 38.
134. A. Fujishima, X. Zhang and D.A. Tryk,. 2007, *International journal of hydrogenenergy*, 32, p. 2664.
135. *Photocatalytic construction and building materials: From fundamentals to applications*. Chen, J., Poon, C.,. 1899-1906, s.l. : *Building and Environment*, 2009, Vol. 44.
136. *Performance of photo-catalytic paving blocks made from waste*. Poon CS, Cheung E. 165–171, s.l. : *Waste and Resource Management* , 2006, Vol. 159.
137. *Comparative study on cementitious products containing titanium dioxide as photo-catalyst*. In: Baglioni P, Cassar L, eds. . Husken, G., Hunger, M., Brouwers, H. s.l. : *On Photocatalysis, environment and construction materials*.
138. *NOx removal effects and physical properties of cement mortar incorporating titanium dioxide powder*. . Kawakami M, Furumura T, Tokushige H. s.l. : *RILEM Int. Symp. On photocatalysis, environment and construction materials*.
139. *Heterogeneous photocatalytic removal of toluene from air on building materials enriched with TiO₂*. . Demeestere K, Dewulf J, Witte BD, Beeldens A, Langenhove HV. 406-414, s.l. : *Building and Environment* , 2008, Vol. 43.
140. *NO removal efficiency of photocatalytic paving blocks prepared with recycled materials*. . Poon CS, Cheung E. 1746–1753., s.l. : *Construction and Building Materials* , 2006, Vol. 21.
141. *Photocatalytic cementitious roads for depollution*. Guerrini GL, Peccati E. 179–186., s.l. : *RILEM Int. Symp. On photocatalysis, environment and construction materials*. , 2007.
142. *Air purification by road materials: results of the test project in Antwerp*. . A., Beeldens. 187–194., s.l. : *RILEM Int. Symp. On photocatalysis, environment and construction materials*. , 2007 .
143. *Decontamination of Ventilation Systems Using Photocatalytic Air Cleaning Technology*. Goswami, Y. 359-365, s.l. : *Journal of Solar Energy Engineering*, 2003, Vol. 125.

144. *Chemistry and Applications of Photocatalytic Oxidation of Thin Organic Films*. Heller, A., 503-508, s.l. : *Accounts of Chemical Research*, 1995, Vol. 28.
145. *Photochemistry Reviews*,. A. Fujishima, T.N. Rao and D.A. Tryk,. 2000, *Journal of Photochemistry and Photobiology*, p. 1.
146. http://nano-zone.net/wall_coating.php. [Online] [Cited: MARZO 15, 2020.]
147. *Quantum yields of active oxidative species formed on TiO₂ photocatalyst*. . Ishibashi, K., Fujishima, A., Watanabe, T., Hashimoto, K. 139 -142, s.l. : *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2000, Vol. 134.
148. *Photocatalytic cement-based materials: Comparison of nitrogen oxides and toluene removal potentials and evaluation of self-cleaning performance*. Chen, J., Kou, S., Poon, C., 1827-1833, s.l. : *Building and Environment*, 2011, Vol. 46.
149. *Photogeneration of Highly Amphiphilic TiO₂ Surfaces*. Wang, R., Hashimoto, K., Fujishima, A., Chikuni, M., Kojima, E., Kitamura, A., Shimohigoshi, M., Watanabe, T.,. 135-138, s.l. : *Advanced Materials*, 1998, Vol. 10.
150. *TiO₂ Photocatalysis: A Historical Overview and Future Prospects*. Hashimoto, K., Irie, H., Fujishima, A.,. 8269-8285, s.l. : *Journal of Applied Physics*, 2005, Vol. 44.
151. *Atmospheric Environment*. S. Laufs, G. Burgeth, W. Duttlinger, R. Kurtenbach, M. Maban, C. Thomas, P. Wiesen and J. Kleffmann,. 2341, 2010, Vol. 44.
152. *A Review on developing self-cleaning cementitious materials*. Grebenisan, E., Hegyi, A., Szilagy, H. s.l. : *Constructii*, 2018, Vol. 1.
153. *White cement for architectural concrete, possessing photocatalytic properties*. Cassar L, Pepe C, Tognon G, Guerrini GL, Amadelli R. 2012 -2021, s.l. : *11th International Congress on the Chemistry of Cement*, 2003, Vol. 4.
154. *Titanium dioxide photocatalysis: present situation and future approaches*. . Fujishima A, Zhang X. 750-760, s.l. : *Comptes Rendus Chimie*. , 2006, Vol. 9.
155. P.-C. Maness, S. Smolinski, D.M. Blake, Z. Huang, E.J. Wolfrum and W.A. Jacoby. 4094, s.l. : *Applied and environmental microbiology*, 65, 1999.
156. *¿Pueden los Microorganismos impactar en los materiales de construcción?* Antonio De Turris, Lisseth Ocano, Matilde F. de Romero, Marianela Fernández. s.l. : *Gt*, 2013, Vol. 10.
157. *Photoelectrochemical sterilization of microbial cells by semiconductor powders*. Matsunaga, t., Tamoda, R., Nakajima, T., Wake, H., *Photoelectrochemical sterilization of microbial cells by semiconductor powders*. 211-214, s.l. : *FEMS MicrobiolLett*, 1985, Vol. 29.

158. Photocatalytic antibacterial effect of TiO₂ film formed on Ti and TiAg exposed to *Lactobacillus acidophilus*. Choi, J., Kim, K., Choy, K., Oh, K., Kim, K., s.l. : *Journal of biomedical materials research*, 2006.
159. Biogenic synthesis of CuO nanoparticles using *Tamarindus indica* L. and a study of their photocatalytic and antibacterial activity. Zaman, M., Poolla, R., Singh, P., Gudipati, T., s.l. : *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 2020, Vol. 14.
160. Inactivation of *Escherichia coli* by titanium dioxide photocatalytic oxidation. Ireland, J.C., Klostermann, P., Rice, E.W., Clark, R.M. 1668-1670, s.l. : *Applied and environmental microbiology*, 1993, Vol. 59.
161. Kinetics of the photocatalytic disinfection of *Escherichia coli* suspensions. Marugán, J., Grieken, R., Sordo, C., Cruz, C. 27-36, s.l. : *Applied Catalysis B: Environmental*, 2008, Vol. 86.
162. Linear correlation between inactivation of *E. coli* and OH radical concentration in TiO₂ photocatalytic disinfection. Cho, M., Chung, H., Choi, W., Yoon, J. 1069 -1077, s.l. : *Water Research*, 2004, Vol. 38.
163. TiO₂ photocatalyst for environmental purification. Masaki, Y., Masaude, S., Ishida, K., 26-32, s.l. : *Sumimoto Met*, 1999, Vol. 50.
164. Engineering of solar photocatalytic detoxification and disinfection process. . D.Y.Goswami. 165-209, s.l. : *Advances in Solar Energy*, 1995, Vol. 10.
165. Enhanced photocatalytic inactivation of bacterial spores on surfaces in air. A. Vohra, D. Goswami, D.A. Deshpande, S.S. Block. 364-370., s.l. : *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2005, Vol. 32.
166. Enhanced photocatalytic disinfection of indoor air. . A. Vohra, D. Y. Goswami, D.A.Deshpande,S.S. Block. 57-65, s.l. : *Applied Catalysis B: Environmental*, 2006, Vol. 64.
167. The antibacterial, antibiofilm, antifogging and mosquitocidal activities of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles green-synthesized using multiple plants extracts. Achudhan, D., Vijayakumar, S., Malaikozhundan, B., Divya, M. s.l. : *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2020, Vol. 8.
168. Highly Efficient F, Cu doped TiO₂ anti-bacterial visible light active photocatalytic coatings to combat hospital-acquired infections. Nigel S. Leyland, Joanna Podporska-Carroll, John Browne, Steven J. Hinder, Brid Quilty & Suresh C. Pillai. s.l. : *Scientific Reports* , 2016, Vol. 6.
169. Air purification equipment combining a filter coated by silver nanoparticles with a nano-TiO₂ photocatalyst for use in hospitals. Thanh Son Le, Trong Hien Dao, Dinh Cuong Nguyen, Hoai Chau Nguyen and I L Balikhin. s.l. : *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 2015, Vol. 6.

170. *A Study of Photocatalytic Processes Involving the Degradation of the Organic Load and Amoxicillin in Hospital Wastewater.* Ayrton F. Martins, Francieli Mayer, Eliza C. Confortin, Carla da S. Frank. 365-371, s.l. : *CLEAN Air Soil Water*, 2019, Vol. 37.
171. *Photocatalytic inactivation of influenza virus by titanium dioxide thin film.* Nakano, R., Ishiguro, H., Yao, Y., Kajioka, J., Fujishima, A., Sunada, K., Minoshima, M., Hashimoto, K., Kubota, Y. 1293-1298, s.l. : *Photochemical and photobiological sciences*, 2012, Vol. 11.
172. *Nanoparticles for antibacterial materials and titanium dioxide applications.* C. P. Betancur, V. Hernández, R. Buitrago. 4, s.l. : *Revista Cubana Investigación Biomédica* , 2016, Vol. 35.
173. *Antifungal capability of TiO₂ coated film on moist wood.* F. Chen, X. Yang, Q. Wu. 1088-1093, s.l. : *Building and Environment*, 2009, Vol. 44.
174. *Antifungal Coatings Based on Ca(OH)₂ Mixed with ZnO/TiO₂ Nanomaterials for Protection of Limestone Monuments.* N. Gómez-Ortíz, S. De la Rosa-García, W. González-Gómez, M. Soria-Castro, P. Quintana, G. Oskam, B. Ortega-Morales. 1556–1565, s.l. : *Applied Materials Interfaces* , 2013, Vol. 5.
175. *Inactivation of phage MS2 by iron-aided titanium dioxide photocatalysis.* . J.C. Sjogren, R.A. Sierka. 344–347, s.l. : *Applied and Environmental Microbiology* , 1994, Vol. 60.
176. *Progress and challenges in photocatalytic disinfection of waterborne viruses: a review to fill current knowledge gaps.* . C. Zhang, Y. Li., D. Shuai, Y. Shen., D. Wang. 399–415, s.l. : *Chemical Engineering Journal*, 2019, Vol. 355.
177. *Photocatalytic disinfection using titanium dioxide: spectrum and mechanism of antimicrobial activity.* . H.A. Foster, I.B. Ditta, S. Varghese, A. Steele. 1847 –1868, s.l. : *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, Vol. 90.
178. *Effects of various TiO₂ nanostructures and graphene oxide on photocatalytic activity of TiO₂.* . P. Gao, A. Li., D. D. Sun, W. J. Ng. 96 –104, s.l. : *Journal Hazardous Materials*, 2014, Vol. 279.
179. *Self-Cleaning and Next Generation Anti-Fog Surfaces and Coatings.* John A. Howarter, Jeffrey P. Youngblood. 6, s.l. : *Macromolecular Rapid Communications*, 2008, Vol. 29.
180. *Japanese journal of applied physics.* K. Hashimoto, H. Irie and A. Fujishima. 8269, 2005, Vol. 44.
181. *Non-UV activated superhydrophilicity of patterned Fe-doped TiO₂ film for anti-fogging and photocatalysis.* Duan, Z., Zhu, Y., Ren, P., Jia, J., Yang, S., Zhao, G., Xie, Y., Zhang, J. 165-173, s.l. : *Applied Surface Science*, 2018, Vol. 452.

182. K. Suzuki, S. Satoh, T. Yoshida, 521, s.l. : Oenki Kagaku, (1999), Vols. 59, .
183. Inactivation of malodorous compounds using heterogeneous photocatalysis. . Canela, M.C., Alberici, R.M., Sofia, R.C.R., Eberlin, M.N., Jardim, W.F., 2788 -2792., s.l. : *Environmental Science and Technology*, 1999, Vol. 33.
184. PICADA. www.picada-project.com. [Online] [Cited: MARZO 25, 2020.]
185. Photocatalytic roads: from lab tests to real scale applications. Boonen, E., Beeldens, A. 79-89, s.l. : *European Transport Research Review*, 2013, Vol. 5.
186. NO_x Depolluting Performance of Photocatalytic Materials in an Urban Area – Part I: Monitoring ambient impact. Fernández-Pampillón, J., Palacios, M., Núñez, L., Pujadas, M., Sanchez, B., Santiago, J.L., Martilli, A. 118190, s.l. : *Atmospheric Environment*, 2021.
187. Decontamination through Photocatalytic TiO₂ Additions - Past, Present and Future. De Dios, J., del Campo, J.M., Colorado, D. s.l. : *2nd International Conference on Emerging Trends in Engineering and Technology*, 2014.
188. In-situ evaluation of the NO_x removal efficiency of photocatalytic pavements: statistical analysis of the relevance of exposure time and environmental variables. Jiménez-Relinque, E., Hingorani, R., Rubiano, F., Grande, M., Castillo, A., Castellote, M. 36088-36095, s.l. : *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, Vol. 26.
189. https://www.vtti.vt.edu/PDFs/ISPW-PDFs/Big-picture/27Crispino_Photocatalytic_ISPW2010.pdf. Politecnico Milan. [Online]
190. CeO₂/Co₃O₄ hollow microsphere: Pollen-biotemplated preparation and application in photo-catalytic degradation . Y. Liu, J. Yang, B. Wu, W. Zhang, s.l. : *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2020, Vol. 586.
191. reparation Of ZnO/Co₃O₄ Hollow Microsphere By Pollen-biological Template And Its Application In Photocatalytic Degradation ,. Y.Liu, X. Zhang, B. Wu, H. Zhao, W. Zhang, C. Shan, J. Yang, Q. Liu. 12445-12454, s.l. : *Chemistry Select*, 2019, Vol. 43.
192. Synthesis and Properties of Rare Earth Doped TiO₂ with Plant Pollen as Template. C. Chen, R. Bao, J. Xia, H. Chen, H. Li. 602 -608, s.l. : *Journal of the Chinese Rare Earth Society*, 2019, Vol. 37.
193. Biotemplated synthesis of 3D rare earth-doped TiO₂ hollow spheres for photocatalytic application. R. Bao, R. Li, C. Chen, 78-84, s.l. : *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 2019, Vol. 126.
194. Solvothermal synthesis, characterization and photocatalytic property of zirconium dioxide doped titanium dioxide spinous hollow microspheres with sunflower pollen as biotemplates. J. Zhao, S. Ge, D. Pan, Q. Shao, J. Lin, Z. Wang, Z. Hu, T. Wu, Z. Guo. 111 -121, s.l. : *Journal of Colloid and Interface Science*, Vol. 529.

195. Hierarchical C-doped BiPO₄/ZnCoAl-LDO hybrid with enhanced photocatalytic activity for organic pollutants degradation. F. Ji, J. Li, X. Cui, J. Liu, X. Bing, P. Song. 182-191, s.l. : *Applied Clay Science*, 2018, Vol. 162.
196. Biomimetic synthesis of Bi₂O₃/Bi₂WO₆/MgAl-CLDH hybrids from lotus pollen and their enhanced adsorption and photocatalysis performance. X. Bing, J. Li, J. Liu, X. Cui, F. Ji. 449-460, s.l. : *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2018, Vol. 364.
197. iotemplate synthesis of mesoporous iron phosphomolybdate supported on silica with enhanced photocatalytic property. L. Yue, J. Guo, Q. Yang, X. Luo, J. Lian, J. Yang, L. Wang. 225-227, s.l. : *Materials Letters*, 2015, Vol. 157.
198. Improved visible-light-driven photocatalytic activity of CeO₂ microspheres obtained by using lotus flower pollen as biotemplate. J. Qian, Z. Chen, C. Liu, X. Lu. 27 -33, s.l. : *Materials Science in Semiconductor Processing*, 2014, Vol. 25.
199. Synthesis and characterization of bioinspired hierarchical mesoporous TiO₂ photocatalysts. Z. He, W. Que, Y. He. 136-139, s.l. : *Materials Letters*, 2013, Vol. 94.
200. Treated rape pollen: A metal-free visible-light-driven photocatalyst from nature for efficient water disinfection. B. Wang, Z. Jiang, J.C. Yu. 9335 -9344, s.l. : *Journal of Materials Chemistry A*, 2019, Vol. 7.
201. Low-temperature preparation of ZnO-coated pollens and their photocatalytic performance under UV-light . G. Tzvetkov, N. Kaneva, T. Spassov. 785-794, s.l. : *Comptes Rendus de L'Academie Bulgare des SciencesOpen Access*, 2017, Vol. 70.
202. Ultrathin g-C₃N₄ nanosheets coupled with carbon nanodots as 2D/0D composites for efficient photocatalytic H₂ evolution. Q. Liu, T. Chen, Y. Guo, Z. Zhang, X. Fang. 248-258, s.l. : *Applied Catalysis B: Environmental*, 2016, Vol. 193.
203. Study on performance of photocatalyst plasma for air clean . S. Shin, Y. Hong, S. Lee, J. Park, J. Moon. 37-43, s.l. : *4th International Symposium on Heating, Ventilating and Air Conditioning*, 2003.
204. Photocatalytic Purification and Disinfection of Air,. Vorontso, A. 174 -203, s.l. : *RSC Energy and Environment Series*, 2016, Vol. 15.
205. *Environmental science & technology*, . M. Sapiña, E. Jimenez-Relinque and M. Castellote. 11711, 2013, Vol. 47.
206. http://www.plantasyhongos.es/herbarium/htm/Cupressus_arizonica.htm. Herbarium. [Online]
207. http://www.plantasyhongos.es/herbarium/htm/Platanus_hispanica.htm. Herbarium PH. [Online]

208. *Morphology of a TiO₂ Photocatalyst (Degussa, P-25) Consisting of Anatase and Rutile Crystalline Phases.* . Teruhisa Ohno, Koji Sarukawa, Kojiro Tokieda, Michio Matsumura. 82-86, s.l. : *Journal of Catalysis*, 2001, Vol. 203.
209. SEM EDS. [Online] <http://quimica.unab.cl/wp-content/uploads/2014/10/construccion.gif>.
210. XPS. [Online] http://www.aecientificos.es/empresas/aecientificos/articulo_feliu.pdf.
211. FTIR Univ. Rey Juan Carlos . [Online] <http://www.labte.es/index.php/es/2013-11-03-19-54-23/tecnicas-espectroscopicas/ensayos-mediante-ft-ir>.
212. *Evaluation of pollen viability by enzymatically induced fluorescence: intracellular hydrolysis of fluorescein diacetate.* Heslop-Harrison J, Heslop-Harrison Y. 115-120 , s.l. : *Stain Technology Journal*, 1970, Vol. 45.
213. *The evaluation of pollen quality, and a further appraisal of the fluorochromatic (FCR) test procedure.* Heslop-Harrison J, Heslop-Harrison Y, Shivanna KR. 367-375. , s.l. : *Theoretical and applied genetics*, 1984, Vol. 67.
214. *Standardization of the fluorochromatic reaction test to assess pollen viability.* Pinillos, V and Cuevas, J. 15-21, s.l. : *Biotechnic & Histochemistry* , 2008, Vol. 83.
215. *Membrane properties of living mammalian cells as studied by enzymatic hydrolysis of fluorogenic esters.* . Rotman, B., Papermaster, B.W. 134-141., s.l. : *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1966, Vol. 55.
216. *Effective new technologies for the assessment of compliance with the allast water management convention.* Schillak, L. 2014.
217. Zeta meter. [Online] <http://www.zeta-meter.com/basics.html>.
218. Curso zeta meter. [Online] <http://www.zeta-meter.com/5min.pdf>.
219. <http://diccionario.raing.es/es/lema/método-de-la-gota-sésil>. Real Academia Ingeniería. [Online]
220. TENSÍMETRO DIGITAL PARA MEDIR ÁNGULOS DE CONTACTO LÍQUIDO-SÓLIDO. . Solano, J., Lima, F., Alonso, E., Rodríguez, J.M., Tejero, J.M.,. s.l. : MEMORIAS DEL XV CONGRESO INTERNACIONAL ANUAL DE LA SOMIM, 2009.
221. A SPATIAL EXTENSION OF CIELAB FOR DIGITAL COLOR IMAGE REPRODUCTION . Zhang, X., Wandell, B.A.,. 61 -63, s.l. : *Journal of the Society for Information Display*, 2012, Vol. 5.
222. *Cross-modal correspondence between vibrations and colors.* Delazio, A., Israr, A., Klatzky, R.L. s.l. : *IEEE World Haptics Conference (WHC)*, 2017.

CAPITULO 4: Control de los niveles de polen en el aire: ¿Puede la fotocatalisis heterogénea ayudar?

ENVIRONMENTAL
Science & Technology



Article
pubs.acs.org/est

1 Controlling the Levels of Airborne Pollen: Can Heterogeneous 2 Photocatalysis Help?

3 M. Sapiña, E. Jimenez-Relinque, and M. Castellote*

4 Institute of Construction Science "Eduardo Torroja" IETcc, CSICC/Serrano Galvache, 4 Madrid, 28033 Spain

5 **ABSTRACT:** Airborne pollen is a worldwide problem because is a very
6 important allergenic agent; it can be altered only by certain micro-
7 organisms and by some oxidizers, such as reactive oxygen species (ROS).
8 On the other hand, heterogeneous photocatalysis (HPC) arose as a
9 promising technology for reducing the level of contaminants in the air,
10 based on their degradation by the production of ROS. In this paper, study
11 of the feasibility of HPC to diminish the counts of pollen is undertaken.
12 The research has been carried out at different levels, from solutions to
13 mortar specimens with the evidence that HPC is able to reduce the
14 amount of pollen grains. This is a major breakthrough that opens the door
15 to a whole field of research, already full of gaps, whose implications could
16 be quite controversial.



En este capítulo se presenta con detalle el planteamiento, procedimiento, resultados y discusión correspondientes al OP1: Estudio de la viabilidad de la fotocatalisis heterogénea como tecnología de degradación/eliminación de granos de polen.

4.1. PARTE EXPERIMENTAL

4.1.1. Materiales

Fotocatalizador

El TiO₂ se obtuvo de Degussa (P25, tamaño de partícula primaria de 30 nm, relación de anatasa / rutilo 80:20). Este catalizador fue elegido ya que se considera como material de referencia la mayoría de los estudios de fotocatalisis.

Tipos de polen

Se eligieron dos tipos de polen debido a su disponibilidad, características muy diferentes y poder alergénico: el primero de la familia Platanaceae, llamado Platanus Hispanica, y el otro de la familia Pinaceae, llamado Cedrus Atlantica. Los granos de polen se recolectaron directamente de la rama de la planta en la época de floración en la ciudad de Madrid, España. El polen de Platanus es muy alergénico, presenta una gran incidencia durante marzo y abril, y es muy común en la Comunidad de Madrid. Los granos de polen son pequeños (15-20µm), son apolares con simetría radial y una pared de exina alrededor de 1.5-2µm. Los granos de polen de Cedrus Atlantica se pueden encontrar en el aire de Madrid de marzo a julio; son más grandes (80-100 µm), heteropolares, de simetría bilateral y con una pared de la exina más gruesa (2-4 µm).

Mortero.

El mortero se preparó con cemento blanco enriquecido con TiO₂ y arena silíceas.

Fuente de luz para experimentos de fotocatalisis.

Lámpara Philips Actinic BL 15W/10 SLV, con fotones en la región espectral entre 350 y 400 nm con un máximo de 360 nm. La intensidad de irradiación era de 10W/m², que se controló usando un radiómetro Delta Ohm 2102.1 con un sensor UVA LP471.

4.1.2. Diseño experimental

- Estudio preliminar: Evaluación del efecto de los radicales hidroxilo, generados a través de la reacción de Fenton, en los granos de polen.
- Ensayos fotocatalíticos en tres escalas diferentes: en solución, sobre un soporte de vidrio y sobre mortero fotocatalítico.

Estudio preliminar: evaluación del efecto de los radicales hidroxilo. Para la producción de radicales hidroxilo, se usó la reacción clásica de Fenton ($\text{Fe}^{+2} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^- + \text{HO}\cdot$ (12)). En condiciones de laboratorio, el polen simple (5 mg) se suspendió en 5 ml de agua destilada con la adición de 5 mg de heptahidrato de sulfato ferroso ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) como fuente de hierro. La reacción se inició mediante la inyección de 500 μL de H_2O_2 (30%, v/v). Después de 10 minutos, se analizó el polen para autofluorescencia usando un espectrofotómetro de fluorescencia (longitud de onda de excitación 348 nm, longitud de onda de emisión 380-800 nm). La autofluorescencia proporciona una medición indirecta de la viabilidad y la integridad de la pared del polen (13-15).

Ensayos fotocatalíticos en solución: La metodología seguida consistió en analizar 4 casos diferentes etiquetados como A, B, C y D: se suspendieron 0,05 g de polen en 50 ml de agua destilada. Se tomaron 5 mL de la suspensión para el A simple y 5mL para la muestra C en muestras duplicadas. En la suspensión restante, se añadieron 75 mg de TiO_2 P25 y se tomaron muestras de 5 ml para las pruebas B y D. Las muestras A y B no se expusieron a la luz. Las muestras C y D siguieron un tratamiento con luz UV en diferentes momentos: 24 h, 48 h y 1 semana. Después del tratamiento, parte de la muestra se conservó y el resto se centrifugó durante 1 hora a 4000 rpm para analizar el líquido y las partes sólidas de forma independiente.

Ensayos fotocatalíticos sobre un soporte de vidrio: Se preparó una suspensión hecha de 125 mg del fotocatalizador P25 en 50 ml de agua destilada. 2 mL de la suspensión se colocaron en un portaobjetos de vidrio. Una vez seco, se colocaron 2mg de polen en la superficie del fotocatalizador y el portaobjetos se iluminó durante 48 horas y 1 semana. También se prepararon muestras de referencia sin fotocatalizador para realizar el efecto de la luz natural.

Ensayos fotocatalíticos en mortero fotocatalítico: El mortero se preparó según las normas UNE-EN 196-1 (UNE-EN 196-1) y UNE-EN 197-1 (UNE-EN 197-1). La relación agua/cemento fue 0.50. El mortero se moldeó en placas de Petri con un diámetro de 90 mm y una altura de 16 mm. El mortero fresco se almacenó durante 1 día a $> 95\%$ de HR y $23 \pm 2^\circ\text{C}$ y luego se curó bajo agua durante 28 días dentro de la placa de Petri.

5ml de la suspensión utilizada en los "experimentos de solución" para las muestras A y C se colocaron directamente sobre el mortero. Una vez seco, se iluminó durante 48 horas a 10 W/m^2 , manteniendo la mitad de la porción cubierta de luz.

La evaluación de los resultados, además de la inspección visual, se ha realizado midiendo el color y el brillo de acuerdo con el espacio de color CIELAB mediante un espectrofotómetro. CIELAB es un modelo cromático utilizado normalmente para describir todos los colores que el ojo humano puede percibir. Los tres parámetros en el modelo representan la luminosidad del color (L^* , $L^*=0$ produce negro y $L^*= 100$ indica blanco), su posición entre rojo y verde (a^* , los valores negativos indican verde, mientras que los valores positivos indican rojo), y su posición entre amarillo y azul (b^* , los valores negativos indican azul y los valores positivos indican amarillo).

4.1.3. Técnicas de caracterización.

DRX. La difracción de rayos X se llevó a cabo usando un Bruker D8 Tiger con vehículo de monocristal de Si.

SEM. Las mediciones de microscopía electrónica de barrido se realizaron con un microscopio Hitachi S-4800. Esta es una emisión de campo SEM, con una aceleración de electrones entre 500 V y 30 KV. El microanálisis se llevó a cabo con detector de Si, XFlash Detector 5030, Bruker.

Potencial zeta. La evolución del potencial zeta, determinada en suspensiones diluidas para ambos tipos de polen, con y sin catalizador de titanio, se ha llevado a cabo usando un medidor zeta comercial (ZetaMeter 3.0+, ZetaMeter Inc. Nueva York). Se analizaron suspensiones de polen en agua destilada a una relación sólido/líquido de 0,05g/50 ml y 0,01g/100 ml de agua en el caso del P25. Se añadieron cantidades crecientes de HCl 0,01N y NaOH 0,1M a las suspensiones con el fin de evaluar la influencia del pH en los valores

del potencial zeta.

Microscopía. La microscopía se llevó a cabo mediante el uso de un equipo Eclipse Nikon E600.

Fluorescencia. Las medidas de fluorescencia se realizaron usando un espectrofotómetro de fluorescencia LS55.

La viabilidad del polen se ha estimado usando la tinción de diacetato de fluoresceína (FDA). Esta reacción fluorocromática produce fluorescencia que resulta de la presencia de la esterasa activa y una membrana plasmática intacta, ambas necesarias para la viabilidad de una célula (10). Los granos de polen viables exhibieran una fluorescencia verde brillante, y los granos no viables emitirán un bajo nivel de fluorescencia. En las pruebas de la FDA, se disolvieron 0,6mg de diacetato fluorescente y 0,51g de sacarosa en 3ml de cada uno simple (control y tratamiento fotocatalítico en solución).

Los espectros de fluorescencia se observaron después de 24 horas de incubación a temperatura ambiente usando un espectrofotómetro de fluorescencia LS55 (longitud de onda de excitación 450 nm, longitud de onda de emisión 480-680 nm).

Las mediciones de autofluorescencia se han llevado a cabo a una longitud de onda de excitación de 348 nm y una longitud de onda de emisión de 380 a 800 nm.

4.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.2.1. Caracterización

Tamaño y morfología de los granos de polen . Las muestras de polen se caracterizaron en tamaño y morfología por SEM. Como se puede ver en la Figura 4.1, como se esperaba, el tamaño de las partículas fue muy diferente: los granos de platanus tenían alrededor de 20µm y los cedrus eran de 80 µm y exhibían flotadores laterales.

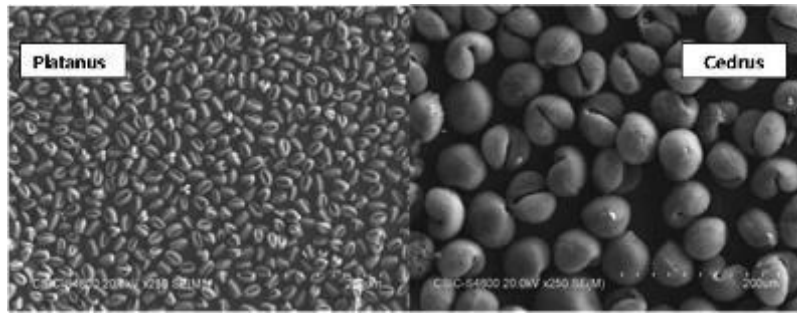


Figura 4.1. Morfología del Polen.

Mediciones microelectroforéticas. La evolución del potencial de zeta para ambos tipos de polen, con y sin catalizador de titanio, se representa en la Figura 4.2, junto con los valores de potencial zeta obtenidos para una suspensión de P25 simple.

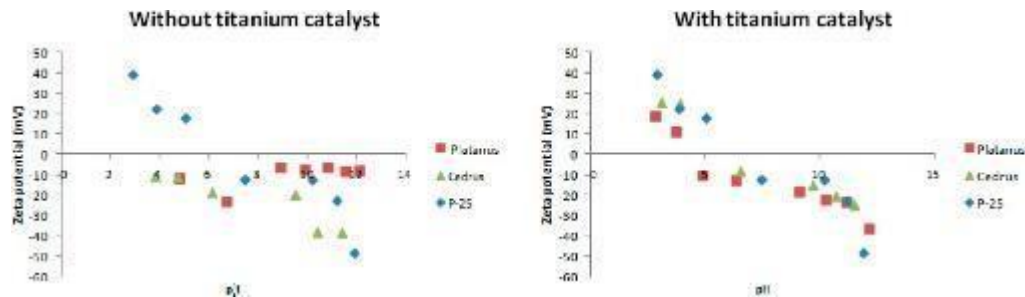


Figura 4.2. Potencial de Zeta obtenido en mediciones microelectroforéticas para una suspensión simple de P25 y para ambos tipos de polen, con y sin catalizador de titanio.

Con respecto a las muestras de polen sin catalizador, se puede decir que los valores de potencial zeta son negativos para todo el rango de pH que se comporta de diferente manera, los valores de potencial zeta para cedrus se vuelven más negativos al aumentar el pH del sistema. El comportamiento de los granos de platanus fue bastante diferente, con un potencial zeta casi independiente del pH que varía en valores alrededor de -5 y -10mv, con la excepción del pH neutro, con un potencial zeta que alcanza valores de -23 mv. La tendencia observada para P25 simple es similar a la descrita previamente para cedrus con una inversión del potencial zeta a pH alrededor de 6.

Cuando hay P25 presente en la suspensión, solo se puede distinguir un tipo de coloide en el microscopio y se comporta como el P25 solo. Por lo tanto, parece que cuando el polen entra en contacto con el fotocatalizador, el primero se coloca alrededor de los granos de polen cubriéndolos; el TiO₂ interactúa con los granos de polen y parece formar aglomerados

que lo envuelven. El mecanismo de esta afinidad todavía no se entiende bien, ya que ocurre en todo el rango de pH, incluso en la zona alcalina, donde ambas especies tienen potenciales zeta negativos.

4.2.2 Estudio preliminar.

En la Figura 4.3 se representan los espectros de fluorescencia de todos los reactivos usados en la reacción de Fenton, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y H_2O_2 .

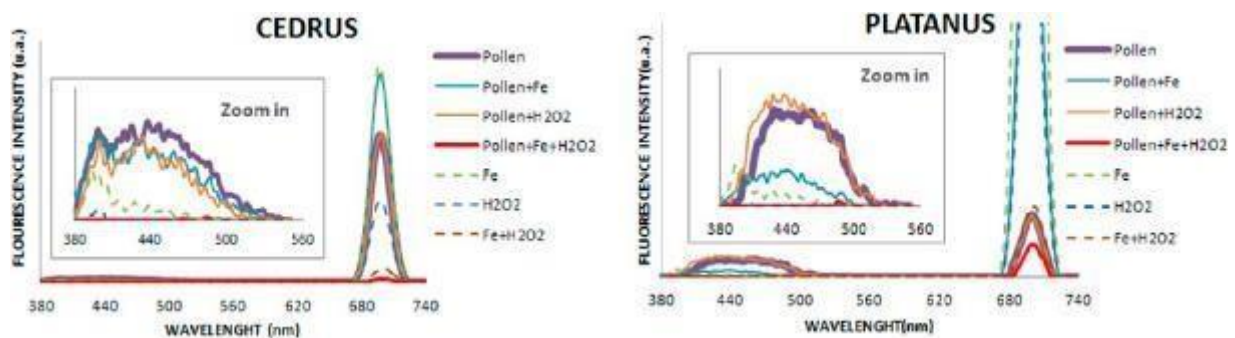


Figura 4.3. Espectros de fluorescencia del estudio preliminar (reacción de Fenton).

En los experimentos de control, se confirmó que la inactivación del grano de polen no es significativa para el H_2O_2 , pero la adición de hierro férrico provocó cambios en los valores de fluorescencia que podrían estar asociados a la difusión y a las reacciones de Fenton oscuras intracelulares (16,17).

En el proceso de Fenton, la autofluorescencia se redujo visiblemente o incluso se eliminó. A partir de la intensidad de los espectros, se ha determinado la reducción de fluorescencia aproximada del polen, que es del 99% y 77% para cedrus y platanus, respectivamente. Por lo tanto, los resultados obtenidos respaldan el hecho de que cuando el polen está expuesto a radicales hidroxilo, el daño producido a los granos de polen podría ser semicuantificado como una disminución en la intensidad de fluorescencia.

4.2.3. Polen en solución

Con respecto a los experimentos en solución, el primer paso que se debe hacer es agregar el fotocatalizador a la solución de polen, el polen se expande como lo hace el TiO_2 , como si hubiera más polen (casos A y B en la Figura 4.4). Después de los tratamientos, la inspección

visual de las muestras indica que después de la irradiación del polen junto con el fotocatalizador, hay una pérdida total del color amarillo del polen (caso D). Cuando el polen se presentó solo a la luz sin fotocatalizador (caso C) no se observaron diferencias en relación con el caso sin irradiación (A). La comparación de los diferentes casos, para platanus, después de 24h de tratamiento, para los casos C y D, se da en la Figura 4.

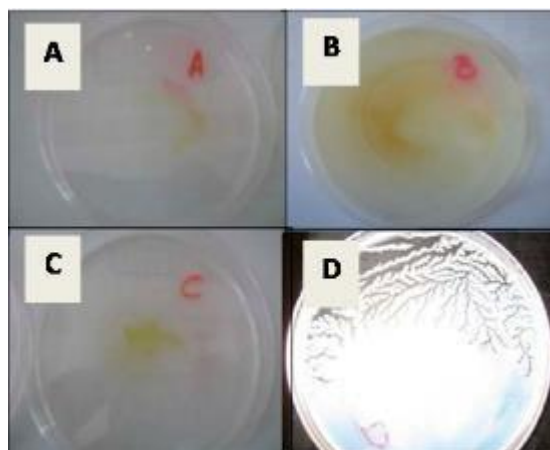


Figura 4.4. Imagen comparativa de los diferentes casos de polen (platanus) en solución. (A) pólen + H₂O; (B) Pólen + H₂O + P25; (C) Pólen + H₂O + UV; (D) Pólen + H₂O + P25 + UV.

En el caso del cedrus, la viabilidad después del tratamiento se ha estimado utilizando la tinción de diacetato de fluoresceína (FDA) en las suspensiones tratadas antes de la centrifugación. Los resultados, después de 48h de proceso fotocatalítico, se dan en la Figura 4.5. En primer lugar, se puede observar que hay una pequeña disminución en la intensidad de fluorescencia del polen debido a la exposición a la luz ultravioleta (caso C).

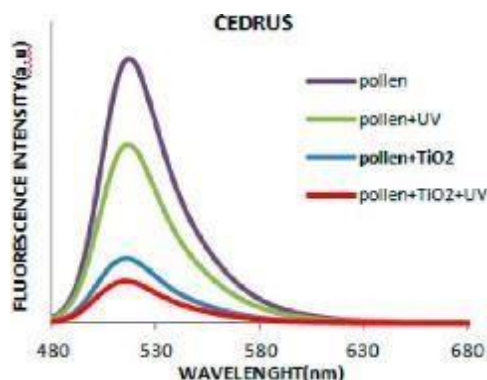


Figura 4.5. Viabilidad del polen: test FDA.

Tabla 4.1 Cuantificación de la reducción de color por el modelo cromático de CIELAB

		platanus		cedrus	
		D	B	D	B
before the treatment	L	13,45	15,12	88,54	87,18
	b	14,06	12,6	22,74	27,39
after the treatment	L	92,38	89,13	91,83	89,22
	b	4,57	11,23	7,06	19,25

Tabla 4.2 Cualificación, semicuantificación y cuantificación de los resultados

		techniques	platanus	cedrus
characterization		SEM	20 μm	80 μm lateral floats
		zetameter	zeta potential (-); wrapping of grains by TiO_2	
preliminary study		Fenton	affected by ROS reduced $\cong 77\%$	affected by ROS reduced $\cong 99\%$
pollen in solution	liquid + solid	viability		decreased $\cong 83\%$
	solid	DRX	only peaks from TiO_2 ; characteristic peaks of pollen points disappeared	
on microscope slide		SEM		reduced $\cong 85\%$
		microscopy		reduced $\cong 99\%$
on mortar		CIELAB	more luminosity decreased the yellowish color $\cong 67\%$	more luminosity decreased the yellowish color $\cong 69$

Esto sugiere que la luz ultravioleta puede dañar la integridad de la membrana externa, y luego reduce la viabilidad del polen. Investigaciones previas indicaron que el polen podría ser sensible a la radiación UV-B (18). Lo que es sorprendente es que hubo una disminución mucho más significativa en la viabilidad del polen cuando se expuso a TiO_2 sin luz UV (75%) (caso B). Estos resultados están de acuerdo con los del potencial zeta, ya que podrían deberse a la aglomeración de partículas de TiO_2 que podrían cubrir al menos parcialmente las membranas de polen. El daño de las membranas por partículas de TiO_2 ha sido reportado en otros estudios con bacterias E-coli (19). Sin embargo, la extensión de los efectos de las nanopartículas de titania en la oscuridad depende de la concentración de fotocatalizador (20).

Cuando el tratamiento fotocatalítico fue completo (caso D), los resultados mostraron una disminución mejorada de la viabilidad del polen hasta un 83%. El efecto de los dos estresores (TiO_2 y luz UV) se incrementó cuando actuaron juntos.

Los patrones de DRX del polen y los sólidos resultantes después de la centrifugación para

los casos B y C se dan en la Figura 4.6 para platanus y cedrus. Para ambos tipos de polen, cuando se agregó la fotocatalisis, sus picos característicos desaparecieron, solo teniendo en cuenta las fases de TiO_2 anatasa y rutilo, del P25. Por lo tanto, no se encontraron diferencias significativas entre los casos B y D.

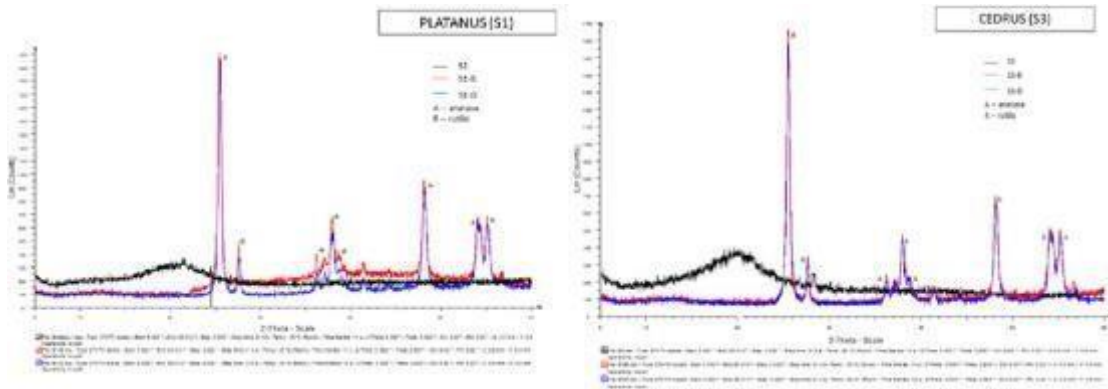


Figura 4.6. Patrones de DRX de platanus y cedrus. Líneas negras: granos de polen, líneas rojas: casos B; líneas azules, casos D.

Al observar las fases sólidas correspondientes a los casos B y D por SEM, se comprobó que el polen casi desapareció en los casos D después de 24 h de tratamiento, notándose que se pudieron ver más granos de polen en los casos B. La Figura 4.7 muestra un ejemplo de cedro después de 24 h.

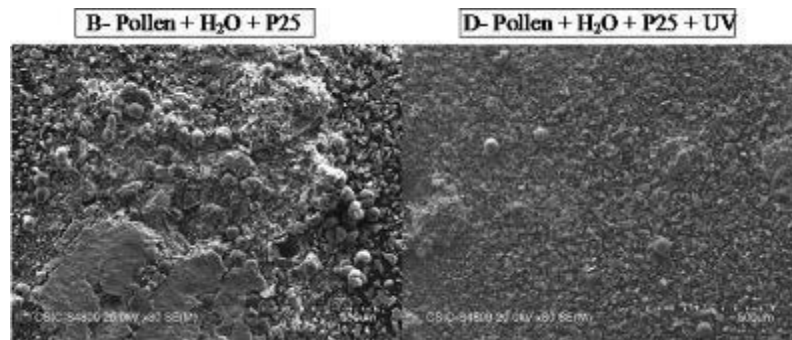


Figura 4.7. SEM de solución que contiene polen (Caso B) (Cedrus) en presencia de TiO_2 en la oscuridad y (Caso D) de polen después de 24 h de UV en presencia de TiO_2 .

4.2.4. En el soporte de cristal

Un acercamiento al desempeño de la fotocatalisis en el polen sobre una superficie sólida, que es mucho más representativa de los materiales de construcción, ha sido seguido por microscopía óptica, al contar los granos de polen en un área determinada en el foco. En la parte superior de la Figura 4.8 se presentan los casos A y C para cedrus en los que no hay

fotocatalizador y el polen se coloca en el portaobjetos de vidrio. De ellos, se deduce que, de acuerdo con los experimentos en solución, la luz UV sola no parece afectar los granos de polen.

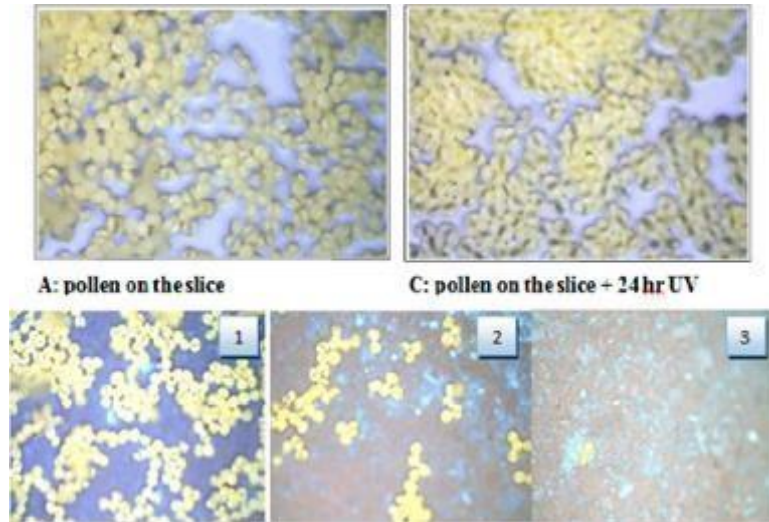


Figura 4.8. Evaluación del efecto de la luz UV en los casos A y C (sin TiO_2), y B y D (con TiO_2).

Los casos B y D se presentan en la parte inferior de la Figura 44, donde, sin lugar a duda, la disminución en el conteo de granos de polen es clara a lo largo de la prueba. Después de 24 horas, menos de un cuarto de los granos están presentes y han desaparecido casi por completo después de una semana bajo irradiación.

4.2.5. En mortero

Los resultados de los experimentos fotocatalíticos directamente en mortero (casos B y D) se presentan en la Figura 4.9, donde se puede ver claramente, aparte de la diferente distribución de los dos pólenes en los especímenes de mortero, en el caso D, que se ha iluminado, muestra una desaparición visual del color amarillo del polen.

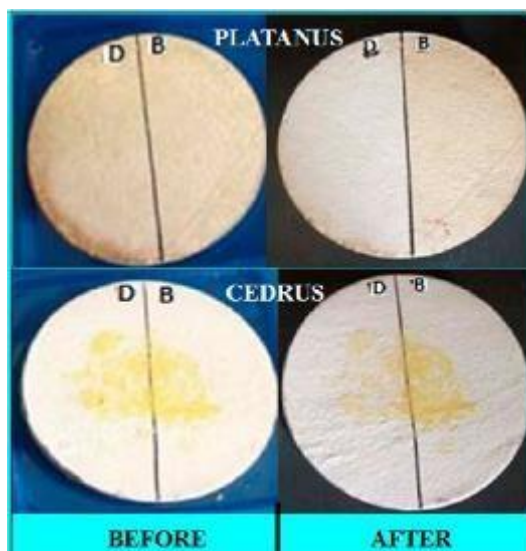


Figura 4.9. Comparación de los casos B y D en el mortero.

La cuantificación de esta disminución se ha realizado a través del modelo cromático CIELAB, midiendo las coordenadas L(brillo) y b(amarillo). Los resultados se dan en la Tabla 3, donde se puede observar que el brillo aumenta para ambos pólenes, principalmente en el caso del platanus, pero el más representativo es el parámetro b, cuyos valores positivos indican el amarillo. Se puede observar que la disminución es significativa en ambos casos D para este parámetro, lo que indica la pérdida de la intensidad en el color amarillo.

Es importante considerar que el pH del mortero es alrededor de 12.5, mientras que el pH de la capa de catalizador en las láminas de vidrio es neutral. Entonces, la degradación parece tener lugar en todo este rango de pH. Por lo tanto, teniendo en cuenta los resultados obtenidos en todos los experimentos para los cuales es posible la calificación, semicuantificación y cuantificación, como se presenta en la Tabla 2, se puede decir que la fotocatalisis con TiO_2 es capaz de reducir fuertemente los granos de polen, semicuantificándolo a través de la viabilidad de polen por fluorescencia, recuento de granos, color y brillo. No ha sido posible atribuir esta reducción al efecto simple de la iluminación UV. Este es un gran avance, cuyas implicaciones podrían ser bastante controvertidas y abre todo un campo de investigación.

4.3. CONCLUSIONES PARCIALES OP1

Se caracterizaron dos especies de polenes mostrando partículas muy diferentes. Se estudió el efecto de la fotocatalisis (antes de la irradiación UV y después) sobre la degradación del polen para el *Cupressus Arizonica* y *Platanus Hybrida*, respectivamente.

Tras el estudio de FDA se observó una reducción de la intensidad de fluorescencia tras la exposición a la luz UV, lo que sugiere que la luz UV tiene un efecto significativo sobre la integridad de la membrana, lo que demuestra que hay una reducción de la viabilidad del polen.

La Difracción de Rayos X se observa que los picos característicos del polen desaparecen, quedando únicamente los representativos del P25. Gracias al microscopio óptico se visualiza como los granos de polen desaparecen prácticamente en su totalidad tras sufrir el efecto de la fotocatalisis heterogénea. Por último, la técnica de CIELAB proporciona un decrecimiento del color amarillo característico del polen.

En definitiva, las diferentes técnicas permiten estudiar la viabilidad de la fotocatalisis heterogénea con TiO_2 como técnica de degradación/eliminación de granos de polen y valorar la continuación de la investigación como un campo con proyección de desarrollo.

REFERENCIAS CAPÍTULO 4

- [1] Van Moerbeke, D. Allergic Diseases As A Public Health Problem In Europe; European Allergy White Paper; The UBC Institute of Allergy, 2004.
- [2] Goldstein, S. Destruction of pollen by Phycomycetes. *Ecology* 1960, 41, 543–545.
- [3] Elsik, W. C. Biologic degradation of fossil pollen grains and spores. *Micropaleontology* 1966, 12, 515–518.
- [4] Elsik, W. C. *Microbiological Degradation of Sporopollenin*; Brooks, J., Ed.; Academic Press, 1971; pp 480511.
- [5] Holloway, R. Preservation and experimental diagenesis of the pollen exine. PhD Dissertation. Texas A&M University (Botany), College Station, TX, 1981.
- [6] Feder, W. A. Reduction in tobacco pollen germination and tube elongation induced by low levels of ozone. *Science* 1968, 160, 1122.
- [7] Feder, W. A. Bioassaying for ozone with pollen system. *Environ. Health Perspect.* 1981, 37, 117–123.
- [8] Feder, W. A.; Shrier, R. Combination of u.v.-B. and ozone reduces pollen tube growth more than either stress alone. *Environ. Exp. Bot.* 1990, 30 (4), 451–454.
- [9] Mumford, R. A. Ozone-induced changes in corn pollen. *Environ. Sci. Technol.* 1972, 6, 427–430.
- [10] Pasqualini, S.; Tedeschini, E.; et al. Ozone affects pollen viability and NAD(P)H oxidase release from *Ambrosia artemisiifolia* pollen. *Environ. Pollut.* 2011, 159 (10), 2823–2830.
- [11] Fujishima, a.; Honda, K. The “Honda-fujishima effect” is a well-known chemical phenomenon closely related to photocatalysis, and the paper published in *Nature* in 1972 had undoubtedly promoted research on photocatalysis but was not be an origin of heterogeneous photocatalysis in the bibliographic sense. *Nature* 1972, 238, 37.

- [12] Brillas, E.; Sires, I.; Oturan, M.A. Electro-Fenton process and related electrochemical technologies based on Fenton's reaction chemistry. *Chem. Rev.* 2009, 109, 6570–6631.
- [13] Yeloff, D.; Hunt, C. Fluorescence microscopy of pollen and spores: A tool for investigating environmental change. *Rev. Palaeobot. Palynol.* 2005, 133 (3–4), 203–219.
- [14] Mitsumoto, K.; Yabusaki, K.; et al. Classification of pollen species using autofluorescence image analysis. *J. Biosci. Bioeng.* 2009, 107 (1), 90–94.
- [15] O'Connor, D. J.; Iacopino, D.; et al. The intrinsic fluorescence spectra of selected pollen and fungal spores. *Atmos. Environ.* 2011, 45 (35), 6451–6458.
- [16] Spuhler, D.; Rengifo-Herrera, J. A. s.; et al. The effect of Fe²⁺, Fe³⁺, H₂O₂ and the photo-Fenton reagent at near neutral pH on the solar disinfection (SODIS) at low temperatures of water containing *Escherichia coli* K12. *Appl. Catal., B* 2010, 96, 196–141.
- [17] Moncayo-Lasso, A.; Mora-Arismend, L. E.; et al. The detrimental influence of bacteria (*E. coli*, *Shigella* and *Salmonella*) on the degradation of organic compounds (and vice versa) in TiO₂ photocatalysis and near-neutral photo-Fenton processes under simulated solar light. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2012, 11, 821.
- [18] Torabinejad, J.; Caldwell Martin, M.; et al. Susceptibility of pollen to UV-B radiation: An assay of 34 taxa. *Am. J. Bot.* 1988, 85 (3), 360–369.
- [19] Huang, Z.; Maness, P.-C.; et al. Bactericidal mode of titanium dioxide photocatalysis. *J. Photochem. Photobiol., A* 2000, 130 (2–3), 163–170.
- [20] Pigeot-Remón, S.; Simonet, F.; et al. Photocatalysis and disinfection of water: Identification of potential bacterial targets. *Appl. Catal., B* 2011, 104 (3–4), 390–398.

CAPITULO 5: Degradación del polen en materiales nanofuncionalizados

Research Article



Received: 23 December 2015

Revised: 10 February 2016

Accepted article published: 18 February 2016

Published online in Wiley Online Library: 29 March 2016

(wileyonlinelibrary.com) DOI 10.1002/jctb.4932

Degradation of pollen on nanofunctionalized photocatalytic materials

Maria Sapiña,^a Eva Jimenez-Relinque,^a Roman Nevshupa,^a Elisa Roman^b and Marta Castellote^{a*}

Abstract

BACKGROUND: Photocatalytic degradation of pollen components on titanium dioxide nanofunctionalized materials was studied for gymnosperm (*Cupressus Arizona*) and angiosperm (*Platanus Hybrida acerifolia*).

RESULTS: Scanning electron microscopy revealed structural degradation of both exine and intine strata. Fourier-Transformed Infrared Spectroscopy was applied to characterize chemical modification of the pollen grains subjected to photocatalysis. Study of physical properties modification for the pollen extracts was carried out through spectrophotometry and wettability tests. It was found that photocatalysis resulted in significant decrease of C–H and C–O groups and a moderate decrease in C=O. Also, chromaticity values of the pollen extract after photocatalysis tended to approach those of the substrate. Contact angle of water dispersion of the pollen extract was not altered by photocatalysis, but adherence of the components of the pollen extract to Si substrate considerably decreased.

CONCLUSIONS: Taken together these results provided solid evidence for the degradation of all pollen components including exine and intine enzymes on nanofunctionalized photocatalytic materials.

© 2016 Society of Chemical Industry

Keywords: photocatalysis; pollen allergen; *Cupressus Arizona*; *Platanus Hybrida*; SEM; spectrophotometry; contact angle

En este capítulo se presenta con detalle el planteamiento, procedimiento, resultados y discusión correspondientes al OP2: Evaluación del rendimiento y mecanismos de degradación/eliminación de los granos de polen en función del tipo de especie vegetal.

Para ello, se han estudiado granos completos de polen no hidratados sometidos a fotocatalisis mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) y espectrometría de infrarrojo de transformada de Fourier (FTIR). Las técnicas empleadas en esta parte del estudio fueron la espectrofotometría y el método de la gota sécil. El polen estudiado en este trabajo fue de dos especies *Cupressus Arizonica* (Cup.) y *Platanus Hybrida* (acerifolia) (Pla.) pertenecientes a grupos de gimnospermas y angiospermas de plantas, respectivamente. Además de la comprensión de los mecanismos de degradación fotocatalítica del polen, este estudio proporciona información importante orientada a la aplicación ya que, según la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica, los recuentos anuales de la Cup. y Pla. en 2012 fue de 4.5×10^3 y 1.4×10^4 m⁻³, respectivamente, y considerando que solo la superficie de Madrid es de 6.06×10^8 m² con una superficie pavimentada de 2.2×10^7 m².

5.1 MATERIALES Y MÉTODOS

En este trabajo se han utilizado muestras de granos enteros de polen (PG) de dos especies bien definidas. Algunos de los lotes fueron recolectados en abril de 2012 directamente de árboles ubicados en el jardín botánico del Departamento de Biología Vegetal II de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid, mientras que otros fueron comprados en un laboratorio acreditado (Greerlab). Además, los extractos alergénicos de polen (PAE) comercialmente disponibles de estas dos especies también se adquirieron de los laboratorios de Greerlab. Los PAE se obtuvieron en forma de láminas selladas en botes de vidrio bajo una atmósfera inerte. Las láminas se mezclaron con 2,5 ml de agua extra pura (18 MΩ cm) inmediatamente antes de los experimentos. Para comprender el papel de varios procesos en la descomposición fotocatalítica de PGs cuatro experimentos se llevaron a cabo con granos enteros de polen o PAE. En el primero (I), el polen/PAE no se sometió a ningún tratamiento y se usó como referencia. En el segundo (II), los PG/PAE se irradiaron con UV en un sustrato fotocatalíticamente inerte. En el tercero (III), los PG/PAE se colocaron en un fotocatalizador que no se ha irradiado. Finalmente, en el cuarto experimento (IV) los PG/PAE colocadas sobre un fotocatalizador fueron irradiadas con UV. Estas configuraciones de prueba permiten discriminar el efecto de la fotólisis (II frente

a I), la reactividad química de la PhC no irradiada (III frente a I) y la fotocatalisis (IV frente a III).

Los espectros infrarrojos de los granos de polen, tanto originales como sometidos a fotocatalisis, se midieron usando el método de pellets de KBr. Los gránulos de polen original (no tratado) se prepararon mezclando 1 mg de granos de polen y 300 mg de KBr finamente molido. La mezcla se prensó entonces a 8 toneladas de carga durante 2 minutos al vacío. El polen tratado fotocatalíticamente se obtuvo por irradiación UV de una mezcla de 50 mg de granos de polen con 125 mg de polvo de fotocatalizador. Después de esta prueba, el polen no se separó del fotocatalizador. Se usaron 3,5 mg de esta mezcla para preparar gránulos de KBr de la misma manera que para el polen original.

Para el análisis de SEM, los granos de polen suspendidos en agua se colocaron sobre un sustrato de Al inerte o sobre un sustrato de Al cargado con fotocatalizador (PhC). Se extendió una gota de 30 μl de una suspensión sobre la superficie del sustrato y se secó inmediatamente. Los granos de polen depositados sobre un sustrato inerte se sometieron a las pruebas I y II, mientras que los depositados en un PhC se usaron en los ensayos III y IV. Antes del análisis SEM, las muestras procesadas se recubrieron con una fina película de Au.

En todos los casos, el PhC utilizado fue TiO_2 P25 AEROXIDE® proporcionado por Degussa-Evonik.

La espectrofotometría y el espacio de color CIELAB se usaron para determinar los cambios de color de los PAE depositados sobre los soportes de Al inerte (prueba I y II) o los soportes cargados con PhC (ensayos III y IV) en función de diversos tratamientos. CIELAB es un método de representación del color independiente del dispositivo en un espacio de color tridimensional que corresponde a los valores del triestímulo CIE que el ojo humano puede percibir. Las tres coordenadas representan la luminosidad del color (L^*), su posición entre magenta y verde (a^*) y su posición entre amarillo y azul (b^*) según ISO 11664 -4: 2008 (CIE S 014-4 / E: 2007) (30–32).

La irradiación UV se produjo mediante una lámpara LED que emitía a 365 nm. La irradiancia medida en las muestras fue de 10 W m^{-2} y el flujo de fotones fue de $30.5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. La duración de cada experimento fue de 24 h. Los experimentos se llevaron a cabo

a temperatura ambiente y presión de aire y la humedad relativa del aire estaba en el rango de 30 - 40%.

El cambio de la humectabilidad se estudió utilizando el método de gota sésil (SDM) (33). Este método puede servir como indicador de la modificación de la energía libre de superficie de la solución PAE y su adherencia al sustrato. Para ello, se midió el ángulo de contacto entre una gota de 0,5 μL de las soluciones PAE y una superficie limpia de silicio monocristalino con una capa de óxido hidroxilado natural utilizando un procedimiento estándar (34, 35). Las soluciones PAE se trataron con la PhC en suspensión y se utilizó para el SDM después de filtrar la salida de PhC.

5.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.2.1 Degradación fotocatalítica de PG

Los PGs sometidos a diversos tratamientos se muestran en la Fig. 5.1. Las muestras de SEM se prepararon con una gota de 30 μL de una suspensión de PG en agua extendida sobre un soporte de Al simple y se secó. Para las pruebas con tratamiento, se depositó primero una capa fotocatalítica en una muestra de Al. Una vez seco, se extendió una gota de 30 μL de una suspensión de PG en agua sobre el soporte de muestra de Al cargado con PhC y también se secó.

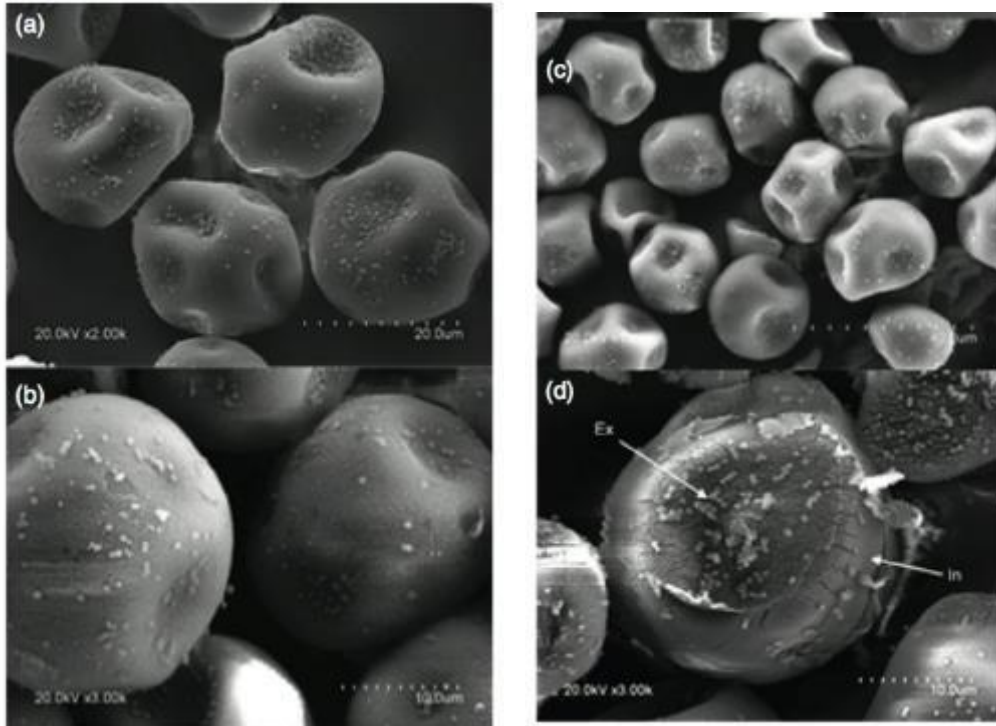


Figura 5.1: Imágenes del microscopio electrónico de barrido del polen de *Cupressus Arizona* bajo diversos tratamientos: (a) sin tratamiento; (b) después de la irradiación UV; (c) después del contacto con el fotocatalizador no activado (sin radiación UV); (d) después de la fotocatalisis. Ex - exina, In - intina.

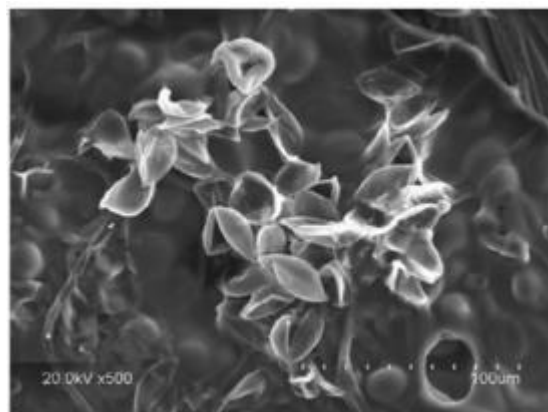


Figura 5.2: Imagen del microscopio electrónico de barrido del grano de polen hidratado de Cup. Se pueden observar estratos de exina rotos por una división lineal en forma de dos válvulas. Los círculos más oscuros están hinchados por la presión.

Tabla 5.1 Configuraciones

Designation	I	II	III	IV
Configuration	PAE	PAE + UV	PAE/PhC	PAE/PhC + UV

La exposición a la luz ultravioleta de los PG sobre un soporte inerte (figura 5.1b), así como el contacto de los PG con el fotocatalizador no irradiado (figura 5.1c), no tuvieron un efecto significativo sobre los PG, que mantuvieron su origen-forma final (Fig. 5.1a). Aunque después de la irradiación UV se pudo observar una escamación de la exina, generalmente no se modificaron ni la integridad ni la textura superficial de la exina. Por el contrario, los PG sometidos a fotocátalisis se dañaron (Fig. 5.1d). Muchos granos se descompusieron considerablemente. Para los granos restantes, se despegaron grandes partes de la exina, mientras que las escamas restantes de la exina tenían superficies ásperas e irregulares cubiertas con grietas. Además, también se pudo observar cierta degradación de la intina subyacente que se agrietó en varias zonas.

Cuando los PG se humedecen o permanecen en aire húmedo, la exina se rompe por una división lineal que lo divide en dos mitades, mientras que la intina, principalmente su capa media que tiene la naturaleza mucilaginosa fuerte absorbe agua y se hincha (29). La figura 5.2 muestra los PG humedecidos durante 24 h en un experimento separado. El efecto de la fotocátalisis sobre la descomposición del núcleo de polen se analiza en la sección "Degradación fotocatalítica del núcleo de polen".

La descomposición de los PG puede inferirse también desde un análisis comparativo de los espectros FTIR para los PG no tratados y los PG sometidos a fotocátalisis que se muestran en la Fig. 5.3. Espectros FTIR de los granos de polen de Cup. y Pla. involucran bandas de estiramiento simétricas y asimétricas de hidroxilo, alquilo y alqueno (Fig. 5.3(a) y (c)) asociados con cadenas de hidroxialquilo, grupos metoxi y cetona, así como con el enlace éter y ester entre los monómeros (5). Para el Cup. las bandas de alquilo tenían intensidades mucho más altas en comparación con las de hidroxilo. Para el Pla. las bandas de hidroxilo son dominantes. En la región espectral de 900 a 1900 cm^{-1} (Fig. 5.3(b) y (d)) se encontraron varias bandas correspondientes a las vibraciones C-H, C-O, C=C. La asignación tentativa de los picos se da en la Tabla 2. El espectro de Cup. es moderadamente similar a la de Pla. pero difiere en las contribuciones relativas de las bandas de C=O y C-O/C-H. Estas características podrían ser atribuidas a las diferentes composiciones químicas de la angiosperma y gimnosperma esporopolenina (8), más específicamente, a la mayor proporción de grupos aromáticos en la angiosperma Pla. La evidencia de esto proviene de la mayor intensidad de una banda ancha a 3100 cm^{-1} que corresponde a la vibración de estiramiento de C-H en compuestos aromáticos y una banda ancha en el rango de 1650-

1500 cm^{-1} asociada con C=C estiramiento de compuestos fenólicos compuestos (36), C=O en cetonas y ácidos carboxílicos (37), amida II de proteínas (38), etc. en el espectro de Pla. Teniendo en cuenta que el componente aromático de la exina se asocia principalmente con la 2-pirona (6) sustituida con polihidroxiálquilo que tiene un grupo funcional cetona, la mayor proporción de componente aromático se relaciona con la mayor contribución de la banda C=O (39). El pico en 1744 cm^{-1} puede asignarse a la vibración de estiramiento C=O del enlace de ésteres de alquilo de monómeros en una red de biopolíesteres. El pico tenía aproximadamente la misma intensidad para ambos pólenes (Pla. y Cup.), aunque en Pla. el pico está menos resuelto en el componente C adyacente (figura 5.1 b y d). A su vez, la mayor proporción de C-O en la esporopolenina de la gimnosperma podría asociarse con cadenas de hidroxialquilo y, probablemente, con grupos metoxi de unidades de guayacilo y siringilo (40), ya que podrían identificarse algunas características típicas de la lignina en los espectros de polen (41). El pico ancho en la región 1200-1000 cm^{-1} también tenía una cierta similitud con los espectros de heteropolisacáridos tales como galactoglucomanano y arabinogalactorhamnoglucano (42) que pueden asociarse con componentes de la íntina.

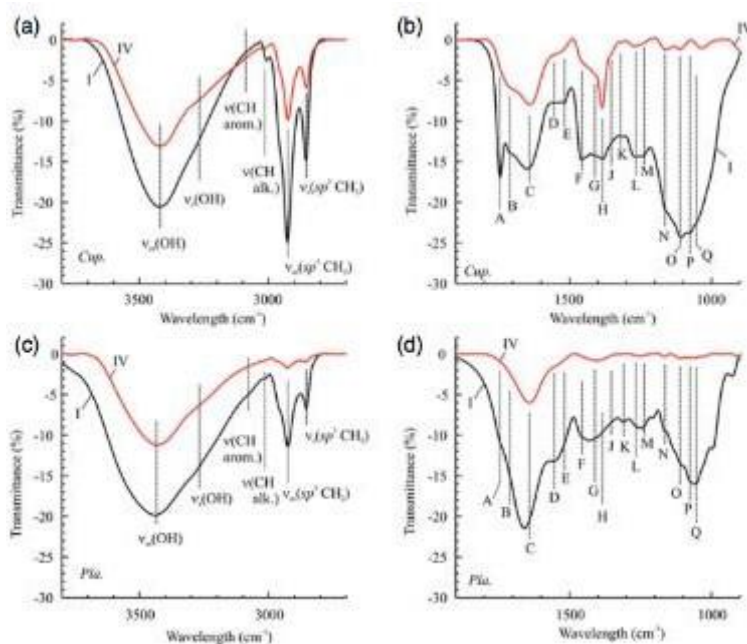


Figura 5.3: Espectros FTIR de granos de polen: (a), (b) Cup. a diferentes tiempos de onda; (c), (d) Pla. a diferentes tiempos de onda. Las curvas I y IV corresponden al PGst no tratado y al PGst sometidos a fotocatalísis, respectivamente.

Los espectros de los PG sometidos a fotocatalísis (trazados rojos en la Fig. 5.3) mostraron una reducción drástica en las intensidades de las bandas C=O y C-H para ambas especies. Especialmente espectacular fue la disminución de las bandas C-O. Para Pla. las bandas de

C-H y C-O casi desaparecieron por completo. Esta disminución en la intensidad puede deberse a la rotura del enlace con la eliminación del monóxido de carbono/dióxido de carbono. Las bandas restantes correspondieron a vibraciones de estiramiento y deformación del grupo hidroxilo y C=O/C=C vibraciones de estiramiento. Esto puede indicar que las cadenas de polihidroxiálquilo son más propensas a la descomposición fotocatalítica o puede llevar a una aromatización parcial de las cadenas de alquilo. La desaparición del pico en la región 1200-1000 cm^{-1} también implica una degradación considerable de la capa expuesta. Estos resultados están en línea con los datos de la literatura (5).

Tabla 5.2 Espectros FTIR

Peak	Wavenumber	Assignment	Reference
A	1744	ν_s (C=O) alkyl ester	41
B	1710	ν_s (C=O) carboxyl, ketone	5,37
C	1650–1660	Complex band due to H_2O absorption, $\nu(\text{C}=\text{C})$ and $\delta(\text{COO}^-)$, $\nu(\text{C}=\text{O})$ ketone conjugated with 2 phenyl, amide I	1,36–38
D	1560	$\delta(\text{C}=\text{C})$ aromatic, $\nu(\text{C}=\text{C})$ alkenyl, amide II protein	36–38
E	1520	$\nu(\text{C}=\text{C})$ aromatic (lignin)	43
F	1460	$\delta(\text{C}=\text{C})$, $\delta(\text{CH}_3, \text{sp}^2 \text{CH}_2)$	43,44
G	1418	$\delta(\text{COO}^-)$	38
H	1383	$\delta(\text{CH})$, $\delta(\text{OH})$ in plane	7
J	1348	$\omega(\text{CH})$	42,45
K	1312	$\delta(\text{CH})$, $\delta(\text{OH})$, amide III	45
L	1267	$\nu(\text{C}-\text{O})$ alkyl-aryl, guaiacyl unit, aliphatic ether, amide III	38,43
M	1211–1219	$\nu(\text{C}-\text{O})$ phenyl, vinyl-alkyl ester, $\nu(\text{C}=\text{O})$ alkyl-aryl	43
N	1167	$\nu(\text{C}-\text{O})$ ester	45
O	1100–1123	$\delta(\text{CH})$ aromatic, guaiacyl	43
P	1073	$\nu(\text{C}-\text{O})$ arom., $\nu(\text{C}-\text{C})$	36
Q	1050	$\nu(\text{C}-\text{O})$ alkyl-aryl	46

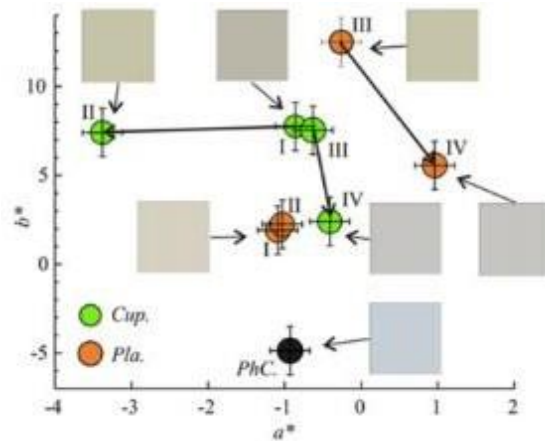


Figura 5.4. Variación de las coordenadas de cromaticidad de la muestra de PAE para Cup. y Pla. después de varias pruebas. L^* está representado por el tamaño de los círculos. Los colores sintetizados correspondientes a las coordenadas de cromaticidad dadas se muestran en cuadrados. El PhC simple se muestra con un círculo negro.

Estos hallazgos son consistentes con el estudio de espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS) de los cambios químicos en los componentes centrales del polen sometidos a fotocatalisis (21). La disminución de C y N en PAE se asoció con la pérdida de materia orgánica, incluidos los polisacáridos y proteínas durante la fotocatalisis.

5.2.2 Degradación fotocatalítica del núcleo de polen

5.2.2.1 Análisis espectrofotométrico

La variación de las coordenadas de cromaticidad de los PAE en diversas pruebas se muestra en la Fig. 5.4. Las coordenadas de cromaticidad de PhC simple también se muestran con un círculo negro. El tamaño de los círculos representa mediante la coordenada L^* . Para los PAE depositados sobre sustratos inertes, la irradiación UV (I \rightarrow II) no tuvo un efecto significativo sobre Pla., Mientras que dio como resultado una disminución de b^* para Cup. Cuando los PAE se colocaron en sustratos cargados con PhC, la irradiación UV condujo a una disminución en a^* para ambas especies (III \rightarrow IV). La variación de las coordenadas de cromaticidad fue hacia el PhC simple, lo que proporciona evidencia adicional de la degradación de los PAE y la posible reducción de la cantidad de orgánicos durante la fotocatalisis. En todos los casos, la variación en L^* fue estadísticamente insignificante con un valor promedio de 79.5 y un error estándar de 0.95. Los colores sintetizados que corresponden a varias coordenadas se muestran en cuadrados en la Fig. 5.4. Estos

resultados contrastan con los datos disponibles en la literatura sobre la degradación térmica del polen (5, 46, 47). Bajo degradación térmica, el color cambió en la siguiente secuencia: amarillo pálido - naranja - marrón - negro que correspondía a variaciones no directas de a^* y b^* , mientras que L^* disminuía gradualmente de 92 a 32. Esta evolución cromática estaba relacionada con las siguientes transformaciones químicas: pérdida de oxígeno que contiene grupos funcionales y un aumento en la proporción relativa de grupos alquilo y alqueno (de amarillo a naranja); pérdida de cadenas alifáticas y formación de anillos aromáticos aislados (de naranja a marrón); formación de unidades aromáticas de múltiples anillos (marrón a negro) (5). En nuestro estudio, el color de los PAE cambió a más blanco o azulado (Fig. 5.5), mientras que FTIR reveló pérdida de grupos alifáticos y aromáticos, así como de oxígeno unido por separado.

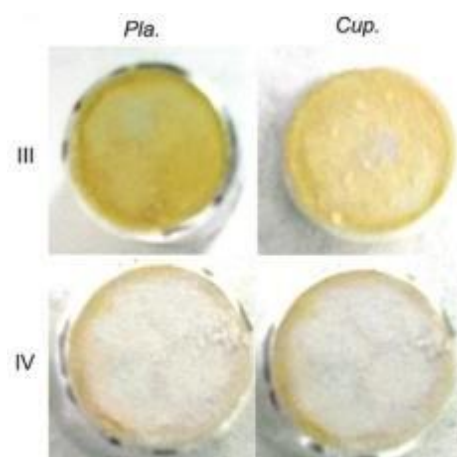


Figura 5.5: Imágenes de PAE en soportes cargados con PhC antes (III) y después de irradiación UV (IV).

5.2.2.2 Método de gota sésil

Los ángulos de contacto (CA) para las soluciones PAE tratadas bajo diversas configuraciones de prueba oscilaron entre 53.9° y 57.7° , muy cerca del CA del agua destilada 57.4° . La variación del CA entre el PAE después de varias pruebas fue estadísticamente insignificante a un nivel de significancia $\alpha = 0.05$. Por lo tanto, se puede concluir que el tratamiento de PAE con luz ultravioleta y PhC no tuvo influencia significativa en la energía superficial. Sin embargo, se observó una variación considerable en la adherencia gota a gota al sustrato para mezclas de agua y PAE tratadas y no tratadas. El PAE no tratado, así como los PAE tratados en las configuraciones de prueba II y III contenían polisacáridos hidratados y proteínas que se adsorbieron en la superficie del

sustrato mediante enlaces de hidrógeno (48, 49). Por lo tanto, la gota no se pudo eliminar agitando el sustrato. Sin embargo, después de la fotocatalisis, una gota podría eliminarse fácilmente mediante agitación (Fig. 5.6). Esto indica que la fotocatalisis condujo a una degradación significativa de los componentes orgánicos poliméricos y a la reducción de la adherencia de los componentes del polen al sustrato.

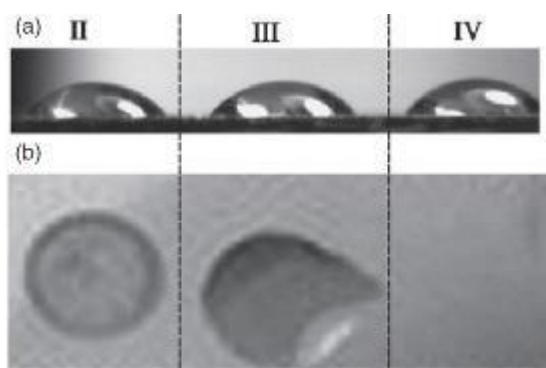


Figura 5.6: (a) Imágenes de gotas de Pla. PAE después de tratamientos bajo prueba configuraciones II, III y IV. En los casos III y IV, el PhC se filtró antes la medida; (b) imágenes de depósitos formados en la superficie a partir de las mismas gotas que en (a) después de agitar el sustrato.

5.2.3 Posibles mecanismos de degradación

La complejidad química y estructural de los granos de polen hace que la identificación de los mecanismos de su degradación fotocatalítica sea una tarea bastante difícil. Sin embargo, algunas conclusiones sobre estos mecanismos se pueden extraer del presente trabajo. Los resultados experimentales sugirieron que la cantidad total de materia orgánica disminuyó durante la fotocatalisis. Lo más probable es que los productos de descomposición fueran CO_2 y NH_3 volátiles en lugar de sales o moléculas orgánicas de bajo peso molecular, como se puede deducir de los espectros infrarrojos y la espectrofotometría. Estos hallazgos están en línea con nuestro trabajo previo donde los productos de descomposición mineral de PAE no pudieron ser identificados por espectrometría de fotoelectrones de rayos X (21). Por lo tanto, considerando que el agua adsorbida y absorbida estaba indudablemente presente en la superficie y en la mayor parte de la orgánica durante la irradiación UV como también se demostró mediante espectros FTIR, los mecanismos más plausibles tienen que estar relacionados con la formación de iones hidroxilo y superóxido (50). Podría esperarse que las reacciones de descomposición fotocatalítica propusieran algunos aminoácidos, péptidos

y carbohidratos, también puede ser válido para los componentes de los granos de polen (15, 27).

5.3 CONCLUSIONES parciales OP2

Se estudió el efecto de la fotocatalisis sobre la degradación de los componentes del polen, incluyendo exina, intina, proteínas alergénicas, protoplastos, etc., sobre materiales fotocatalíticos nanofuncionalizados para gimnosperma y especies de angiospermas: *Cupressus Arizonica* y *Platanus Hybrida* (*acerifolia*), respectivamente. La microscopía electrónica de barrido reveló una degradación estructural insignificante de la exina bajo irradiación con luz ultravioleta y en contacto con un fotocatalizador no irradiado. Sin embargo, después del tratamiento fotocatalítico se observó una degradación grave de los estratos exina e intina. La modificación química de los granos de polen sometidos a fotocatalisis se estudió utilizando espectroscopía infrarroja transformada por Fourier. Mostró una disminución drástica en la intensidad de las bandas correspondientes a las vibraciones C-O y C-H y una disminución moderada de O-H y C=O. El comportamiento de degradación fue bastante similar para ambas especies. Las propiedades físicas de los PAE también cambian significativamente como resultado del tratamiento fotocatalítico. Los valores de cromacidad de los PAE después de la fotocatalisis tienden a aproximarse a los del fotocatalizador simple. El ángulo de contacto de la dispersión de PAE en agua no se alteró mediante fotocatalisis, pero la adherencia de los componentes del extracto de polen al sustrato de Si disminuyó considerablemente. Tomados en conjunto, estos resultados proporcionaron evidencia sólida de la degradación de todos los componentes del polen, incluidas las enzimas exina e intina en materiales fotocatalíticos nanofuncionalizados.

REFERENCIAS CAPÍTULO 5

- [1] Codina R, Crenshaw RC and Lockey RF, Considerations about pollen used for the production of allergen extracts. *J Allergy Clin Immunol Pract* 3:676–682 (2015).
- [2] Focke-Tejkl M, Campana R, Reininger R, Lupinek C, Blatt K, Valent P et al., Dissection of the IgE and T-cell recognition of the major group 5 grass pollen allergen Phl p 5. *J Allergy Clin Immunol* 133:836 – 845.e811.
- [3] Buters J, Prank M, Sofiev M, Pusch G, Albertini R, Annesi-Maesano I et al., Variation of the group 5 grass pollen allergen content of airborne pollen in relation to geographic location and time in season. *J Allergy Clin Immunol* 136:87–95. e86 (2015).
- [4] Elsik WC, Microbiological degradation of sporopollenin, in *Sporopollenin*, ed. by Brooks J, Grant PR, Muir M, Gijzel PV and Shaw G. Academic Press, pp. 480–511 (1971).
- [5] Yule BL, Roberts S and Marshall JEA, The thermal evolution of sporopollenin. *Organic Geochem* 31: 859–870 (2000).
- [6] Lallemand B, Erhardt M, Heitz T and Legrand M, Sporopollenin biosynthetic enzymes interact and constitute a metabolon localized to the endoplasmic reticulum of tapetum cells. *Plant Physiol* 162:616 – 625 (2013).
- [7] Ahlers F, Thom I, Lambert J, Kuckuk R and Rolf W, ¹H NMR analysis of sporopollenin from *Typha Angustifolia*. *Phytochemistry* 50:1095–1098 (1999).
- [8] Hemsley AR, Barrie PJ, Chaloner WG and Scott AC, The composition of Sporopollenin and its use in living and fossil plant systematics. *Grana* 32: 2–11 (1993).
- [9] Mackenzie G, Boa AN, Taboada AD, Atkin SL and Sathyapalan T, Sporopollenin, the least known yet toughest natural biopolymer. *Frontiers in Materials* 2: 66 (2015).
- [10] Bernard S, Benzerara K, Beyssac O, Balan E and Brown Jr GE, Evolution of the macromolecular structure of sporopollenin during thermal degradation. *Heliyon* DOI: 10.1016/j.heliyon.2015.e00034 (2015).

- [11] Bengtsson N and Castellote M, Photocatalytic activity for NO degradation by construction materials: parametric study and multivariable correlations. *J Adv Oxidat Technologies* 13:341–349 (2010).
- [12] Bengtsson N and Castellote M, Heterogeneous photocatalysis on construction materials: effect of catalyst properties on the efficiency for degrading NO_x and self cleaning. *Mater Constr* 64:e013 (2014).
- [13] Fujishima A, Zhang X and Tryk DA, TiO₂ photocatalysis and related surface phenomena. *Surface Sci Reports* 63:515–582 (2008).
- [14] Kondarides DI, Patsoura A and Verykios XE, Anaerobic photocatalytic oxidation of carbohydrates in aqueous Pt/TiO₂ suspensions with simultaneous production of hydrogen. *J Adv Oxidat Technol* 13:116–123 (2010).
- [15] Fernández-Castro P, Vallejo M, San Román MF and Ortiz I, Insight on the fundamentals of advanced oxidation processes. Role and review of the determination methods of reactive oxygen species. *J Chem Technol Biotechnol* 90:796–820 (2015).
- [16] Sunada K, Kikuchi Y, Hashimoto K and Fujishima A, Bactericidal and detoxification effects of TiO₂ thin film photocatalysts. *Environ Sci Technol* 32:726–728 (1998).
- [17] Maness P-C, Smolinski S, Blake DM, Huang Z, Wolfrum EJ and Jacoby WA, Bactericidal activity of photocatalytic TiO₂ reaction: toward an understanding of its killing mechanism. *Appl Environ Microbiol* 65:4094–4098 (1999).
- [18] Lonnen J, Kilvington S, Kehoe S, Al-Touati F and McGuigan K, Solar and photocatalytic disinfection of protozoan, fungal and bacterial microbes in drinking water. *Water Res* 39:877–883 (2005).
- [19] Gutiérrez-Alfaro S, Acevedo A, Rodríguez J, Carpio EA and Manzano MA, Solar photocatalytic water disinfection of *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp. and *Clostridium Perfringens* using different low-cost devices. *J Chem Technol Biotechnol* DOI: 10.1002/jctb.4795 (2015).

- [20] Sapiña M, Jimenez-Relinque E and Castellote M, Controlling the levels of airborne pollen: can heterogeneous photocatalysis help? *Environ Sci Technol* 47:11711–11716 (2013).
- [21] Jimenez-Relinque E, Sapiña M, Nevshupa R, Roman E and Castellote M, Photocatalytic decomposition of pollen allergenic extracts of *Cupresus Arizonica* and *Platanus Hybrida* *Chem Eng J* 286:560–570 (2016).
- [22] Ao C and Lee S, Indoor air purification by photocatalyst TiO₂ immobilized on an activated carbon filter installed in an air cleaner. *Chem Eng Sci* 60:103–109 (2005).
- [23] Obee TN and Brown RT, TiO₂ photocatalysis for indoor air applications: effects of humidity and trace contaminant levels on the oxidation rates of formaldehyde, toluene, and 1, 3-butadiene. *Environ Sci Technol* 29:1223–1231 (1995).
- [24] Boonen E and Beeldens A, Photocatalytic roads: from lab tests to real scale applications. *Europ Transport Res Rev* 5:79–89 (2013).
- [25] Fujishima A and Zhang X, Titanium dioxide photocatalysis: present situation and future approaches. *Comptes Rendus Chimie* 9:750 – 760 (2006).
- [26] Paz Y, Application of TiO₂ photocatalysis for air treatment: patents' overview. *Appl Catal B: Environ* 99:448–460 (2010).
- [27] Lachheb H, Dapozze F, Houas A and Guillard C, Adsorption and photocatalytic degradation of cysteine in presence of TiO₂. *J Photochem Photobiol A Chem* 246:1–7 (2012).
- [28] Denk T and Tekleva MV, Comparative pollen morphology and ultra- structure of *Platanus*: implications for phylogeny and evaluation of the fossil record. *Grana* 45:195–221 (2006).
- [29] Chichiriccò G and Pacini E, *Cupressus arizonica* pollen wall zonation and in vitro hydration. *Plant Syst Evol* 270:231–242 (2008).
- [30] ISO/CIE, Colorimetry in Part 4: CIE 1976 L*a*b* Colour space. ISO, Geneva, pp. 8 (2008).

- [31] Weatherall IL and Coombs BD, Skin color measurements in terms of CIELAB color space values. *J Investigative Dermatol* 99:468–473 (1992).
- [32] Zhang X and Wandell BA, A spatial extension of CIELAB for digital color-image reproduction. *J Soc Inform Display* 5:61–63 (1997).
- [33] Nevshupa R, Martinez L, Alvarez L, Lopez MF, Huttel Y, Mendez J et al., Influence of thermal ageing on surface degradation of ethylene-propylene-diene elastomer. *J Appl Polymer Sci* 119:242–251 (2011).
- [34] Navrátil Z, Buršíková V, St'ahel P, Šíra M and Zveřina P, On the analysis of surface free energy of DLC coatings deposited in low pressure RF discharge. *Czechoslovak J Phys* 54:C877–C882 (2004).
- [35] Martinez L, Nevshupa R, Felhoes D, de Segovia JL and Roman E, Influence of friction on the surface characteristics of EPDM elastomers with different carbon black contents. *Tribol Int* 44:996 – 1003 (2011).
- [36] Villena JF, Domínguez E and Heredia A, Monitoring BIOPOLYMERS PRESENT IN PLant Cuticles by FT-IR Spectroscopy. *J Plant Physiol* 156:419–422 (2000).
- [37] Sargin and Arslan G, Chitosan/sporopollenin microcapsules: preparation, characterisation and application in heavy metal removal. *Int J Biol Macromol* 75:230–238 (2015).
- [38] Beekes M, Lasch P and Naumann D, Analytical applications of Fourier transform-infrared (FT-IR) spectroscopy in microbiology and prion research. *Veterinary Microbiol* 123:305–319 (2007).
- [39] Barroso-Bogeat A, Alexandre-Franco M, Fernández-González C and Gómez-Serrano V, FT-IR analysis of pyrone and chromene structures in activated carbon. *Energy Fuels* 28:4096–4103 (2014).
- [40] Jouanin L and Lapierre C, *Lignins: Biosynthesis, Biodegradation and Bioengineering*. Academic Press (2012).

- [41] Mularczyk-Oliwa M, Bombalska A, Kaliszewski M, Włodarski M, Kopczynski K, Kwasny M et al., Comparison of fluorescence spectroscopy and FTIR in differentiation of plant pollens. *Spectrochimica Acta Part A Mol Biomol Spectrosc* 97:246–254 (2012).
- [42] Kacuráková M, Capek P, Sasinková V, Wellner N and Ebringerová A, FT-IR study of plant cell wall model compounds: pectic polysaccharides and hemicelluloses. *Carbohydrate Polym* 43:195 – 203 (2000).
- [43] Kline LM, Hayes DG, Womac AR and Labbé N, Simplified determination of lignin content in hard and soft woods via uv-spectrophotometric analysis of biomass dissolved in ionic liquids. *BioResources* 5:1366–1383 (2010).
- [44] Lambert JB, *Introduction to Organic Spectroscopy*. Macmillan, New York (1987).
- [45] Kacuráková M, Wellner N, Ebringerová A, Hromádková Z, Wilson RH and Belton PS, Characterisation of xylan-type polysaccharides and associated cell wall components by FT-IR and FT-Raman spectroscopies. *Food Hydrocolloids* 13:35–41 (1999).
- [46] Ujiié Y, Brightness of pollen as an indicator of thermal alteration by means of a computer-driven image processor: statistical thermal alteration index (stTAI). *Organic Geochem* 32:127–141 (2001).
- [47] Yule B, Roberts S, Marshall JEA and Milton JA, Quantitative spore colour measurement using colour image analysis. *Organic Geochem* 28:139–149 (1998).
- [48] Jucker BA, Harms H, Hug SJ and Zehnder AJB, Adsorption of bacterial surface polysaccharides on mineral oxides is mediated by hydrogen bonds. *Colloids Surface B Biointerfaces* 9:331–343 (1997).
- [49] Fang X, Li B, Petersen E, Seo Y-S, Samuilov VA, Chen Y et al., Drying of DNA droplets. *Langmuir* 22:6308–6312 (2006).
- [50] Horikoshi S, Serpone N, Zhao J and Hidaka H, Towards a better understanding of the initial steps in the photocatalyzed mineralization of amino acids at the titania/water interface. An experimental and theoretical examination of l-alanine, l-serine and l-phenylalanine. *J Photochem Photobiol A Chem* 118:123–129 (1998).

CAPITULO 6: Descomposición fotocatalítica de los extractos del alérgeno de polen del *Cupressus arizonica* y *Platanus hybrida*



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Chemical Engineering Journal

journal homepage: www.elsevier.com/locate/cej

Chemical
Engineering
Journal

Photocatalytic decomposition of pollen allergenic extracts of *Cupressus arizonica* and *Platanus hybrida*



E. Jimenez-Relinque^a, M. Sapiña^a, R. Nevshupa^a, E. Roman^b, M. Castellote^{a,*}

^aSpanish National Research Council, Institute of Construction Science "Eduardo Torroja" (IETcc-CSIC), C/Serrano Galvache, 4, 28033 Madrid, Spain

^bSpanish National Research Council, Institute of Materials Science of Madrid (ICMM-CSIC), C/Sor Juana Inés de la Cruz, 3, 28049 Madrid, Spain

HIGHLIGHTS

- Photocatalytic decomposition of pollen allergenic extracts was studied.
- The amount of allergen proteins decreases after photocatalytic treatment.
- Enzymatic activity was completely inhibited after photocatalytic process.

ARTICLE INFO

Article history:

Received 10 August 2015

Received in revised form 20 October 2015

Accepted 22 October 2015

Available online 7 November 2015

Keywords:

Photocatalysis

Pollen allergen

Cupressus arizonica

Platanus hybrida

XPS

FDA

ABSTRACT

The effect of TiO₂ photocatalytic treatment on allergen proteins of pollen was evaluated. The allergenic activity and chemical composition of pollen allergenic extracts (PAE) of two species: *Cupressus arizonica* and *Platanus hybrida acerifolia* were characterised using three experimental techniques: scanning electron microscopy (SEM), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), and fluorescence spectrophotometry with the fluorescein diacetate probe (FDA). SEM and XPS experiments have shown that the total amount of organic matter of PAE decreased during the photocatalytic treatment. Furthermore, FDA fluorescence probe provided an indication that the enzymatic activity was completely inhibited after photocatalytic treatment. This result demonstrated evidences of the efficiency of the photocatalysis process in deactivation of pollen allergens.

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

En este capítulo se presenta con detalle el planteamiento, procedimiento, resultados y discusión correspondientes al OP3: Estudio de la efectividad de la fotocatalisis heterogénea como tecnología de inactivación de los alérgenos del polen.

Así, el capítulo que se presenta responde a la pregunta de si la PhC es eficaz para la degradación de extractos alérgicos de polen (PAE) compuestos principalmente por el núcleo de polen, como la intina, mucílago y proteína alérgicas para dos especies: *Cupressus arizonica* (Cypress Arizona) y *Platanus hybrida* (acerifolia). Estas especies se seleccionaron teniendo en cuenta su importante impacto negativo en la salud humana al causar poliposis en países mediterráneos y su amplio uso en medicina con fines de diagnóstico e inmunoterapia.

6.1. PARTE EXPERIMENTAL

6.1.1. Materiales y métodos

6.1.1.1. Materiales y procedimiento

Extractos alérgicos de polen liofilizado (PAE) de *C. arizonica* y *P. hybrida* (acerifolia), en lo sucesivo denominados Cup. y Pla., en frascos herméticamente sellados, fueron comprados a Greerlab. Inmediatamente antes de los experimentos, se añadieron 2,5 ml de agua extra pura (18 MΩ-cm) a un vial para obtener un extracto líquido. PAE contenía granos de polen desintegrados sin exina.

El polvo de TiO₂ Aeroxide® P25 suministrado por Evonik se utilizó como fotocatalizador (PhC). Se han llevado a cabo dos tipos de experimentos fotocatalíticos en este estudio. En el primero, se utilizó el fotocatalizador soportado. Con este fin, se extendió una gota de 30μL de suspensión de TiO₂ P25 (6 g / 100 ml) y se secó sobre la superficie de un soporte de vidrio dorado o portadores de muestras de aluminio para espectroscopía de fotoelectrones de rayos X (XPS) y espectroscopía de energía dispersiva rayos X (EDS), respectivamente. Luego se colocó PAE (30 μl) en la parte superior de la capa de PhC y se secó. En el segundo, para el análisis con sonda de diacetato de fluoresceína (FDA), se añadió el fotocatalizador (0,0033 g) a la solución de PAE (1 ml) para formar una suspensión.

En este estudio, se han realizado cuatro configuraciones de prueba, enumeradas en la Tabla 1. Esto permitió estudiar no solo el efecto de la fotocatalisis, al contrastar los casos III con IV, sino también la discriminación de las reacciones fotocatalíticas de la fotólisis (I frente a II) y la reactividad química de la PhC (I frente a III).

En todos los casos, se utilizaron LED con emisión fuerte en la región UV a 365 nm y potencia de 5 W para la iluminación durante 24 h.

Tabla 6.1 Configuraciones

Designation	I	II	III	IV
Configuration	PAE	PAE + UV	PAE/PhC	PAE/PhC + UV

Los experimentos se llevaron a cabo a temperatura y presión ambiente y la humedad relativa del aire en el intervalo de 30-40%.

6.1.2. Técnicas de caracterización

6.1.2.1. Composición química

La composición química de PAE en muestras de fotocatalizadores soportados para diversas configuraciones experimentales se estudió utilizando XPS y EDS. Teniendo en cuenta que los granos de polen se desintegraron durante la preparación del extracto central de polen y la suspensión que contenía los compuestos del núcleo de polen fue bastante homogénea, estas dos técnicas sensibles a la superficie son adecuadas para la caracterización de cambios químicos en una capa delgada de PAE depositada en varios sustratos. Las mediciones de XPS se realizaron en un sistema de ultra alto vacío (UHV) con una presión base de 1×10^{-8} Pa usando una línea de Mg K_{α} (1253,6 eV) de radiación incidente de rayos X. El ángulo entre el analizador levantamiento se registró con energía de paso de 40 eV y energía de paso de 0,25 eV. Los escaneos de alta resolución se midieron para los elementos principales (C 1s, O 1s, N 1s, Ti 2p y Au 4f) con energía de paso de 15 eV. La escala de energía de enlace (BE) se calibró con respecto a Au 4f a 84eV. Antes de cuantificar la composición de la superficie elemental, se restó la contribución de la línea de satélite Mg K_{α} y se eliminó el fondo utilizando la rutina de Shirley. Las concentraciones elementales relativas se determinaron a partir de las áreas de los picos correspondientes utilizando los factores de sensibilidad conocidos en la literatura (15 – 17). Mientras que el análisis XPS proporciona

una composición elemental promedio del área de superficie de aprox. 5 mm², el EDS acoplado con SEM permite visualizar la distribución de elementos químicos en una escala micrométrica. Para que el PAE sea conductivo para EDS, se depositó una capa de Au en la parte superior de las muestras.

6.1.2.2. Sonda de diacetato de fluoresceína (FDA) para análisis de actividad enzimática

La actividad enzimática del PAE en función de varios factores (Tabla 6.1) se determinó utilizando FDA. La reacción fluorocromática produjo un producto de fluorescencia de color verde brillante, fluoresceína (excitación $\lambda_{exc} = 450$ nm y λ_{em} de emisión = 517 nm), que es el resultado de la actividad enzimática relacionada con las reacciones de hidrólisis (figura 6.1) (8,18). Este análisis se llevó a cabo para los experimentos con fotocatalizador en suspensión. Para este propósito, después del tratamiento y la eliminación de PhC de la suspensión mediante filtración, se añadieron 2 mg de diacetato fluorescente y 0,17 g de sacarosa a 1 ml de la solución de PAE. Después de 3 h de agitación a temperatura ambiente, se midió la intensidad de fluorescencia usando un espectrofotómetro de fluorescencia LS55 y se analizó en el intervalo de 480 a 680 nm.

6.2. RESULTADOS

6.2.1. SEM-EDS

La Figura 6.2 muestra imágenes SEM (escala de grises) y el correspondiente mapeo de distribución C (escala roja) (tomado aquí como indicativo de la presencia de extracto PAE) sobre las superficies de muestra para ambas especies (Cup y Pla) en las cuatro configuraciones experimentales (I a IV). *Cup*.

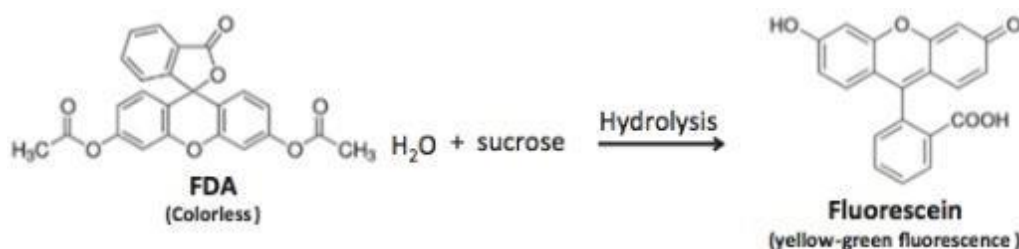


Figura 6.1: Esquema de reacción de la hidrólisis del FDA

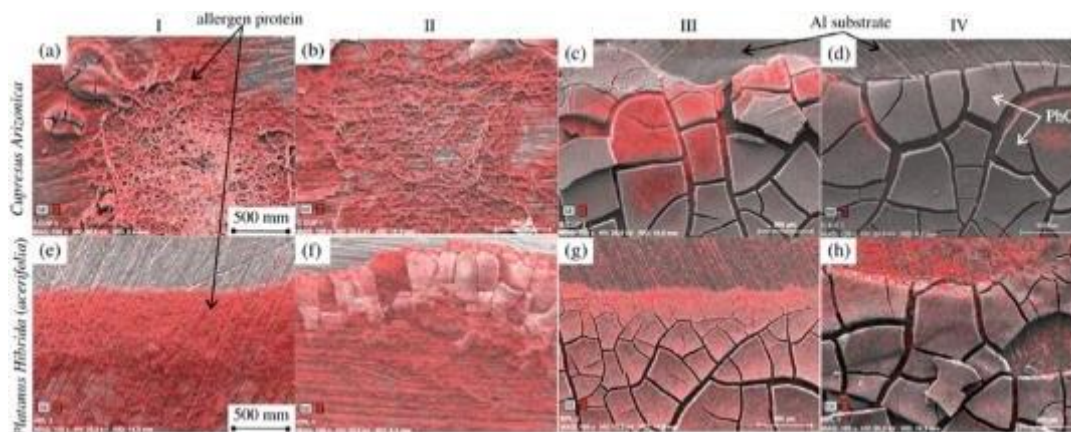


Figura 6.2: Imágenes combinadas de SEM (escala de grises) y mapeo de carbono (escala roja) medidos por EDS para ambos PAEs y cuatro configuraciones experimentales. (Para la interpretación de las referencias al color en esta leyenda de la figura, se remite al lector a la versión web de este artículo).

PAE tiene una estructura tipo fibra (Fig. 6.2a) que permaneció casi sin cambios después de la iluminación UV (prueba II, Fig. 6.2b). Esta estructura desapareció cuando se depositó PAE en un PhC (figura 6.2c), aunque aún se pueden observar zonas ricas en carbono. Después del tratamiento con PhC, estas zonas casi desaparecieron y la distribución de C se volvió similar a la del sustrato de Al.

Pla. PAE tiene una microestructura granular en ambos sustratos de Al (Fig. 6.2e) y PhC (Fig. 6.2g). Después de la iluminación UV, se formaron algunas zonas sin carbono, principalmente en la periferia del área recubierta (figura 6.2f). Después del tratamiento fotocatalítico, la microestructura desapareció por completo (Fig. 6.2h), mientras que la concentración media de carbono disminuyó drásticamente.

Al observar la configuración IV para diferentes elementos, vale la pena mencionar que la disminución de carbono se produce claramente en las superficies PhC (ver Fig. 6.3, donde se da distribución de elementos en la muestra de Pla después de la prueba IV). Se puede ver que la distribución C es casi la imagen negativa de la distribución de Ti. El carbono se encontró principalmente en el sustrato de Al descubierto. Se llevó a cabo un análisis similar tanto en los sustratos de Al como en el recubrimiento de PhC soportado que no mostró variación importante en la distribución de C que fue uniforme en toda la superficie. Se puede concluir que, sin un PhC, la irradiación UV prácticamente no tiene ningún efecto sobre la cantidad total de carbono incluso después de 24 h de exposición. Sin embargo, cuando un PAE depositado en un PhC es expuesto a radiación UV durante el mismo período de tiempo, la cantidad total de carbono disminuyó significativamente.

6.2.2. XPS

Los espectros amplios XPS mostraron la presencia de C, O y N como los componentes más relevantes. Además, se encontraron Ti y Au del sustrato, y trazas de P, S y Si. El análisis de las energías de enlace de los elementos determinados a partir de los espectros de nivel de núcleo C 1s, O 1s y N 1s se realizó mediante deconvolución de pico utilizando el número mínimo de componentes requeridos para obtener un ajuste de datos de calidad. Se consideró que la constancia razonable en la posición del pico y el ancho completo a la mitad del máximo (FWHM) permitieran realizar una comparación entre las muestras. A partir de ahora, estos componentes serán referidos con números secuenciales para aumentar la energía de enlace del elemento correspondiente.

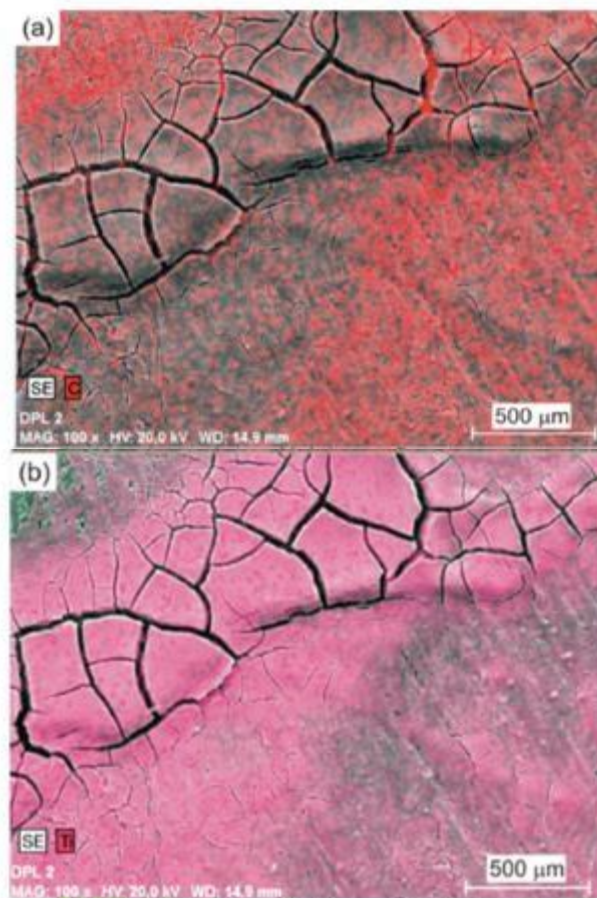
Para la asignación correcta de estos componentes a las funciones químicas, debe estar disponible el conocimiento sobre la estructura química de los constituyentes. Sin embargo, con la excepción de varias proteínas que podrían identificarse en este trabajo mediante análisis proteómicos, los datos de la literatura sobre los constituyentes de los PAE son escasos. En general, el extracto central de polen desengrasado está dominado por dos clases principales de compuestos: (A) proteínas y péptidos, y (B) azúcares y polisacáridos (13,14). Por lo tanto, los componentes pico se asignaron a los grupos de las funciones químicas presentes en estos compuestos.

La Fig. 6.4 muestra los espectros finos XPS de referencia ajustados, la concentración total integrada de C, O y N y las concentraciones de los diferentes estados de unión de cada elemento medidos en sustratos simples. La Fig. 6.4(a), (c) y (e) corresponden al vidrio, mientras que la Fig. 6.4 (b), (d) y (f) se refieren a un vidrio cargado con PhC. Figs. 6.5- 6.7 presentan espectros finos XPS para C, N y O, respectivamente, para los casos I a IV para Cup. y Pla.

Para C se identificaron cuatro componentes principales con las energías de enlace en aproximadamente 284.5 (C1), 285.7 (C2), 287 (C3) y 289 eV (C4). Componente C1 debido al carbono solo unido a C, H y S [19,20]. El componente C2 correspondía al carbono unido individualmente a O o N (C-N-C=O, C=C-N, C-COO) (20,21). C3 se asignó al carbono haciendo un doble enlace o dos límites simples con O o N (N=C-N, O=C-NH-C, C-OH, C-O-C, C-O-C=O) (19) como en histidina, triptófano y otros aminoácidos. Otros grupos como

C-N, C-NH⁺, C-O con la energía de enlace a aproximadamente 286.35 eV (20) pueden contribuir tanto a C2 como a C3. Finalmente, C4 se debió a que el carbono formaba un doble enlace con O en ésteres, ácido carboxílico y enlace peptídico (C-O-C=O, O=C-OH, O=NC).

Aunque la asignación de características específicas en el pico O 1s ha sido intensamente debatida en la literatura (22), todavía hay mucha controversia. En general, se acordó la discriminación de dos especies de oxígeno orgánico con la energía más baja: el oxígeno con doble enlace a energías de enlace inferiores (≈ 531 eV) y el oxígeno unido individualmente a energías de enlace superiores (≈ 533 eV). Además, una tercera especie a energías de unión más altas se asigna comúnmente al agua u oxígeno adsorbido (23, 24). Por lo tanto, los espectros de O 1s se ajustaron con tres componentes orgánicos O₂-O₄. Se añadió un componente inorgánico adicional O₁ a 530,4 eV en las pruebas III y IV, asociado al fotocatalizador (TiO₂). El componente de O₂ a 532.4 eV se debe a los grupos C-OH, O=C-O, O=C-N, C-O-C-O-C y oxígeno quimisorbido en el oro. El componente O₃ a 533.4eV correspondió a O=C-OH y O=C-O-C de proteínas y péptidos (19, 25).



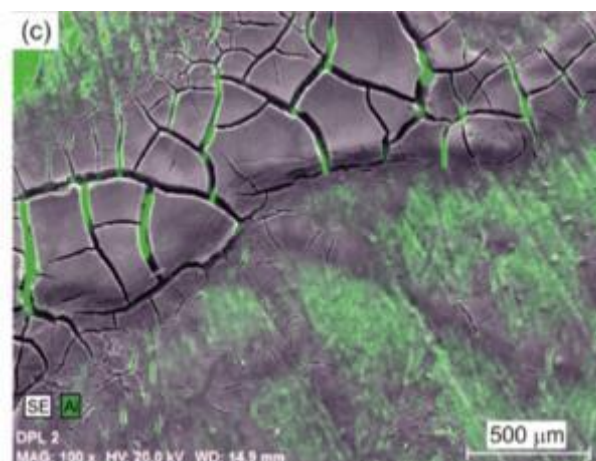


Figura 6.3. Imágenes combinadas de SEM-EDS que muestran distribuciones de varios elementos para *Platanus hybrida* (*acerifolia*) después de la prueba (configuración IV: PAE / PhC + UV): (a) C (rojo), (b) Ti (magenta), (c) Al (verde).

El componente O4 a 534 eV se asoció a O unido solo de ésteres cíclicos (25) o de carbonato (O-(C=O)-O) y anhídrido de ácido carboxílico (C=O)-O-(C=O) (26).

Para el nitrógeno se identificaron tres componentes principales: un componente débil N1 a 398.9 eV debido al nitrógeno adsorbido en oro, nitrógeno de amina e imidazol (N=C-NH) (20) como en la histidina, triptófano, etc. Componente N2 en 401.0 eV correspondió a amidas en enlace peptídico, amina protonada y nitrógeno protonado (19, 21). El componente N3 a 402.5 eV fue asignado a amonio cuaternario que, en parte, podría estar asociado con la naturaleza zwitteriónica de aminoácidos.

Sobre la base de la comparación de los espectros C 1s de los PAE en sustrato de Au (Fig.6.5a y e) con el espectro de referencia de sustrato de Au (Fig. 6.4a), los componentes C2, C3 y C4 se atribuyeron principalmente a los PAE, mientras que C1 podría tener contribuciones tanto del carbono de PAE como de la contaminación adventicia de hidrocarburos del sustrato. De manera similar, a partir de la comparación entre la Fig. 6a y e con la Fig. 6.4c y d, respectivamente, los componentes O3 y O4 se correspondieron de forma no ambigua con los PAE, mientras que O1 se asignó a oxígeno inorgánico desde un PhC. O2 puede tener contribuciones tanto del PAE como del sustrato. Para ambos PAEs (Fig. 6.7i y j), la concentración de N fue varias veces mayor que en ambos sustratos simples (Fig. 6.4g y h).

6.2.3. Actividad enzimática

Los resultados de la caracterización de la actividad enzimática de Cup. y Pla. El PAE tratado con el PhC en forma de suspensión se da en la Fig. 6.8. La Fig. 6.8 (a) muestra los espectros de fluorescencia para Cup. tratado bajo las diferentes configuraciones de prueba. Para ambas especies, los espectros de fluorescencia correspondientes a las configuraciones de prueba I-III tienen una forma similar que es idéntica al espectro de fluoresceína, aunque con diferente intensidad. Por el contrario, no se pudo encontrar un pico de fluoresceína en los espectros de fluorescencia en la configuración IV. Estos resultados sugieren que la actividad enzimática de ambos PAE se suprimió por completo. La Fig. 6.8(b) muestra la intensidad relativa de fluorescencia (%) a una longitud de onda de emisión de 517 nm para ambos PAE. La intensidad de la fluorescencia bajo irradiación UV o reactividad química PhC disminuyó casi el doble, pero en la fotocatalisis disminuyó casi dos órdenes de magnitud.

6.3. DISCUSIÓN

Los resultados de SEM, XPS y FDA coincidieron en el experimento IV. En todos los casos, se observó una gran degradación de los materiales orgánicos asociados con el polen. Sin embargo, hubo cierta discrepancia entre los resultados sobre la actividad enzimática y los datos de XPS y EDS-SEM en los experimentos II y III. De hecho, aunque la actividad enzimática de los PAE se redujo en ambos experimentos, la morfología de XPS y SEM no mostró variación significativa en comparación con los PAE no tratados (prueba I). Estas diferencias se pueden explicar al considerar que las técnicas XPS y FDA brindan información complementaria sobre las diferentes características de los componentes de los extractos de polen. La FDA se usó para caracterizar la actividad enzimática de las proteínas alérgicas del polen que está estrechamente relacionada con su organización estructural en cuatro niveles:

- [1] orden de aminoácidos en la cadena polipeptídica
- [2] estructura de alfa y beta-hélice
- [3] estructura plegada de hélices alfa y beta

- [4] estructura tridimensional global.

A su vez, XPS es sensible solo al entorno químico de los elementos, es decir, el primer nivel estructural. Además, el análisis de las estructuras de unión para los espectros XPS finos de C, O y N permitió distinguir entre las especies asociadas con PAE y otras relacionadas con los sustratos. En el análisis posterior de los datos de XPS, nos centraremos en la evolución de los componentes que se han atribuido inequívocamente a los PAE: C2 -C4, O3-O4 y N2.

6.3.1. El efecto de la irradiación UV en los PAEs

Para Pla. las concentraciones totales de C y O casi no se modificaron entre las pruebas I y II (Figuras 5j y 6j).

Para la Cup. C aumentó ligeramente, y O disminuyó ligeramente (Fig. 6.5i y Fig. 6.6i). De la Figura 6.5 (a), (b) y (i) se evidencia que el aumento de C bajo la fotólisis de Cup. (prueba II) se debió principalmente a C2 asociado con polipéptidos. Concentraciones relativas de varios componentes C y O de Cup. PAE en las pruebas I y II se muestran en la Tabla 6.2.

La disminución en O se asoció principalmente con O4 y no fue compensada por un cierto aumento en O2 (Fig. 6.6a, b y i). Como ya se publicó, dialdehídos y ésteres de carbonato asociados con O4 se puede formar durante la oxidación parcial de heteropolisacáridos de la intina (27, 28), pero los productos de oxidación son relativamente inestables y se descomponen a través de la hidrólisis catalizada por agua (29). Esto podría dar como resultado la descomposición parcial de dialdehídos y ésteres de carbonato y la disminución del pico de O4 en las pruebas II y III.

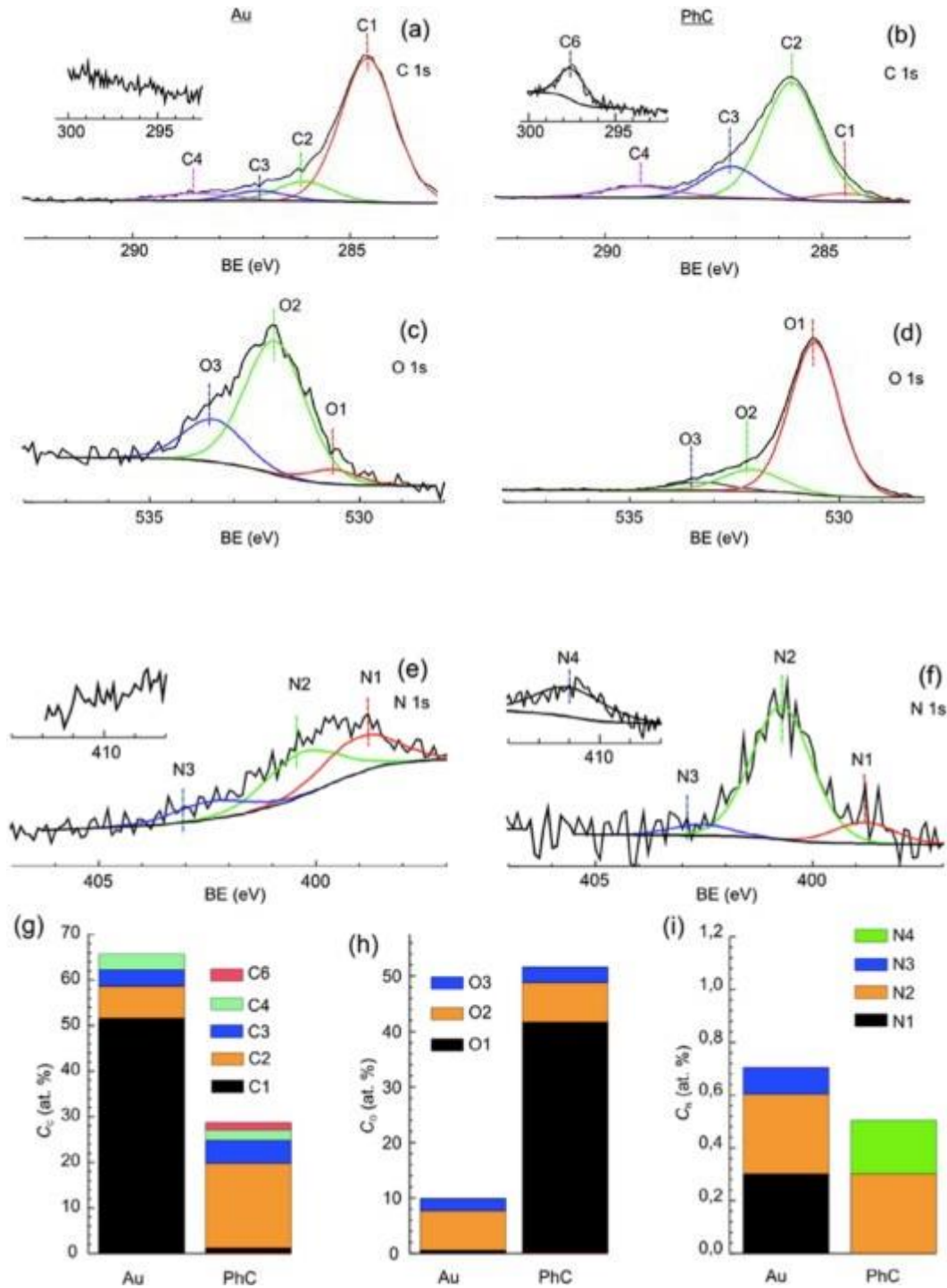


Figura 6.4: Espectros de referencia XPS finos de los sustratos simples: (a), (c) y (e) corresponden a un vidrio dorado (Au); (b), (d) y (f) se refieren a un vidrio dorado cargado con PhC (PhC). La cuantificación de los componentes se muestra en los gráficos (g), (h) y (i) para C 1 s, O 1 s y N 1 s, respectivamente. Las alturas totales de las barras representan la concentración superficial (at.%) De los elementos correspondientes. Las barras de color muestran las concentraciones superficiales (at.%) De los componentes con diferentes estados de unión.

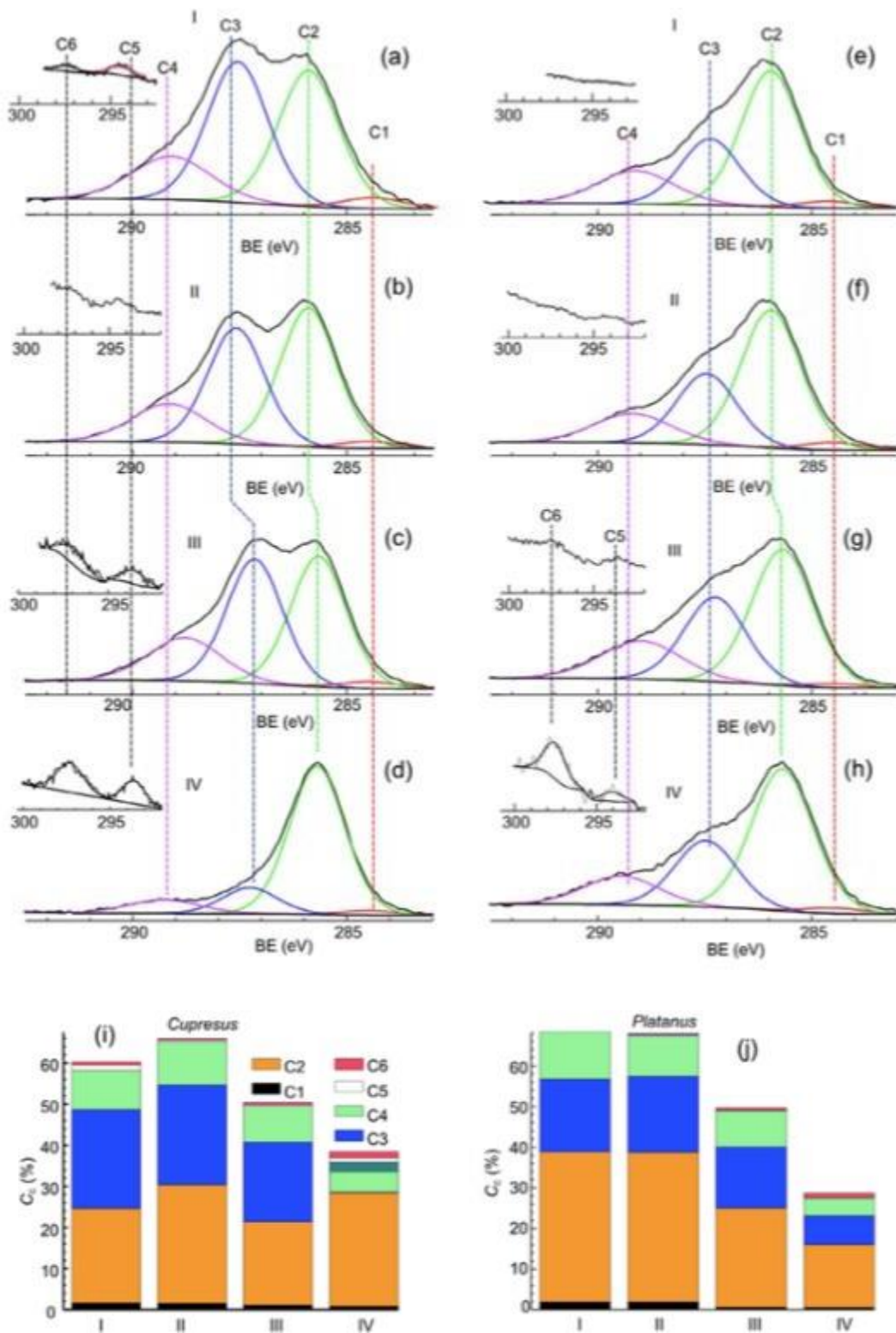


Figura 6.5: XPS C 1s finos espectros de las muestras de Cup. (a-d) y Pla. (e-h) en un sustrato de oro (a y e), después de la irradiación UV (b y f), en un PhC inactivado (c y g) y en PhC activado por UV (d y h). Las concentraciones (at.%) De componentes C con diferentes energías de enlace a la concentración total de C con respecto a la suma de elementos orgánicos (C, O y N) se muestran por bandas de color: (i) Cup. y (j) Pla.

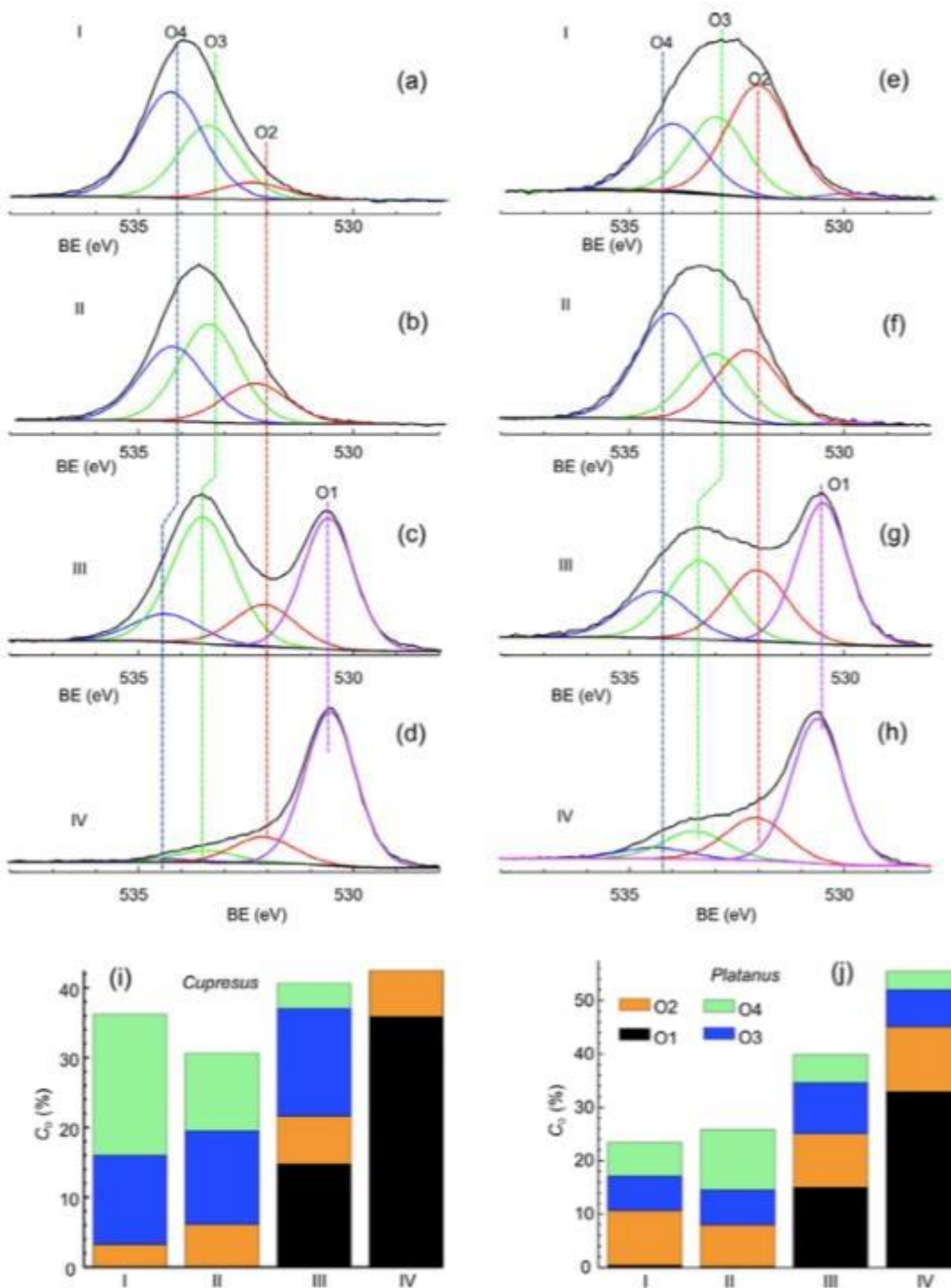


Figura 6.6: XPS O 1s espectros finos de las muestras de Cup. (a-d) y Pla. (e-h) en un sustrato de oro: sin irradiación UV (a y e) y después de la irradiación UV (b y f); en una PhC: sin irradiación UV (c y g) y después de la irradiación UV (d y h). Las concentraciones (en%) de los componentes O con diferentes energías de enlace a la concentración total de O con respecto a la suma de los elementos orgánicos (C, O y N) se muestran por bandas de color: (i) Cup. y (j) Pla.

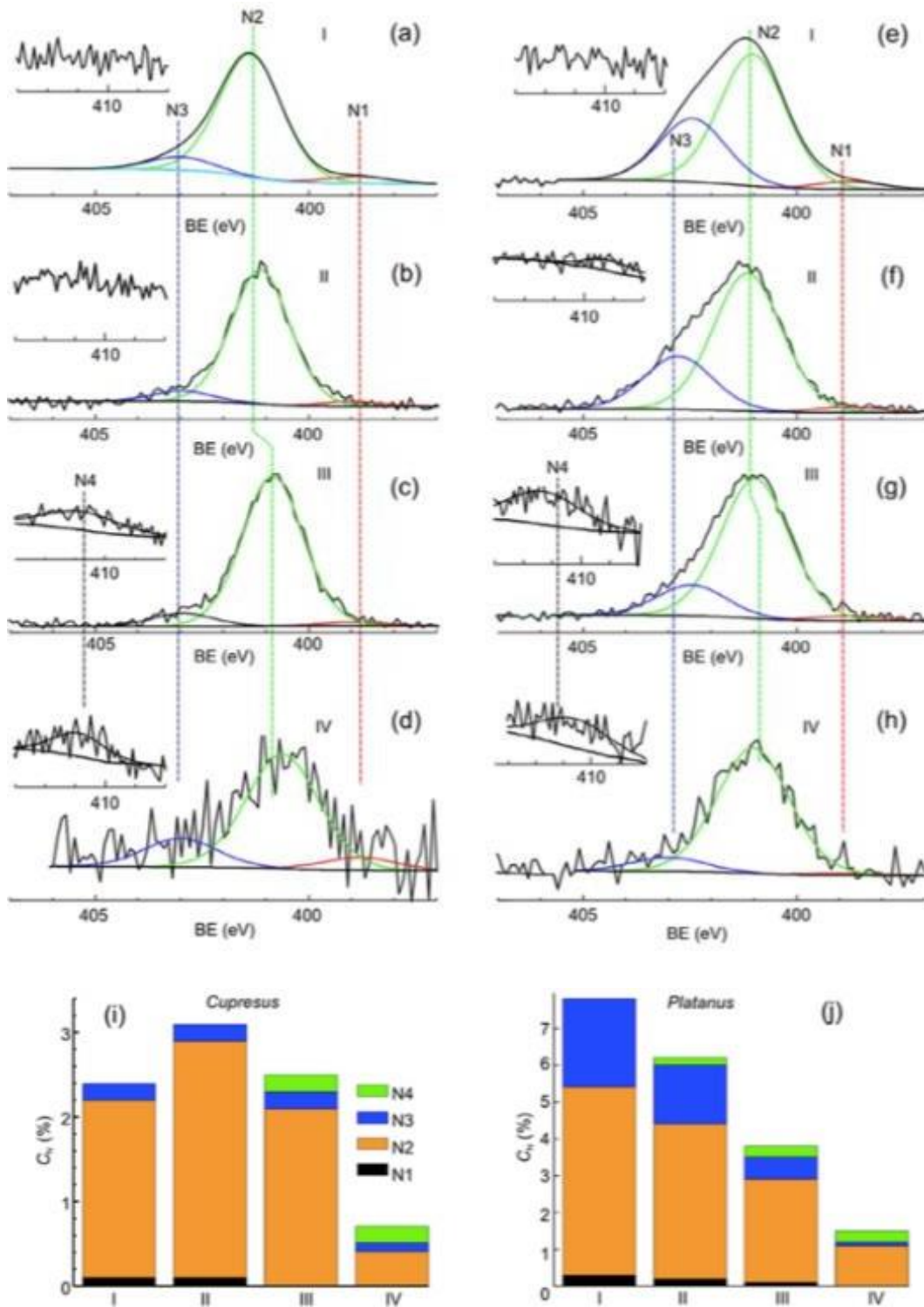


Figura 6.7: XPS N 1s finos espectros de las muestras de Cup. (a-d) y Pla. (e-h) en un sustrato de oro (ay e), después de la irradiación UV (b y f), en un PhC sin irradiación UV (c y g) y en PhC después de la irradiación UV (d y h). Las concentraciones (at.%) De N componentes con diferentes energías de enlace a la concentración total de N con respecto a la suma de los elementos orgánicos (C, O y N) se muestran por bandas de color: (i) Cup. y (j) Pla.

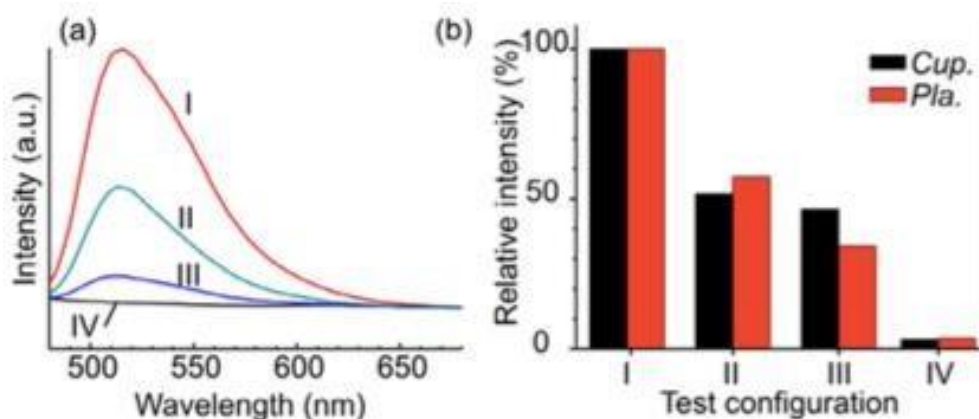


Figura 6.8: (a) Espectros de emisión de intensidad de fluorescencia de Cup. para cuatro configuraciones de prueba; (b) intensidad relativa de fluorescencia (%) a una longitud de onda de emisión de 517 nm.

Tabla 6.2 Porcentaje relativo de los componentes C2-C4 y O2-O4

	C2	C3	C4	O2	O3	O4
BE (eV)	285.7	287.7	289.0	532.4	533.0	534.0
Enlaces posibles	C-N-C=O C=C-N C-COO	N=C-N O=C-NH-C C-OH C-O-C C-O-C=O	C-O-C=O O=C-OH O=CN	C-OH O=C-O O=C-N C-O-C-O-C	O=C-OH O=C-O-C	O-(C=)-O (C=O)-O- (C=O)
Prueba I	38.1	40.0	15.8	8.9	35.3	55.7
Prueba II	43.9	36.8	15.8	19.4	43.8	36.3

Otros componentes de C1s y O1 asociados con polipéptidos y polisacáridos permanecieron generalmente inalterados después de la irradiación UV. La concentración de N que está directamente asociada con las proteínas casi no se vio afectada por la irradiación UV en el caso de la Cup. (Fig. 6.7i) y solo disminuyó ligeramente para Pla. (Fig. 6.7j). Todos estos factores parecen indicar que la estructura primaria de las proteínas no se vio significativamente afectada en esta prueba. Sin embargo, la actividad enzimática ensayada en la prueba de la FDA disminuyó notablemente. De acuerdo con Neves-Petersen et al. (30). La radiación UV podría ser absorbida por cadenas laterales de triptófano, tirosina y fenilalanina, lo que da como resultado su fotoionización y generación de electrones solvatados. Los electrones solvatados generados pueden sufrir posteriormente recombinación rápida con su molécula original, o pueden ser capturados por especies electrofílicas (O_2 , H_3O^+) (31). Se sabe que el superóxido generado (O_2^-) causa degradación

pronunciada de proteínas y desnaturalización de enzimas (32). En caso de que el electrón solvatado sea capturado por cistina, el resultado también puede ser la rotura del puente de disulfuro ya que el triptópano es el vecino espacial preferido del puente de disulfuro. La interrupción de los enlaces disulfuro puede afectar significativamente la actividad enzimática ya que contribuyen a las estructuras proteicas terciaria y cuaternaria. Del análisis de los espectros finos de S 2p que se muestran en la Fig. 6.9 para Pla. (para Cup. el pico S 2p fue insignificante), es razonable sugerir que la fotooxidación de tioles parece ocurrir. Los componentes S1 y S2 se asociaron con tiol ilimitado (33) y sulfonato (34), correspondientemente. Después de la irradiación UV de PAE (prueba II), el componente S1 disminuyó mientras que la relación de S2 a S1 aumentó de 0,4 (prueba I) a 0,6 (prueba II). Este resultado está en línea con los estudios de literatura (35).

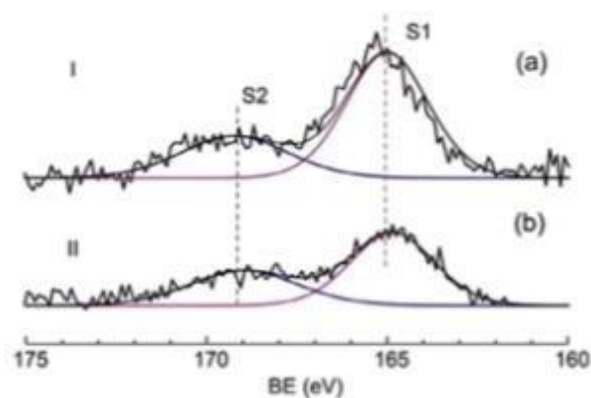


Figura 6.9: Espectro fino XPS de S 2p: (a) inicial; (b) después de la irradiación UV

6.3.2. El efecto de PhC inactivado en los PAEs

No se pudieron encontrar variaciones importantes en la estructura del pico de N1 después de la prueba III, pero N2 se desplazó ligeramente hacia las energías más bajas. Para la Cup. La concentración de N fue casi la misma en ambas pruebas. Para Pla. N disminuyó significativamente, pero aún era mucho más alto que en el PhC simple. En la prueba III, la relación N / Ti fue de 0,4 y 0,6 para la Cup. y Pla., respectivamente, mientras que solo fue 0,03 en el PhC simple.

El C disminuyó, mientras que el O aumentó para ambos PAE. Para Pla. esta variación fue más significativa. Debe señalarse que para los PAE depositados en una concentración de PhC el O fue menor que en el PhC simple, pero el C fue más alto. Esto puede ser una

indicación de que, aunque podría producirse cierta degradación química de los PAE en la PhC inactivada, los PAE no se descompusieron en la medida en que lo hicieron en PhC, como se mostrará a continuación. La estructura de los componentes de C1 fue casi la misma que en la prueba I, aunque C2 para ambos PAEs y C3 para Cup. ligeramente desplazado hacia energías más bajas (Fig. 6.5 c y g). Además, se encontraron dos componentes débiles de agitación a energías más altas: 294 eV (C5) y 297 eV (C6). Majumdar et al. asoció estos picos a O-CO-O y C-CO-NH₂, respectivamente (36). Los componentes C5 y C6 localizados a energías superiores a 294 eV fueron insignificantes en las pruebas I y II, pero crecieron en las pruebas III y IV. En contraste con C 1s, los espectros de O1 experimentaron cambios significativos (Fig. 6.6 c y g vs. Fig. 6.6 a y e, correspondientemente): O3 se convirtió en componente orgánico predominante, mientras que O4 disminuyó. La relación O3/O4 aumentó de 0,63 (prueba I) a 4,30 (prueba III) para Cup. y de 1,03 (prueba I) a 1,85 (prueba III) para Pla. Además, apareció un componente inorgánico O1, es decir, O unido a Ti. Además, O3 y O4 se desplazaron ligeramente hacia energías más altas. Los cambios observados en algunos componentes pueden indicar cambios en el entorno químico debido a algún tipo de interacción química entre los componentes PAE y el PhC, por ejemplo, adsorción química, etc.

Los cambios conformacionales en las estructuras de proteínas secundarias y terciarias y / o la proteólisis parcial asociada con la adsorción en TiO₂ podrían explicar la disminución significativa de la actividad enzimática (37). Esta disminución fue más significativa que después de la irradiación UV ya que el grado de distorsión conformacional debería ser mayor en la prueba III que en la prueba II. Bouhekka et al. demostraron que los cambios significativos de la conformación proteica (disminución del porcentaje de hélice alfa y aumento de la hélice aleatoria) podrían ser inducidos por la irradiación con luz visible de las proteínas en los soportes de TiO₂ (38). Por otro lado, los polisacáridos que son los constituyentes principales de la insulina podrían adsorberse irreversiblemente en TiO₂ debido a las fuerzas de Van der Waals altamente atractivas según lo informado por Jucker et al. (39). El cambio de los picos XPS en la prueba III podría explicarse, en parte, por esta interacción.

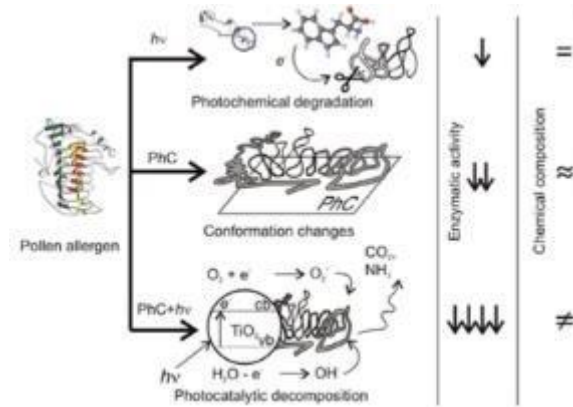


Figura 6.10: Esquema provisional de posibles mecanismos de degradación del alérgeno del polen. La estructura geométrica del alérgeno del polen está representada por la pectato liasa (41).

6.3.3. El efecto de la fotocatalisis en los PAE

Los cambios más notables de las estructuras de C1 y O1 se produjeron en el ensayo IV, es decir, después del tratamiento con PhC. Para ambos PAEs C3 y C4 disminuyeron significativamente y C2 se convirtió en el componente dominante (Fig. 6.5 d, h, i y j). Estos cambios fueron especialmente pronunciados para Cup. Es digno de mención que C 1s era muy diferente de la PAE original, pero a excepción de pequeñas diferencias en los componentes de agitación era casi idéntico al espectro de la referencia PhC desnuda (Fig. 4b). También se pudo observar una tendencia similar para los O 1 (Fig. 6.6d, h, i y j). La relación de componentes orgánicos / inorgánicos, es decir $(O2+O3+O4)/O1$, disminuyó de 1.75 (prueba III) a 0.32 (prueba IV) para Cup. y de 1.64 (prueba III) a 0.68 (prueba IV) para Pla. Los valores finales de la relación fueron cercanos a los del sustrato de PhC simple:0,23. Con respecto a los N 1, se observó una disminución significativa en la cantidad total, pero no en la forma del pico. La relación N / Ti en la prueba IV disminuyó a 0.05 y 0.1 para la Cup. y Pla., correspondientemente, que es mucho más bajo que en la prueba III y solo ligeramente más alto que en la PhC desnuda.

Las variaciones observadas en los espectros del núcleo C 1s, O 1s y N 1 dieron fuertes evidencias de descomposición de PAE bajo fotocatalisis. Aunque la emisión de gases de los PAE durante la fotocatalisis no se midió en este estudio, sugerimos que los productos de la degradación fotocatalítica eran moléculas volátiles bastante pequeñas como CO_2 , NH_3 , alcoholes, etc. que podían dejar los PAE durante la prueba. Esta conclusión se basa en el hallazgo de que C y O mineralizados en forma de carbonatos (C4 y O2 (21)) y / o nitratos

(componente de N1 a 408 eV (40)) no fueron significativos en los espectros XPS después de PhC, mientras que no puede haber lixiviación durante la prueba. Estos resultados están en línea con las vías de reacciones generales de los aminoácidos y la degradación fotocatalítica de los sacáridos (1) que demostraron que los gases y los volátiles en lugar de sales son los principales productos de la descomposición fotocatalítica de aminoácidos, péptidos y sacáridos.

Por lo tanto, los resultados de XPS fueron consistentes con el mapeo SEM-EDS y mostraron la disminución de la cantidad total de carbono. Además, XPS evidenció una reducción significativa en las especies C, O y N asociadas con los PAE. Se debe recordar que XPS proporciona información química para todos los componentes del extracto de núcleo de polen, mientras que la FDA es específica para las proteínas enzimáticas.

Sobre la base de estos hallazgos, se ha propuesto un esquema general de posibles procesos asociados con la degradación / descomposición enzimática de proteínas (Fig. 6.10).

6.4. CONCLUSIONES parciales OP3

Se estudió el efecto de la fotocatálisis en extractos de núcleo de polen que contienen proteínas alergénicas de polen de dos especies: *C. arizonica* y *P. hybrida* (*acerifolia*). Los resultados de XPS mostraron que las concentraciones de carbono y nitrógeno asociadas con los PAE disminuyeron drásticamente después del tratamiento con PhC. El mapeo de elementos químicos que se llevó a cabo utilizando EDS corroboró este hallazgo. Los resultados de XPS proporcionaron una fuerte evidencia de que la cantidad total de materia orgánica disminuyó significativamente como resultado de PhC. La desactivación completa de la actividad enzimática del extracto de alérgeno después del tratamiento con PhC se confirmó mediante análisis con sonda de diacetato de fluoresceína. Con el fin de discriminar la degradación fotocatalítica de la fotólisis y las reacciones químicas entre PAE y PhC sin irradiación UV, se llevaron a cabo cuatro pruebas diferentes. Estas pruebas mostraron un comportamiento diferente para la *Cup.* y *Pla.*, aunque para ambas especies los efectos de la irradiación UV y la reactividad química de PhC fueron mucho menos significativos que la fotocatálisis. La disminución de la actividad enzimática después de la irradiación UV y la adsorción en PhC se asociaron tentativamente con cambios conformacionales de enzimas inducidas por procesos fotoquímicos o fuerzas de Van der Waals.

REFERENCIAS CAPÍTULO 6

- [1] S. Horikoshi, N. Serpone, J. Zhao, H. Hidaka, Towards a better understanding of the initial steps in the photocatalyzed mineralization of amino acids at the titania/water interface. An experimental and theoretical examination of l- alanine, l-serine and l-phenylalanine, *J. Photochem. Photobiol. A* 118 (1998) 123–129.
- [2] G. d’Amato, G. Liccardi, M. D’amato, M. Cazzola, The role of outdoor air pollution and climatic changes on the rising trends in respiratory allergy, *Respir. Med.* 95 (2001) 606–611.
- [3] White, Smith, Davis, Baker, Frew, Symptom control in patients with hay fever in UK general practice: how well are we doing and is there a need for allergen immunotherapy?, *Clin Exp. Allergy* 28 (1998) 266–270.
- [4] M. Masoli, D. Fabian, S. Holt, R. Beasley, P. Global, Initiative for Asthma, the global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee Report, *Allergy* 59 (2004) 469–478.
- [5] W.J. Fisk, Health benefits of particle filtration, *Indoor Air* 23 (2013) 357–368.
- [6] H. Schleibinger, H. Rüden, Air filters from HVAC systems as possible source of volatile organic compounds (VOC) – laboratory and field assays, *Atmos. Environ.* 33 (1999) 4571–4577.
- [7] C. Guillard, T.-H. Bui, C. Felix, V. Moules, B. Lina, P. Lejeune, Microbiological disinfection of water and air by photocatalysis, *C. R. Chim.* 11 (2008) 107–113.
- [8] B. Sánchez, M. Sánchez-Muñoz, M. Muñoz-Vicente, G. Cobas, R. Portela, S. Suárez, A.E. González, N. Rodríguez, R. Amils, Photocatalytic elimination of indoor air biological and chemical pollution in realistic conditions, *Chemosphere* 87 (2012) 625–630.
- [9] A. Vohra, D. Goswami, D. Deshpande, S. Block, Enhanced photocatalytic disinfection of indoor air, *Appl. Catal. B* 64 (2006) 57–65.

- [10] M. Sapiña, E. Jimenez-Relinque, M. Castellote, Controlling the levels of airborne pollen: can heterogeneous photocatalysis help? *Environ Sci. Technol.* 47 (2013) 11711–11716.
- [11] M. Suárez-Cervera, J. Asturias, A. Vega-Maray, T. Castells, C. López-Iglesias, I. Ibarrola, M.C. Arilla, N. Gabarayeva, J. Seoane-Camba, The role of allergenic proteins Pla a 1 and Pla a 2 in the germination of *Platanus acerifolia* pollen grains, *Sex. Plant Reprod.* 18 (2005) 101–112.
- [12] R. Knox, J. Heslop-Harrison, Pollen-wall proteins: localization and enzymic activity, *J. Cell Sci.* 6 (1970) 1–27.
- [13] A.F. Edlund, R. Swanson, D. Preuss, Pollen and stigma structure and function: the role of diversity in pollination, *Plant Cell* 16 (2004) S84–S97.
- [14] G. Chichiriccò, L. Spanò, G. Torraca, A. Tartarini, Hydration, sporoderm breaking and germination of *Cupressus arizonica* pollen, *Plant Biol.* 11 (2009) 359–368.
- [15] D. Briggs, M.P. Seah, *Practical Surface Analysis—Auger and X-ray Photoelectron Spectroscopy*, Wiley, Chichester, 1990.
- [16] L. Martinez, R. Nevshupa, D. Felhoes, J.L. de Segovia, E. Roman, Influence of friction on the surface characteristics of EPDM elastomers with different carbon black contents, *Tribol. Int.* 44 (2011) 996–1003.
- [17] R. Nevshupa, L. Martinez, L. Alvarez, M.F. Lopez, Y. Huttel, J. Mendez, E. Roman, Influence of thermal ageing on surface degradation of ethylene-propylene- diene elastomer, *J. Appl. Polym. Sci.* 119 (2011) 242–251.
- [18] S. Pasqualini, E. Tedeschini, G. Frenguelli, N. Wopfner, F. Ferreira, G. D’Amato, L. Ederlia, Ozone affects pollen viability and NAD(P)H oxidase release from *Ambrosia artemisiifolia* pollen, *Environ. Pollutant* 159 (2011) 2823–2830.
- [19] P.G. Rouxhet, M.J. Genet, XPS analysis of bio-organic systems, *Surf. Interface Anal.* 43 (2011) 1453–1470.

- [20] J.S. Stevens, A.C. de Luca, M. Pelendritis, G. Terenghi, S. Downes, S.L.M. Schroeder, Quantitative analysis of complex amino acids and RGD peptides by X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), *Surf. Interface Anal.* 45 (2013) 1238–1246.
- [21] M. Schmidt, S. Steinemann, XPS studies of amino acids adsorbed on titanium dioxide surfaces, *Fresenius J. Anal. Chem.* 341 (1991) 412–415.
- [22] S. Kundu, Y. Wang, W. Xia, M. Muhler, Thermal stability and reducibility of oxygen-containing functional groups on multiwalled carbon nanotube surfaces: a quantitative high-resolution XPS and TPD/TPR study, *J. Phys. Chem. C* 112 (2008) 16869–16878.
- [23] G. Ketteler, P. Ashby, B.S. Mun, I. Ratera, H. Bluhm, B. Kasemo, M. Salmeron, In situ photoelectron spectroscopy study of water adsorption on model biomaterial surfaces, *J. Phys. Condens. Matter* 20 (2008) 184024.
- [24] G.P. López, D.G. Castner, B.D. Ratner, XPS O 1s binding energies for polymers containing hydroxyl, ether, ketone and ester groups, *Surf. Interface Anal.* 17 (1991) 267–272.
- [25] J.S. Stevens, S.L.M. Schroeder, Quantitative analysis of saccharides by X-ray photoelectron spectroscopy, *Surf. Interface Anal.* 41 (2009) 453–462.
- [26] G. Beamson, D. Briggs, *High Resolution XPS for Organic Polymers: The Scienta ESCA 300 Database*, John Wiley & Sons, Ney York, 1992.
- [27] B. Gupta, M. Tummalapalli, B.L. Deopura, M.S. Alam, Functionalization of pectin by periodate oxidation, *Carbohydr. Polym.* 98 (2013) 1160–1165.
- [28] C. Sene, M.C. McCann, R.H. Wilson, R. Grinter, *Fourier-Transform Raman and Fourier-Transform Infrared Spectroscopy (An Investigation of Five Higher Plant Cell Walls and Their Components)*, *Plant Physiol.* 106 (1994) 1623–1631.
- [29] J. Østergaard, C. Larsen, Bioreversible derivatives of phenol. 2. Reactivity of carbonate esters with fatty acid-like structures towards hydrolysis in aqueous solutions, *Molecules* 12 (2007) 2396–2412.

- [30] M.T. Neves-Petersen, S. Klitgaard, T. Pascher, E. Skovsen, T. Polivka, A. Yartsev, V. Sundström, S.B. Petersen, Flash photolysis of cutinase: identification and decay kinetics of transient intermediates formed upon UV excitation of aromatic residues, *Biophys. J.* 97 (2009) 211–226.
- [31] M.T. Neves-Petersen, G. Prakash Gajula, S.B. Petersen, UV light effects on proteins: from photochemistry to nanomedicine, in: D.S. Saha (Ed.), *Molecular Photochemistry – Various Aspects*, InTech, Zagreb, 2012.
- [32] N. Smirnoff, Tansley Review No. 52. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation, *New Phytol.* 125 (1993) 27–58.
- [33] D.G. Castner, K. Hinds, D.W. Grainger, X-ray photoelectron spectroscopy sulfur 2p study of organic thiol and disulfide binding interactions with gold surfaces, *Langmuir* 12 (1996) 5083–5086.
- [34] M. Descostes, F. Mercier, N. Thomat, C. Beaucaire, M. Gautier-Soyer, Use of XPS in the determination of chemical environment and oxidation state of iron and sulfur samples: constitution of a data basis in binding energies for Fe and S reference compounds and applications to the evidence of surface species of an oxidized pyrite in a carbonate medium, *Appl. Surf. Sci.* 165 (2000) 288–302.
- [35] J. Huang, J.C. Hemminger, Photooxidation of thiols in self-assembled monolayers on gold, *J. Am. Chem. Soc.* 115 (1993) 3342–3343.
- [36] A. Majumdar, S.C. Das, T. Shripathi, J. Heinicke, R. Hippler, Shake up satellites and fluorescence property of carbon nitride and hydrogenated carbon nitride: annealing effect, *Surf. Sci.* 609 (2013) 53–61.
- [37] L. Fei, S. Perrett, Effect of nanoparticles on protein folding and fibrillogenesis, *Int. J. Mol. Sci.* 10 (2009) 646.
- [38] A. Bouhekka, T. Bürgi, In situ ATR-IR spectroscopy study of adsorbed protein: visible light denaturation of bovine serum albumin on TiO₂, *Appl. Surf. Sci.* 261 (2012) 369–374.

- [39] B.A. Jucker, H. Harms, S.J. Hug, A.J.B. Zehnder, Adsorption of bacterial surface polysaccharides on mineral oxides is mediated by hydrogen bonds, *Colloids Surf. B* 9 (1997) 331–343.
- [40] X. Wang, J.C. Yu, Y. Chen, L. Wu, X. Fu, ZrO₂-modified mesoporous nanocrystalline TiO₂-xN_x as efficient visible light photocatalysts, *Environ. Sci. Technol.* 40 (2006) 2369–2374.
- [41] J. Jenkins, O. Mayans, R. Pickersgill, Structure and evolution of parallel β -helix proteins, *J. Struct. Biol.* 122 (1998) 236–246.

CAPITULO 7: Reacciones de fotodegradación inusuales de extractos enzimáticos de polen de pasto de Asteraceae y Poaceae en el fotocatalizador P25

Environmental Science and Pollution Research
<https://doi.org/10.1007/s11356-021-13237-6>

ADVANCED OXIDATION/REDUCTION TECHNOLOGIES: AN PERSPECTIVE FROM IBEROAMERICAN COUNTRIES



Unusual photodegradation reactions of *Asteraceae* and *Poaceae* grass pollen enzymatic extracts on P25 photocatalyst

Maria Sapiña¹ · Eva Jimenez-Relinque¹  · Elisa Roman² · Roman Nevshupa¹ · Marta Castellote¹

Received: 26 February 2020 / Accepted: 26 February 2021

© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2021

Abstract

In previous studies, it was demonstrated that photocatalysis by TiO₂ nanoparticles can be effective for decomposition of pollen grains and pollen allergen extracts (PAEs) for *Cupressus arizonica* and *Platanus hybrida* species. In this work, the chemical and photochemical processes of five types of PAEs belonging to family *Asteraceae*, tribe *Astereae*, and family *Poaceae*, tribes *Poeae* and *Triticeae*, were studied. It was confirmed that the PAEs suffered almost complete decomposition, which likely led to gaseous final products. For the species of *Poeae* tribe, i.e., *Poa pratensis*, *Festuca pratensis*, and *Avena sativa*, an unusual surface chemical modification of the photocatalyst consisting in the appearance of new bands on fine core level spectra of Ti 2p, C 1s, and O 1s was observed. These changes were associated with possible doping of TiO₂ with C and N by pollen extracts. This was accompanied by a red shift of absorption spectra. The results suggest that some components of *Poeae* pollen can be grafted on TiO₂ surface and they can activate the photocatalyst in the visible range. These findings can open a new pathway to eco-friendly chemical engineering of photocatalysts using organic biological compounds.

Keywords Pollen · Enzymatic extract · TiO₂ · Photocatalyst · Chemical modification

En este capítulo se presenta con detalle el planteamiento, procedimiento, resultados y discusión correspondientes al OP4: Análisis de la interacción química semiconductor TiO_2 -alérgeno y potenciales aplicaciones.

Para ello, a diferencia de los capítulos anteriores, que se centraron específicamente en la degradación de los granos de polen y alérgenos, en este trabajo, nuevos hallazgos indican modificaciones químicas superficiales inusuales en el fotocatalizador P25 (TiO_2) para los extractos de especies de Poaceae, que abre la puerta a aplicaciones todavía insospechadas.

7.1 Materiales y métodos

7.1.1 Extractos alérgicos de polen y configuraciones experimentales

Se obtuvieron extractos alérgicos de polen que contenían enzimas de polen de Greerlab en forma de tortas liofilizadas selladas en viales de vidrio en atmósfera protectora. Inmediatamente antes de los experimentos, se agregaron 2.5 ml de agua extra pura (18 M Ω -cm) al vial para obtener un extracto líquido. Se estudiaron cinco especies pertenecientes a dos familias de *Angiospermae*: *Asteraceae* y *Poaceae*, y tres tribus: *Astereae*, *Poeae* y *Triticeae* (Fig. 7.1).

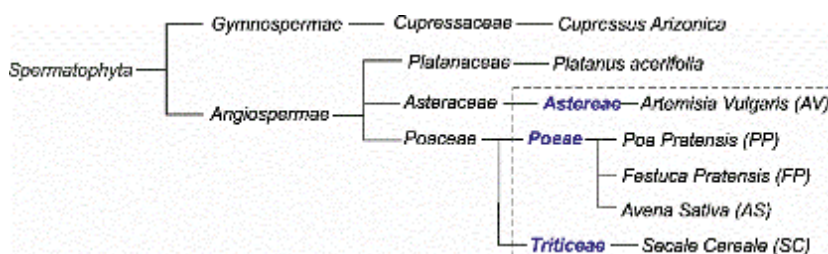


Figura 7.1: Clasificación de las especies que se estudiaron en este trabajo (de la familia *Asteraceae*, tribu *Astereae* y familia *Poaceae*, tribus *Poeae* y *Triticeae*) y en trabajos anteriores (*Cupressus* y *Platanus*) (Jimenez-Relinque, 2016)

El Aeroxide® TiO_2 -P25 de referencia comúnmente utilizado de Evonik se utilizó como fotocatalizador (PhC) en forma de suspensión de 6 g de polvo P25 en 100 ml de agua extra pura. En aras de la simplicidad, el fotocatalizador no fue compatible en este estudio exploratorio. Se realizaron cuatro pruebas de acuerdo con la metodología descrita anteriormente (Jimenez-Relinque et al. 2016). El diseño del experimento se desarrolló de tal manera que el efecto de la fotocatalisis, la irradiación UV y la reactividad química no fotocatalítica entre los PAE y el PhC pueden calcularse de forma independiente. Para

preparar las muestras de prueba (diseños de prueba I y II), se extendió una gota de extracto de PAE de 30 μ L sobre la superficie del soporte (soporte de vidrio dorado para análisis XPS y soporte de aluminio para caracterización SEM) y se secó. En los ensayos III y IV, en primer lugar, se colocaron 30 μ l de la suspensión de P25 sobre el soporte, y después el extracto de PAE se colocó en la parte superior de la capa de fotocatalizador (PhC) y se secó. En los casos II y IV, la irradiación de la muestra se realizó durante 24 h utilizando leds con emisión nítida en la región UV a 365 nm y potencia 5 W. Los diseños de prueba y el etiquetado adoptados se dan en la Tabla 1.

Tabla 7.1 Nomenclatura y significado

Código	Nomenclatura	Significado
I	PAE	Extracto alergénico de polen sobre un sustrato inerte
II	PAE + UV	Extracto alergénico de polen irradiado con UV sobre un sustrato inerte
III	PAE+PhC	Extracto alergénico de polen no irradiado sobre un sustrato activo*
IV	PAE+PhC+UV	Extracto alergénico de polen irradiado con UV sobre un sustrato activo*

*El sustrato activo se refiere a una capa fotocatalítica sobre el sustrato inerte

7.1.2. Métodos

La composición química de la superficie de las muestras, así como la unión de los principales elementos químicos, se estudiaron mediante espectroscopia de rayos X de dispersión de energía (EDX) y espectroscopia de fotoelectrones de rayos X (XPS). En comparación con otras técnicas de espectroscopia convencional como FTIR, que se han utilizado ampliamente para el análisis de la degradación química orgánica de los componentes del polen en diversas circunstancias ambientales y condiciones experimentales (Cravanzola 2017, Depciuch et al.2016, Sapiña et al.2017), XPS puede proporcionar información sobre el entorno químico elemental tanto en fases orgánicas (Martínez et al. 2011) como en el fotocatalizador adecuado (Mohamed 2018).

La microscopía electrónica de barrido (SEM) y el análisis elemental de resolución espacial EDX se realizaron después de cada una de las cuatro pruebas (Tabla 1) utilizando un microscopio electrónico Hitachi S-4800, con una aceleración electrónica de 0,5 - 30 kV. El microanálisis se realizó con un detector de Si, 167 XFlash Detector 5030, Bruker.

Para el análisis XPS, se utilizó un sistema de vacío ultra alto con una presión base de 1×10^{-8} Pa. Una fuente de radiación de rayos X fue Mg K α (1253,6 eV). El plano de la superficie de la muestra estaba a 60° a la entrada del analizador hemisférico. Los amplios espectros se registraron con una energía de paso de 40 eV y un paso de energía de 0,25 eV. Se midieron los espectros de alta resolución para los elementos principales (C 1s, O 1s, N 1s, Ti 2p y Au 4f) con un paso de energía de 15 eV. La escala de energía de enlace (BE) se calibró con respecto al Au 4f a 84 eV. Se restó la contribución de la línea Mg K α y se eliminó el fondo utilizando la rutina de Shirley antes del cálculo de la composición elemental. Las concentraciones elementales relativas se determinaron a partir de las áreas de los picos correspondientes obtenidos por deconvolución de los espectros medidos utilizando factores de sensibilidad de referencia (Briggs & Seah 1990) y siguiendo el procedimiento y las limitaciones, que se explicaron con detalle anteriormente (Jimenez- Relinque et al.2016).). Se llevó a cabo un análisis XPS de PAE de diversas especies sobre sustratos de PhC irradiados y no irradiados con el fin de determinar la unión química de los elementos principales. Se prestó especial atención al análisis de espectros de Ti que sondeó una posible interacción entre los PAE y el sustrato.

La banda prohibida aparente se calculó a partir de los coeficientes de absorbancia determinados por espectroscopia de reflectancia difusa (DRS) realizada en un espectrofotómetro Shimadzu UV-2600 UV-vis.

7.2. Resultados y discusión

7.2.1. SEM-EDX

Las Figuras 7.2 y 7.3 muestran las imágenes SEM (escala de grises) combinadas con los mapas elementales para C (rojo) o Ti (azul). El carbono está asociado con los componentes orgánicos, que desaparecen debido a la degradación fotocatalítica sin dejar residuos sólidos. La descomposición de fases sólidas de PAE en compuestos volátiles de bajo peso molecular

concuera con los mecanismos de fotodegradación de aminoácidos con dos pasos principales que conducen a productos finales de NH_3 y CO_2 (Hidaka et al. 1997). En consecuencia, surge un fotocatalizador desnudo que es evidente por el aumento de la intensidad del Ti. En las pruebas I (punto de referencia) y II, no se encontró variación significativa en la distribución de C sobre la superficie (Fig. 7.2). Esto indica que la radiación ultravioleta sin material fotocatalítico no provocó la volatilización de los componentes orgánicos sólidos. Esto está en línea con nuestro estudio anterior sobre el polen de *Cupressus* y *Platanus* (Jimenez-Relinque et al. 2016). Cuando los PAE se colocaron en la superficie de PhC sin exposición a la luz ultravioleta (prueba III), la concentración de carbono para la tribu Poeae (AS, FP y PP) disminuyó, pero para las otras dos especies (SC y AV) permaneció casi sin cambios. En la prueba IV (PAE irradiado con UV en la parte superior del PhC), la concentración de carbono disminuyó sustancialmente para todas las especies. Para las especies de la tribu Poeae, la disminución de C en la prueba IV fue más significativa que en la prueba III. Es de destacar que el mapa de distribución de C es casi la imagen negativa del mapa de distribución de Ti, lo que significa que la descomposición de PAE ocurrió principalmente en la superficie de PhC.

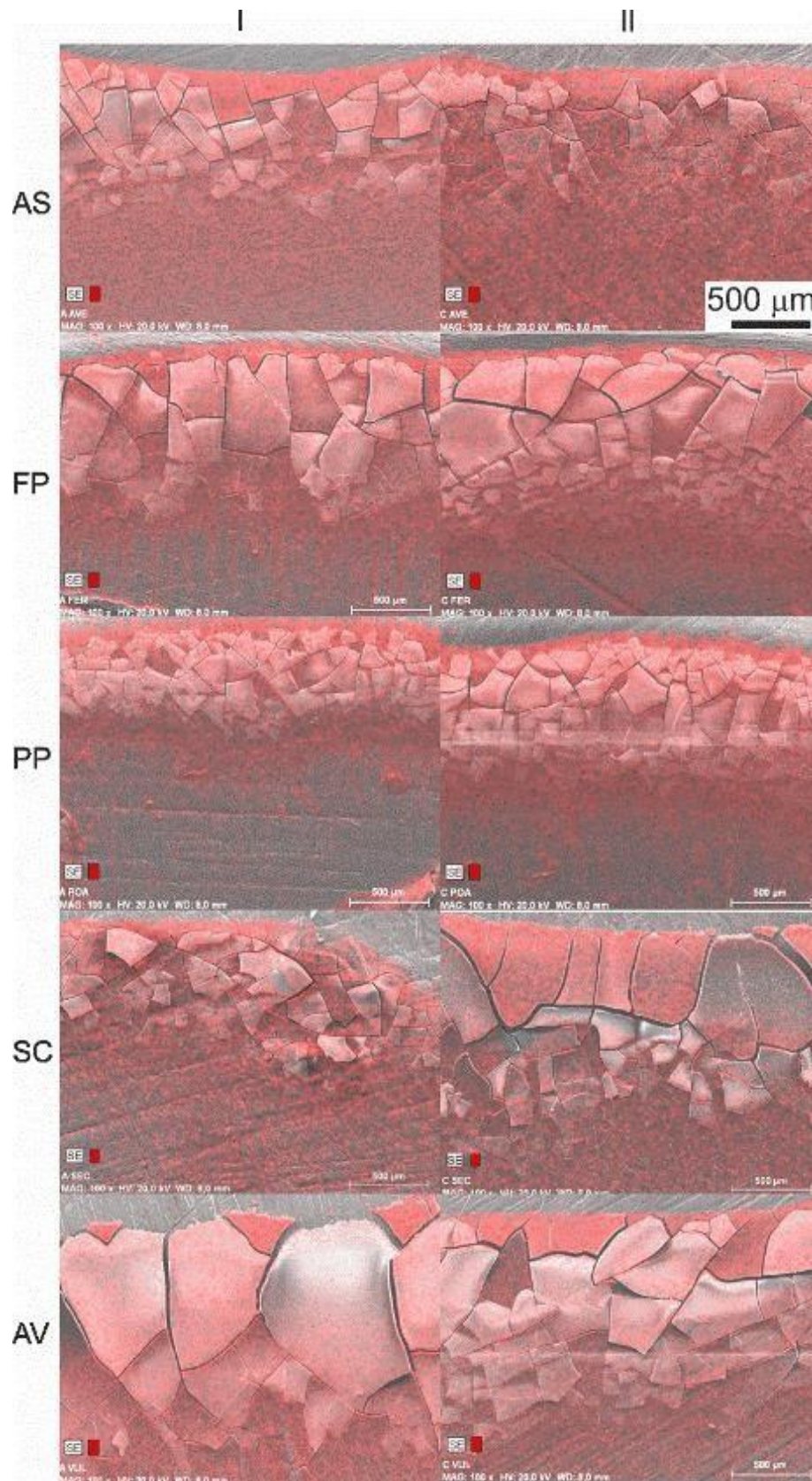


Figura 7.2: Imágenes de SEM (en gris) y mapeo de carbono (en rojo) medido por EDS para PAE de diferentes especies en los diseños de prueba I y II.

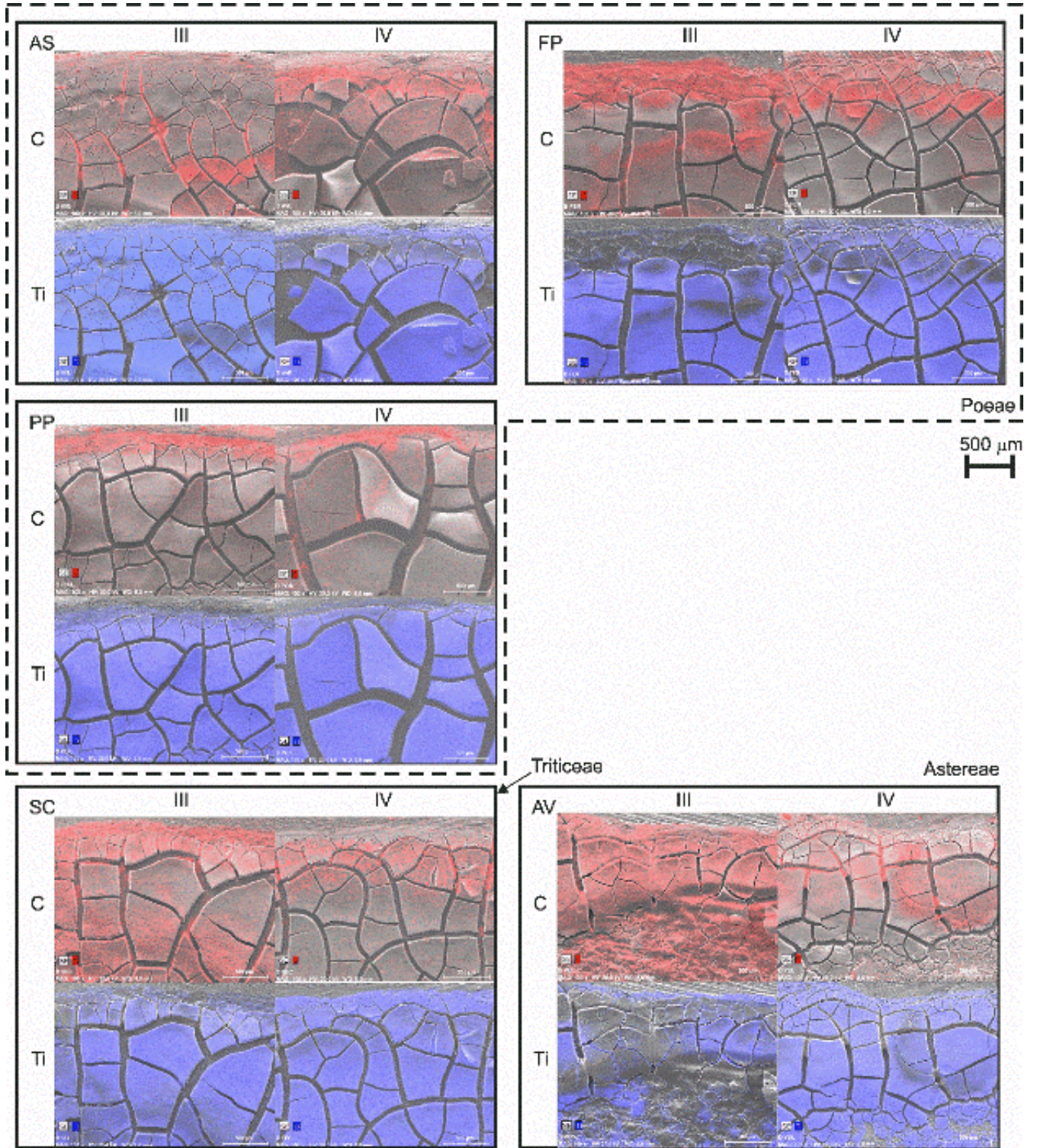


Figura 7.3: Imágenes de SEM (en gris), mapeo de carbono (en rojo) y mapeo de titanio (en azul) medidos por EDX para los PAE de varias especies en los diseños de prueba III y IV

7.2.2 Resultados XPS

7.2.2.1 Concentración elemental total

La Figura 7.4 muestra las concentraciones atómicas superficiales de C y N, que están relacionadas con los componentes orgánicos de los PAE. De acuerdo con nuestros estudios anteriores, la disminución más importante de C y N se observó en la prueba IV, cuando el PAE fue sometido a fotocatalisis. En la prueba III también se encontró cierta disminución en la concentración de C de acuerdo con los resultados de EDX.

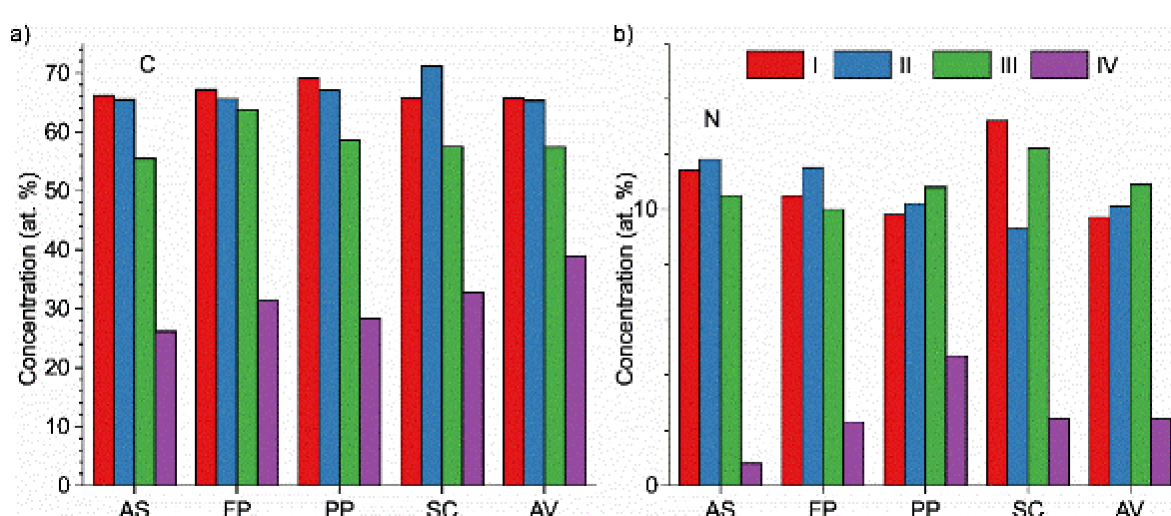


Figura 7.4: Concentración total de a) C, y b) N en las superficies de PAE de varias especies en función del diseño de la prueba.

7.2.2.2 Ti 2p

Antes de profundizar en el análisis de espectros finos de XPS para varias muestras de polen, se midió cuidadosamente el espectro de la muestra de PhC desnuda. Este espectro se utilizó como punto de referencia para rastrear posibles modificaciones de la superficie del fotocatalizador debido a reacciones con PAE. La Figura 7.5 muestra el espectro fino de Ti 2p con dos bandas a 459,4 y 465,1 eV correspondientes a Ti 2p_{3/2} y 2p_{1/2}, respectivamente. La posición de la banda y la separación (5,7 eV) corresponden al estado de oxidación de Ti⁴⁺ (Mayer et al. 1995, Moulder et al. 1995) (Tabla 7.2).

Cuando se aplicaron PAE en la parte superior del PhC (sin irradiación UV), los espectros de Ti 2p fino no cambiaron para todos los PAE, excepto para PP, que mostró un ensanchamiento del componente Ti 2p_{3/2}, cuyo ancho total en la mitad del máximo

(FWHM) aumentó de 1,3 eV a aproximadamente 2,0 eV. Según (Mayer et al. 1995) esto puede estar asociado con la reducción de especies de Ti^{4+} superficiales a estados de oxidación intermedios.

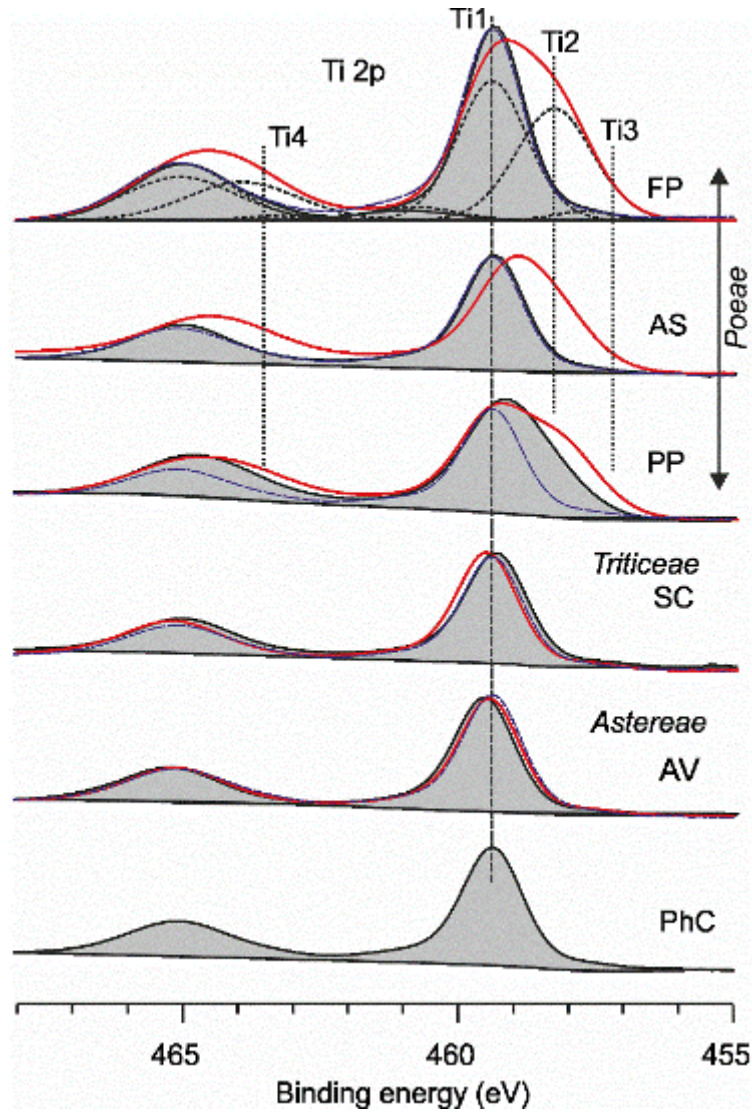


Figura 7.5: Espectros de nivel de núcleo fino de Ti 2p para el fotocatalizador cargado con PAE antes de la irradiación UV (líneas continuas negras y sombreadas) y después de la irradiación UV (línea roja). El espectro de PhC simple se muestra como referencia mediante una línea azul discontinua.

Tabla 7.2 Bandas XPS y sus correspondientes enlaces químicos posibles

Elemento	Componente	Energía (eV)	Enlaces
Ti2p _{3/2}	Ti1	459.3 (Ti ⁴⁺)	O-Ti-O
	Ti2	458.3	N-Ti-O, C-Ti-O
O1s	O1	530.4	O-Ti-O
	O2	531.8	C-OH, O=C-O, O=C-N, C-O-C-O-C
	O3	533	O=C-OH, O=C-O-C
	O4	534	O enlace simple de ésteres de carbonato de O- (C=O) -O cíclicos (C=O) -O- (C=O), anhídrido de ácido carboxílico
	O5	529.3	O vacantes en TiO ₂
C1s	C1	284.5	C-C, C-H, C-S
	C2	285.7	C-N-C=O, C=C-N, C-COO
	C3	287.3	N=C-N, O=C-NH-C, C-OH, C-O-C, C-O-C=O
	C4	289	C-O-C=O, O=C-OH, O=C-N
	C5	282.8	Carburo de Ti?
N1s	N1	399.0	Amina C-N-H, C-N-C; imina C=N-C
	N2	400.5	Imida (C=O)-N-(C=O)
	N3	403.0	NITRITO NO ₂

7.2.2.3 O 1s

Los espectros de O 1s de nivel de núcleo fino se muestran en la Fig. 7.6. La banda a 530,6 eV (O1) en el espectro de referencia se asoció con O²⁻ de titania. La cola a energías de unión más altas podría deberse a grupos hidroxilo, agua y carbonosos adsorbidos.

Para todos los PAE no irradiados colocados en el PhC (prueba III), hubo una banda ancha asimétrica en el rango de 530-535 eV debido a los componentes orgánicos del PAE. El centro de esta banda era 2 a 2,3 eV más alto que para O1. Una vez irradiadas, las muestras exhibieron comportamientos diferentes. Para los PAE que no son de Poae (SC y AV), la banda "orgánica" desapareció por completo y el espectro resultante se volvió casi idéntico al espectro de PhC desnudo. Esto respalda nuestros hallazgos anteriores sobre la degradación fotocatalítica completa de PAE que conduce a productos volátiles y gaseosos. Sin embargo, para las tres especies de Poae, la banda "orgánica" no se desvaneció por completo. Además, surgió una nueva banda O5 de baja energía a 529,3 eV. Esta banda se

puede asociar con las vacantes de oxígeno en titania. Previamente Wang et al. informaron que la banda de O 1s cambia a 529,5 eV después del tratamiento de nanocinturones de TiO₂ con NH₃ a 600 ° C (Wang et al. 2009). En este estudio, se logró un efecto similar sin calentamiento, solo mediante procesos químicos y fotoquímicos a temperatura y presión normales.

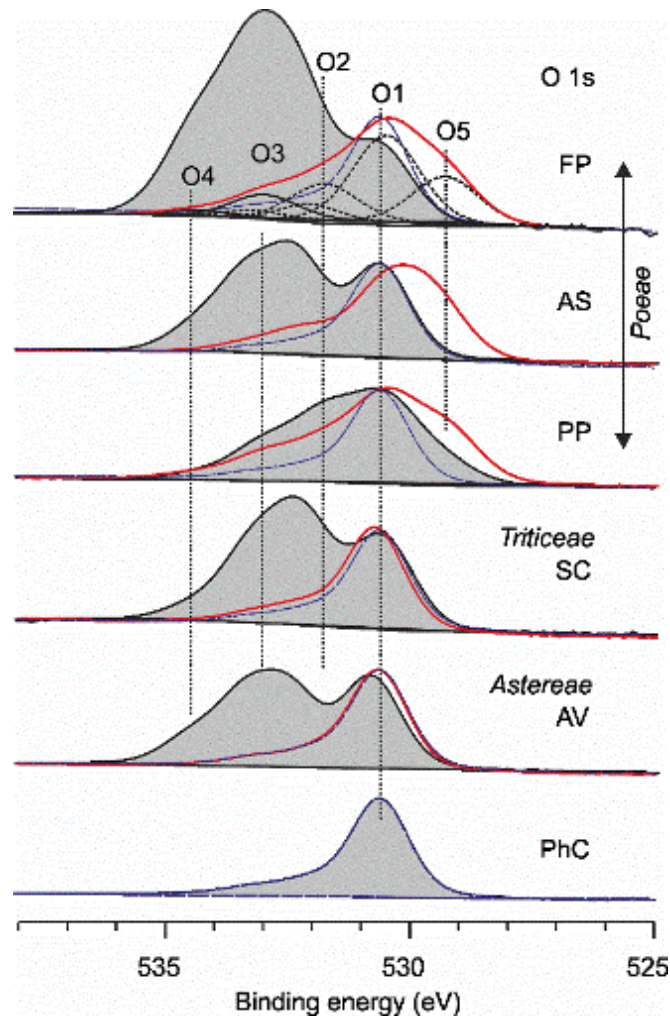


Figura 7.6: Espectros de nivel de núcleo fino de O 1 para el fotocatalizador cargado con PAE antes de la irradiación UV (líneas continuas negras y sombreadas) y después de la irradiación UV (línea roja). El espectro de PhC simple se muestra como referencia mediante una línea azul discontinua.

7.2.2.4 N 1s

En el espectro de referencia, una banda débil de N 1s a unos 400,6 eV podría deberse a la contaminación del aire (Fig. 7.7 a). Cuando se aplicó PAE en la parte superior de PhC, surgió una banda fuerte a 401 eV y FWHM 1.8 eV (N2) asignado a grupos amino NH o NH₂ (Rouxhet & Genet 2011). Además, PP PAE mostró un cambio descendente en 0,7 eV

y un ensanchamiento (FWHM 2,6 eV) de la banda N1. Después de la irradiación UV, las tres especies de Poaee se comportaron nuevamente de manera diferente a las especies que no eran de Poaee: apareció una nueva banda fuerte a 399.0 eV (N1) y una banda débil a 403 eV. La asignación de la banda N1 a un enlace específico aún no está clara. En la literatura, las energías de unión 396,9 eV y 398,1 eV se asociaron generalmente con el enlace N-Ti de TiN y TiCN (Cheng y Zheng 2007). Se encontraron dos o tres bandas en el rango de 398 a 402 eV para el TiO₂ dopado con N, que se obtuvo por calcinación a 450- 700 ° C de TiO₂ previamente sumergido en soluciones orgánicas (El-Sheikh et al. 2014). Sin embargo, cuando se empleó un proceso hidrotérmal para dopar TiO₂ nanoparticulado usando pequeñas moléculas de amina a una temperatura más baja, solo se encontró una banda a 399.5 eV (Bao et al. 2013). En el caso de SC, el espectro de N 1s no presentó cambios significativos excepto por la variación en la intensidad total de la banda.

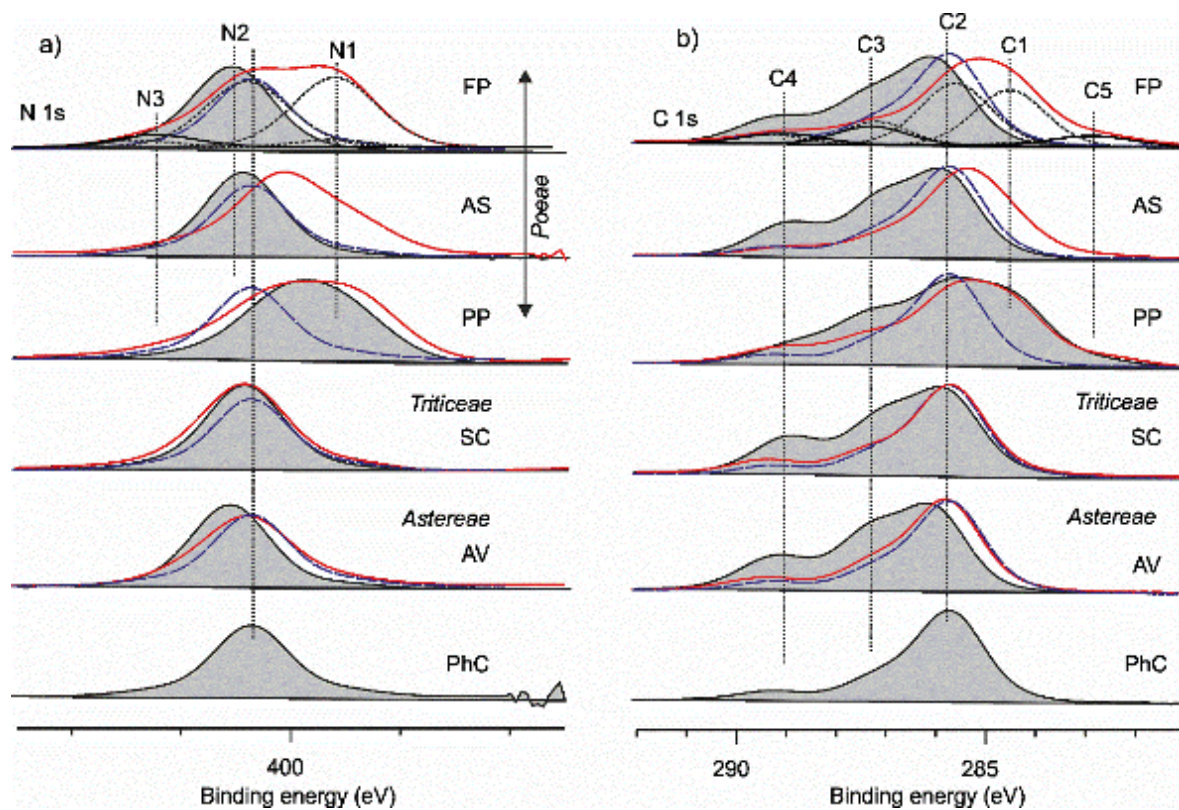


Figura 7.7: Espectros de nivel de núcleo fino de N 1s (a) y C 1s (b) para el fotocatalizador cargado con PAE antes de la irradiación UV (líneas continuas negras y sombreadas) y después de la irradiación UV (línea roja). El espectro de PhC simple se muestra como referencia mediante una línea azul discontinua.

7.2.2.5 C 1s

En el espectro de referencia, una banda de carbono asimétrica con su máximo en 285,7 eV (Fig. 7.7 b) se atribuyó a la contaminación de PhC en el aire. Se deconvolucionó utilizando tres bandas: C2, C3 y C4 (Tabla 2). Cuando se colocaron PAE en el PH, la intensidad de C3 y C4 aumentó, pero no los hizo cambiar. En el caso de *Poa Pratensis*, un ensanchamiento del espectro con respecto al punto de referencia podría deberse a la banda C1 a 284,5 eV, que suele atribuirse a los enlaces sp^3 C, grafito y C-C, C-H (Díaz et al. 1996).

Después de la exposición a la luz ultravioleta, los espectros sufrieron cambios significativos. Para FP, la relación C1 / C2 aumentó a casi una unidad que sugiere una posible interacción química fuerte entre los componentes del PAE y PhC y/o formación de carbono amorfo. Para todas las especies de *Poeae*, apareció un nuevo componente a 282,8 eV (C5) que no se encontró para SC y AV. Ni los compuestos de carbono orgánico ni el carbono alotrópico (nanotubos, fullerenos, grafeno, grafito, etc.) tienen enlaces con la energía de enlace inferior a C1. Aunque los carburos y oxcarburos de titanio pueden tener una banda de alrededor de 282 eV (Zhang y Koka 1998), la ausencia de banda de Ti a 455 eV no respalda la asignación de C5 a TiC.

7.2.3 Ancho de banda

Los valores espectroscópicos de reflectancia difusa (DRS) para el caso IV para los diferentes PAE así como para P25 puro se muestran en la Fig. 7.8. Los coeficientes de absorción óptica de Kubelka-Munk se determinaron a partir de la ecuación de Tauc. Este método es útil para la caracterización de materiales semiconductores de película fina y a granel, incluidos fotocatalizadores de óxido (Cravanzola 2017, Murphy 20 07). En comparación con el P25 puro, todas las especies mostraron un desplazamiento hacia el rojo de los bordes de absorción. Los intervalos de banda aparentes se calcularon de acuerdo con la extrapolación lineal al eje x de los coeficientes de absorción $(F(R) / hv) 0,5$ frente a hv . Todos los gráficos de las muestras de PAE coincidieron casi perfectamente y arrojaron un intervalo de banda promedio de $2,93 \pm 0,79$ eV, mientras que para P25 puro fue $3,25 \pm 0,087$ eV. Estos datos están muy cerca de los resultados informados para TiO_2 dopado con C y S, que mostraron un cambio de aproximadamente 3,25 a 3 o incluso 2,8 eV (Kim & Jang 2018, Mohamed et al. 2017). Además de la banda prohibida principal, había una

secundaria con un efecto mucho menor. Para P25 cargado con los PAE, la banda prohibida secundaria también sufrió un cambio significativo hacia el rojo a alrededor de 1.8 eV para todas las especies. La banda prohibida secundaria se ha observado generalmente para el TiO₂ dopado y se ha atribuido al efecto de los niveles electrónicos de los dopantes extraños (Bai et al.2018, Gharaei et al.2018, Mohamed 2018).

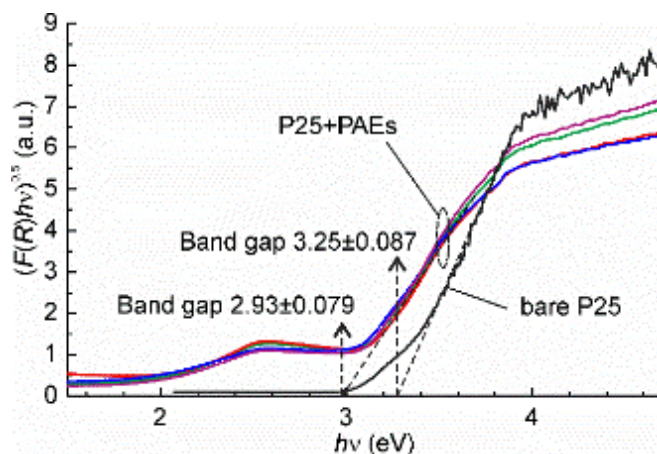


Figura 7.8: Ancho de banda para varias muestras fotocatalíticas cargadas con PAE y brecha de banda para P25 simple.

7.2.4 Discusión

El análisis XPS confirmó que los componentes orgánicos sólidos de los cinco extractos alérgicos de polen se degradaron a productos volátiles y gaseosos debido a la oxidación fotocatalítica. Esto proviene de una disminución significativa en las concentraciones de C y N en los PAE colocados en la parte superior del PhC después de la irradiación UV. Esto no es sorprendente, ya que el conocimiento mecanicista de la degradación fotocatalítica de aminoácidos en sus formas catiónicas o bipolares reveló que los pasos principales conducen a la formación de NH₃ o CO₂ como productos finales, mientras que solo uno de los cuatro pasos secundarios puede producir nitratos (Hidaka et al. 1997, Kim y Choi 2002, Tran et al.2006). La degradación está relacionada con procesos fotocatalíticos y no con irradiación UV, ya que para los PAE colocados sobre sustratos inertes no se encontraron variaciones significativas en C y N.

Los PAE de la tribu Poeae de la familia Poaceae exhibieron un comportamiento singular en sustratos fotocatalíticamente activos tanto bajo como sin irradiación UV. Las características de los espectros de nivel de núcleo fino de XPS sugieren que los PAE

interactúan químicamente con el fotocatalizador. Se observaron nuevas bandas a energías más bajas para Ti, O, N y C después de la irradiación UV. En el caso del PP, estas bandas aparecieron incluso sin irradiación UV. Las nuevas bandas no pertenecían a los componentes orgánicos de PAE ni al puro PhC. El cambio de energía de Ti 2p y O1 1s sugiere la creación de vacantes de oxígeno en titania. También puede apuntar a una posible incorporación de N y / o C en la posición intersticial de PhC o al injerto de una capa carbonosa en la superficie de PhC. Anteriormente, se informó de enlaces covalentes entre titania y varias moléculas orgánicas como arginina, lauril sulfato y ácido salicílico (Makarova et al. 2000). En el caso de la arginina adsorbida, condujo electrones desde la banda de valencia del TiO₂ a las moléculas contaminantes objetivo, pero la arginina no se vio afectada por las reacciones fotocatalíticas. Otros estudios (Kavil et al.2017, Lo Presti et al.2014, Smith et al.2015, Wang et al.2014, Zou et al.2012) exploraron el uso de polianilina, glicina, aminas alifáticas, péptidos, etc. para la modificación de TiO₂ y mejora el rendimiento cuántico para la fotodegradación de diversas sustancias orgánicas.

La hipótesis de un posible dopaje de P25 por elementos no metálicos y / o su autodopaje por Ti³⁺ por PAE está respaldada además por el desplazamiento hacia el rojo observado en los espectros de absorción. Cabe señalar que, debido a limitaciones metodológicas obvias, la banda prohibida en el diseño de prueba III, es decir, sin irradiación UV, no se pudo medir mediante el método de reflectancia difusa UV-vis. Los hallazgos extraídos del análisis XPS que mostraron la modificación química de P25 por especies de Poae y la ausencia de dicha modificación para otras especies estudiadas sugieren que las especies de Poae causaron una disminución más pronunciada de la banda prohibida aparente que otras especies. Sin embargo, no se observaron diferencias entre los gráficos de Tauc para PAE de Poae y no Poae. Esta aparente contradicción puede explicarse considerando las diferencias de profundidad de análisis característica de XPS y métodos de reflectancia difusa. El primero proporciona información sobre la unión química en una capa superficial muy delgada con un grosor típicamente inferior a 10 nm (Ray & Shard 2011). A su vez, en la medición de la reflectancia, la profundidad de penetración de la luz del TiO₂ es del orden de varias decenas de nanómetros (Mo & Ching 1995, Stevanovic et al. 2012). Por lo tanto, la banda prohibida aparente determinada por el método de reflectancia difusa proporciona un valor promedio en toda la capa superficial y es virtualmente insensible a la capa superior adsorbida / modificada.

Aunque se desconoce la composición exacta de los extractos alergénicos de polen, es probable que los tres extractos pertenecientes a la tribu *Poaeae* tengan componentes comunes, desconocidos pero que fueron injertados en la superficie del TiO_2 que redujeron la banda prohibida de la misma manera que muchas tecnologías. hacer mediante autodopaje con Ti^{3+} (Li et al. 2015b), dopaje con elementos no metálicos (Bengtsson et al. 2009, Cravanzola 2017, Li et al. 2015a), etc. para activar el fotocatalizador en rango visible. Esto puede tener implicaciones importantes para las futuras tecnologías ecológicas de ingeniería de fotocatalizadores mediante la modificación del fotocatalizador nativo mediante un simple tratamiento de superficie.

7.3. Conclusiones parciales OP4

Además de las dos especies estudiadas en el estudio anterior, este trabajo demostró que la fotocatalisis es eficaz para la degradación de las enzimas alergénicas al polen de cinco especies pertenecientes a las familias de plantas *Poaceae* y *Asteraceae*. La fotocatalisis provocó la descomposición casi completa de sustancias orgánicas en productos volátiles de bajo peso molecular que concuerda con los mecanismos de fotodegradación de aminoácidos. Para las especies de la tribu *Poaeae*, es decir, *Poa Pratensis*, *Festuca Pratensis* y *Avena Sativa*, se observó una modificación química superficial inusual del fotocatalizador P25. Aparecieron nuevas bandas en espectros de nivel de núcleo fino de Ti 2p, C 1s y O 1s y se atribuyeron a la formación de vacantes de oxígeno y posibles reacciones entre TiO_2 y componentes orgánicos. Las modificaciones químicas observadas fueron similares a las que se persiguen habitualmente mediante la ingeniería química del fotocatalizador, p. Ej. autodopaje por Ti^{3+} , dopaje con elementos no metálicos, etc., buscando reducción de band gap y sensibilización del fotocatalizador en rango espectral visible. Sin embargo, la determinación de la banda prohibida aparente utilizando un método de reflectancia difusiva no reveló diferencias significativas entre las especies. Esto se atribuyó al hecho de que el método de reflectancia difusiva es prácticamente insensible a la capa adsorbida superior, donde debe producirse la modificación química. Las modificaciones químicas observadas ocurrieron sin ningún calentamiento u otro procesamiento tecnológico del fotocatalizador, justo a temperatura y presión normales y en presencia de radiación ultravioleta. Estos hallazgos pueden ser útiles para la ingeniería química ecológica de fotocatalizadores que utilizan compuestos biológicos orgánicos. Se necesitan más estudios interdisciplinarios centrados en la química de superficies, la identificación de los componentes activos del

polen de Poa, los aspectos mecánicos de la modificación química del TiO₂ y las propiedades fotocatalíticas de los materiales modificados.

REFERENCIAS CAPITULO 7

- Avasarala B, Haldar P (2010): Electrochemical oxidation behavior of titanium nitride based electrocatalysts under PEM fuel cell conditions. *Electrochimica Acta* 55, 9024-9034
- Bai S, Zhang N, Gao C, Xiong Y (2018): Defect engineering in photocatalytic materials. *Nano Energy* 53, 296-336
- Bao N, Niu J-J, Li Y, Wu G-L, Yu X-H (2013): Low-temperature hydrothermal synthesis of N-doped TiO₂ from small-molecule amine systems and their photocatalytic activity. *Environmental Technology* 34, 2939-2949
- Bengtsson N, Castellote M, López-Muñoz María J, Cerro L (2009): Preparation of Co-doped TiO₂ for Photocatalytic Degradation of NO_x in Air under Visible Light, *Journal of Advanced Oxidation Technologies*, pp. 55
- Briggs D, Seah MP (1990): *Practical Surface Analysis—Auger and X-ray Photoelectron Spectroscopy*. Wiley, Chichester, 657 pp
- Cheng Y, Zheng YF (2007): Characterization of TiN, TiC and TiCN coatings on Ti-50.6 at.% Ni alloy deposited by PIII and deposition technique. *Surface and Coatings Technology* 201, 4909-4912
- Cravanzola SC, F.; Gaziano, F.; Scarano, D. (2017): Sulfur-Doped TiO₂: Structure and Surface Properties. *Catalysts* 7, 214
- D'Amato G, Liccardi G (1994): Pollen-related allergy in the European Mediterranean area. *Clinical & Experimental Allergy* 24, 210-219
- Depciuch J, Kasprzyk I, Roga E, Parlinska-Wojtan M (2016): Analysis of morphological and molecular composition changes in allergenic *Artemisia vulgaris* L. pollen under traffic pollution using SEM and FTIR spectroscopy. *Environmental Science and Pollution Research* 23, 23203-23214
- Díaz J, Paolicelli G, Ferrer S, Comin F (1996): Separation of the *sp*³ and *sp*² components in the C1s photoemission spectra of amorphous carbon films. *Physical Review B* 54, 8064-8069
- El-Sheikh SM, Zhang G, El-Hosainy HM, Ismail AA, O'Shea KE, Falaras P, Kontos AG, Dionysiou DD (2014): High performance sulfur, nitrogen and carbon doped mesoporous anatase–brookite TiO₂ photocatalyst for the removal of microcystin-LR under visible light irradiation. *Journal of Hazardous Materials* 280, 723-733
- Fernandez A, Lassaletta G, Jimenez V, Justo A, Gonzalez-Elipe A, Herrmann J-M, Tahiri H, Ait-Ichou Y (1995): Preparation and characterization of TiO₂ photocatalysts supported on various rigid supports (glass, quartz and stainless steel). Comparative studies of photocatalytic activity in water purification. *Applied Catalysis B: Environmental* 7, 49-63
- Fujishima A, Rao TN, Tryk DA (2000): Titanium dioxide photocatalysis. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews* 1, 1-21
- Gharaei SK, Abbasnejad M, Maezono R (2018): Bandgap reduction of photocatalytic TiO₂ nanotube by Cu doping. *Scientific Reports* 8, 14192
- Hidaka H, Horikoshi S, Ajisaka K, Zhao J, Serpone N (1997): Fate of amino acids upon exposure to aqueous titania irradiated with UV-A and UV-B radiation Photocatalyzed formation of NH₃, NO₃⁻, and CO₂. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 108, 197-205
- Hingorani R, Jimenez-Relinque E, Grande M, Castillo A, Nevshupa R, Castellote M (2020): From analysis to decision: revision of a multifactorial model for the in situ

- assessment of NO_x abatement effectiveness of photocatalytic pavements. *Chemical Engineering Journal* 402, 126250
- Jimenez-Relinque E, Sapiña M, Nevshupa R, Roman E, Castellote M (2016): Photocatalytic decomposition of pollen allergenic extracts of *Cupressus arizonica* and *Platanus hybrida*. *Chemical Engineering Journal* 286, 560-570
- Jimenez-Relinque E, Grande M, Duran T, Castillo A, Castellote M (2020a): Environmental impact of nano-functionalized construction materials: leaching of titanium and nitrates from photocatalytic pavements under outdoor conditions. *Science of The Total Environment* 744, 140817
- Jimenez-Relinque E, Rubiano F, Hingorani R, Grande M, Castillo A, Nevshupa R, Castellote M (2020b): New Holistic Conceptual Framework for the Assessment of the Performance of Photocatalytic Pavement. *Frontiers in Chemistry* 8, 743
- Jung C-C, Lee C-P, Wang W-C, Wu M-C, Su H-J (2019): Application of a stable carbon isotope for identifying *Broussonetia papyrifera* pollen. *Environmental Science and Pollution Research* 26, 27353-27361
- Kavil J, Ullattil SG, Alshahrie A, Periyat P (2017): Polyaniline as Photocatalytic Promoter in Black Anatase TiO₂. *Solar Energy* 158, 792-796
- Kim J, Jang J (2018): Inactivation of airborne viruses using vacuum ultraviolet photocatalysis for a flow-through indoor air purifier with short irradiation time. *Aerosol Science and Technology* 52, 557-566
- Kim S, Choi W (2002): Kinetics and Mechanisms of Photocatalytic Degradation of (CH₃)_nNH₄ⁿ⁺ (0 ≤ n ≤ 4) in TiO₂ Suspension: The Role of OH Radicals. *Environmental Science & Technology* 36, 2019-2025
- Laxma Reddy PV, Kavitha B, Kumar Reddy PA, Kim K-H (2017): TiO₂-based photocatalytic disinfection of microbes in aqueous media: A review. *Environmental Research* 154, 296-303
- Li H, Hao Y, Lu H, Liang L, Wang Y, Qiu J, Shi X, Wang Y, Yao J (2015a): A systematic study on visible-light N-doped TiO₂ photocatalyst obtained from ethylenediamine by sol-gel method. *Applied Surface Science* 344, 112-118
- Li K, Gao S, Wang Q, Xu H, Wang Z, Huang B, Dai Y, Lu J (2015b): In-Situ-Reduced Synthesis of Ti³⁺ Self-Doped TiO₂/g-C₃N₄ Heterojunctions with High Photocatalytic Performance under LED Light Irradiation. *ACS Applied Materials & Interfaces* 7, 9023-9030
- Lo Presti L, Ceotto M, Spadavecchia F, Cappelletti G, Meroni D, Acres RG, Ardizzone S (2014): Role of the Nitrogen Source in Determining Structure and Morphology of N-Doped Nanocrystalline TiO₂. *The Journal of Physical Chemistry C* 118, 4797-4807
- Makarova OV, Rajh T, Thurnauer MC, Martin A, Kemme PA, Cropek D (2000): Surface Modification of TiO₂ Nanoparticles For Photochemical Reduction of Nitrobenzene. *Environmental Science & Technology* 34, 4797-4803
- Martínez L, Nevshupa R, Felhös D, De Segovia JL, Román E (2011): Influence of friction on the surface characteristics of EPDM elastomers with different carbon black contents. *Tribology International* 44, 996-1003
- Mayer JT, Diebold U, Madey TE, Garfunkel E (1995): Titanium and reduced titania overlayers on titanium dioxide(110). *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena* 73, 1-11
- McCafferty E, Wightman JP (1999): An X-ray photoelectron spectroscopy sputter profile study of the native air-formed oxide film on titanium. *Applied Surface Science* 143, 92-100

- Mo S-D, Ching WY (1995): Electronic and optical properties of three phases of titanium dioxide: Rutile, anatase, and brookite. *Physical Review B* 51, 13023-13032
- Mohamed AERB, S.; Rohani, S. (2018): N- and C-Modified TiO₂ Nanotube Arrays: Enhanced Photoelectrochemical Properties and Effect of Nanotubes Length on Photoconversion Efficiency. *Nanomaterials* 8, 198
- Mohamed MA, Wan Salleh WN, Jaafar J, Rosmi MS, Mohd. Hir ZA, Abd Mutalib M, Ismail AF, Tanemura M (2017): Carbon as amorphous shell and interstitial dopant in mesoporous rutile TiO₂: Bio-template assisted sol-gel synthesis and photocatalytic activity. *Applied Surface Science* 393, 46-59
- Moulder JF, Stickle WF, Sobol PE (1995): Handbook of X-ray photoelectron spectroscopy : a reference book of standard spectra for identification and interpretation of XPS data. Physical Electronics, Inc., Eden Prairie, Minn.
- Murphy AB (2007): Band-gap determination from diffuse reflectance measurements of semiconductor films, and application to photoelectrochemical water-splitting. *Solar Energy Materials and Solar Cells* 91, 1326-1337
- Nevshupa R, Jimenez-Relinque E, Grande M, Martinez E, Castellote M (2020): Assessment of urban air pollution related to potential nanoparticle emission from photocatalytic pavements. *Journal of Environmental Management* 272, 111059
- Ray S, Shard AG (2011): Quantitative Analysis of Adsorbed Proteins by X-ray Photoelectron Spectroscopy. *Analytical Chemistry* 83, 8659-8666
- Regmi C, Joshi B, Ray SK, Gyawali G, Pandey RP (2018): Understanding Mechanism of Photocatalytic Microbial Decontamination of Environmental Wastewater. *Frontiers in chemistry* 6, 33-33
- Rouxhet PG, Genet MJ (2011): XPS analysis of bio-organic systems. *Surface and Interface Analysis* 43, 1453-1470
- Sapiña M, Jimenez-Relinque E, Castellote M (2013): Controlling the Levels of Airborne Pollen: Can Heterogeneous Photocatalysis Help? *Environmental Science & Technology* 47, 11711-11716
- Sapiña M, Jimenez-Relinque E, Nevshupa R, Román E, Castellote M (2017): Degradation of pollen on nanofunctionalized photocatalytic materials. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 92, 210-216
- Smith JR, Amaya KR, Bredemeier RT, Banta S, Crokek DM (2015): Selective biomolecular photocatalytic decomposition using peptide-modified TiO₂ nanoparticles. *Applied Catalysis B: Environmental* 176-177, 315-324
- Stevanovic A, Büttner M, Zhang Z, Yates JT (2012): Photoluminescence of TiO₂: Effect of UV Light and Adsorbed Molecules on Surface Band Structure. *Journal of the American Chemical Society* 134, 324-332
- Tran TH, Nosaka AY, Nosaka Y (2006): Adsorption and Photocatalytic Decomposition of Amino Acids in TiO₂ Photocatalytic Systems. *The Journal of Physical Chemistry B* 110, 25525-25531
- Vohra A, Goswami D, Deshpande D, Block S (2006): Enhanced photocatalytic disinfection of indoor air. *Applied Catalysis B: Environmental* 64, 57-65
- Wang B, Jiang Z, Yu JC (2019): Treated rape pollen: a metal-free visible-light-driven photocatalyst from nature for efficient water disinfection. *Journal of Materials Chemistry A* 7, 9335-9344
- Wang J, Tafen DN, Lewis JP, Hong Z, Manivannan A, Zhi M, Li M, Wu N (2009): Origin of Photocatalytic Activity of Nitrogen-Doped TiO₂ Nanobelts. *Journal of the American Chemical Society* 131, 12290-12297
- Wang T, Yan X, Zhao S, Lin B, Xue C, Yang G, Ding S, Yang B, Ma C, Yang G, Yang G (2014): A facile one-step synthesis of three-dimensionally ordered macroporous

- N-doped TiO₂ with ethanediamine as the nitrogen source. *Journal of Materials Chemistry A* 2, 15611-15619
- Yang X, Wang D (2018): Photocatalysis: from fundamental principles to materials and applications. *ACS Applied Energy Materials* 1, 6657-6693
- Zhang C, Li Y, Shuai D, Shen Y, Wang D (2019): Progress and challenges in photocatalytic disinfection of waterborne Viruses: A review to fill current knowledge gaps. *Chemical Engineering Journal* 355, 399-415
- Zhang L, Koka RV (1998): A study on the oxidation and carbon diffusion of TiC in alumina–titanium carbide ceramics using XPS and Raman spectroscopy. *Materials Chemistry and Physics* 57, 23-32
- Zou F, Jiang Z, Qin X, Zhao Y, Jiang L, Zhi J, Xiao T, Edwards PP (2012): Template-free synthesis of mesoporous N-doped SrTiO₃ perovskite with high visible-light-driven photocatalytic activity. *Chemical Communications* 48, 8514-8516

CAPITULO 8: Conclusiones generales

Esta investigación ha permitido estudiar la potencialidad del **efecto de la fotocátalisis heterogénea sobre materiales de construcción como una tecnología viable para disminuir o inactivar la cantidad de granos de polen y alérgenos en el aire**, que es el objetivo global que perseguía este trabajo de investigación.

El presente trabajo ha demostrado la capacidad de los materiales fotocatalíticos como posible método de degradación de los principales componentes del núcleo del polen como intina y proteínas alergénicas para distintas especies.

En primer lugar, se demostraron los objetivos parciales 1 y 2 (viabilidad de la fotocátalisis heterogénea como posible método de degradación de los granos de polen) mediante evidencias significativas usando diferentes técnicas de análisis (DRX, SEM, XPS, etc). Estos resultados fueron corroborados en granos de polenes recogidos directamente de la especie vegetal en época de polinización como también en granos de polen adquiridos de forma comercial para un total de 7 especies/familias vegetales diferentes. Los resultados demostraron que la luz ultravioleta puede dañar la integridad de la membrana externa, y, por tanto, la viabilidad del polen. Además, la pérdida de viabilidad aumenta cuando el polen entra en contacto con el fotocatalizador TiO_2 . Se observa que el TiO_2 interactúa con los granos de polen dando lugar a aglomerados que lo envuelven. La comparativa entre distintos casos permitió establecer que el efecto de la fotocátalisis con TiO_2 y radiación UV es el único sistema capaz de eliminar de forma masiva los granos de polen.

En una segunda fase, se abordó el objetivo 3 (efectividad de la fotocátalisis heterogénea como método de inactivación de la capacidad alergénica del polen). Un estudio detallado permitió demostrar la rotura de la exina tras el efecto de la fotocátalisis o la reducción drástica de la intensidad de las bandas de $\text{C}=\text{O}$ y $\text{C}-\text{H}$, lo que puede deberse a la rotura del enlace por la eliminación del monóxido/dióxido de carbono. La fotocátalisis conduce a una degradación significativa de los componentes orgánicos poliméricos y a una reducción de la adherencia de los componentes del polen al sustrato. Es posible confirmar la desactivación completa de la actividad enzimática del extracto de alérgeno después del tratamiento con PhC y el efecto de la fotocátalisis en la degradación de los componentes del polen, incluyendo exina, intina, proteínas alergénicas, protoplastos, etc., sobre materiales fotocatalíticos nanofuncionalizados. Los mecanismos de degradación se describieron en detalle para las 7 especies vegetales estudiadas en esta tesis.

Por último, en cuanto al objetivo parcial 4, OP4 (estudio de la interacción fotocatalizador-polen), se ha comprobó que es posible que exista una interacción entre los extractos de núcleo de polen que contienen proteínas alergénicas de dos especies: *C. arizonica* y *P. hybrida* (*acerifolia*) tras el proceso de degradación fotocatalítica y el fotocatalizador TiO_2 . Las modificaciones químicas observadas son indicativas de posibles efectos similares al dopado por los aminoácidos procedentes de la degradación de los extractos de polen. Se observa incluso un desplazamiento de la banda de absorción del TiO_2 hacia el espectro visible. Estos aspectos requieren un estudio más detallado de este TiO_2 modificado y sus implicaciones en la actividad fotocatalítica resultante.

CAPÍTULO 9: Difusión Científica

Los resultados incluidos en este trabajo de tesis doctoral se han difundido de la siguiente forma: 4 artículos publicados, presentación en congresos, cursos y seminarios.

Como punto final, la siguiente es una lista de estas actividades de producción y difusión científica derivadas de esta Tesis Doctoral.

9.1 Artículos publicados

Revistas SCI

1) TITULO: **Controlling the levels of Airborne Pollen: Can Heterogenous Photocatalysis Help?**.

AUTORES: **M. Sapiña**, E. Jimenez-Relinque, M. Castellote.

REF. REVISTA: Environmental Science & Technology, 2013, 47, 11711-11716

DOI: <https://doi.org/10.1021/es402467x>

2) TITULO: **Degradation of pollen on nanofunctionalized photocatalytic materials.**

AUTORES: **M. Sapiña**, E. Jimenez-Relinque, R. Nevshupa, E. Román, M. Castellote.

REF. REVISTA: Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 2017, 92, 210-216

DOI: <https://doi.org/10.1002/jctb.4932>

3) TITULO: **Photocatalytic decomposition of pollen allergenic extracts of *Cupressus arizonica* and *Platanus hybrida*.**

AUTORES: **E. Jimenez-Relinque**, M. Sapiña, R. Nevshupa, E. Román, M. Castellote.

REF. REVISTA: Chemical Engineering Journal, 2016, 286, 560–570

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.10.106>

4) TITULO: **Unusual photodegradation reactions of *Asteraceae* and *Poaceae* grass pollen enzymatic extracts on P25 photocatalyst**

AUTORES: **M. Sapiña**, E. Jimenez-Relinque, R. Nevshupa, E. Román, M. Castellote.

REF. REVISTA: *Environmental Science and Pollution Research* **28**, 24206–24215 (2021).

DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13237-6>

9.2 Congresos, seminarios y cursos

Además de los artículos reseñados, los resultados obtenidos han sido difundidos en diversos congresos o seminarios, entre ellos se encuentran:

SPEA-8 (8th European Meeting on Solar Chemistry and Photocatalysis)- Thessaloniki, Grecia- Presentación Oral

TITULO: Cleaning the Air we Breathe: Degradation of Allergens of Pollen by Heterogeneous Photocatalysis

LIGHT2CAT (Como reducir la contaminación del aire con la tecnología Light2cat)- Valencia, España - Presentación Oral

TITULO: Sostenibilidad de la tecnología fotocatalítica en pavimentos urbanos: del test de laboratorio a los criterios de cumplimiento en el terreno

PAOT3 (The 3rd International Conference on Photocatalytic and Advanced Oxidation Technologies for the Treatment of Water, Air, Soil and Surfaces)- Gandsk, Polonia- Presentación Oral

TITULO: Photocatalytic materials put in place: In situ Laboratory Comparison and durability of the efficiency.

SPASEC20 (The 20th International Conference on Semiconductor Photocatalysis & Solar Energy Conversion)- San Diego, USA- Presentación Oral

TITULO: Photocatalytic Construction Materials' Potential to Diminish Gramineae Allergens Airborne.

FCCAT (French Conference on Catalysis)-Frejus, Francia- Poster

TITULO: Pollen allergens removal by photocatalysis.

SP4 (Fourth International Conference on Semiconductor Photochemistry)- Praga, República Checa- Poster y Presentación Oral

TITULO: Efficiency of TiO₂ enriched photocatalytic construction materials based on their production of active species.

3rd European conference on environmental applications of advanced oxidation processes- Almeria, España-Poster

TITULO: Turning Waste Into Valuable Resources: Potential of Electric Arc Furnace Dust As Photocatalytic Material.

S11- Construcciones Sanas para un entorno mejor (Cursos Avanzados IETcc-CSIC)-Madrid- Presentación Oral

TITLE: Construcciones sanas para un entorno mejor. Calidad de ambiente interior, descontaminación y utilización de materiales fotocatalíticos.

ANEXOS

Abreviaturas	Definición
AC	Angulo de contacto
AS	Avena sativa
Au	Oro
AV	Artemisia vulgaris
BC	Banda de conducción
BE	Energía de enlace
BV	Banda de Valencia
CA	Cupressus arizónica
CEN	Comité Europeo de Estandarización
CIELAB	Sistema que mide la luminosidad (L) y el rango de tonos verde-rojo (a*) y azul-amarillo (b*)
e⁻	Electron
EDS	Espectroscopía energía dispersiva Rayos X
FDA	Fluoresceína diacetato
FP	Festuca pratensis
FTIR	Espectrometría de Infrarrojo Transformada de Fourier
H₂O	Agua
H₂O₂	Agua Oxigenada
PhC	Fotocatalisis Heterogénea
HR	Humedad Relativa

IR	Infrarrojo
ISO	International Organization for Standardization
NaOH	Hidróxido sódico
NO	Oxido nítrico
NO₂	Dióxido de nitrógeno
NO_x	Dióxidos de nitrógeno (NO y NO ₂)
OH•	Radical hidroxilo
OII	Naranja II
P25	Fotocatalizador TiO ₂
PAE	Extractos de alergeno del polen
PG	Granos de polen
PH	Platanus hybrida
PP	Poa pratensis
RhB	Rodamina B
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
SC	Secale Cereale
SEM	Microscopio Electrónico de Barrido
TiO₂	Dióxido de Titanio
UHV	Ultra alto vacío
UV	Luz Ultravioleta
XPS	Espectroscopía de fotoelectrones de Rayos X
DRX	Difracción Rayos X
λ	Longitud de onda (nm)

