



Fotocatálisis Heterogénea con TiO₂ para la Oxidación de Sistemas Lipídicos Sintéticos de *Staphylococcus aureus*: Optimización e Implicaciones Biofísicas

Heterogeneous Photocatalysis with TiO₂ for the Oxidation of Synthetic Lipids from *Staphylococcus aureus*: Optimization and Biophysical Implications

Juan González-Martínez^{1,2}, Chad Leidy², Chiara Carazzone^{1*}

¹ Laboratory of Advanced Analytical Techniques in Natural Products (LATNAP), Chemistry Department, Universidad de los Andes, Bogotá 111711, Colombia. * c.carazzone@uniandes.edu.co

² Laboratory of Biophysics, Physics Department, Universidad de los Andes, Bogotá 111711, Colombia.

Presentación Poster 57

ABSTRACT

Oxidative stress plays a fundamental role in bacterial physiology ^[1], affecting membrane integrity, fluidity, and overall cellular function ^[2]. Understanding how oxidation alters membrane properties is crucial for developing new antimicrobial strategies and evaluating bacterial resistance mechanisms. In this study, heterogeneous photocatalysis with TiO₂ was employed as an advanced oxidation process to induce controlled oxidative modifications in synthetic lipids representative of *Staphylococcus aureus* membrane composition ^[2;3].

To optimize the generation of hydroxyl radicals (•OH), a screening Design of Experiments (DoE) was conducted ^[4], evaluating four factors: TiO₂ concentration, stirring speed, lamp-to-sample distance, and the number of UV lamps (2 or 4). The response was measured using the Terephthalic Acid (TPA) system, which reacts with •OH to produce 2-Hydroxyterephthalic Acid (HTPA), a fluorescent compound used as an indirect quantification method. The screening results indicated that all factors and their interactions had statistically significant effects on •OH generation. Based on these findings, a Central Composite Design (CCD) was performed ^[4], refining the conditions for TiO₂ concentration and stirring speed, the only parameters available for further optimization.

After determining the optimal oxidation conditions, synthetic lipid systems mimicking *S. aureus* membranes were exposed to oxidative stress ^[5-8]. The results revealed significant alterations in membrane rigidity and phase transition temperature, suggesting structural modifications induced by oxidation. These findings provide insights into how oxidative stress affects bacterial membrane stability and could have implications for antimicrobial strategies.

Overall, this study demonstrates the effectiveness of heterogeneous photocatalysis in inducing controlled oxidative changes in bacterial lipid systems. The results highlight the importance of optimizing photochemical



parameters to modulate oxidation levels, which could be relevant for biomedical applications, antimicrobial development, and environmental decontamination.

Key words:

Heterogeneous Photocalysis, *S. aureus*, Oxidation, Experiment of Design, Biophysical Properties, Membrane.

RESUMEN

El estrés oxidativo desempeña un papel fundamental en la fisiología bacteriana ^[1], afectando la integridad, fluidez y función celular de las membranas ^[2]. Comprender cómo la oxidación modifica las propiedades de la membrana es clave para el desarrollo de nuevas estrategias antimicrobianas y el estudio de los mecanismos de resistencia bacteriana. En este estudio, se empleó la fotocatálisis heterogénea con TiO₂ como un proceso avanzado de oxidación para inducir modificaciones controladas en lípidos sintéticos representativos de la composición de la membrana de *Staphylococcus aureus* ^[2;3].

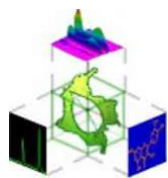
Para optimizar la generación de radicales hidroxilo ($\bullet$ OH), se realizó un diseño de experimentos (DoE) de cribado ^[4], en el que se evaluaron cuatro factores clave: concentración de TiO₂, velocidad de agitación, distancia de las lámparas a la muestra y número de lámparas UV (2 o 4). La respuesta se midió mediante el sistema de Ácido Tereftálico (TPA), que reacciona con $\bullet$ OH para formar Ácido 2-Hidroxitereftálico (HTPA), un compuesto fluorescente utilizado como método indirecto de cuantificación. Los resultados indicaron que los cuatro factores y sus interacciones tuvieron efectos estadísticamente significativos sobre la generación de $\bullet$ OH. Con base en estos hallazgos, se llevó a cabo un diseño compuesto central (DCC) enfocado en la concentración de TiO₂ y la velocidad de agitación, los únicos parámetros disponibles para su optimización.

Una vez determinadas las condiciones óptimas de oxidación, los sistemas lipídicos sintéticos que imitan las membranas de *S. aureus* fueron expuestos al estrés oxidativo ^[5-8]. Los resultados mostraron modificaciones significativas en la rigidez de la membrana y en su temperatura de transición de fase, sugiriendo alteraciones estructurales inducidas por la oxidación. Estos hallazgos aportan información relevante sobre la estabilidad de las membranas bacterianas bajo condiciones de estrés oxidativo y podrían tener implicaciones en el desarrollo de estrategias antimicrobianas.

En general, este estudio demuestra la efectividad de la fotocatálisis heterogénea para inducir cambios oxidativos controlados en sistemas lipídicos bacterianos. Los resultados resaltan la importancia de optimizar los parámetros fotocatalíticos para modular los niveles de oxidación, con aplicaciones potenciales en biomedicina, el desarrollo de antimicrobianos y la descontaminación ambiental.

Palabras clave:

Fotocatálisis Heterogénea, *S. aureus*, Oxidación, Diseño de Experimentos, Propiedades Biofísicas, Membrana.



Agradecimientos/Acknowledgements

Agradecemos a la Universidad de los Andes y a los Departamento de Química y Física por brindar las instalaciones y los recursos necesarios para la ejecución de este proyecto.

Referencias/References

- [1] SIES, H., *et al.* (2017). Oxidative Stress. *Annual Review of Biochemistry* **86**(Volume 86, 2017): 715-748. [\[doi\]](#)
- [2] YONG, S.-S., *et al.* (2023). Tio₂-Based Photocatalyst Generated Reactive Oxygen Species Cause Cell Membrane Disruption of Staphylococcus Aureus and Escherichia Coli O157:H7. *Food Microbiology* **109**: 104119. [\[doi\]](#)
- [3] MANESS, P.-C., *et al.* (1999). Bactericidal Activity of Photocatalytic Tio₂ Reaction: Toward an Understanding of Its Killing Mechanism. *Applied and Environmental Microbiology* **65**(9): 4094-4098. [\[doi\]](#)
- [4] MARINAKI, M., *et al.* (2023). Development of Two-Level Design of Experiments for the Optimization of a Hs-Spme-Gc-Ms Method to Study Greek Monovarietal Pdo and Pgi Wines. *Talanta* **253**: 123987. [\[doi\]](#)
- [5] DEMARS, Z., *et al.* (2020). Exogenous Fatty Acids Remodel Staphylococcus Aureus Lipid Composition through Fatty Acid Kinase. *Journal of Bacteriology* **202**(14): 10.1128/jb.00128-00120. [\[doi\]](#)
- [6] KENNY, J. G., *et al.* (2009). The Staphylococcus Aureus Response to Unsaturated Long Chain Free Fatty Acids: Survival Mechanisms and Virulence Implications. *PLOS ONE* **4**(2): e4344. [\[doi\]](#)
- [7] SEN, S., *et al.* (2016). Growth-Environment Dependent Modulation of Staphylococcus Aureus Branched-Chain to Straight-Chain Fatty Acid Ratio and Incorporation of Unsaturated Fatty Acids. *PLOS ONE* **11**(10): e0165300. [\[doi\]](#)
- [8] RASKOVIC, D., *et al.* (2025). Growth of Staphylococcus Aureus in the Presence of Oleic Acid Shifts the Glycolipid Fatty Acid Profile and Increases Resistance to Antimicrobial Peptides. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* **1867**(1): 184395. [\[doi\]](#)