



CARTA DE AUTORIZACIÓN

CÓDIGO

AP-BIB-FO-06

VERSIÓN

1

VIGENCIA

2014

PÁGINA

1 de 2

Neiva, Octubre 24 del 2023

Señores

CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA

Ciudad

El (Los) suscrito(s):

_____ Santiago Suaza Ramirez _____, con C.C. No. 1.144.198.846 _____,
_____, con C.C. No. _____,
_____, con C.C. No. _____,
_____, con C.C. No. _____,

Autor(es) de la tesis y/o trabajo de grado titulado " Intervalo de tiempo y distancia de exposición efectiva para la inactivación de cepas bacterianas de *Escherichia Coli* con radiación UV-C"

presentado y aprobado en el año 2023 como requisito para optar al título de

Físico _____;

Autorizo (amos) al CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN de la Universidad Surcolombiana para que, con fines académicos, muestre al país y el exterior la producción intelectual de la Universidad Surcolombiana, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera:

- Los usuarios puedan consultar el contenido de este trabajo de grado en los sitios web que administra la Universidad, en bases de datos, repositorio digital, catálogos y en otros sitios web, redes y sistemas de información nacionales e internacionales "open access" y en las redes de información con las cuales tenga convenio la Institución.
- Permita la consulta, la reproducción y préstamo a los usuarios interesados en el contenido de este trabajo, para todos los usos que tengan finalidad académica, ya sea en formato Cd-Rom o digital desde internet, intranet, etc., y en general para cualquier formato conocido o por conocer, dentro de los términos establecidos en la Ley 23 de 1982, Ley 44 de 1993, Decisión Andina 351 de 1993, Decreto 460 de 1995 y demás normas generales sobre la materia.
- Continúo conservando los correspondientes derechos sin modificación o restricción alguna; puesto que, de acuerdo con la legislación colombiana aplicable, el presente es un acuerdo jurídico que en ningún caso conlleva la enajenación del derecho de autor y sus conexos.

Vigilada Mineducación



CARTA DE AUTORIZACIÓN

CÓDIGO

AP-BIB-FO-06

VERSIÓN

1

VIGENCIA

2014

PÁGINA

2 de 2

De conformidad con lo establecido en el artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, "Los derechos morales sobre el trabajo son propiedad de los autores", los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables.

EL AUTOR/ESTUDIANTE:

Firma: Santiago Sarsu

EL AUTOR/ESTUDIANTE:

Firma: _____

EL AUTOR/ESTUDIANTE:

Firma: _____

EL AUTOR/ESTUDIANTE:

Firma: _____



TÍTULO COMPLETO DEL TRABAJO: Intervalo de tiempo y distancia de exposición efectiva para la inactivación de cepas bacterianas de *Escherichia Coli* con radiación UV-C

AUTOR O AUTORES:

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
Suaza Ramirez	Santiago

DIRECTOR Y CODIRECTOR TESIS:

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
Pedraza Guerrero	Gonzalo Edgardo

ASESOR (ES):

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
Pedraza Guerrero	Gonzalo Edgardo

PARA OPTAR AL TÍTULO DE: FISICO

FACULTAD: CIENCIAS EXACTAS Y NARURALES

PROGRAMA O POSGRADO: FISICA

CIUDAD: NEIVA

AÑO DE PRESENTACIÓN: 2023 **NÚMERO DE PÁGINAS:** 51

Vigilada Mineducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.



TIPO DE ILUSTRACIONES (Marcar con una X):

Diagramas X Fotografías X Grabaciones en discos ___ Ilustraciones en general X Grabados ___
Láminas ___ Litografías ___ Mapas ___ Música impresa ___ Planos ___ Retratos ___ Sin ilustraciones ___ Tablas
o Cuadros X

SOFTWARE requerido y/o especializado para la lectura del documento: NINGUNO

MATERIAL ANEXO: NINGUNO

PREMIO O DISTINCIÓN (En caso de ser LAUREADAS o Meritoria):

PALABRAS CLAVES EN ESPAÑOL E INGLÉS:

<u>Español</u>	<u>Inglés</u>	<u>Español</u>	<u>Inglés</u>
1. <u>Tiempo</u>	<u>Time</u>	6. _____	_____
2. <u>Dosificación</u>	<u>Dosage</u>	7. _____	_____
3. <u>Radiación</u>	<u>Radiation</u>	8. _____	_____
4. <u>E.coli</u>	<u>E.coli</u>	9. _____	_____
5. <u>Distancia</u>	<u>Distance</u>	10. _____	_____

RESUMEN DEL CONTENIDO: (Máximo 250 palabras)

Esta tesis se enfoca en determinar los tiempos y distancias efectivas que permitan una optimización en los métodos de esterilización con radiación UV-C aplicados en diversos campos de trabajo, este estudio se realizó sobre una cepa de *E. coli* adquirida con colaboración del laboratorio de microbiología de la facultad de salud de la Universidad



Surcolombiana a la cual se le realizaron diversos repliques con el fin de sostener la viabilidad de la bacteria, según la metodología de trabajo establecida esta se manejó bajo una concentración específica con el objeto de estandarizar una concentración inicial y evaluar su reducción siendo sometida a diferentes condiciones de tiempos y distancias de exposición estableciendo valores críticos de estas dos variables y dosificaciones necesarias con los cuales se logre una inactivación eficiente de este tipo de microorganismos patógenos.

Con el fin de realizar la comprobación de los cálculos teóricos de intensidad de radiación UV-C a la que se somete cada muestra se optó por la construcción de un dispositivo, utilizando un sensor analógico GVA-S12-SD con su respectiva programación, además de la fabricación de unas bases en acrílico diseñadas de modo que permitieran la variabilidad de las distancias de exposición con el fin de comparar los valores de intensidades arrojados por el sistema con los obtenidos en los cálculos numéricos, para posteriormente obtener los valores respectivos de dosis.

ABSTRACT: (Máximo 250 palabras)

This thesis focuses on determining the effective times and distances that allow optimization of sterilization methods with UV-C radiation applied in various fields of work. This study was carried out on a strain of E. coli acquired with collaboration from the microbiology laboratory. attached to the Surcolombiana University to which various replicates were carried out in order to sustain the viability of the bacteria, according to the established work methodology, it was managed under a specific concentration in order to standardize an initial concentration and evaluate its reduction being subjected to different conditions of exposure times and distances, establishing critical values of these two variables and



necessary dosages with which efficient inactivation of this type of pathogenic microorganisms is achieved.

In order to verify the theoretical calculations of the radiation intensity of UV-C to which each sample is subjected, it was decided to build a device, using an analog GVA-S12-SD sensor with its respective programming, in addition to the manufacture of bases designed in such a way as to allow the variability of the exposure distances in order to compare the intensity values returned by the system with those obtained in the numerical calculations in order to subsequently obtain the respective dose values.

APROBACION DE LA TESIS

Nombre presidente Jurado: Daniel Suescun Diaz

Firma:

Nombre Jurado: EDGAR ANDRÉS BERNAL CASTRO

Firma:

Nombre Jurado: Jose Miguel Cristancho Fierro

Firma:



UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA

**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y
NATURALES**

PROGRAMA DE FISICA

**“Intervalo de tiempo y distancia de exposición efectiva para la
inactivación de una cepa bacteriana de *Escherichia coli* con
radiación UV-C”**

Santiago Suaza Ramirez

Codigo:20141125811

Director:

Gonzalo Edgardo Pedraza Guerrero

Neiva – Colombia

2023

“Intervalo de tiempo y distancia de exposición efectiva para la inactivación de una cepa bacteriana de *Escherichia coli* con radiación UV-C”

Santiago Suaza Ramirez

Código: 20141125811

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:
Físico

Director:

Gonzalo Edgardo Pedraza Guerrero

Línea de Investigación:

Biofísica

Grupo de Investigación:

Física Aplicada FIASUR

Universidad Surcolombiana
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Programa de Física
Neiva, Colombia
2023

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis tíos **Luis Alberto Suaza Vargas** y **Reynaldo Suaza Vargas** quienes han sido grandes ejemplos a seguir durante mi formación, me han enseñado los principios y valores que me definen hoy como persona y como profesional, me han apoyado de manera incondicional brindándome la oportunidad y los medios para alcanzar esta meta.

A mi hermano **Jhon Jairo Suaza Ramirez** quien ha estado siempre presente en los momentos más difíciles de mi vida siendo un apoyo y un ejemplo de superación personal y profesional.

A mi madre **Gloria Esperanza Ramirez Valbuena** quien me ha brindado el amor y dedicación que solo una madre puede dar.

Este trabajo es dedicado a ustedes quienes han sido una bendición para mí en todo este proceso, me han grabado una gran fortaleza y me han motivado a seguir adelante sin importar las dificultades.

Sin ustedes este camino hubiera sido mucho más difícil de recorrer.

AGRADECIMIENTO

Quiero dedicar estas palabras a cada uno de ustedes que ha sido parte fundamental de mi camino hacia la culminación de mi tesis de grado.

A mis seres queridos, mi familia y amigos, quienes han sido mi apoyo incondicional en cada paso de esta travesía académica, quiero expresarles mi profundo agradecimiento. Sus palabras de aliento, paciencia y comprensión han sido mi fuente de inspiración durante los momentos difíciles. Gracias por creer en mí y por estar a mi lado en este viaje.

Les debo un agradecimiento especial a mis profesores y a mi mentor Gonzalo Edgardo Pedraza Guerrero, quienes me han compartido su conocimiento y experiencia. Su guía y orientación han sido fundamentales para mi crecimiento académico y profesional. Gracias por inspirarme a superar mis propios límites y por brindarme las herramientas necesarias para alcanzar mis metas.

A los profesionales Sindy Monje Belmonte y Wilson Rodrigo Cruz encargados de los laboratorios de microbiología y biología quienes me brindaron su asesoría y conocimiento, su compromiso y dedicación han enriquecido mi trabajo de manera significativa. Gracias por su apoyo inquebrantable y por compartir este viaje conmigo.

A todas las personas que de alguna manera han contribuido a este logro, gracias por ser parte de mi historia. Cada conversación, cada consejo y cada momento de apoyo han dejado una huella imborrable en mi vida y en mi desarrollo académico.

Gracias por creer en mí y por ser una parte invaluable de mi éxito.

RESUMEN

Esta tesis se enfoca en determinar los tiempos y distancias efectivas que permitan una optimización en los métodos de esterilización con radiación UV-C aplicados en diversos campos de trabajo, este estudio se realizó sobre una cepa de *E. coli* adquirida con colaboración del laboratorio de microbiología de la facultad de salud de la Universidad Surcolombiana a la cual se le realizaron diversos repliques con el fin de sostener la viabilidad de la bacteria, según la metodología de trabajo establecida esta se manejó bajo una concentración específica con el objeto de estandarizar una concentración inicial y evaluar su reducción siendo sometida a diferentes condiciones de tiempos y distancias de exposición estableciendo valores críticos de estas dos variables y dosificaciones necesarias con los cuales se logre una inactivación eficiente de este tipo de microorganismos patógenos.

Con el fin de realizar la comprobación de los cálculos teóricos de intensidad de radiación UV-C a la que se somete cada muestra se optó por la construcción de un dispositivo, utilizando un sensor analógico GVA-S12-SD con su respectiva programación, además de la fabricación de unas bases en acrílico diseñadas de modo que permitieran la variabilidad de las distancias de exposición con el fin de comparar los valores de intensidades arrojados por el sistema con los obtenidos en los cálculos numéricos, para posteriormente obtener los valores respectivos de dosis.

Palabras clave: Tiempo, distancia efectiva, dosificación, inactivación, *E. coli*, radiación UV-C.

ABSTRACT

This thesis focuses on determining the effective times and distances that allow optimization of sterilization methods with UV-C radiation applied in various fields of work. This study was carried out on a strain of E. coli acquired with collaboration from the microbiology laboratory. attached to the Surcolombiana University to which various replicates were carried out in order to sustain the viability of the bacteria, according to the established work methodology, it was managed under a specific concentration in order to standardize an initial concentration and evaluate its reduction being subjected to different conditions of exposure times and distances, establishing critical values of these two variables and necessary dosages with which efficient inactivation of this type of pathogenic microorganisms is achieved.

In order to verify the theoretical calculations of the radiation intensity of UV-C to which each sample is subjected, it was decided to build a device, using an analog GVA-S12-SD sensor with its respective programming, in addition to the manufacture of bases designed in such a way as to allow the variability of the exposure distances in order to compare the intensity values returned by the system with those obtained in the numerical calculations in order to subsequently obtain the respective dose values.

Keywords: Time, effective distance, dosage, inactivation, E.coli, UV-C radiation.

TABLA DE CONTENIDO

Índice de Tablas.....	Pag 4
Índice de Figuras.....	Pag 5
Índice de Gráficos.....	Pag 7
Introducción.....	Pag 8
Planteamiento y Justificación de problema.....	Pag 10
Objetivo general.....	Pag 11
Objetivos específicos.....	Pag 11
1. MARCO TEÓRICO.....	Pag 12
1.1. Dosimetría Ultravioleta.....	Pag 12
1.2. Antecedentes.....	Pag 15
1.3. Fuentes de desinfección UV-C.....	Pag 18
2. METODOLOGÍA.....	Pag 20
2.1. Preparación de muestras.....	Pag 21
2.2. Tratamiento con radiación UV-C.....	Pag 24
2.3. Construcción de sensor UV.....	Pag 26
3. RESULTADOS.....	Pag 29
Análisis de resultados.....	Pag 37
Conclusiones.....	Pag 40
Referencias.....	Pag 41
Anexos.....	Pag 45

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tiempo de exposición a radiación ultravioleta según el tipo de piel.....	Pag 27
Tabla 2. Valores de absorbancia de muestras de caldo nutritivo con y sin presencia de <i>E. coli</i> en intervalos de 1 hora.	Pag 29
Tabla 3. Intensidad de radiación I_{ζ} medido por el sensor en función del inverso al área.....	Pag 30
Tabla 4. Intensidad de radiación UV-C I_t calculado teóricamente e I_{ζ} medido por el sensor	Pag 31
Tabla 5. Disminución de UFC a un R=0,1 m en función del tiempo de exposición al tratamiento.....	Pag 32
Tabla 6. Disminución de UFC a un R=0,2 m en función del tiempo de exposición al tratamiento	Pag 32
Tabla 7. Disminución de UFC a un R=0,3 m en función del tiempo de exposición al tratamiento	Pag 33
Tabla 8. Disminución de UFC a un R=0,5 m en función del tiempo de exposición al tratamiento	Pag 33
Tabla 9. Disminución de UFC a un R=0,6 m en función del tiempo de exposición al tratamiento	Pag 34
Tabla 10. Cuantificación de colonias obtenidas en la matriz de las muestras expuestas al tratamiento con radiación UV-C.....	Pag 36
Tabla 11. Comparación de datos de índice UV.....	Pag 49
Tabla 12. Conteo de colonias en las siembras de las diluciones seriadas.....	Pag 50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Espectro electromagnético (modificado de Snowball y Hornsey, 1988).....	Pag 12
Figura 2. a) Frentes de onda cilíndricos para una fuente lineal y geometría de la ley del inverso. b) sección transversal de los frentes de onda generados conforme el frente de onda se aleja de la fuente, localmente es un frente de onda plano.....	Pag 13
Figura 3. Dimerización del ADN, como efecto de la incidencia de la luz UV-C.....	Pag 18
Figura 4. Componentes de una fuente UV-C de mercurio.....	Pag 19
Figura 5. Efectividad germicida de longitudes de onda ultravioleta comparando lámparas UV a presión baja y media con la efectividad germicida para <i>Escherichia coli</i>	Pag 19
Figura 6. Raspado superficial de Cepa de <i>E. coli</i> y dilución en agua peptonada.....	Pag 20
Figura 7. Dilución seriada.....	Pag 21
Figura 8. Siembra de diluciones seriadas en cajas de petri por triplicado.....	Pag 21
Figura 9. Conteo de colonias de las diluciones sembradas en agar MacConkey.....	Pag 22
Figura 10. Dilución de 0.3 ml de inóculo con <i>E. coli</i> en 24.7 ml de caldo Nutritivo.....	Pag 23
Figura 11. Microplaca de 96 pozos con muestras de 2 µl de caldo nutritivo inoculadas y con muestras de control negativo.....	Pag 23
Figura 12. Espectro fotómetro Epoch.....	Pag 23
Figura 13. Radiación de muestras en cámara de flujo laminar vertical JP inglobal a distancias fuente – muestra de 0.1, 0.2 y 0.3 metros.....	Pag 24
Figura 14. Radiación de muestras en cámara de flujo laminar vertical JP inglobal a distancias fuente – muestra de 0.5 y 0.6 metros.....	Pag 25

Figura 15. Muestras ubicadas en incubadora a 37°C.....	Pag 25
Figura 16. Conteo de colonias.....	Pag 26
Figura 17. Diseño de montaje para la implementación del sensor GUVA-S12SD con un microcontrolador Arduino UNO.....	Pag 26
Figura 18. Medición de índice UV por el sensor frente a lo reportado por THE WEATHER CHANNEL.....	Pag 28
Figura 19. Índice UV medido por el sensor GVA-S12SD.....	Pag 28
Figura 20. Matriz obtenida con las muestras expuestas al tratamiento.....	Pag 36
Figura 21. Caldo nutritivo.....	Pag 45
Figura 22. Agar MacConkey.....	Pag 46
Figura 23. Agua peptonada.....	Pag 47
Figura 24. Medición de sensor a 0.1 m.....	Pag 49
Figura 25. Medición de sensor a 0.2 m.....	Pag 49
Figura 26. Medición de sensor a 0.3 m.....	Pag 49
Figura 27. Medición de sensor a 0.5 m.....	Pag 50
Figura 28. Medición de sensor a 0.6 m.....	Pag 50

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Curva de crecimiento de <i>E. coli</i>	Pag 29
Gráfico 2. Intensidad de Radiación medido por el sensor GUVA-S12SD en función del inverso al área según el radio fuente muestra.....	Pag 30
Gráfico 3. Valores de Intensidad de Radiación Teórica y Experimental medido por el sensor GUVA-S12SD.....	Pag 31
Gráfico 4. Disminución de unidades logarítmicas de UFC en función al tiempo de exposición al tratamiento.....	Pag 34
Gráfico 5. Disminución de unidades logarítmicas de UFC en función a la dosis de radiación entregada.....	Pag 35

INTRODUCCIÓN

La presente investigación es enfocada al método de desinfección aplicando radiación ultravioleta de onda corta (UV-C) de 254 nm a superficies contaminadas con *E. coli*, el cual es un microorganismo patógeno causante de enfermedades con síntomas diarreicos graves, presente en diversos ambientes como hospitales, instalaciones de procesamiento de alimentos y sistemas de agua [1]. Para evitar la propagación de la *E. coli*, es necesario un método de esterilización adecuado de superficies y equipos; en este sentido, desde la aparición de fuentes de radiación a base de vapor de gas de mercurio (Hg) en 1901[2], el uso de fuentes de radiación UV-C se ha orientado como una técnica emergente para neutralizar diferentes microorganismos patógenos como la *E. coli* en diversos entornos teniendo en cuenta que su uso es una alternativa más segura y ecológica, puesto que no requiere equipos de seguridad robustos y no genera residuos tóxicos a comparación de los productos químicos tradicionales cuyos residuos tienen un impacto negativo en la naturaleza [3]

Las fuentes UV-C emiten radiación ultravioleta de onda corta la cual es capaz de neutralizar la reproducción de microorganismos debido al efecto que tiene esta radiación en el ADN. Varios estudios han demostrado que el uso de fuentes UV-C es efectivo para reducir la carga bacteriana de *E. coli*. Sin embargo, es importante optimizar el uso de estas fuentes para garantizar su máxima efectividad y minimizar el tiempo de funcionamiento no requerido.

La optimización del uso de fuentes UV-C incluye la determinación del tiempo de exposición y distancias necesaria para neutralizar la *E. coli* en superficies, para ello, es preciso seleccionar la intensidad y dosificación de radiación UV-C adecuada. Algunas investigaciones concluyen que una dosis de radiación de $10.39 J/cm^2$ en un tiempo de 300 segundos es suficiente para inactivar agentes patógenos en fluidos, entre estos la *E. coli* según Acosta, Caro, & Perico 2015 [4].

En la actualidad, se implementa un estricto control global sobre las poblaciones de microorganismos patógenos debido al riesgo que representa para la salud de los seres humanos. Cada año, aproximadamente 600 millones de personas se enferman en todo el

mundo debido a agentes patógenos presentes en los alimentos [5]. Se han documentado los principales casos asociados con patógenos alimentarios como *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* y *Listeria*.

Se espera que los resultados obtenidos en esta investigación puedan contribuir al desarrollo y optimización de diversas cámaras de radiación germicida partiendo de la caracterización del tratamiento realizado para la *E. coli* en este caso.

La cepa de *E. coli* es sembrada en medios de cultivo sólido Agar Mac Conkey con una concentración inicial de 10^6 UFC/ml contenidas en cajas de Petri, determinando consecuentemente la dosis entregada a cada muestra calculada teóricamente como $(D = I * t)$ en función de la distancia y tiempo de exposición medida experimentalmente por medio de un dispositivo sensor GUVVA-S12SD programado en una placa de Arduino UNO. Se utilizó una fuente de radiación UV-C OSRAM PURITEC HNS de 15 W y de 4.9 W en el espectro de radiación de 254 nm ubicada dentro de una cabina de flujo laminar vertical marca JP inglobal la cual ayuda a garantizar que cada muestra irradiada no sea contaminada por agentes externos; para mantener las colonias y el crecimiento de las muestras se usó una incubadora THERMO SCIENTIFIC a 37°C durante 24 horas.

La fuente de radiación presenta una geometría cilíndrica, con intensidad de radiación equipotencial, de tal forma que cada muestra se puede ubicar en cualquier punto dentro de la zona bajo de la longitud de la fuente, evitando así la alteración de estos valores de radiación en puntos fuera de esta zona delimitada, método que fue analizado y comprobado mediante el dispositivo con el sensor en puntos equidistantes a la fuente según lo anteriormente establecido.

PLANTEAMIENTO Y JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

Teniendo en cuenta los efectos negativos en la salud y el medio ambiente ocasionados por los diversos agentes químicos como el hipoclorito de sodio (NaClO) empleados para la desinfección [4][6], se ha optado como alternativa la aplicación de fuentes de radiación UV-C en diferentes medios para la reducción de microorganismos patógenos presentes.

Sin embargo debe tener en cuenta que un tiempo de funcionamiento excesivo de la fuente puede ocasionar un sobreconsumo del sistema y por tanto una reducción en su tiempo de vida útil el cual según el tipo puede oscilar alrededor de 9000 horas [7], además de que se debe tener en cuenta que cada microorganismo patógeno posee una capacidad de resistencia a diferentes dosificaciones de radiación, por tanto, es un aspecto importante el catalogar la cantidad de radiación necesaria para inactivar los diferentes tipos de microorganismos teniendo en cuenta la adaptación y mutabilidad del patógeno a tratar el cual en este caso será la *E. coli*.

Este trabajo contribuye a las líneas de investigación en las cuales hoy se encuentra incursionando la Universidad Surcolombiana desde el programa de física en áreas como biofísica, física médica, entre otras, realizando trabajos de investigación enfocados a la optimización de diversos dispositivos y metodologías implementadas en estas áreas. Con el trabajo realizado se dan los primeros aportes provenientes de la Universidad para contribuir a una optimización en los sistemas de esterilización con radiación UV-C implementados para la seguridad sanitaria en diversas áreas determinando así condiciones de tiempos, distancias y dosis efectivas para la neutralización de bacterias como *La E coli*. Trabajos de investigación de esta categoría nos ayudan a comprender los efectos de la radiación sobre la materia y con esto las bases teóricas de la dosimetría en este caso con radiación no ionizante como la UV.

OBJETIVOS GENERAL

Determinar el tiempo mínimo y distancias de exposición efectiva a radiación UV-C para inactivar el crecimiento de una cepa bacteriana de *Escherichia coli* (*E. coli*) tomando una fuente con potencia de 4,9 W en el rango de longitud de onda de 254 nm.

Objetivos específicos

1. Elaborar un diseño experimental que permita la variación de la dosis entregada de radiación UV-C.
2. Calcular y comprobar los resultados obtenidos de intensidad de radiación UV-C.
3. Evaluar la efectividad de la inactivación de *E. coli*.

1. MARCO TEORICO

1.1. Dosimetría Ultravioleta

El espectro electromagnético se puede clasificar en dos tipos, radiación ionizante como la radiación Alpha, beta, gamma y rayos x ($10^{-4}nm - 10 nm$) [9] y no ionizante dentro de la cual se encuentra la radiación UV que se clasifica en tres tipos según el rango de longitud de onda: UV-A (315–400 nm), UV-B (280–315 nm), UV-C (200–280 nm) [10]. Las radiaciones UV con mayor transferencia de energía se encuentran entre la UV-B y UV-C, por tanto, se debe tener en cuenta que estos se encuentran fuera del espectro de luz visible (400nm-700nm) [11].

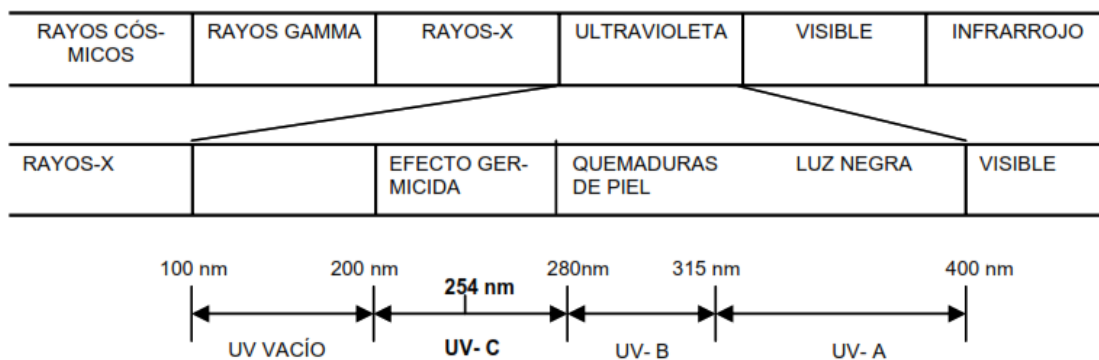


Figura 1. Espectro electromagnético (modificado de Snowball y Hornsey, 1988) [12]

La dosificación se determina como el producto entre la intensidad de radiación y el tiempo de exposición, expresado a continuación:

$$D = I \times T \quad (1)$$

D como dosis de irradiación aplicada (J/cm^2), I como intensidad de irradiación bajo el área de emisión de luz UV-C (W/cm^2) y T como tiempo de exposición (s).

Si se toma una fuente cilíndrica de superficie circular S' con simetría axial en Z y de radio r ,
Donde $S' = 4\pi r^2$

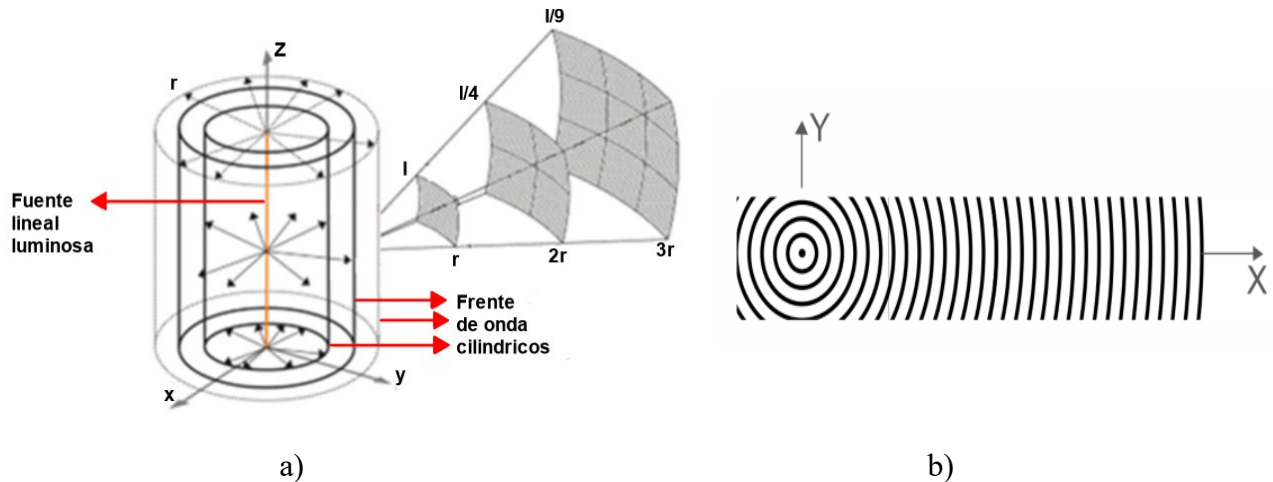


Figura 2. a) Frentes de onda cilíndricos para una fuente lineal y geometría de la ley del inverso [13][14] b) sección transversal de los frentes de onda generados conforme el frente de onda se aleja de la fuente, localmente es un frente de onda plano.

Se tiene entonces que en un área determinada del receptor la intensidad de la radiación es inversamente proporcional a la distancia al cuadrado de la fuente (ley del inverso del cuadrado).

$$I_r = \frac{P}{4\pi r^2} \quad \text{o} \quad I = \frac{P}{S} \quad (2)$$

Realizando la relación entre la intensidad sobre el radio r de la fuente y la intensidad en un punto a una distancia r' se tiene:

$$\frac{I_r}{I_{r'}} = \frac{P/4\pi r^2}{P/4\pi r'^2} = \frac{1/r^2}{1/r'^2}$$

$$\frac{I_r}{I_{r'}} = \frac{r'^2}{r^2}$$

$$I_{r'} = I_r \left(\frac{r}{r'} \right)^2 \quad (3)$$

De ec. (3) se puede apreciar un decrecimiento de la intensidad $I_{r'}$ en función del inverso de la segunda potencia de r' con respecto a I_r .

Ahora la dosis (D) en un punto del espacio puede expresarse también en términos de energía entregada por unidad de área y la potencia (P) también puede despejarse de la siguiente manera:

Si $D_r = I \times T = \frac{P \times T}{S'}$ y $E_{En} = P \times T$, entonces:

$$D_r = \frac{P \times T}{S'} = \frac{E_{en}}{S'} \quad (5)$$

$$P = \frac{E_{en}}{T} \quad (6)$$

1.2. Antecedentes

La radiación ultravioleta (UV) fue descubierta en 1801 por el físico alemán Johann Wilhelm Ritter. El descubrimiento se basó en su observación de que existen rayos más allá del extremo violeta de los espectros visibles, capaces de oscurecer el papel empapado en cloruro de plata con mayor rapidez que la luz visible misma. En el año 1878 los científicos Arthur Downes y Thomas P. Blunt hicieron su primera publicación describiendo el proceso de esterilización de bacterias siendo expuestas a la luz UV-C. En 1903 se otorgó el premio Nobel de medicina a Niels Finsen por el uso de UV-C para el tratamiento del lupus vulgaris y tuberculosis [15]. En 1922 se destaca la importancia de la aplicación de UV en *Drosophila* (Genero de moscas) en cuanto al reconocimiento y reacción a esta [16]. En 1928 se encuentra una monografía donde se expone la relevancia de la UV en la terapéutica [17], todas estas investigaciones conllevaron al desarrollo de distintos tipos de lámparas UV las cuales al pasar de los años se han modificado Progresivamente. En 1935 se inventa un modelo lampara UV-A utilizando fosforo en el interior del tubo de vidrio de cuarzo que absorbe la luz visible filtrando solo la longitud de onda de interés. De 1950 – 1970 tras la Segunda Guerra Mundial con el desarrollo en investigación del ADN y su estructura bicatenaria helicoidal se profundizo aún más en los efectos del UV-C en células tratando de dar con aspectos clave que ayudarían a dar una explicación a su efecto germicida en patógenos como *Escherichia coli* como alternativa a métodos de desinfección con agentes químicos [18]. En 1998 se realiza un estudio sobre aplicación de radiación UV-C en piel y musculo de cerdo a distancias entre 10 a 30 cm con el objetivo de inactivar el crecimiento de bacterias como *Escherichia coli* (*E.coli*) y salmonela obteniendo resultados positivos con un mayor porcentaje de efectividad en piel lisa con reducciones mayores a 3 y 1 unidades logarítmicas respectivamente y a intensidades de radiación superiores a $100 \mu W/cm^2$ [19].

En el año 2013 Dumas Oviedo y colaboradores en su trabajo titulado “Efecto de la exposición a la luz ultravioleta UV-C en la viabilidad de especies de *E. coli* y *Salmonella typhimurium*” al irradiar con una fuente UV-C G8WT5 SYLVANIA con 8 watt de potencia durante tiempos de 5,10 y 15 min tomando distancias de 5, 10 y 20 cm, obtuvieron una mayor efectividad a

una distancia de 5 cm y a 15 min con una reducción de 2.1 a 1.73 unidades logarítmicas para la *E. coli* y de 2.18 a 0.8 unidades logarítmicas para la *Salmonella typhimurium*. [20].

En 2014, Evelin Gutiérrez en su proyecto de tesis “Efecto de la radiación ultravioleta sobre el crecimiento de *Bacillus sp.* Productor de celulasas”, mostro que la exposición a luz ultravioleta tuvo un efecto bactericida sobre una población de *Bacillus sp.* Productor de celulasas; además que esta población describe una cinética de muerte en relación con el tiempo de exposición desde los 10s hasta las 60s [21][22].

El trabajo “Efficacy of an automated multi-emitter whole room UV-C disinfection system against Coronaviruses MHV and MERS-CoV”, encontraron que un tiempo de exposición a radiación UVC de 5 a 30 min dio como resultado cantidades minimas del virus, obteniendo así para el MERS-CoV una reducción porcentual del 99.99% equivalente a 5.9 unidades logarítmicas de reducción [22] [23].

En el año 2018 Santiago Osorio Giraldo en su trabajo de investigación de tesis “Implementación de un sistema de radiación ultravioleta como germicida en instrumentos de cocina, para la inactivación de las bacterias *E-coli* y *Staphylococcus Aureus*” realizado en la Universidad Tecnológica de Pereira en Colombia encontró que la radiacion UV-C posee una alta eficiencia en el proceso de inactivación de bacterias de *E. coli* y *Staphylococcus Aureus* manejados a una concentración de 10^6 UFC/ml y aplicando dosis de (8.6, 17.22, 25.83, 34.44, 311.8, 603,6) J/cm² para objetos de entre 10 cm a 30 cm siendo más que suficiente una dosis de 8.6 J/cm² para inactivar la mayor cantidad de *E.coli* [24]

A lo largo del tiempo, los costos en tecnología se han reducido significativamente permitiendo así ampliar la aplicación de UV-C en los distintos campos de la industria desde sistemas de potabilización de agua residual hasta esterilización de torrentes de aire y salas de alta especialidad como hospitales, siendo así una estrategia preventiva frente a la pandemia de Covid-19 vivida a finales del 2019 e inicios del 2020. Esta radiación genera una reacción fotoquímica irreversible sobre el ADN de la célula o bacteria, donde se forman dímeros de pirimidina, grupo donde es afectada principalmente la timina alterando así las helices del ADN y los bloques de replicación destruyendo por la capacidad de replicación lo que lleva eventualmente a la muerte celular microbiana [25].

En el año 2020 Rossel Bernedo y colaboradores en su investigación “Radiación ultravioleta-c para desinfección bacteriana (coliformes totales y termo tolerantes) en el tratamiento de agua potable” encontraron una reducción total de UFC/100 *ml* (Unidades Formadoras de Colonias / ml) al exponer la muestra contaminadas con coliformes como la *E. coli* luego de 4 segundos. En la actualidad el proceso de desinfección con radiación UV es un método que está obteniendo ventaja frente a procesos que implementan agentes químicos en diversos medios como la aplicación de cloro en aguas residuales debido a los organoclorados y la reglamentación que se debe tener en cuenta [26].

Las bacterias a pesar de ser fundamentales para el ciclo de la vida e incluso para diversos procesos en los diferentes campos de la industria que contribuyen al mejoramiento de calidad de vida del ser humano, representan un riesgo potencial a la salud [27], estos a través de la historia han sido protagonistas de muchas problemáticas en diversos campos como medicina, industria y comercio donde la contaminación de aparatos, alimentos y aguas generan diversas complicaciones.

La aplicación de la radiación UV para el proceso de inactivación de bacterias se debe principalmente a sus efectos mutagénicos y letales los cuales radican en la formación de dímeros de timinas adyacentes en la molécula del ADN. Cuando se forman estos dímeros, se produce una distorsión en la estructura de la cadena de ADN y como resultado, durante el proceso de replicación, es posible que se inserten bases incorrectas en la nueva cadena de ADN, lo que conlleva a una mutación o cambio en el código genético de la misma. Esta alteración puede tener como consecuencia la detención de la síntesis de proteínas o las alteraciones de la proteína sintetizada de tal manera que pierda su funcionalidad normal [28].

La radiación UV-C es absorbida por la célula mayormente a una longitud de onda de 254 nm a tal nivel que genera alteraciones en el ADN como dímeros pirimidina (timina), bloqueando procesos de reproducción, alimentación y crecimiento de diversos microorganismos [25].

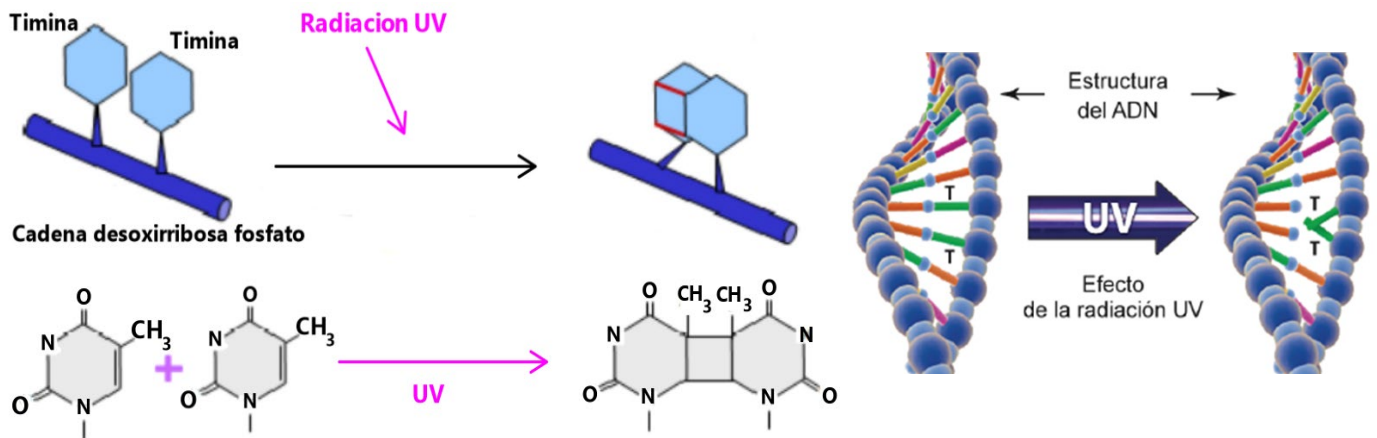


Figura 2. Dimerización del ADN, como efecto de la incidencia de la luz UV-C [25][28].

1.3. Fuentes de desinfección UV-C

Los sistemas de lámparas UV logran producir la cantidad adecuada de luz ultravioleta, capaz de inactivar los microorganismos patógenos del medio a tratar. En general, las lámparas ultravioletas consisten en un tipo de alambre metálico que genera un arco voltaico el cual excita e ioniza los átomos del vapor de mercurio (Hg), esto hace que se caliente y aumente la presión dentro del tubo y emita así fotones en el espectro UV de 254 nm aproximadamente para la esterilización, sin embargo la luz en esa longitud de onda corta no puede pasar a través del vidrio típico, por lo que el cuerpo principal de la lámpara está formado de cuarzo debido al tipo de estructura, geometría y dimensiones que forman los enlaces atómicos en su composición, de manera que la radiación con esa longitud de onda pueda traspasar el material [29]. Estas fuentes se clasifican en tres tipos alta, media y baja presión de las cuales las fuentes de mercurio a baja presión operan a una temperatura de 40 °C y dentro de un rango de presión que varía entre 100 y 1000 Pascales. Sus líneas espectrales son distintivas y bien definidas. Además, el 85% de la luz emitida por estas fuentes consiste en radiación ultravioleta con una longitud de onda de 253,7 nm, que se considera altamente eficiente para la inactivación de microorganismos [24]

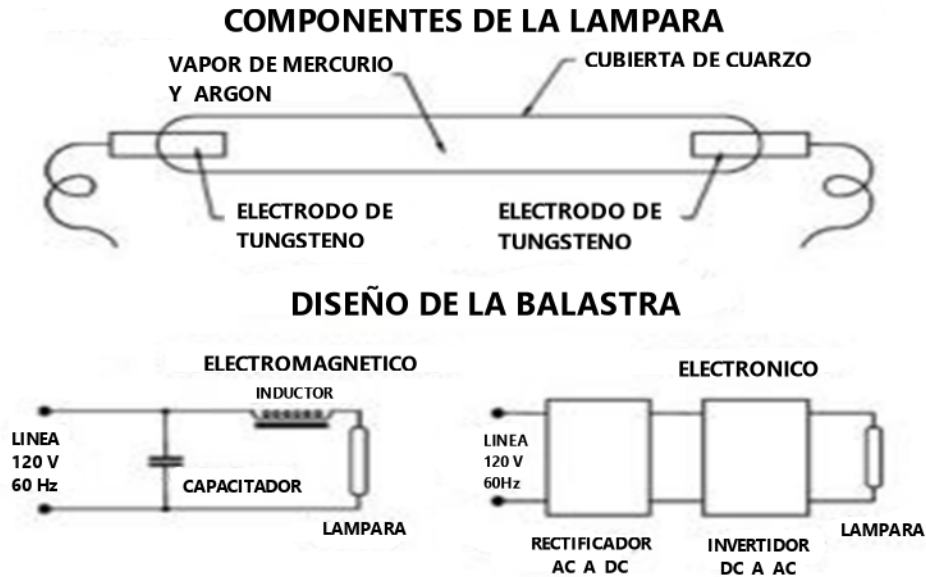


Figura 4. Componentes de una fuente UV-C de mercurio [24].

Los microorganismos absorben con mayor eficiencia la radiación en el espectro UV-C cercanos a los 254 nm emitidos por estas lámparas de mercurio como se muestra en la siguiente imagen:

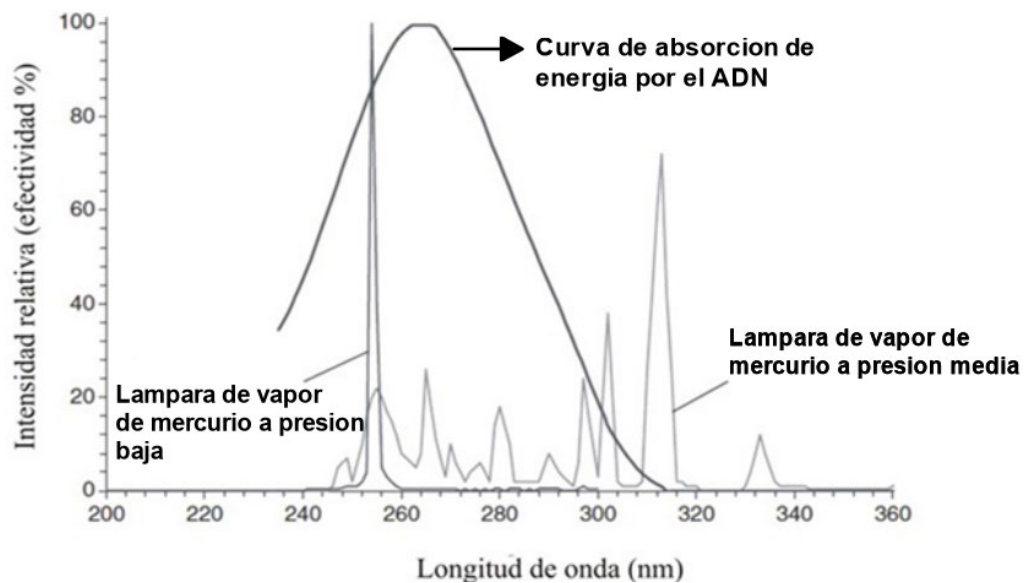


Figura 5. Efectividad germicida de longitudes de onda ultravioleta comparando lámparas UV a presión baja y media con la efectividad germicida para *Escherichia coli* [30].

2. METODOLOGIA

2.1. Preparación de muestras

Con el fin de determinar los tiempos, distancias y dosis efectivas para la inactivación de bacterias y así evaluar la eficiencia de métodos de esterilización con radiación UV-C se estableció una metodología de trabajo aplicada como se explica a continuación.

Haciendo uso de una cepa de *E. coli* donada por el laboratorio de microbiología de la facultad de salud de la Universidad Surcolombiana de Neiva, se realizaron todos los procedimientos haciendo uso de los espacios y materiales del laboratorio de la facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la sede central en el cual se realizó la preparación de un inoculo madre donde se efectuó un raspado superficial y dilución en 2 ml de agua peptonada homogeneizado durante 30 segundos en un Vortex, como lo muestra la figura 6:

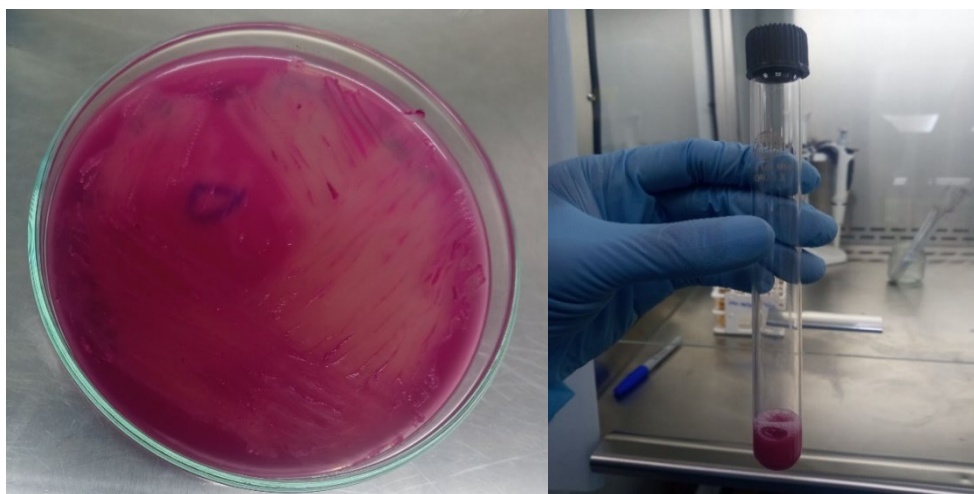


Figura 6. Raspado superficial de Cepa de *E. coli* y dilución en agua peptonada

Posteriormente, del inoculo madre se tomó 1 ml con una pipeta para realizar diluciones seriadas desde 10^{-1} hasta 10^{-7} en tubos de ensayo con 9 ml de agua peptonada homogeneizando cada dilución en el vortex.

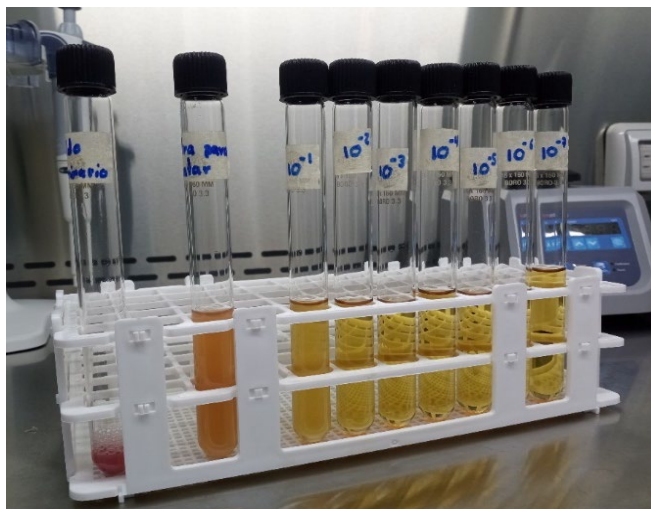


Figura 7. Dilución seriada

De cada dilución realizada se tomó 0.1 ml para sembrarlos en cajas de Petri con medios de cultivo sólido Agar Mac Conkey previamente preparados, esta siembra se esparció sobre cada superficie de manera homogénea haciendo uso de asas con punta de pala, posteriormente se dejaron en la incubadora durante 24 horas junto a una muestra de control negativo para garantizar la no contaminación de los agares durante la preparación, todo el proceso se realizó bajo método de triplicado. Los tubos de ensayo con las diluciones se dejaron en una nevera a 5° centígrados con el objetivo de inhibir el crecimiento poblacional de los microorganismos.

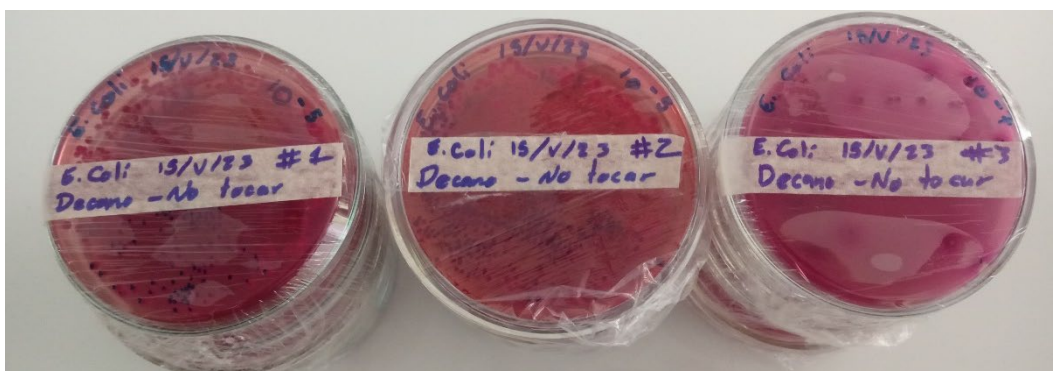


Figura 8. Empaquetamiento del triplicado de siembra de diluciones seriadas y control negativo en cajas de Petri.

Posterior a las 24 horas se realizó el conteo de colonias promedio de los triplicados de manera directa en el contador de colonias para establecer la concentración ideal a trabajar siguiendo la siguiente ecuación:

$$\frac{UFC}{ml} = \# \text{ De colonias} * (\text{Volumen sembrado})^{-1} \quad (7)$$

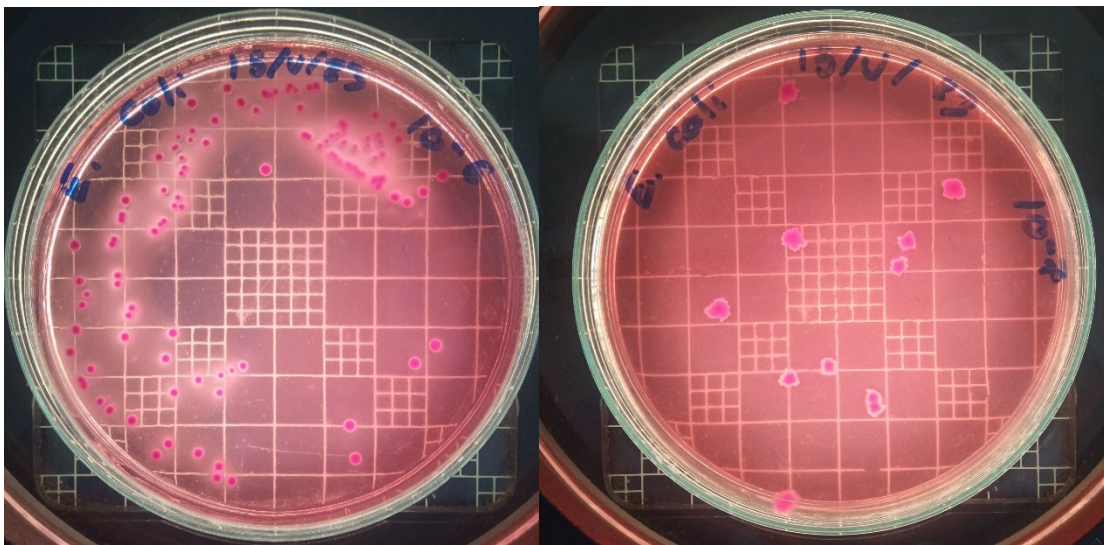


Figura 9. Conteo de colonias de las diluciones sembradas en agar MacConkey.

Se procedió a reducir su concentración a una cantidad aproximada de 10^6 UFC/ml , concentración manejada en estudios referentes como el de Giraldo, S. O. (2018) en su investigación de tesis de grado realizada en la universidad de Pereira [24], aplicando una fórmula de proporción de la siguiente manera:

$$V_1 * C_1 = V_2 * C_2$$

Donde V_1 es el volumen de la solución seleccionada la cual se debe vertió en V_2 que es el volumen de caldo nutritivo que se desea preparar para pasar de una concentración C_1 a $C_2 = 10^6 \text{ UFC/ml}$. (Figura 9), posteriormente se dejó en la incubadora a 37°

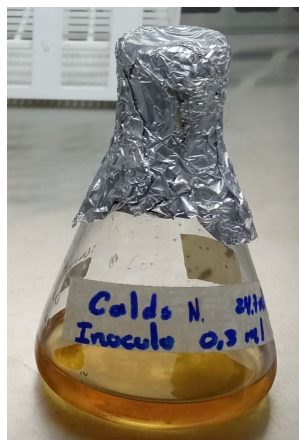


Figura 10. Dilución de 0.3 ml de inóculo con *E. coli* en 24.7 ml de caldo nutritivo

En periodos de 1 hora se realizó la medición de absorbancia de la dilución en el espectrofotómetro donde se estableció la fase de crecimiento en la que se encontraban los microorganismos (Figura 10 y 11), a las muestras ingresadas de $20 \mu\text{l}$ en el espectrofotómetro se les hace incidir un haz de luz a una longitud de onda determinada donde al incrementar la turbiedad de la dilución se va a obtener valores cada vez mayores de absorbancia que es la cantidad de luz que no logra traspasar el medio, al obtener un valor de absorbancia igual a 0.2 se inició la siembra de 0.1 ml de este en cajas de Petri para iniciar el tratamiento.

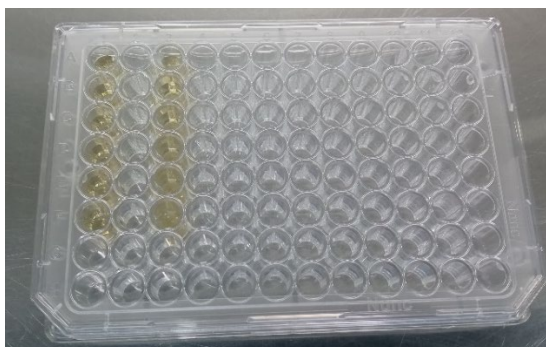


Figura 11. Microplaca de 96 pozos con muestras de $20 \mu\text{l}$ de caldo nutritivo inoculadas y con muestras de control negativo



Figura 12. Espectro fotómetro Epoch

2.2. Tratamiento con radiación UV-C

Para el tratamiento de las muestras con la fuente de radiación UV-C marca OSRAM HNS de 15 w y potencia de radiación en el espectro de 4.9 w ubicada dentro de la cabina de flujo laminar vertical JP inglobal, se establecieron diferentes intervalos de tiempo de exposición a irradiación de 30, 60, 120, 180,300,600 y 900 segundos y se construyeron tres bases en acrílico de tal manera que se permitieran ubicar las muestras a diferentes distancias de la fuente a 0.6,0.5,0.3,0.2 y 0.1 metros siempre dentro de la de longitud horizontal de la fuente donde la intensidad de radiación presenta características equipotenciales, adicional a esto para cada ensayo se tomó en cuenta una muestra de control positivo (con inoculo) y otra de control negativo (sin inoculo) las cuales no tuvieron exposición a radiación.

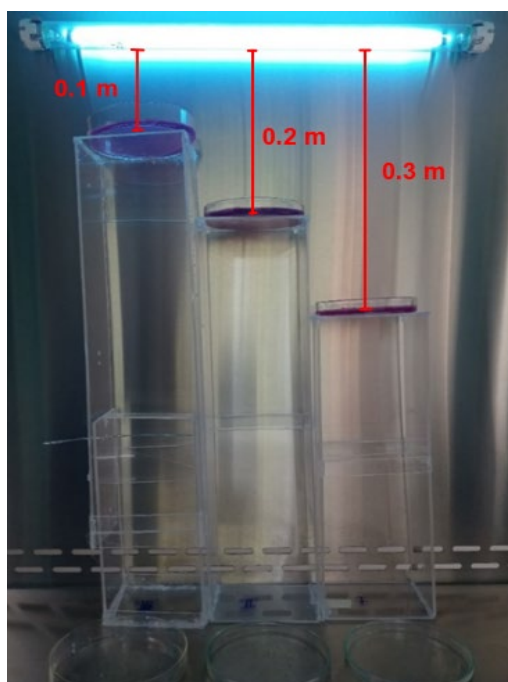


Figura 13. Radiación de muestras en cámara de flujo laminar vertical JP inglobal a distancias fuente – muestra de 0.1, 0.2 y 0.3 metros.

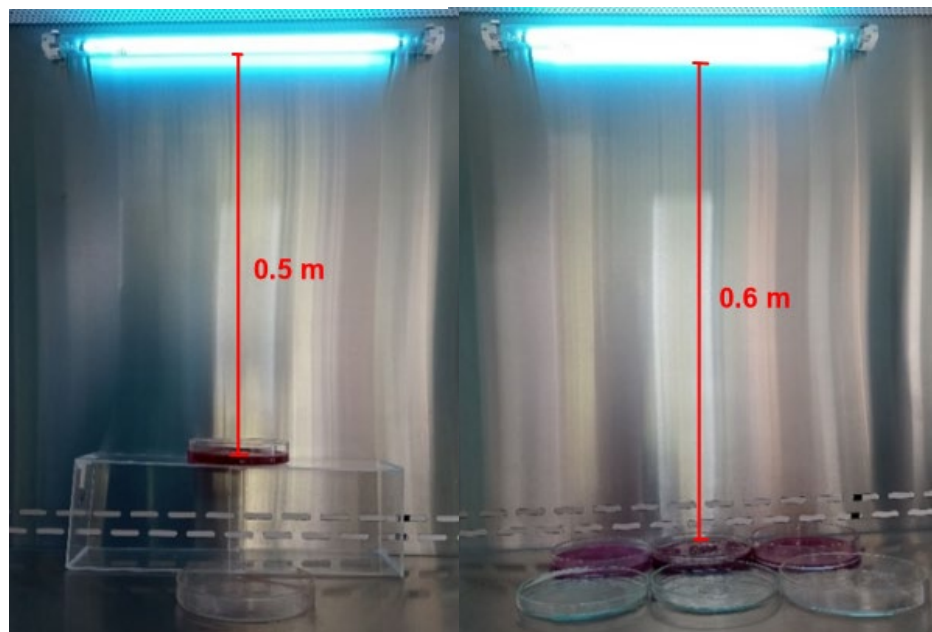


Figura 14. Radiación de muestras en cámara de flujo laminar vertical JP inglobal a distancias fuente – muestra de 0.5 y 0.6 metros.

Posterior al tratamiento se almacenaron las muestras tratadas junto con las muestras de control positivo y negativo dentro de la incubadora durante 24 h para realizar posteriormente el conteo en placa sobre el contador de colonias para la toma de datos, todo bajo método de triplicado.



Figura 15. Muestras ubicadas en incubadora a 37°C

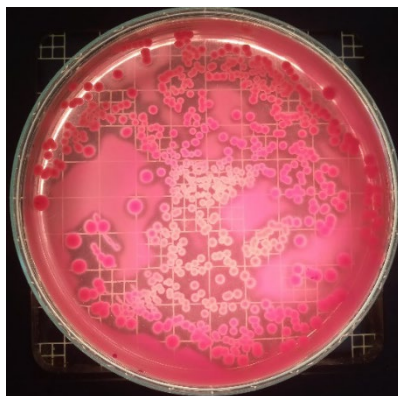


Figura 16. Conteo de colonias

2.3. Construcción de sensor UV

La iniciativa de la construcción del sensor UV partió desde el obstáculo que representa el elevado costo de estos en el mercado y el requerimiento durante la investigación de contrastar valores de intensidad de radiación y dosis calculados teóricamente con las respectivas ecuaciones y fórmulas de la física óptica (ver en glosario de ecuaciones) frente a los datos obtenidos de manera experimental, por tanto para la construcción del sistema se optó por un sensor analógico GUVA-S12SD programado en un microcontrolador Arduino UNO el cual maneja un lenguaje de programación basado en C++, además se adicione un protocolo I2C y un display LCD 16X2 para la representación de los datos obtenidos por el sensor como es el índice e intensidad de radiación.

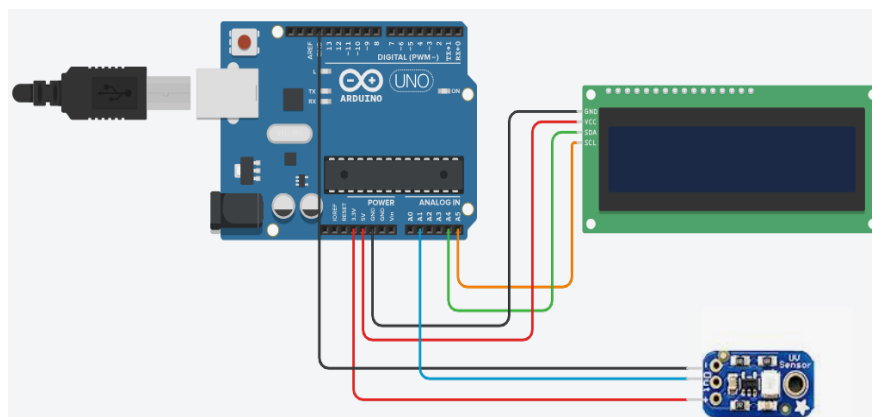


Figura 17. Diseño de montaje para la implementación del sensor GUVA-S12SD con un microcontrolador Arduino UNO

Para que el dispositivo muestre valores de índice de radiación se debe realizar la conversión de los datos obtenidos analógicamente por el fotodiodo ($\text{sensorValue}=\text{AnalogRead}$) al voltaje de salida (SensorVoltaje), calculando el promedio de estos al dividir entre 1023 y multiplicando por 5v que es el voltaje inverso manejado por el sensor posteriormente se calcula el índice UV dividiendo el voltaje de salida por 0.1. para realizar la conversión de índice UV a intensidad de radiación se multiplica el índice por un factor de proporcionalidad de 2.78, dicho factor es otorgado por la red nacional de medición UV de la Universidad Santiago de Chile donde para cada unidad medida de índice UV le corresponde $2.78 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ [31].

Índice	Potencia ($\mu\text{W}/\text{cm}^2$)	Tiempo de exposición (sin protección)					
		Minutos					
		Piel Tipo I	Piel Tipo II	Piel Tipo III	Piel Tipo IV	Piel Tipo V	Piel Tipo VI
1	2,78	90 - 180	150 - 240	180 - 290	270 - 360	350 - 530	530 - 900
2	5,57	45 - 90	75 - 120	90 - 150	135 - 180	180 - 270	270 - 450
3	8,35	30 - 60	50 - 80	60 - 100	90 - 120	120 - 180	180 - 300
4	11,1	22 - 45	37 - 60	45 - 75	67 - 90	90 - 135	135 - 225
5	13,92	18 - 36	30 - 48	36 - 60	54 - 72	72 - 110	110 - 180
6	16,7	15 - 30	25 - 40	30 - 50	45 - 60	60 - 90	90 - 150
7	19,5	13 - 26	21 - 34	26 - 43	38 - 51	50 - 75	75 - 130
8	22,2	11 - 23	19 - 30	23 - 38	34 - 45	45 - 68	68 - 113
9	25	10 - 20	17 - 27	20 - 33	30 - 40	40 - 60	60 - 100
10	27,8	9 - 18	15 - 24	18 - 30	27 - 36	36 - 55	55 - 90
11	30,5	8 - 16	14 - 22	16 - 27	25 - 33	33 - 50	50 - 82
12	33,3	7,5 - 15	12 - 20	14 - 25	22 - 30	30 - 45	45 - 75
13	36,1	7 - 14	11 - 18	13 - 23	21 - 28	27 - 41	41 - 70
14	38,9	6,5 - 13	11 - 17	12 - 21	20 - 26	26 - 40	40 - 64
15	41,7	6 - 12	10 - 16	12 - 20	18 - 24	24 - 36	36 - 60

Tabla 1. Tiempo de exposición a radiación ultravioleta según el tipo de piel.

las líneas de programación requeridas serán entonces:

```

sensorValue = analogRead(A1);
sensorVoltage = sensorValue / 1023 * 5.0 ;

iuvValue = sensorVoltage/0.1;
intensidadValue = iuvValue * 2.78;

```

El valor de índice de radiación tuvo relevancia en el momento de la calibración del sensor, puesto que fue necesario contrastar los datos medidos frente a los datos presentados por The Weather Channel [32] que es una cadena estadounidense de pronósticos del tiempo dentro de los cuales una información proporcionada por esta cadena es el índice de radiación UV en la región local de Neiva.

Los detalles de hoy	
☼ Viento	SSE 10 KM/H
💧 Humedad	33%
🌡 Condensación	16°
⚡ Presión	↑ 1012.2 mb
☀ Índice UV	11 EXTREMO
☀ Amanecer	6:00 a. m.
🌇 Puesta del sol	6:15 p. m.

Figura 18. Valor de índice UV en la región proporcionado por la aplicación de The Weather Channel

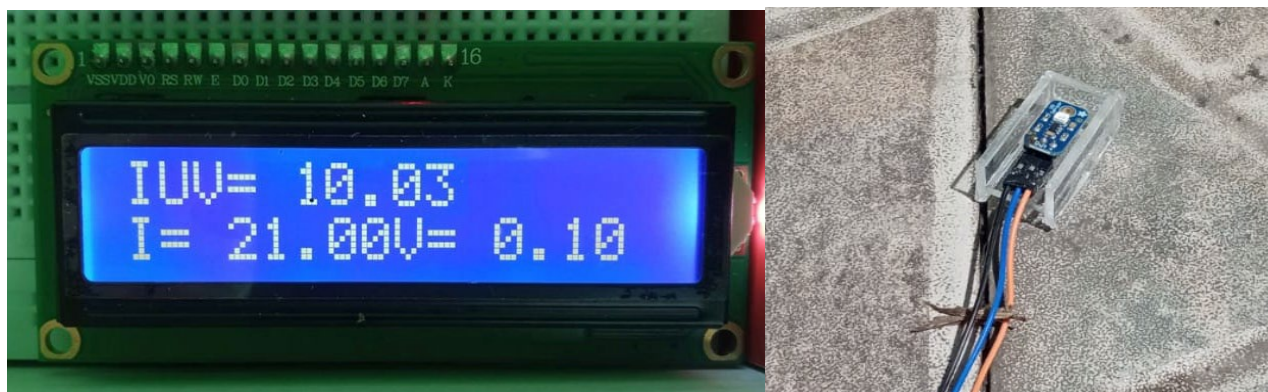


Figura 19. Índice UV medido por el sensor GVA-S12SD en Neiva con cielo despejado a las 12:00 m.

3. RESULTADOS

En la tabla 2 se expresan los datos de absorbancia de dos muestras de caldo nutritivo medidos en el espectrofotómetro Epoch, una inoculada con *E. coli* y otra sin inóculo en intervalos de tiempo T de 1 h lo cual se traduce al gráfico 1 que representa la curva de crecimiento de material biológico en el caldo nutritivo con inóculo.

T(h)	Absorbancia (<i>E. coli</i>)	Absorbancia (sin <i>E. coli</i>)
0	0,107	0,107
1	0,107	0,106
2	0,114	0,114
3	0,114	0,107
4	0,127	0,11
5	0,137	0,11
6	0,19	0,114
7	0,208	0,114
8	0,25	0,114
9	0,308	0,115
10	0,355	0,115

Tabla 2. Valores de absorbancia de muestras de caldo nutritivo con y sin presencia de *E. coli* en intervalos de 1 hora

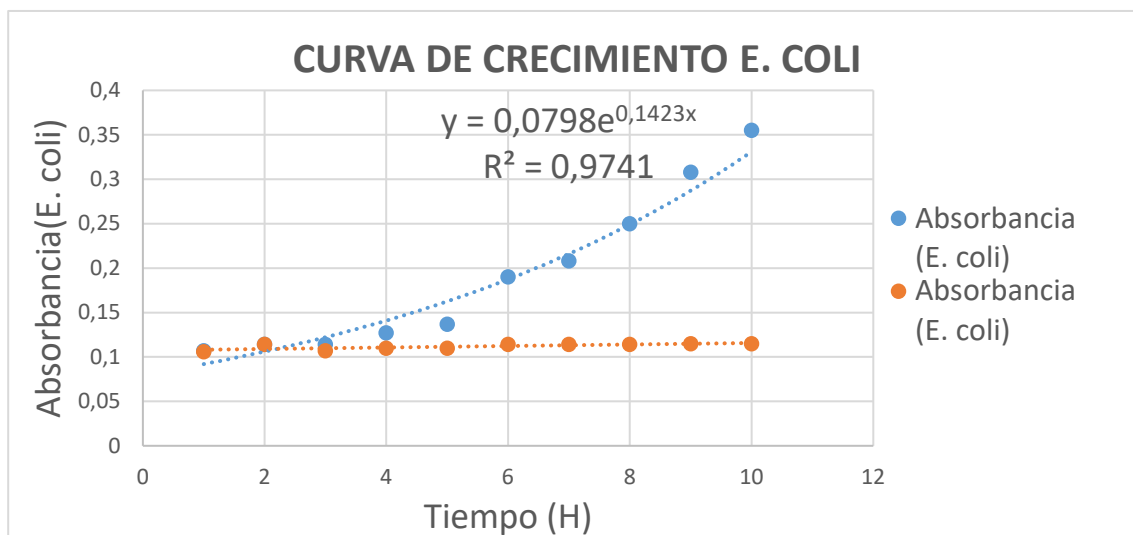


Gráfico 1. Curva de crecimiento de *E. coli*.

Se comprueba la información otorgada de potencia de la fuente UV-C equivalente a 4,9 w en el espectro de 254 nm según la ficha técnica graficando la intensidad de radiación medida por el dispositivo sensor GUVA-S12SD en función del inverso del área según la distancia fuente muestra (según ec. 2) como se muestra en la tabla 3 y en el grafico 3.

A^{-1}	Intensidad (I_s)
8,0	39
2,0	10
0,9	3,8
0,3	2
0,2	1,09

Tabla 3. Intensidad de radiación I_s medido por el sensor en función del inverso al área.

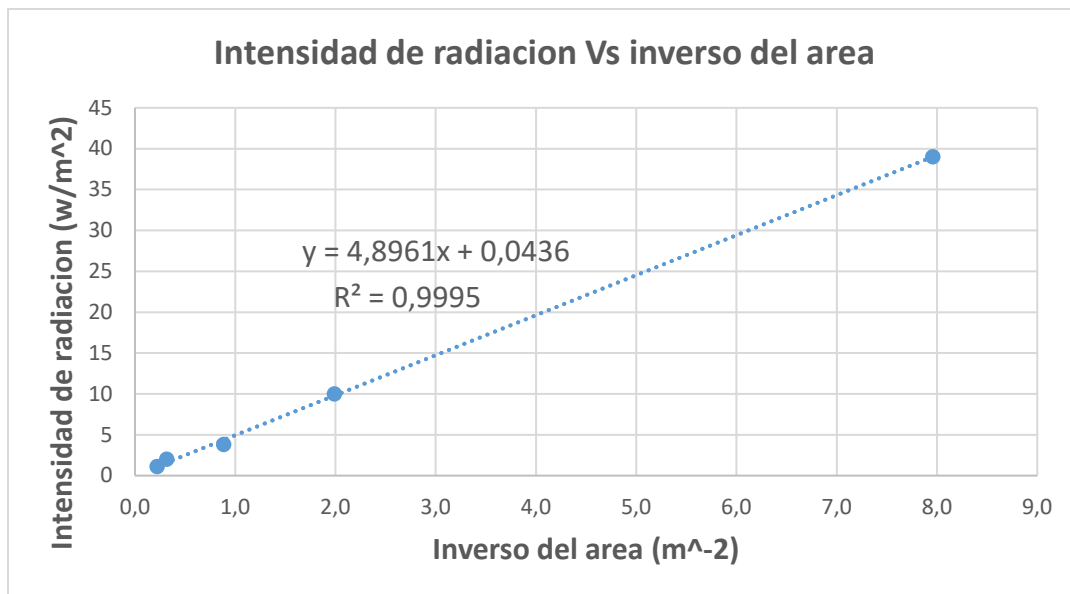


Gráfico 2. Intensidad de Radiación medido por el sensor GUVA-S12SD en función del inverso al área según el radio fuente muestra.

En la tabla 4 se representa la comparación de los valores de intensidad de radiación I_t calculados con los valores de intensidad de radiación I_S medidos con el sensor GUVA-S12-SD a cada distancia R.

Distancias (m)	$I_t(W/m^2)$	$I_S(W/m^2)$
0,1	39	39
0,2	9,7	10
0,3	4,3	3,8
0,5	1,6	2
0,6	1,1	1,09

Tabla 4. Intensidad de radiación UV-C, I_t calculado teóricamente e I_S medido por el sensor

En el grafico 2 se sintetiza los valores de la tabla 2 obteniendo un ajuste R a la curva con su respectiva función potencial.

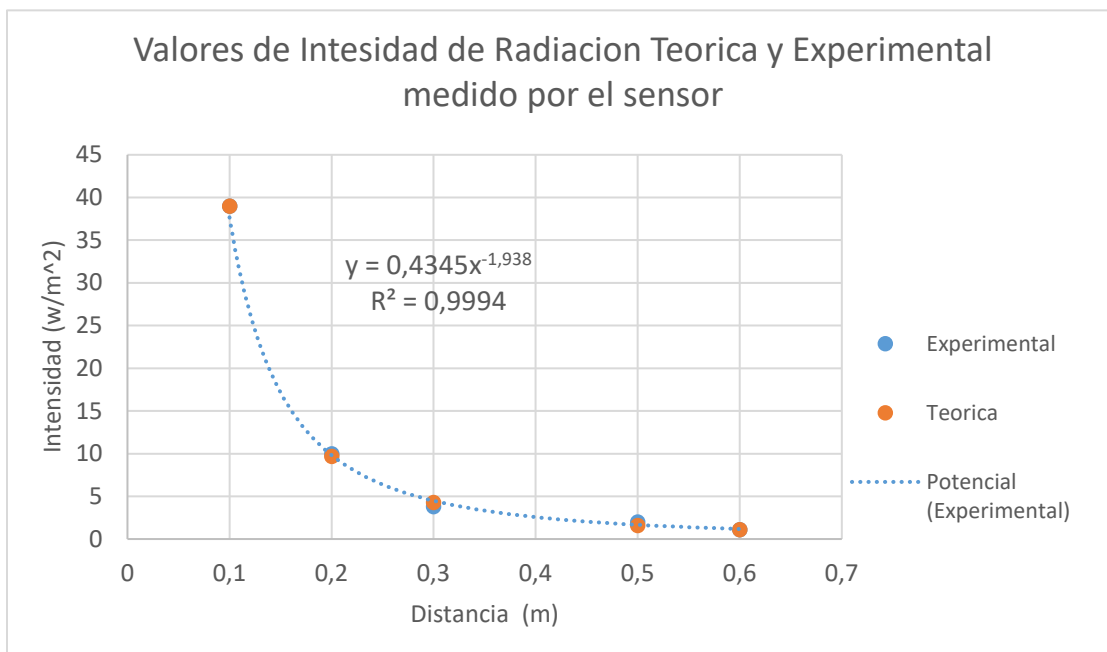


Gráfico 3. Valores de Intensidad de Radiación Teórica y Experimental medido por el sensor GUVA-S12SD.

En las tablas 5,6,7,8 y 9 se expresan los datos de intensidad de radiación a cada distancia R y dosis entregada al triplicado de las muestras en cada intervalo de tiempo T, junto con el promedio de UFC crecidas bajo cada condición cuantificadas de manera directa en el contador de colonias a una concentración de 10^6 UFC/ml además de su estandarización logarítmica.

T (Seg)	R= 0,1 m			
	INTENSIDAD (W/m ²)	DOSIS (J/m ²)	UFC (10 ⁶ /ml)	Log UFC /ml
30	39,0	1169,8	1,20E+08	8,1
60		2339,6	1,10E+07	7,0
120		4679,2	2,00E+06	6,3
180		7018,7	0,00E+00	-
300		11697,9	0,00E+00	-
600		23395,8	0,00E+00	-
900		35093,7	0,00E+00	-

Tabla 5. Disminución de UFC a un R=0,1 m en función del tiempo de exposición al tratamiento

T (Seg)	R= 0,2 m			
	INTENSIDAD (W/m ²)	DOSIS (J/m ²)	UFC (10 ⁶ /ml)	Log UFC /ml
30	9,7	292,4	1,36E+08	8,1
60		584,9	2,70E+07	7,4
120		1169,8	1,50E+07	7,2
180		1754,7	2,00E+06	6,3
300		2924,5	0,00E+00	-
600		5848,9	0,00E+00	-
900		8773,4	0,00E+00	-

Tabla 6. Disminución de UFC a un R=0,2 m en función del tiempo de exposición al tratamiento

T (Seg)	R=0,3 m			
	INTENSIDAD (W/m ²)	DOSIS (J/m ²)	UFC (10 ⁶ /ml)	Log UFC /ml
30	4,3	130,0	1,40E+08	8,1
60		260,0	8,00E+07	7,9
120		519,9	3,00E+07	7,5
180		779,9	2,20E+07	7,3
300		1299,8	1,00E+06	6,0
600		2599,5	0,00E+00	-
900		3899,3	0,00E+00	-

Tabla 7. Disminución de UFC a un R=0,3 m en función del tiempo de exposición al tratamiento

T (Seg)	R= 0,5 m			
	INTENSIDAD (W/m ²)	DOSIS (J/m ²)	UFC (10 ⁶ /ml)	Log UFC /ml
30	1,6	46,8	1,75E+08	8,2
60		93,6	8,00E+07	7,9
120		187,2	4,20E+07	7,6
180		280,7	2,00E+07	7,3
300		467,9	1,70E+07	7,2
600		935,8	1,00E+06	6,0
900		1403,7	0	-

Tabla 8. Disminución de UFC a un R=0,5 m en función del tiempo de exposición al tratamiento

T (Seg)	R= 0,6 m			
	INTENSIDAD (W/m ²)	DOSIS (J/m ²)	UFC (10 ⁶ /ml)	Log UFC /ml
30	1,1	32,5	2,00E+08	8,3
60		65,0	1,19E+08	8,1
120		130,0	7,60E+07	7,9
180		195,0	2,80E+07	7,4
300		324,9	2,00E+07	7,3
600		649,9	1,00E+06	6,0
900		974,8	0,00E+00	-

Tabla 9. Disminución de UFC a un R=0,6 m en función del tiempo de exposición al tratamiento

En el grafico 3 se expresa la reduccion de UFC en funcion del tiempo donde cada recta representa el comportamiento de las muestras a cada distancia R.

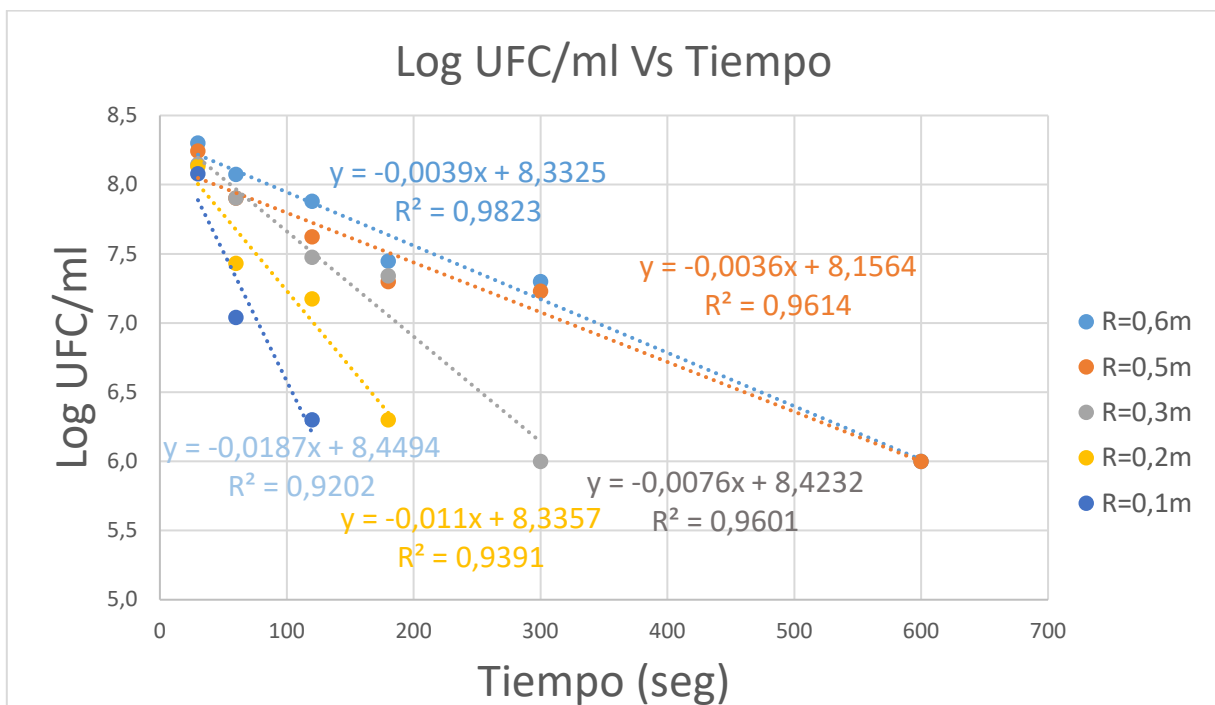


Gráfico 4. Disminución de unidades logarítmicas de UFC en función al tiempo de exposición al tratamiento.

En el grafico 4 se expresa la reduccion de UFC en funcion de la dosis donde cada recta representa el comportamiento de las muestras a cada distancia R.

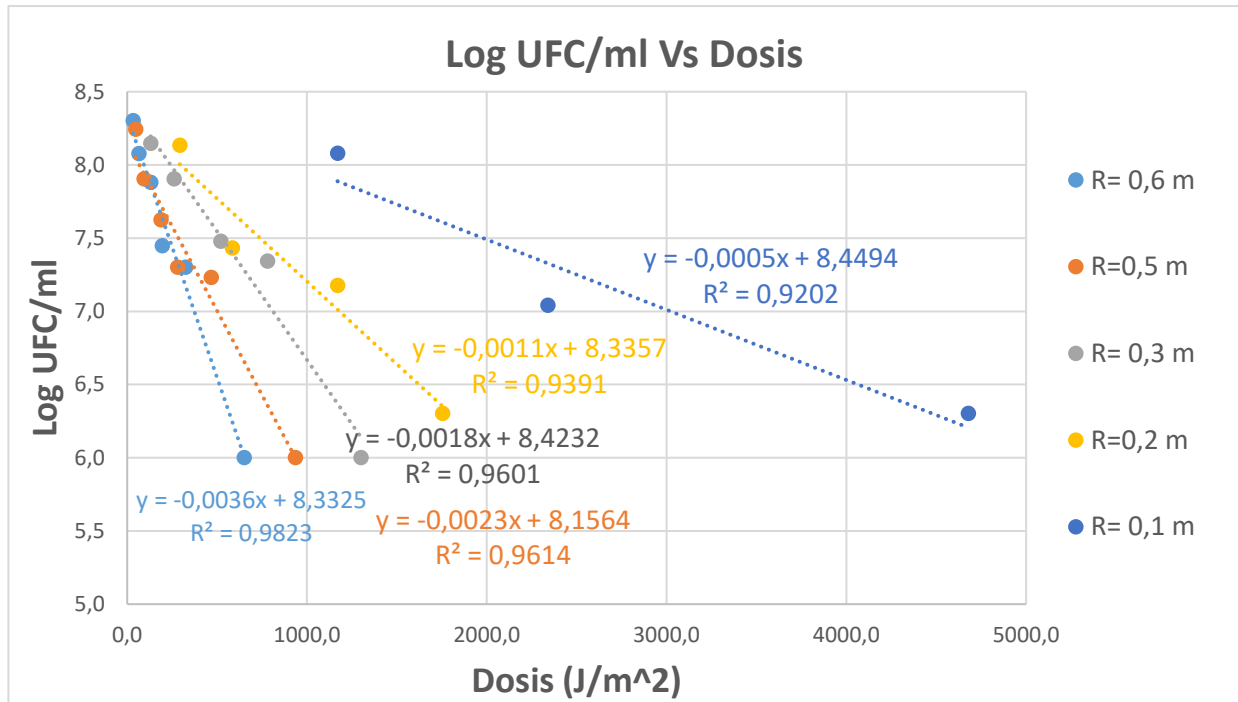


Gráfico 5. Disminución de unidades logarítmicas de UFC en función a la dosis de radiación entregada

En la figura 20 se muestra la matriz obtenida con los resultados del tratamiento incrementando los tiempos de radiación de izquierda a derecha y disminuyendo las distancias fuente-muestra de abajo hacia arriba, donde se observa la disminución de colonias a comparación de la fila inferior las cuales pertenecen a las muestras control.

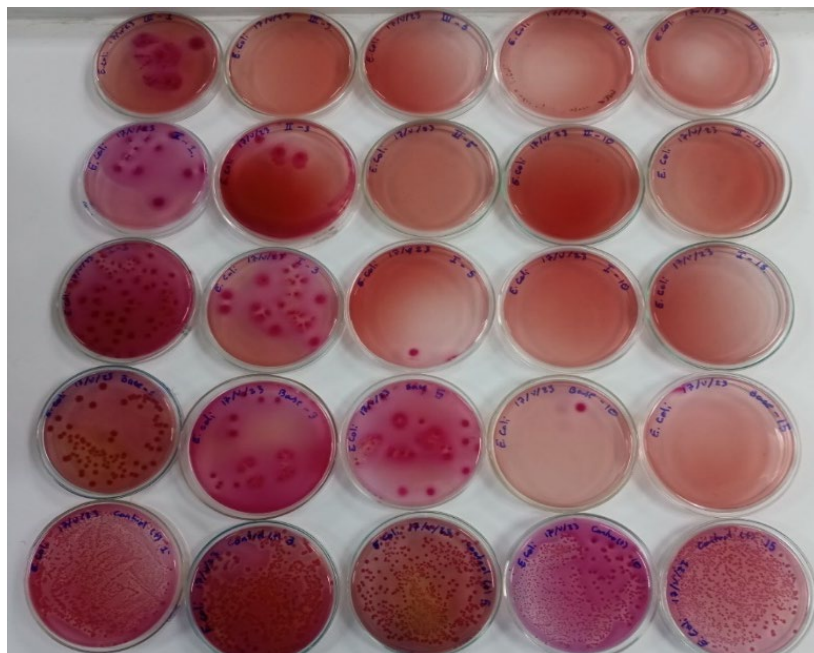


Figura 20. Matriz fotográfica obtenida con las muestras expuestas al tratamiento.

T(seg) \ R(m)	60	180	300	600	900
0.1	11	0	0	0	0
0.2	27	3	0	0	0
0.3	80	22	1	0	0
0.6	90	28	20	1	1
Control	1080	960	940	892	900

Tabla 10. Cuantificación de colonias obtenidas en la matriz fotográfica de las muestras expuestas al tratamiento con radiación UV-C.

Análisis de resultados

Para la preparación del cultivo de *E. coli* se registraron los valores de absorbancia por hora del inóculo (Gráfico 1) diluido en caldo nutritivo (línea azul) y de un caldo nutritivo sin inóculo (línea naranja) en el espectrofotómetro Epoch el cual dio como resultado los datos representados con ajuste a la función exponencial $0,0798e^{0,1423t}$ en la cual se puede apreciar que esta presenta un factor de 0,1423 con la variable de tiempo independiente para un intervalo de tiempo de entre 6 a 8 horas que tiene el comienzo de la fase exponencial de crecimiento con valor índice de absorbancia aproximado a 0,2; siendo este el valor adecuado para iniciar el tratamiento evitando así una posible alteración de resultados debido a factores ajenos al tratamiento como: poca cantidad de microorganismos o debilidad de estos en la fase estacionaria y fase de muerte. Se observa que para el caldo nutritivo sin inóculo (línea naranja) la absorbancia no incrementa debido a que no tiene presencia de microorganismos, estos son factores que ayudan a garantizar que las sustancias no han sido contaminadas con agentes externos durante el proceso.

Se puede observar en el gráfico 2 que al graficar la intensidad de radiación en función del inverso del área, se tiene una gráfica con ajuste a una función lineal en la cual se observa una pendiente equivalente a la potencia de 4.9w correspondiente a la fuente en la longitud de onda de 254 nm.

Se puede observar del gráfico 3 que los datos de intensidad radiación UV-C medidos por el sistema con el sensor GVA-S12-SD para cada distancia R de la fuente frente a los valores calculados teóricamente (ver en anexos) no difieren en gran cantidad puesto que los valores puntuales teóricos y experimentales se encuentran superpuestos dando como resultado una relación inversamente proporcional entre la intensidad de radiación y la distancia de la fuente a la que se posiciona el sensor como se expresa en la función la cual tiene un coeficiente de correlación de $0.9994 \approx 1$ que se traduce en un ajuste óptimo para la aplicación del sistema.

En el gráfico 4 se puede observar el comportamiento a escala logarítmica de la lectura de las muestras sometidas al tratamiento con radiación UV-C, en la cual se puede apreciar el decaimiento de las unidades logarítmicas promedio para cada distancia R en función del tiempo; donde 6 unidades logarítmicas se traducen en una sola colonia debido a la

concentración de 10^6 UFC/ml del inoculo que se trabajó durante la preparación del material biológico basado en trabajos previamente consultados [25], estos decaimientos presentan ajustes las funciones lineales con origen aproximado a 8 unidades logarítmicas y con pendientes negativas que representan la rapidez de decaimiento de Log UFC/ml en función del tiempo de exposición. Se observa en el grafico 4, que a menor distancia fuente-muestra se logra una inactivación de *E. coli* en menor tiempo, dando como resultado que para cada distancia R se tiene un intervalo de tiempo de exposición efectivo de inactivación para *E. coli* de la siguiente manera:

Para $R=0.1\text{m}$ un $T > 120$ seg.

Para $R=0.2\text{m}$ un $T > 180$ seg.

Para $R=0.3\text{m}$ un $T > 300$ seg.

Para $R=0.5\text{m}$ y $R= 0.6 \text{ m}$ un $T > 600$ seg.

Se logra observar en el grafico 5 que al disminuir la distancia R de la fuente, la dosis entregada aumenta debido a que la dosis se obtiene del producto entre la intensidad de radiación y el tiempo de exposición (ver ecuación 1 en marco teórico) y la intensidad de radiación es inversamente proporcional la distancia (ver ecuación 2 en marco teórico). Se observa entonces que la intensidad crece de manera potencial con respecto a la disminución de la distancia y por tanto los valores de dosis incrementaran al disminuir R. Los datos representados muestran un ajuste a funciones lineales, con pendientes negativas que representan la rapidez de decaimiento en función de la dosis entregada, obteniendo una reducción promedio de 8 a 6 unidades logarítmicas. Se aprecia entonces que la dosis efectiva para la inactivación de *E. coli* en cada distancia R respectivamente es:

Para $R=0.1 \text{ m}$ un $D > 4679.2 \text{ J/m}^2$ equivalente a 0.468 J/cm^2

Para $R=0.2 \text{ m}$ un $D > 1754.7 \text{ J/m}^2$ equivalente a 0.175 J/cm^2

Para $R=0.3 \text{ m}$ un $D > 1299.8 \text{ J/m}^2$ equivalente a 0.129 J/cm^2

Para $R=0.5 \text{ m}$ un $D > 935.8 \text{ J/m}^2$ equivalente a 0.0936 J/cm^2

Para $R=0.6$ m un $D > 649.9 \text{ J/m}^2$ equivalente a 0.065 J/cm^2

Al efectuar el tratamiento a las muestras se obtiene como resultado en físico según el ordenamiento de las muestras la “matriz” mostrada en la figura 20 donde se observa el efecto de inactivación de la radiación UV-C sobre las muestras al incrementar los tiempos (de izquierda a derecha) y disminuir distancias fuente-muestra (de abajo hacia arriba), tomando como referencia las muestras de control positivo en la fila inferior a las cuales no se expusieron al tratamiento. En la tabla 8 se expresa la cuantificación de las colonias producidas en las muestras de la “matriz” (figura 20), en esta se observa una diagonal donde el número de colonias se reduce significativamente a medida que las distancias se disminuyen y los tiempos de exposición aumentan, los resultados sintetizados en esta tabla ayudan a relacionar tiempos de exposición mínimos efectivos para cada distancia R.

Conclusiones

En este trabajo de investigación se comprobó que es posible la inactivación de *E.coli* aplicando radiación UV-C con una fuente de marca OSRAM HNS 15 W G13, logrando una reducción de más de dos unidades logarítmicas de UFC como se puede ver en los gráficos 4 y 5 en los cuales al aumentar los tiempos de exposición y dosis de radiación entregada manteniendo las distancias R fuente-muestra constantes se presenta un decaimiento rápido, en comparación de las muestras de control positivo las cuales no se expusieron a radiación, quienes presentan una alta concentración de UFC como se observa en la tabla 10.

Se comprobó que la fuente posee una potencia constante de 4.9 w asociada al espectro de longitud onda de 254 nm, con la cual se da el efecto de inactivación; la comprobación de la potencia de la fuente se realizó mediante el dispositivo fabricado al expresar la intensidad de radiación medida en función del inverso del área correspondiente a la distancia R fuente-muestra, además de la validación de los valores de intensidades de radiación y dosis calculados de manera teórica con los datos arrojados por el dispositivo durante la práctica experimental, concluyendo que la confiabilidad del dispositivo se encuentra dentro del rango aceptable según las mediciones sintetizadas en la tabla 4 y Grafico 3.

En el momento de realizar la exposición de las muestras con *E coli* se tiene un rango de tiempos de exposición entre 180 seg a 600 seg y distancias efectivas entre 0.2 m a 0.6 m donde se entregaron dosis a cada muestra entre $0.175 J/cm^2$ a $0.065 J/cm^2$ respectivamente, lo cual corresponde a magnitudes de dosis mucho menores a lo documentado por Osorio [24], en su trabajo de investigación donde entrego una dosis mínima de $8.6 J/cm^2$ con distancias fuente - muestra entre 0.1 m a 0.3 m, siendo esta dosis más que suficiente para lograr una inactivación de la mayor cantidad de *E.coli*. Se concluye así que el trabajo realizado conlleva a una mejor aproximación de las dosis mínimas requeridas para lograr una inactivación de *E.coli*. Con esta cuantificación de tiempos, distancias de exposición efectivas y dosis se logra tener un punto de referencia para futuros proyectos donde se desee aplicar y optimizar este método con el fin de esterilizar superficies donde se tenga presencia potencial de *E. coli* evitando consumos energéticos que caigan fuera del rango necesario durante la dosificación a este tipo de microorganismos patógenos.

REFERENCIAS

- [1] Gómez-Duarte, OG (2014). Enfermedad diarreica aguda por *Escherichia coli* enteropatógenas en Colombia. *Revista Chilena De Infectología*, 31 (5), 577–586. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182014000500010>
- [2] Hewitt, PC (1900, 5 de abril). US682699A - Método de fabricación de lámparas de vapor o gas. - Patentes de Google. <https://patents.google.com/patent/US682699>
- [3] Vargas, LG, G, JV, J, MBL, E, K. a. D., G, CP y Verbel, LP (2017). Efecto citotóxico del hipoclorito de sodio (NaClO), en células apicales de raíces de cebolla (*Allium cepa* L.). *Revista Colombiana De Ciencias Hortícolas*, 11 (1), 97–104. <https://doi.org/10.17584/rcch.2017v11i1.5662>
- [4] Acosta, P. M., Caro, C. A., & Perico, N. R. (2015). Análisis de interferencia de parámetros físicos del agua, en desinfección por radiación UV. *Revista de Tecnología*, 105-112. doi: <https://doi.org/10.18270/rt.v14i2.1874>
- [5] “OMS | Inocuidad de los alimentos,” WHO, 2017. [Online]. Available: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs399/es/>. [Accessed: 05-Mar2018]
- [6](S/f). Gov.co. Recuperado el 16 de agosto de 2023, de <http://documentacion.ideam.gov.co/openbiblio/bvirtual/018903/Links/Guia18.pdf>
- [7] OSRAM. HNS 15 W G13 UV-C (2023.) UV-C lamps for purification. <https://n9.cl/kn1c5>
- [8] Eisberg, RM y Resnick, R. (1978). Física cuántica: átomos, moléculas, sólidos, núcleos y partículas. Editorial Limusa SA De CV pag 18-27.
- [9] Pascual, A., Ingeniero, B., Químico, T., Gadea, E., Licenciado, C., & Químicas, C. (s/f). NTP 304: Radiaciones ionizantes: normas de protección. Insst.es. Recuperado el 16 de agosto de 2023, de https://www.insst.es/documents/94886/326853/ntp_304.pdf/a4172a24-65a0-42a9-add3-9428100fa070?version=2.1&t=1687174738693
- [10] G. de C. Instituto de Salud Pública, Ministerio de Salud, “Sección Radiaciones Ionizantes y No Ionizantes | Instituto de Salud Pública de Chile.” [Online]. Available: goo.gl/MK2jHt. [Accessed: 28-May-2018].
- [11] Vargas, N., Sánchez, L. M., & Ortiz, I. (2013). Perspectiva genética de los rayos UV y las nuevas alternativas de protección solar. *Revista argentina de dermatología*. vol.94(no.3).

ISSN 1851-300X http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-300X2013000300002

[12] Rivera, D. M., Alfonso, P., Béjar, A. G., Martínez, M. Á., Rivera, M., Gustavo, D., Aguilar, A. G., et al. (2007). *Revista Fitotecnia Mexicana 2007 Postharvest Biochemical Effects Of Uv-C Irradiation On Fruit And Vegetables*, 30, 361–372.].

[13] Zecua Temoltzin, A. (2019). *Refracción de una onda plana por una superficie paraboloidal: rayos de luz, frentes de onda y caustica* Licenciado en física (Licenciado). Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

[14] Naranjo, L. a. g. (2011). *Análisis de la ley de cuadrado inverso para medición práctica de iluminancia. ingeniería*, 19(1). <https://doi.org/10.15517/ring.v19i1.687>

[15] Gamlen HE (1903) Treatment of lupus by X-rays and ultraviolet rays. *Br Med J* 1(2214):1310–1313

[16] Lutz FE, Richtmyer FK (1922) The reaction of *Drosophila* to ultraviolet. *Science* 55(1428):519

[17] Nicholls AG (1928) The ultraviolet rays in therapeu- tics. *Can Med Assoc J* 18(3):321–322

[18] Kelner, A. (1951). action spectra for photoreactivation of ultraviolet-irradiated *Escherichia coli* and *Streptomyces griseus*. *The Journal of General Physiology*, 34(6), 835-852. <https://doi.org/10.1085/jgp.34.6.835>

[19] Wong, E., Linton, R. H., & Gerrard, D. E. (1998). Reduction of *Escherichia coli* and *Salmonella senftenberg* on pork skin and pork muscle using ultraviolet light. *Food microbiology*, (15437), 415–423.

[20] Rojas, J. I. D., Flores, J. V., Durango, M., & Oviedo, D. (2012). Efecto de la exposición a la luz ultravioleta uv-c en la viabilidad de especies de *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*. *Journal of Engineering Technology*, 2(1). <http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1188/1/545-1590-1-PB.pdf>

[21] Gutiérrez E. Katia “Efecto de la radiación ultravioleta sobre el crecimiento de *Bacillus* sp. productor de celulasas” (2014), tesis para de titulación en Biología, Universidad nacional de Trujillo, Perú.

- [22] Tipanquiza, H. Pavel “Dispositivo remoto para desinfección de entornos cerrados mediante luz ultravioleta”, Proyecto de titulación. Universidad técnica de ambato. 2021
- [23] Bedell, K. A., Buchaklian, A. H., & Perlman, S. (2016). Efficacy of an Automated Multiple Emitter Whole-Room Ultraviolet-C Disinfection System Against Coronaviruses MHV and MERS-CoV. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 37(5), 598-599. <https://doi.org/10.1017/ice.2015.348>
- [24] Giraldo, S. O. (2018). Implementación de un sistema de radiación ultravioleta como germicida en instrumentos de cocina, para la inactivación de las bacterias E-coli y Staphylococcus aureus. <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/handle/11059/9407?show=full>
- [25] Correa, M., Mera, S., Guacho, F., Villarreal, E. & Valencia, S. (2020). Desinfección mediante el uso de luz UV-C germicida en diferentes medios como estrategia preventiva ante la COVID-19. *Minerva*, 1(2), 46-53. <https://doi.org/10.47460/minerva.v1i2.11>
- [26] Bernedo, L. J. R., Mayhua, F. P. F., Gonzáles, A. I., & Quispe, R. R. Z. (2020b). Radiación ultravioleta-c para desinfección bacteriana (coliformes totales y termotolerantes) en el tratamiento de agua potable. *Revista de investigaciones altoandinas*, 22(1), 68-77. <https://doi.org/10.18271/ria.2020.537>
- [27] Ostos Ortíz, O. L., Rosas Arango, S. M. & González Devia, J. L. (2019). Aplicaciones biotecnológicas de los microorganismos. *Nova*, 17(31), 129-163. <https://doi.org/10.22490/24629448.3629>
- [28] Morales, A. G. (2018). Estudio de la capacidad antigenotóxica de *Gnaphalium semiamplexicaule* evaluando la frecuencia de intercambio de cromátidas hermanas in vivo. <https://tesis.ipn.mx/handle/123456789/25917>
- [29] Tecnología, GW (2020). Tipos comunes de lámparas UV para la desinfección ultravioleta. *Génesis Agua Tecnologías*. <https://es.genesiswatertech.com/blog-post/types-of-ultraviolet-uv-lamps/>
- [30] Villarroel, D. M., González, L. R., Brito, M. & Ramos-Villarroel, A. Y. (2015). Luz ultravioleta: inactivación microbiana en frutas. *SABER. Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente*, 27(3), 454-469. <https://www.redalyc.org/pdf/4277/427743080011.pdf>
- [31] *USACH*. (s. f.). Red Nacional de medición UV <http://ambiente.usach.cl/uv/uv.htm>

[32] El canal del clima. (nd-b). Pronóstico del tiempo y condiciones meteorológicas para Neiva, Huila: The Weather Channel | Tiempo.com . <https://weather.com/es-CO/tiempo/hoy/l/4e5413ab73e8faa1b8e4b551996419b5bb600a3917d5aae90ef19f06423f0f>

78

ANEXOS

Preparación de medios de cultivo

Para el estudio microbiológico se escogió los siguientes elementos proporcionados por el laboratorio de microbiología de la universidad Surcolombiana teniendo los siguientes cálculos para la correcta preparación.

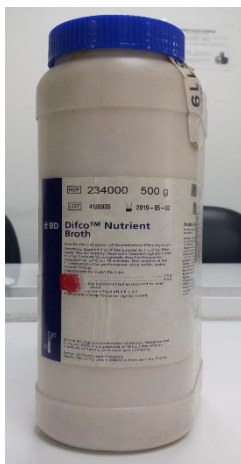


Figura 21. Caldo nutritivo

Para su preparación se tuvo en cuenta las instrucciones definidas en la etiqueta del empaque, siendo necesarios 8gr de caldo nutritivo por cada litro de agua destilada para la solución total que se desea preparar, por tanto, se realizaron los siguientes cálculos si se desea preparar 24.7 ml de solución:

$$8 \text{ gr} \rightarrow 1000 \text{ ml}$$

$$x \rightarrow 24.7 \text{ ml}$$

$$x = \frac{8 \text{ gr} * 24.7 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}} = 0.19 \text{ gr}$$

Se pesaron por tanto 0.19 gr de caldo nutritivo en polvo para ser disueltos en 24.7 ml de agua destilada y posteriormente esta solución se ingresó en la autoclave para eliminar cualquier posible contaminación biológica.

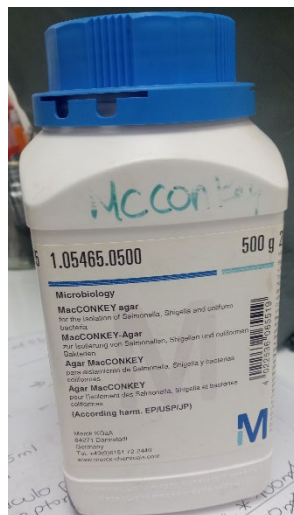


Figura 22. Agar MacConkey

Para su preparación se tuvo en cuenta las instrucciones definidas en la etiqueta del empaque, siendo necesarios 50gr de Agar macConkey por cada litro de agua destilada para la solución total que se desea preparar, se tuvo en cuenta que para la realización de la metodología del tratamiento se debió preparar 7 muestras a un total de 7 intervalos de tiempo de exposición más 7 muestras que se sembraron en las diluciones seriadas manejado por todo triplicado para un total de 168 muestras en cajas de Petri de 25 ml cada una, por tanto se realizaron los siguientes cálculos:

$$(7 * 7 + 7) * 3 = 168$$

$$168 * 25 \text{ ml} = 4200 \text{ ml}$$

Entonces:

$$50 \text{ gr} \rightarrow 1000 \text{ ml}$$

$$x \rightarrow 4200 \text{ ml}$$

$$x = \frac{50 \text{ gr} * 4200 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}} = 210 \text{ gr}$$

Se disolvieron entonces 210 gr de Agar MacConkey en 4200 ml de agua destilada para 168 muestras en cajas de Petri de 25 ml lo cual posteriormente a la preparación total se ingresó en la autoclave para eliminar cualquier posible contaminación biológica.

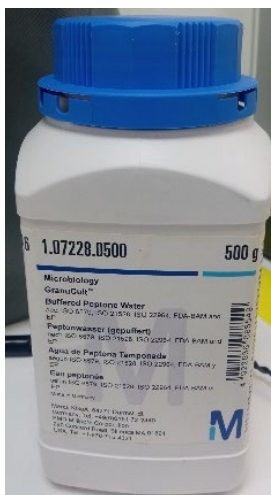


Figura 23. Agua peptonada

Para su preparación se tuvo en cuenta las instrucciones definidas en la etiqueta del empaque, siendo necesarios 25.5 gr de agua peptonada por cada litro de agua destilada para la solución total que se desea preparar, por tanto se realizaron los siguientes cálculos para preparar 8 tubos de ensayo con 9 ml cada uno mas 2 ml que se uso en la solución del rapado de la cepa donada inicialmente según la metodología:

$$(8 * 9ml) + 2ml = 74 ml H_2O \text{ peptonada}$$

Entonces:

$$25.5 \text{ gr} \rightarrow 1000 \text{ ml}$$

$$x \rightarrow 74 \text{ ml}$$

$$x = \frac{25.5 \text{ gr} * 74 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}} = 1.88 \text{ gr}$$

Se disolvieron entonces 1.88 gr de agua peptonada en 74 ml de agua destilada para las diluciones respectivas, lo cual posteriormente a la preparación total se ingresó en la autoclave para eliminar la mayor cantidad de contaminación biológica.

PROGRAMACION DEL DISPOSITIVO

```
LiquidCrystal_I2C lcd(0x27,20,4); // si no te sale con esta
direccion puedes usar (0x3f,16,2) || (0x27,16,2) ||(0x20,16,2)
float sensorVoltage;
float sensorValue;
float iuvValue;
float intensidadValue;

void setup() {
  pinMode(A1, OUTPUT);
  lcd.init();
  lcd.backlight();
  //lcd.clear();
  //lcd.setCursor(0,0);
  // lcd.print("Iniciando...");
  //lcd.setCursor (0,1);
  //lcd.print();
}
void loop() {

lcd.clear();
  sensorValue = analogRead(A1);
  sensorVoltage = sensorValue / 1023 * 5.0 ;

  iuvValue = sensorVoltage/0.1;
  intensidadValue = iuvValue * 2.78;

  lcd.setCursor(0, 0);
    lcd.print("IUV= ");
  lcd.setCursor(5, 0);
    lcd.print(iuvValue);
  lcd.setCursor(0, 1);
    lcd.print("I= ");
  lcd.setCursor(3, 1);
    //lcd.print(intensidadValue); // Establecer funcion para calcular
intensidad de radiacion
    lcd.print(sensorValue);
```

```

lcd.setCursor(8, 1);
  lcd.print("V= ");
lcd.setCursor(11, 1);
  lcd.print(sensorVoltage); // Establecer funcion para calcular
intensidad de radiacion
//lcd.print(" sensor voltage = ");
//lcd.print(sensorVoltage);
//lcd.println("V");
delay(5000);}

```

CÁLCULOS

Cálculo de porcentaje de error del dispositivo sensor GUVA-S12-SD comparado con la lectura proporcionada por The Weather Channel en la medición de índice UV en la región.

Índice UV proporcionado por The Weather Channel	Índice UV medido por GUVA-S12-SD
11	10.03

Tabla 11. Comparación de datos de índice UV.

Cálculos teóricos de intensidad de radiación según las distancias especificados en la metodología:

Si $I = \frac{P}{4\pi R^2}$ entonces:

Para $R = 0.1$ m

$$I = \frac{4.9w}{4\pi(0.1m)^2} \approx 39 w/m^2$$



Figura 24. Medición de sensor a 0.1 m

Para $R = 0.2$ m

$$I = \frac{4.9w}{4\pi(0.2m)^2} = 9.74 w/m^2$$

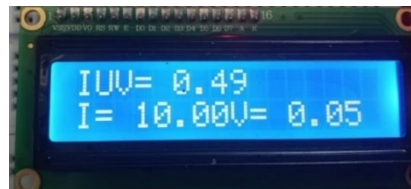


Figura 25. Medición de sensor a 0.2 m

Para $R=0.3\text{ m}$

$$I = \frac{4.9w}{4\pi(0.3m)^2} = 4.3\text{ w/m}^2$$

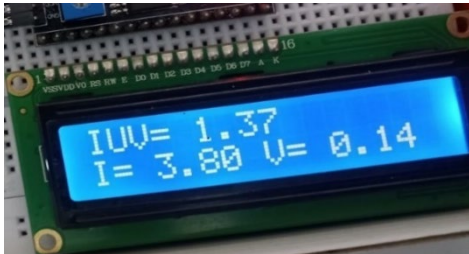


Figura 26. Medición de sensor a 0.3 m

Para $R=0.5\text{ m}$

$$I = \frac{4.9w}{4\pi(0.5m)^2} \approx 1.6\text{ w/m}^2$$

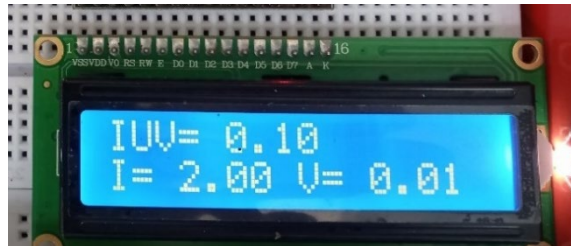


Figura 27. Medición de sensor a 0.5 m

Para $R=0.6\text{ m}$

$$I = \frac{4.9w}{4\pi(0.6m)^2} \approx 1.1\text{ w/m}^2$$

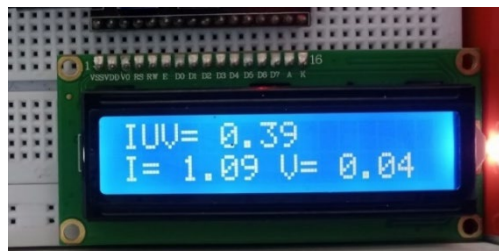


Figura 28. Medición de sensor a 0.6 m

Datos de concentración de las siembras de las diluciones seriadas y método de reducción de concentración:

Dilución	# Colonias 1	# Colonias 2	# Colonias 3	PROMEDIO
10^{-1}	NC	NC	NC	NC
10^{-2}	NC	NC	NC	NC
10^{-3}	NC	NC	NC	NC
10^{-4}	NC	NC	NC	NC
10^{-5}	840	810	830	826,67
10^{-6}	104	103	101	102,67
10^{-7}	13	10	14	12,33

Tabla 12. Conteo de colonias en las siembras de las diluciones seriadas.

Como en cada caja de Petri se siembra 0.1 ml de las diluciones entonces se agrega un factor de 10^{-1} por tanto el número de UFC promedio de la dilución 10^{-5} según la ecuación (7) puede verse como:

$$826.67 \text{ UFC} * 10^5 * 10 \text{ ml}^{-1} = 8.26 * 10^8 \text{ UFC/ml}$$

Como la concentración es muy elevada y en cada dilución la concentración es aproximadamente igual entonces se procedió a reducirla a 10^6 aproximadamente usando un método de proporción de la siguiente manera para realizar la preparación en un volumen de 25 ml de caldo nutritivo:

$$V_1 * C_1 = V_2 * C_2$$

Despejando:

$$V_1 = \frac{25 \text{ ml} * 10^6}{8.26 * 10^8}$$

Sin embargo, como al momento de realizar la siembra se deben sembrar 0.1 ml de la nueva dilución entonces se agrega un factor de 10 de la siguiente manera:

$$V_1 = \frac{25 \text{ ml} * 10^6 * 10}{8.26 * 10^8}$$

$$V_1 = 0.3 \text{ ml}$$

Ahora

$$25 \text{ ml} - 0.3 \text{ ml} = 24.7 \text{ ml}$$

Por tanto, para preparar 25 ml de la nueva dilución a una concentración de 10^6 UFC/ml se deben extraer 0.3 ml de la dilución 10^{-5} en este caso a una preparación de 24.7 ml de caldo nutritivo.