



**Implementación de un sistema de radiación ultravioleta como  
germicida en instrumentos de cocina, para la inactivación de  
las bacterias E-coli y Staphylococcus Aureus.**

**Santiago Osorio Giraldo**

**1112785733**

**Ingeniería Física**

**M. Sc. Iván Darío Arellano Ramírez**

**Director de trabajo de grado**

**Docente Departamento de Física**

**03-06-2018**

**Pereira**

Tabla de contenido

Resumen..... 2

Introducción ..... 3

Planteamiento de la pregunta de investigación o problema de investigación. .... 6

    Justificación en términos de necesidades y pertinencia: ..... 7

Objetivo general..... 8

Objetivos específicos ..... 8

Marco Teórico..... 8

    1. Electromagnetismo ..... 9

        1.1. radiaciones ionizantes y no ionizantes ..... 9

            1.1.1. Radiación ionizante..... 9

            1.1.2. Radiación no ionizante..... 10

                1.1.2.1. Radiación ultravioleta (RUV) ..... 10

                1.1.2.1.2 Radiación o Luz UV-C ..... 11

    2. Biología..... 12

        2.1. Microbiología..... 12

            2.1.1. Microorganismos ..... 12

                2.1.1.1. La célula..... 12

                2.1.1.2. Células procariotas ..... 13

                2.1.1.3. Bacterias ..... 14

                    2.1.1.3.1. Bacteria Staphilococcus Aureus. .... 15

                    2.1.1.3.2. Bacteria Echerichia Coli (E-Coli)..... 15

    3. Lámparas para desinfección con radiación UV-C ..... 15

        3.1. Lámparas de mercurio..... 16

            3.1.1 Lámparas de mercurio a baja presión..... 17

Metodología ..... 17

Preparación de las muestras.....	17
Tratamientos de radiación UV-C.....	18
Construcción de la cámara de radiación germicida.....	19
Análisis de resultados .....	21
Calibración de la lámpara de luz UV-C.....	21
Pruebas microbiológicas.....	22
Cámara de radiación germicida.....	26
Conclusiones.....	28
Referencias:.....	28
Anexos .....	31
Informe de calibracion.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Código implementado en Arduino UNO .....	35
Simulación del circuito implementado Aduino UNO.....	36
Protocolo de bacterias en solidos.....	37

## Resumen

Los seres humanos se han preocupado en las últimas décadas por controlar las poblaciones bacterianas debido a que estos microorganismos ponen en riesgo su salud, la construcción de una cámara de radiación germicida usando luz ultravioleta es una solución viable para el control de bacterias ya que este tipo de radiación tiene la capacidad de inactivar microorganismos. La radiación ultravioleta se ha utilizado desde 1910 como método para la inactivación de microorganismos en el agua [1]. Subsiguientemente se ha usado la radiación germicida UV-C en productos alimenticios y en la mejora de la calidad del aire, la cual fue aprobada por la FDA<sup>1</sup>, debido a que no deja residuos y no requiere equipos de seguridad extensivos [2] [3]. En el año 2014 se diseñó y construyó una cámara de radiación germicida buscando inhibir el crecimiento de diferentes microorganismos, teniendo como resultado el reducimiento del 95% de las

---

<sup>1</sup> Food and Drug Administration

bacterias [4]. Inactivar cepas bacterianas, en utensilios de cocina, usando radiación UV-C puede ser una necesidad latente, ya que existen lugares donde no se cuenta con agua potable y condiciones ideales de salubridad. La radiación UV-C abarca longitudes de onda que consigue inactivar microorganismos, debido a que se absorbe en un nivel que logra generar cambios en el ADN, bloqueando el proceso de crecimiento y reproducción de las bacterias [5] [6]. Las lámparas fluorescentes, las más comunes fuentes de luz UV-C, son lámparas que funcionan con mercurio a baja y mediana presión, logrando una radiación con una longitud de onda de 254,7 nm; longitud de onda ideal para lograr una radiación germicida [1]. En el diseño, construcción e implementación de la cámara de radiación germicida de bajo costo, usando UV-C, se utilizaron materiales que lograron aumentar la eficiencia de la luz al interior de la cámara. Además se calcularon la dosis a las que fueron sometidos los instrumentos de cocina. Las dosis de radiación se variaron cambiando el tiempo de exposición y las intensidades. Se encontró que las dosis más convenientes para la inactivación durante seis horas de las cepas de E-coli y Staphylococcus Aureus, en utensilios de cocina, fueron de (34.44, 311.8, 603.6)  $J/cm^2$ . De acuerdo a los resultados encontrados el encendido de la cámara se configuro de modo que al encenderla y apagarla la lámpara quede encendida por veinte segundos logrando dosis de (34.44, 311.8, 603.6)  $J/cm^2$  en el interior de la cámara, también fue programada para que se puedan obtener mayores dosis de radiación variando el tiempo de encendido de esta.

### **Introducción**

La presente investigación se refiere al tema de la desinfección en instrumentos de cocina usando el método físico de radiación ultravioleta. Este método es una solución alternativa para la inactivación de microorganismos en superficies, solo funciona correctamente cuando se utilizan dosis de radiación adecuadas con longitudes de onda específicas. Las longitudes de onda del espectro ultravioleta emitidas entre (200-290) nm se consideran radiación UV-C o radiación germicida, la ideal para lograr una desinfección eficiente [5]. El método de desinfección por radiación germicida no deja

residuos y no requiere equipos de seguridad extensivos [2]. En la actualidad el uso de este método es usado en desinfección de agua, aire y superficies, algunas investigaciones concluyen que una dosis de radiación de  $48\text{kJ}/\text{cm}^2$  es suficiente para inactivar agentes patógenos en superficies metálicas o de acero inoxidable [1], [7]. El uso de la radiación UV-C se ha implementado desde 1910 como método de desinfección de microorganismos en el agua [1]. Además se han generado diversas investigaciones sobre la radiación UV-C y sus propiedades para inactivar cepas bacterianas, ayudando a ejercer control sobre diferentes poblaciones microbianas.

En la actualidad en todo el mundo se ejerce riguroso control sobre las poblaciones microbianas, debido a que estas pueden poner en riesgo la salud y supervivencia de los seres humanos. Cada año 600 millones de personas se enferman en el mundo por causa de agentes patógenos en los alimentos [8]. Los principales casos documentados han sido asociados con patógenos alimentarios como E-coli, Staphilococcus Aurus, Salmonella y Listeria. Las Bacterias de E-coli y Staphilococcus Aurus son potencialmente peligrosas para el deterioro de la salud humana; se pueden encontrar en agua no tratada, cerámicas, superficies metálicas, verduras y carne mal cocida. Existen escenarios ideales para el crecimiento y reproducción de estos agentes patógenos debido a que hay lugares donde no se cuenta con agua potable y los alimentos re-infectan fácilmente otras superficies (instrumentos de cocina). Aunque en el mercado existen diferentes detergentes estos son parcialmente efectivos en la eliminación de bacterias, cada desinfectante varía ampliamente en su nivel de eficacia [9].

Inactivar cepas bacterianas, en utensilios de cocina, usando radiación UV-C puede ser una necesidad latente para algunas zonas del territorio nacional. En Colombia existen lugares donde no se cuenta con agua potable y 16 departamentos están clasificados, en nivel de alto riesgo, de utilizar agua contaminada en sus zonas rurales; estos escenarios son ideales para el crecimiento de microorganismos debido a que los alimentos pueden ser re-infectados fácilmente y existen escasas condiciones de salubridad [10]. Todas estas condiciones generan agentes patógenos que pueden causar fiebre tifoidea, hepatitis

A, cólera, diarreas agudas, vómito y dolor abdominal, especialmente en niños menores de cinco años [5], [7]. Todas estas enfermedades pueden ser causadas por diferentes microorganismos, en esta investigación se busca inactivar principalmente las bacterias de E-coli y Staphylococcus Aureus. Además se espera que los resultados obtenidos en esta investigación puedan ser utilizados como punto de partida para el desarrollo de cámaras de radiación germicida de bajo costo, las cuales puedan ser utilizadas en lugares donde no se cuente con agua potable y condiciones ideales de salubridad.

Los objetivos que se buscaron cumplir en este trabajo fue el Diseño, construcción e implementación de una cámara de radiación germicida de bajo costo, usando radiación UV-C, para la inactivación de las bacterias E-coli y Staphylococcus Aureus en utensilios de cocina. Para el cumplimiento de este objetivo fue necesario seleccionar las dosis de radiación UV-C que lograron la inactivación de los microorganismos de E-coli y Staphylococcus Aureus en los utensilios de cocina, analizar y comparar las dosis que inactivaron cepas bacterianas de E-coli y Staphylococcus Aureus. Al cumplir estos objetivos se buscó Establecer un diseño que garantice una dosis de radiación UV-C, en el interior de la cámara, para la inactivación de los microorganismos E-coli y Staphylococcus Aureus y por último se Construyó una cámara de radiación germicida usando materiales de bajo costo que logren optimizar la eficiencia dentro de esta.

Para el cumplimiento de los objetivos en esta investigación se utilizaron muestras de instrumentos de cocina (cubiertos de aluminio y platos cerámicos) cortados con un área aproximada de  $0.25 \text{ cm}^2$ . Estas muestras se esterilizaron con una temperatura de  $121 \text{ }^\circ\text{C}$  durante dos horas, usando un autoclave de marca HALTHEN. Posteriormente se les inocularon cepas de E-coli y Staphylococcus Aureus, usando una concentración inicial de  $1\text{E}6 \text{ CFU/ml}$ . Se hicieron tres irradiaciones a diferente distancia de la lámpara, cada irradiación tuvo tres tiempos diferentes para ambas bacterias. Las dosis de radiación se calcularon usando la ecuación  $D= (I)*(T)^2$ , las radiaciones se hicieron utilizando una

---

<sup>2</sup>  $D=I*T$  ; T= tiempo (s), I= intensidad ( $\text{w/cm}^2$ ) , D=dosis ( $\text{J/cm}^2$ )

lámpara Sylvania ULTRAVIOLET G30W. Posteriormente estas muestras se pusieron en tubos estériles con solución salina (NaCl:KCl) y se mezclaron durante tres minutos, se tomaron 100 µl de esta solución se agregaron a las cajas de Petri, las cuales contenían agar de placa, para ser inoculadas en una incubadora marca RedLINE modelo r115 a una temperatura de 30°C durante 24 horas. Por último se hizo el conteo de las colonias en las cajas de Petri. Estos procedimientos permitieron seleccionar, analizar y comparar las dosis más convenientes para el diseño de la cámara de radiación germicida de bajo costo.

Para garantizar una dosis de radiación igual o parecida a la iluminada en las cajas de Petri se calculó el área aproximada que será radiada dentro de la cámara, esto ayudo a tener un diseño adecuado del equipo [11]. En la construcción de la cámara de radiación UV-C se utilizó una lámpara Philips 8WG8T5, para garantizar la mismas dosis de radiación seleccionadas se aumentó el tiempo de radiación. La cámara se construyó usando acrílico, ya que es un material económico que tiene la propiedad de bloquear la radiación UV-C, siendo muy seguro para la manipulación humana [12].

### **Planteamiento de la pregunta de investigación o problema de investigación.**

El ser humano se ha preocupado en las últimas décadas por ejercer un riguroso control sobre las poblaciones microbianas, debido a que estas pueden poner en riesgo su salud y supervivencia. Esto ha generado la necesidad de encontrar métodos químicos y físicos los cuales ayuden a reducir cepas bacterianas, estos métodos pueden llegar a ser en algunas ocasiones costosos o complejos de realizar. Algunas cepas de poblaciones bacterianas logran sobrevivir o reactivarse debido a que el producto y el medio en el que se albergan tienen las condiciones necesarias para su reproducción. Uno de los métodos físicos utilizados para el control de microorganismos es la radiación UV-C, la cual detiene el proceso metabólico, esencial para la supervivencia de microorganismos. Por esta razón se genera la siguiente pregunta de investigación:

¿Se puede controlar el crecimiento de cepas bacterianas de E-coli y Staphylococcus Aureus en utensilios de cocina, utilizando una cámara de radiación UV-C de bajo costo?

**Justificación en términos de necesidades y pertinencia:**

Las bacterias de E-coli y Staphylococcus Aureus son potencialmente peligrosas para el deterioro de la salud en seres humanos. Las cepas de Staphylococcus Aureus se pueden encontrar en agua no tratada, carne cruda, superficies metálicas, cerámicas o de vidrio. Las poblaciones de E-coli se pueden encontrar en agua contaminada, verduras crudas o carne mal cocida. Cuando estos microorganismos ingresan al sistema digestivo humano causan diarrea, dolor abdominal, vomito. La cepa E-coli O157: H7 puede llegar a desarrollar insuficiencia renal (síndrome urémico hemolítico-SUH) en niños y adultos mayores. Por este motivo las industrias alimentarias y el protocolo PRO-R02.0013 de vigilancia en salud pública del instituto nacional de salud de Colombia ejercen riguroso control sobre estos microorganismos.

En el país se tiene un inexorable control sobre microorganismos en los alimentos. No obstante existen escenarios ideales para el crecimiento de microorganismos debido a que no se cuenta con agua potable, los alimentos son re-infectados fácilmente y existen escasas condiciones de salubridad. Estos escenarios generan excelentes circunstancias para la activación de cepas bacterianas en los utensilios de cocina.

La presente investigación busca desarrollar un prototipo de bajo costo el cual logre controlar el crecimiento de poblaciones bacterianas en utensilios de cocina usando radiación UV-C. De tal modo que los resultados puedan ser utilizados como punto de partida para el desarrollo de cámaras de radiación germicida de bajo costo, las cuales se puedan utilizar en lugares donde no se cuente con agua potable y condiciones ideales de salubridad.

### **Objetivo general**

- Diseñar, construir e implementar una cámara de radiación germicida de bajo costo, usando radiación UV-C, para la inactivación de las bacterias E-coli y Staphylococcus Aureus en utensilios de cocina.

### **Objetivos específicos**

- Seleccionar las dosis de radiación UV-C que logren la inactivación de los microorganismos E-coli y Staphylococcus Aureus, en utensilios de cocina, durante un tiempo de seis horas.
- Analizar y comparar las dosis que inactivaron cepas bacterianas de E-coli y Staphylococcus Aureus para seleccionar la radiación más eficiente y conveniente para ser usada en una cámara de radiación germicida de bajo costo.
- Establecer un diseño que garantice una dosis de radiación UV-C, en el interior de la cámara, para la inactivación de los microorganismos E-coli y Staphylococcus Aureus.
- Construir una cámara de radiación germicida usando materiales de bajo costo que logren optimizar la eficiencia dentro de esta.

### **Marco Teórico**

La radiación ultravioleta, en su forma más natural proviene del sol. Esta radiación se puede dividir principalmente en tres regiones del espectro electromagnético, luz UV-A en un rango de (315-400) nm, UV-B entre (290-315) nm y finalmente la UV-C en el rango de (200-290) nm; su caracterización depende de la longitud de onda [13]. La luz UV-C posee propiedades germicidas por lo que se han desarrollado fuentes de luz ultravioleta artificiales [1]. Estas fuentes de radiación son fabricadas usando lámparas de mercurio a baja presión, las cuales emiten luz en el espectro de la radiación UV-C [6]. En la implementación de un sistema de radiación germicida es importante conocer los siguientes temas:

1. Electromagnetismo

2. Biología
3. Lámparas para desinfección con radiación UV-C

## 1. Electromagnetismo

Es el estudio y la unificación de las teorías eléctricas y magnéticas. El fenómeno de las cargas en aceleración son los encargados de producir ondas electromagnéticas y radiación, se clasifican según su frecuencia y longitud de onda [14]. Esta clasificación se conoce como el espectro electromagnético. El espectro electromagnético se puede dividir en radiaciones ionizantes y no ionizantes [5]. La luz ultravioleta corresponde a las radiaciones no ionizantes, debido a que no posee la energía suficiente para producir ionización [15].

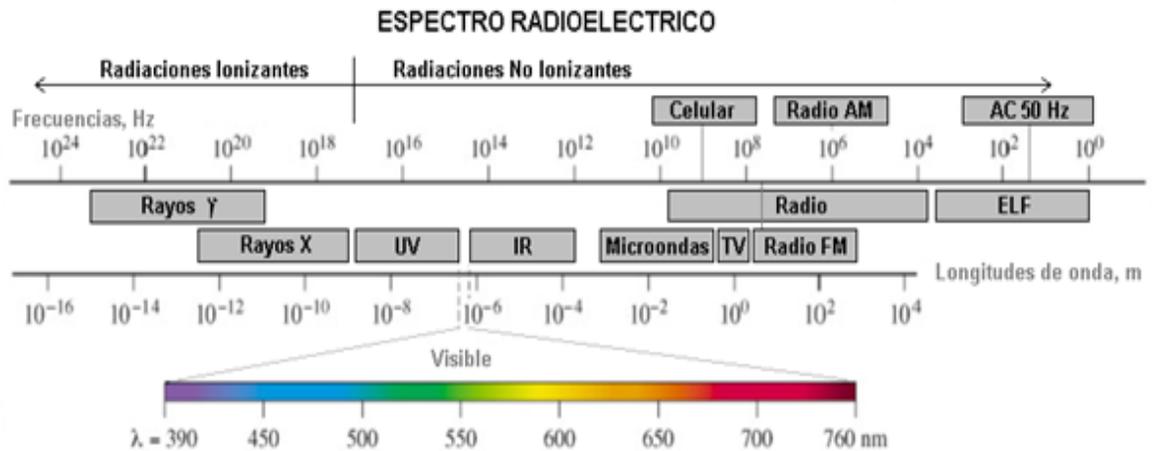


Figura 1. Clasificación del espectro electromagnético [15].

### 1.1. radiaciones ionizantes y no ionizantes

#### 1.1.1. Radiación ionizante

Este tipo de radiación se produce cuando se logra emitir electrones orbitales de átomos neutros, dejando iones de carga positiva; los electrones expulsados pueden seguir produciendo ionización al interactuar

con otros átomos neutros [16]. Esta radiación está compuesta por ondas electromagnéticas con longitudes de onda entre 10 nm y 10 pm, rayos x y rayos gamma [14]. Los rayos x se producen principalmente por el frenado de electrones de alta energía que impactan un objetivo metálico mientras que la los rayos gamma son emitidos por núcleos radioactivos [14]. Estos dos tipos de ondas electromagnéticas son muy penetrantes y producen serios daños en los tejidos vivos, principalmente los rayos gamma [15].

### **1.1.2. Radiación no ionizante**

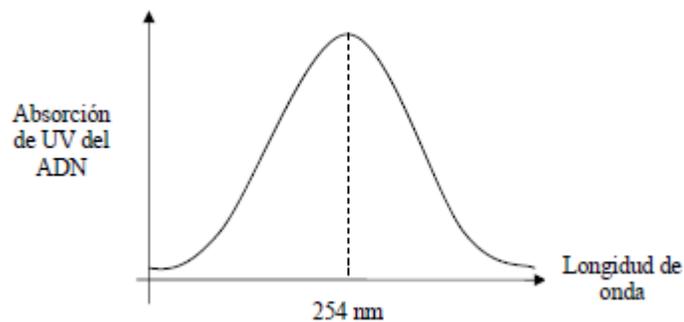
Esta radiación no produce ionización, no posee la suficiente energía para arrancar el electrón del átomo [15]. La radiación no ionizante está compuesta por diferentes tipos de ondas electromagnéticas, abarcando longitudes de onda de 10 km hasta 200 nm [14]. Dentro de la clasificación de radiación no ionizante se encuentran las onda de radio, microondas, infrarrojo, luz visible y luz ultravioleta. Estas ondas poseen diferentes propiedades las cuales se utilizan diferentes áreas del conocimiento. En este trabajo se utilizan específicamente las propiedades germicidas de la radiación ultravioleta.

#### **1.1.2.1. Radiación ultravioleta (RUV)**

La luz ultravioleta es principalmente emitida por la luz del sol [14] . La radiación ultravioleta es más energética que la luz visible, posee longitudes de onda más corta y fotones con mayor energía [17] . Las ondas electromagnéticas correspondientes a la luz ultravioleta tienen longitudes de onda entre (380-200) nm [14]. El espectro ultravioleta se puede clasificar en radiación UV-A, UV-B Y UV-C, estos dependen de su longitud de onda. Estas formas de radiación poseen diversas propiedades, en el presente trabajo se aprovechan las propiedades de la luz UV-C.

### 1.1.2.1.2 Radiación o Luz UV-C

La radiación UV-C también se le conoce como radiación germicida debido a sus propiedades para inactivar diferentes tipos de microorganismos en superficies [7]. Las ondas electromagnéticas de la luz UV-C abarcan longitudes de onda entre (200-290) nm, siendo 254 nm la longitud de onda adecuada para una radiación germicida eficaz [17][18]. Estas longitudes de onda se absorben a un nivel que logran generar cambios en el ADN, bloqueando el proceso de crecimiento y reproducción de diferentes microorganismos (bacteria, virus, esporas y levaduras) [1][18]. Todos estos microorganismos tienen una mayor absorción de luz ultravioleta cuando se tiene una longitud de onda de 254 nm [19].



**Figura 2. Absorción máxima de la radiación UV-C en el ADN de los microorganismos [19].**

La radiación UV-C se ha utilizado para desinfección del agua, del aire y de superficies, la eficacia de este método puede variar dependiendo el tiempo de exposición, la potencia de la fuente de radiación, el material que se vaya desinfectar y el tipo de microorganismo que se quiera inactivar [1]. La dosis de radiación se puede calcular conociendo la

potencia de la fuente de luz UV-C, el área de contacto y el tiempo estimado de irradiación,  $D = (I) \cdot (T)^3$  [11].

## **2. Biología**

La biología se conoce como una rama de las ciencias naturales que se encarga de estudiar los seres vivos, busca explicar los fenómenos de la vida, la aparición de especies y las leyes que rigen las diferentes formas de vida [20][21]. Esta ciencia hace especial seguimiento a las células, las moléculas, los tejidos y los ecosistemas. Todo esto genera que la biología tenga diferentes áreas de estudio como la botánica, la ecología, la microbiología, la genética, la fisiología y la zoología [21]. En el presente trabajo se utilizarán aspectos básicos de microbiología, para el estudio de microorganismos (bacterias) y su respuesta a la radiación ultravioleta.

### **2.1. Microbiología**

Esta área de la biología se encarga de estudiar y analizar los microorganismos, células eucariotas y procariotas [21]. La microbiología se ha dedicado principalmente a estudiar las células procariotas (bacterias, virus y esporas).

#### **2.1.1. Microorganismos**

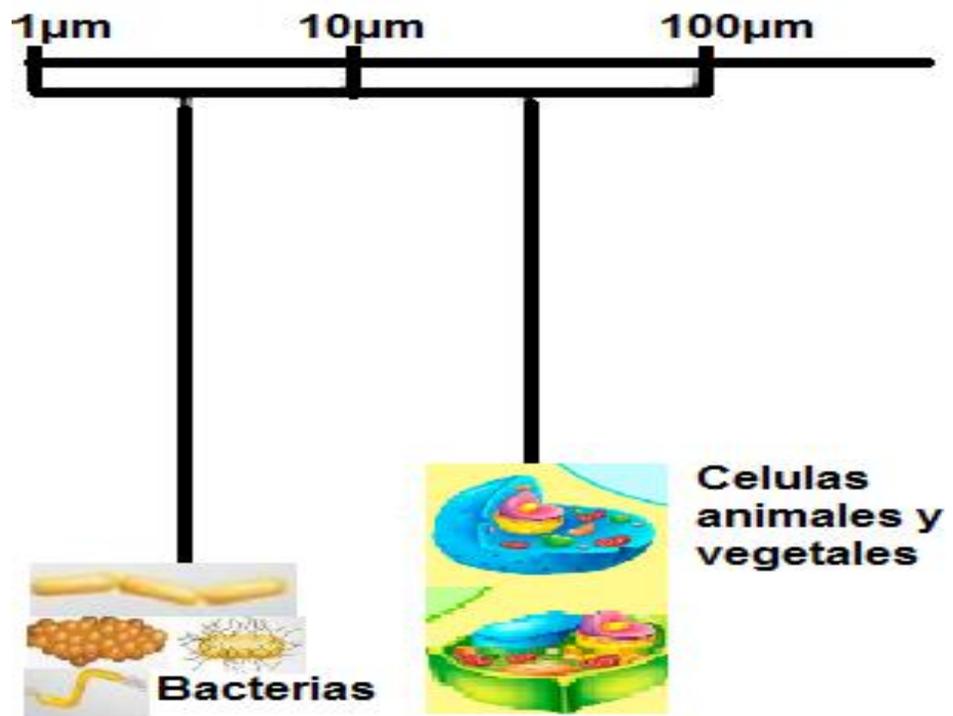
Es un ser vivo o un sistema biológico que no es visible para el ojo humano [22]. Los microorganismos varían su tamaño en un rango de (0.02-25)  $\mu\text{m}$ , se clasifican en virus, bacterias, hongos, y parásitos, todos estos patógenos tienen diferente composición celular y forma de replicación [23]. Las bacterias están compuestas por células procariotas mientras que los hongos y parásitos por células eucariotas, estos dos tipos de células tienen diferencias estructurales y de reproducción [24].

##### **2.1.1.1. La célula**

---

<sup>3</sup>  $D = I \cdot T$ ; T= tiempo (s), I= intensidad ( $\text{w}/\text{cm}^2$ ), D=dosis ( $\text{J}/\text{cm}^2$ )

La mayor parte de las células son microscópicas, se dividen en dos grandes grupos, eucariotas y procariotas. Las células eucariotas tienen diámetros entre 10  $\mu\text{m}$  y 100  $\mu\text{m}$  y en su gran mayoría conforman las células animales y vegetales mientras que las células procariotas tienen diámetros menores a 10  $\mu\text{m}$  y solo conforman agentes bacterianos [24]. La principal parte de estos microorganismos es el citoplasma, lugar donde se almacena el ADN [24].



**Figura 3. Diferencias en los diámetros de células eucariotas y procariotas [24].**

#### **2.1.1.2. Células procariotas**

Este tipo de células no posee membrana celular, carecen de un núcleo definido, poseen una pared celular que las protege del exterior y tienen una sola molécula de ADN [24]. Estas células se pueden clasificar en

aerobias, necesitan oxígeno para sobrevivir, y anaerobias, no necesitan oxígeno para vivir [23]. Las células procariotas solo se encuentran presentes en las bacterias.

### 2.1.1.3. Bacterias

Estos agentes patógenos tienen un diámetro aproximado de 1  $\mu\text{m}$  y 5  $\mu\text{m}$ , poseen sistemas de desplazamiento y su mecanismo de replicación es por fisión binaria [23]. La fisión binaria es una forma de reproducción asexual que consiste en la duplicación de ADN, dividiéndose el citoplasma, formando dos nuevas células [24]. Se pueden clasificar por su forma celular o morfológica, presentan diferentes formas, la bacteria de *Echerichia Coli* presenta morfología en forma de bacilos mientras que *Staphilococcus Aureus* presentan forma esférica [23].

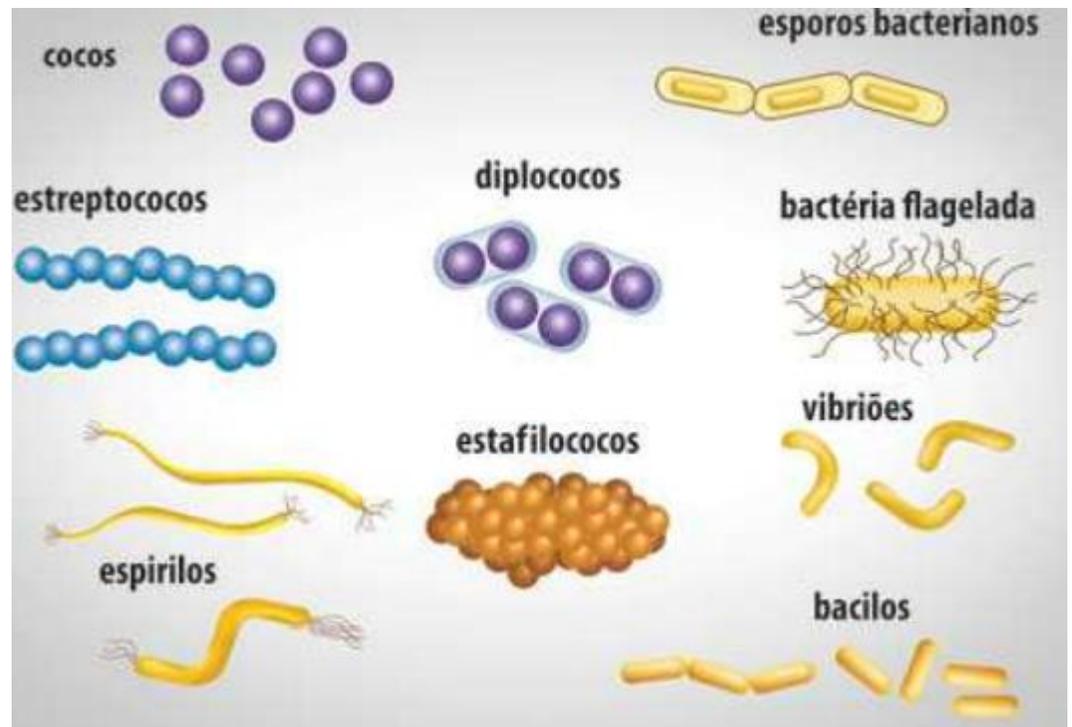


Figura 4. Morfología Bacteriana [23].

#### **2.1.1.3.1. Bacteria Staphilococcus Aureus.**

Esta bacteria se puede encontrar en la piel, fosas nasales de las personas, superficies metálicas, cerámicas y agua no tratada; causa diferentes enfermedades, como neumonía, meningitis, endocarditis [25]. Esta bacteria puede tener un diámetro entre 0.8  $\mu\text{m}$  y 1  $\mu\text{m}$ , puede sobrevivir con oxígeno o sin él, posee colonias lisas y brillantes, posee un color amarillo o blanco porcelana por lo que se le llama Aureus, su reproducción ocurre en un rango de (6,5-50)  $^{\circ}\text{C}$  [26]. La Staphilococcus Aureus ha sido inactivada con diferentes dosis de radiación ultravioleta, encontrada que la dosis de 7.2  $\text{J}/\text{cm}^2$  es la más eficaz [3].

#### **2.1.1.3.2. Bacteria Echerichia Coli (E-Coli)**

Este microorganismo posee una morfología en forma de bacilos (casi rectangular) pueden tener un ancho de 0.5  $\mu\text{m}$  y un largo de 3  $\mu\text{m}$ , se reproducen con temperatura entre (7-32)  $^{\circ}\text{C}$  y se desplaza fácilmente; actualmente se conocen 5 grupos de esta bacteria, enterotoxigenico, enteropatogeno, enteroinvasivo, enterogragativo y enterohemrragico, estos 5 grupos generan diferentes enfermedades [27]. La E-Coli puede producir fiebre, diarrea, dolor abdominal, vómito e insuficiencia renal. Esta bacteria se puede encontrar en la leche, agua contaminada, carne cruda y verduras mal cocidas. Diferentes investigaciones han logrado reducir e inactivar esta bacteria utilizando radiación UV-C [1].

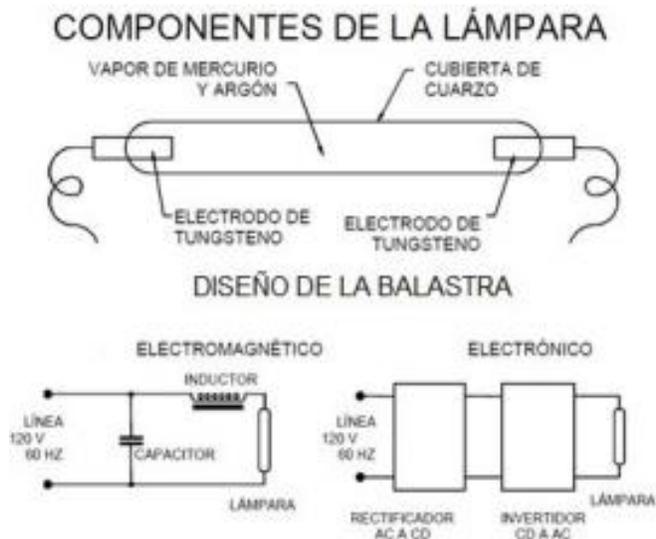
### **3. Lámparas para desinfección con radiación UV-C**

En la actualidad se han buscado nuevos métodos y tecnología de desinfección que sean más eficaces y menos destructivas que los procesos químicos convencionales, dentro de estos nuevos métodos se encuentran los equipos para desinfección con

radiación UV-C. Los equipos que logran emitir luz ultravioleta artificial son las lámparas de mercurio de mediana y baja presión, lámparas fluorescentes e incandescentes; sin embargo, se han desarrollado lámparas UV de microondas, las cuales son más eficientes [1].

### **3.1. Lámparas de mercurio**

Estas lámparas son las más comunes fuentes de luz UV-C. Las lámparas de mercurio está compuesta dos electrodos en sus extremos y un tubo herméticamente cerrado de materiales como el cuarzo o la silica Vitreosa, ambos transmisores de luz ultravioleta [28]. Usualmente el tubo hermético es llenado con argón, este ayuda al arranque de la lámpara, extiende la vida de los electrodos y evita perdidas térmicas; los electrodos que se ubican en los extremos son fabricados con tungsteno y una mezcla de alcalinotérreos, esto facilita la formación del arco dentro de la lámpara; cuando el vapor de mercurio es excitado por una descarga eléctrica retorna a un nivel de menor energía, produciendo radiación UV-C [1] . Estas lámparas de mercurio pueden funcionar a mediana y baja presión [29]. Las lámparas de mercurio a mediana presión no son eficientes como método de desinfección, debido a que alcanzan temperaturas muy altas y su radiación no logra ser completamente absorbida por los microorganismos [1].



**Figura 5. Componentes de una lámpara de mercurio [1]**

### 3.1.1 Lámparas de mercurio a baja presión

Estas lámparas funcionan con una temperatura de 40 °C y un rango de presión que varía entre  $(10^2 - 10^3)$  Pa; sus líneas espectrales son bien definidas y el 85% de luz emitida es radiación ultravioleta con una longitud de onda de 253.7 nm, la más eficiente para destruir microorganismos [1].

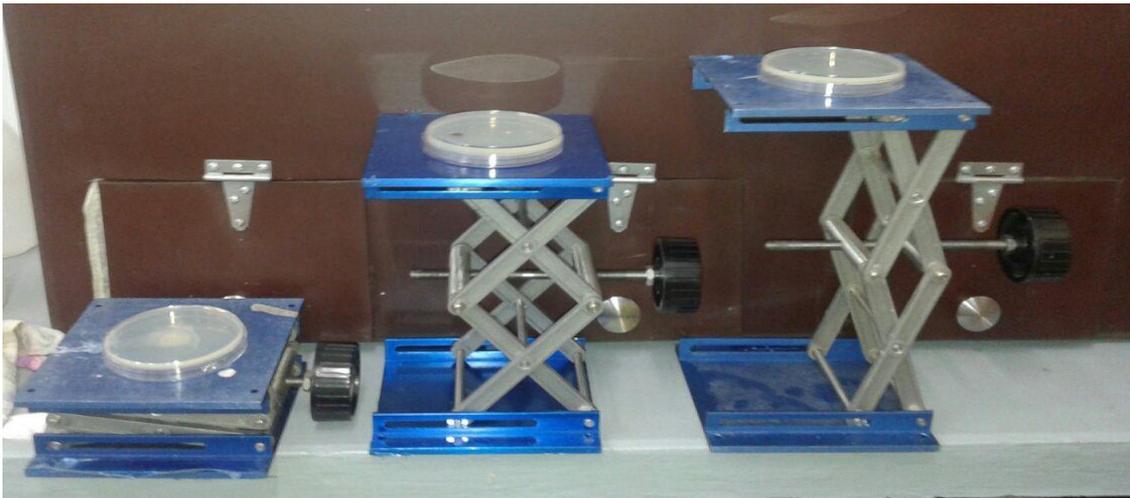
### Metodología

#### Preparación de las muestras.

Se utilizaron muestras de instrumentos de cocina, cubiertos de aluminio y platos cerámicos, cortados con un área aproximada de  $0.25 \text{ cm}^2$  y se esterilizaron en un autoclave marca HALTHEN a 121 °C durante dos horas. Posteriormente se les inocularon cepas bacterianas sensibles de E-coli y Staphylococcus Aureus ambas con una concentración inicial de  $1E6 \text{ CFU/ml}$ , las cepas fueron entregadas por la facultad de ciencias de la salud de la Universidad Tecnológica de Pereira y estandarizadas con un espectrofotómetro a una longitud de onda de 600 nm.

### Tratamientos de radiación UV-C.

Para la irradiación de las muestras se utilizó una lámpara SYLVANIA ULTRAVIOLET G30W de una potencia de 30 W y una longitud de onda de 253.7 nm, se midió la intensidad de la lámpara a tres distancias diferentes, (10, 15, 30) cm (ver figura 6), usando un medidor de densidad de potencia NBM-520 con una sonda de un rango entre (100KHz- 3GHz). La intensidad varía para cada distancia, para diez centímetros de distancia la intensidad fue de  $30.18 \pm 0.8711 \text{ w/cm}^2$ , en quince centímetros se encontró una intensidad de  $15.59 \pm 0.1666 \text{ w/cm}^2$  a treinta centímetros se obtuvo una intensidad de  $1.722 \pm 0.1120 \text{ w/cm}^2$ . La dosificación aplicada se calculó usando la ecuación  $D = (I) (t)^4$  [11]. Las muestras fueron irradiadas a tres distancias diferentes durante un tiempo de 20 segundos cada una.



**Figura 6. Distancias de radiación con (30, 15,10) cm, tomando como punto de referencia la lámpara.**

Las muestras sometidas a la radiación UV-C fueron trasladadas a un tubo de Eppendorf de 2 ml el cual contenía 1 ml de solución salina (NaCl: KCl) a una concentración del 0.9 %, el tubo de Eppendorf y la solución salina fueron esterilizado en un autoclave durante

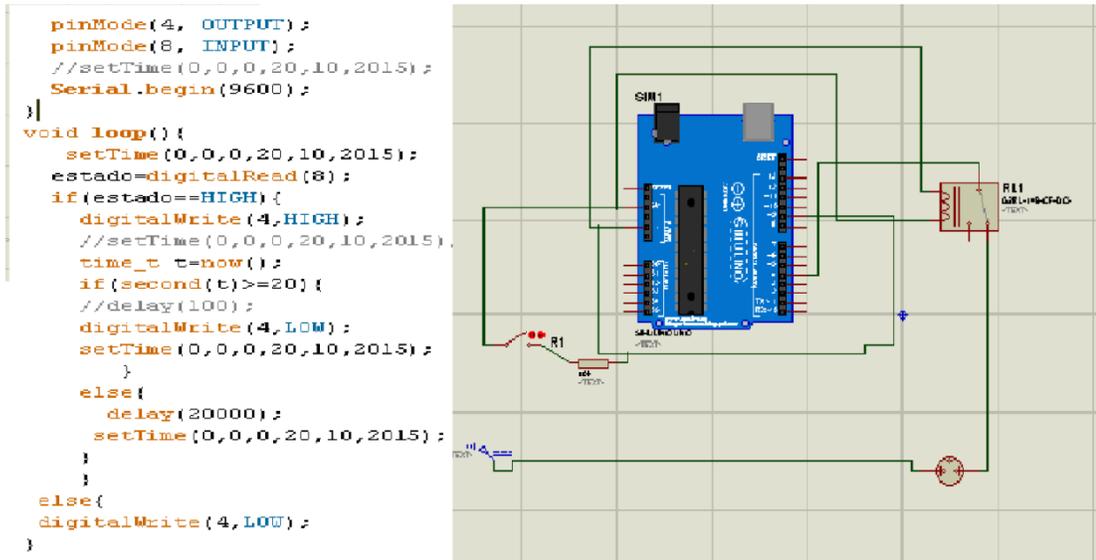
---

<sup>4</sup>  $D = I * T$ ; T= tiempo (s), I= intensidad ( $\text{w/cm}^2$ ), D=dosis ( $\text{J/cm}^2$ )

quince minutos. Esta mezcla se sometió a vórtice durante tres minutos para finalmente hacer disoluciones en serie. Seguidamente se pipetio 100  $\mu$ l a una placa de Petri preparada anteriormente con agar nutriente marca Plate Count Agar, esta solución se extendió en la placa de Petri usando perlas de ebullicion. Las cajas de Petri se introdujeron en una incubadora marca redLINE modelo r1115 durante 24 horas a una temperatura de 37 °C y Finalmente se hizo el conteo de las colonias.

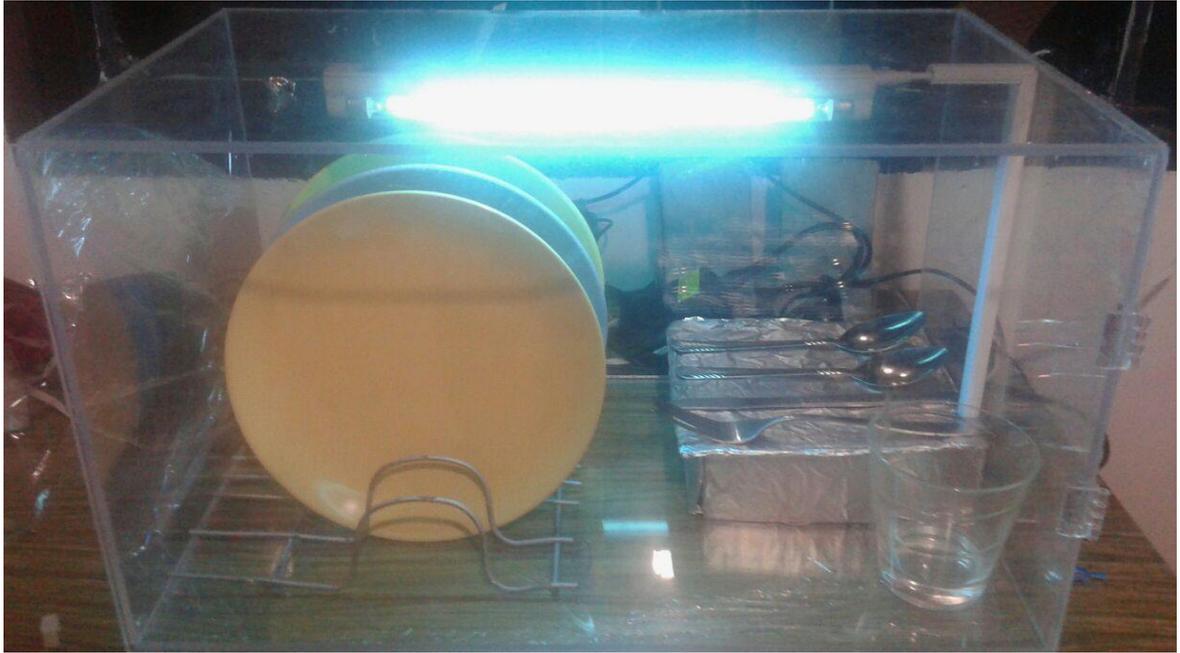
### **Construcción de la cámara de radiación germicida.**

Para la construcción de la cámara de radiación germicida se buscó ubicar la fuente de radiación en un lugar estratégico para obtener mayor aprovechamiento de la luz. La cámara fue construida con una lámpara Philips TUV 8W G8T5 equipada con una potencia de 8W, potencia de radiación UV-C de 2.4 W y una longitud de onda 253.7 nm. La cámara de radiación se diseñó de modo que dentro de esta se tenga una radiación igual o parecida a las dosis que inactivaron las cepas bacterianas, por lo que la lámpara está ubicada en el centro de la parte de encima de la cámara. Este dispositivo fue construido con un ancho de 50 cm, un fondo de 30 cm y un alto de 30 cm (ver figura 7); distancias en las que la radiación logró inactivar las cepas bacterianas. La cámara de radiación se construyó usando acrílico ya que es un material económico y que logra bloquear la radiación UV-C [12].



**Figura 7. Código y circuito implementado en la cámara de radiación germicida.**

Para la programación de encendido y apagado del equipo se utilizó el software libre de Arduino uno y un relay (ver figura 7), se programó con dos funciones; para que solo dure encendida 20 segundos y para dejarla encendida el tiempo que el usuario desee, ya que existen microorganismos que pueden ser más resistentes a la radiación UVC y por lo tanto se necesite de mayor tiempo para inactivarlos.

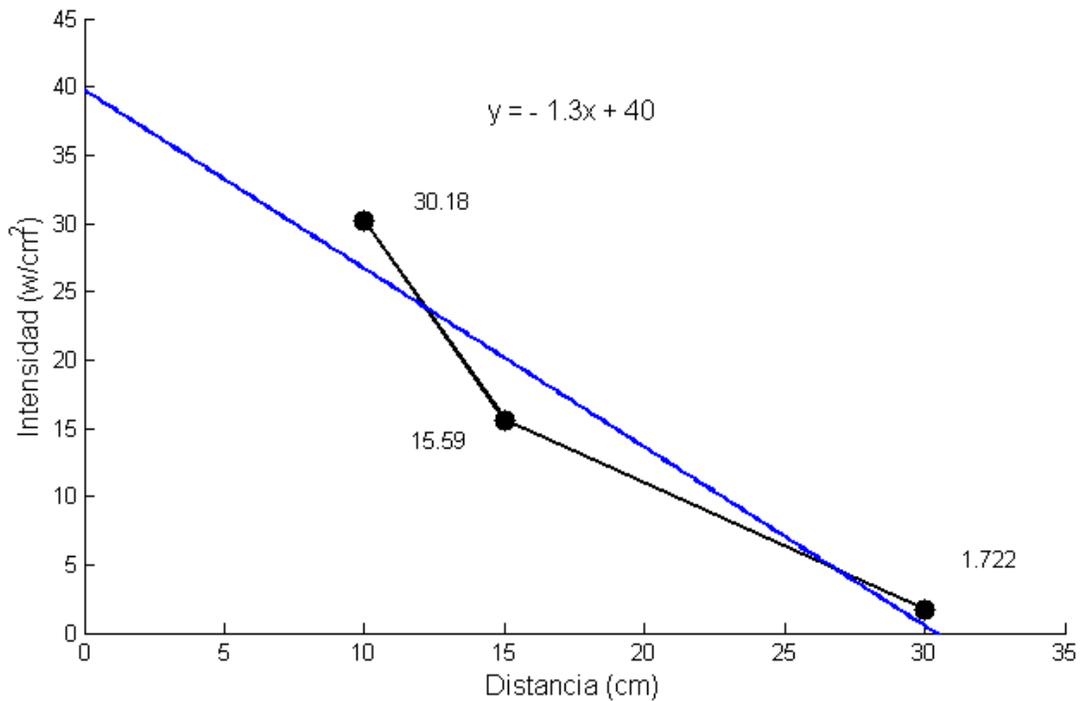


**Figura 8. Cámara de radiación germicida inactivando cepas bacterianas de E-coli y Staphylococcus Aureus.**

### **Análisis de resultados**

#### **Calibración de la lámpara de luz UV-C.**

De acuerdo con los resultados obtenidos en la medición de intensidad de la lámpara SYLVANIA ULTRAVIOLET G30W de una potencia de 30 W y una longitud de onda de 253.7 nm, se encontró que la intensidades de la lámpara variaban ampliamente según la distancia (ver gráfico 1). Esto permito tener tres dosis de radiación ultravioleta usando un tiempo estándar de 20 segundos, teniendo en cuenta que con una intensidad mayor se puede lograr un dosis más eficaz y efectiva al igual que un tiempo mayor. El aumento de la intensidad de la lámpara puede aumentar únicamente disminuyendo la distancia de radiación. Es importante que eventualmente se haga una calibración de intensidad de la lámpara debido a que pueden existir pérdidas de radiación por diversos factores, especialmente cuando la fuente de luz UV-C ha pasado el tiempo de uso establecido por el fabricante [11].



**Figura 9. Resultado de intensidad de la lámpara UV-C, a tres distancias, utilizada en la prueba de laboratorio.**

<b>Distancia (cm)</b>	<b>Valor medido w/cm<sup>2</sup></b>	<b>Factor de cobertura (k)</b>	<b>Incertidumbre e</b>
10	30,18	2,776	0,8711
15	15,59	2,776	0,1666
30	1,722	2,776	0,1120

**Tabla 1. Calibración de la lámpara de luz UV-C, utilizada en las pruebas de laboratorio.**

### **Pruebas microbiológicas.**

En el laboratorio se hicieron principalmente dos pruebas microbiológicas para observar la posible inactivación de las bacterias E-coli y Staphylococcus Aureus. En la primera prueba se contaminaron muestras de acero inoxidable con aproximadamente 1E6 CFU/ml de Staphylococcus Aureus ATCC 29213 RL (ver figura 10) y posteriormente

se irradiaron con dosis de (8.6, 17.22, 25.83)  $J/cm^2$  . En este experimento se quiso observar el comportamiento microbiano usando la intensidad más baja medida por la fuente de luz UV-C, teniendo una intensidad constante y variando el tiempo, teniendo tiempos de cinco, diez y quince segundos. Además hubo una muestra llamada tiempo cero la cual no fue sometida a radiación con el fin de lograr compararla con las muestras irradiadas durante los tres tiempos.



**Figura 10. Bacteria Staphylococcus Aureus ATCC 29213 RL.**

Todas las muestras fueron pasadas a tubos de Eppendorf y sometidas a vortex durante tres minutos con el fin de lograr desprender las bacterias del material y conseguir una solución totalmente homogénea. Por último se hicieron las diluciones en serie y se extendió en el medio de cultivo, todos estos procedimientos se hicieron dentro de una cabina de flujo laminar. Dieciocho horas más tarde se procedió a intentar contar las colonias encontrando que ninguna colonia había crecido, inclusive la que no había sido radiada. Esto sucedió debido a que hubo un error de procedimiento ya que las diluciones en serie del tiempo cero no se homogenizaron correctamente, los demás tiempos se homogenizaron correctamente. Este error no permite dar un resultado totalmente

confiable ya que no se pudo hacer una buena comparación de las muestras irradiadas con la no irradiada. Sin embargo se podría pensar que se logró una adecuada inactivación durante un tiempo mayor a dieciocho horas, debido a que sesenta y seis horas después del cultivo las bacterias irradiadas y homogenizadas correctamente crecieron, resultado esperado, mientras las que no fueron homogenizadas correctamente no crecieron. Se puede concluir que el tiempo cero no creció durante las dieciocho horas debido al error de procedimiento mientras que los demás tiempos no crecieron por una posible inactivación.

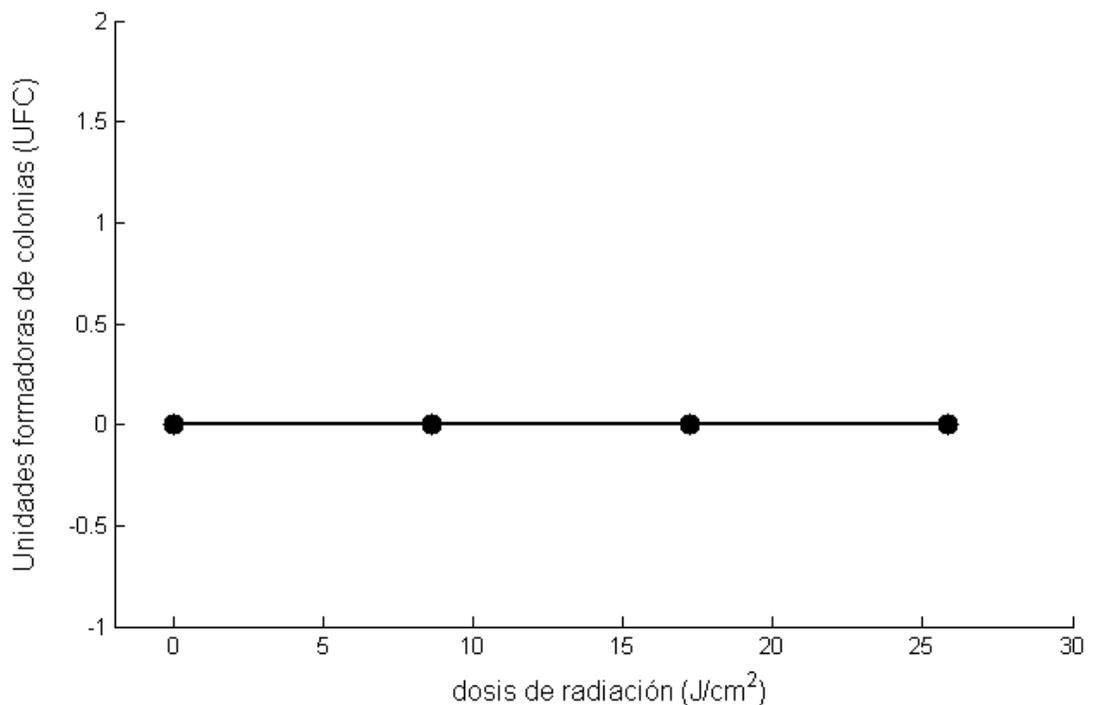
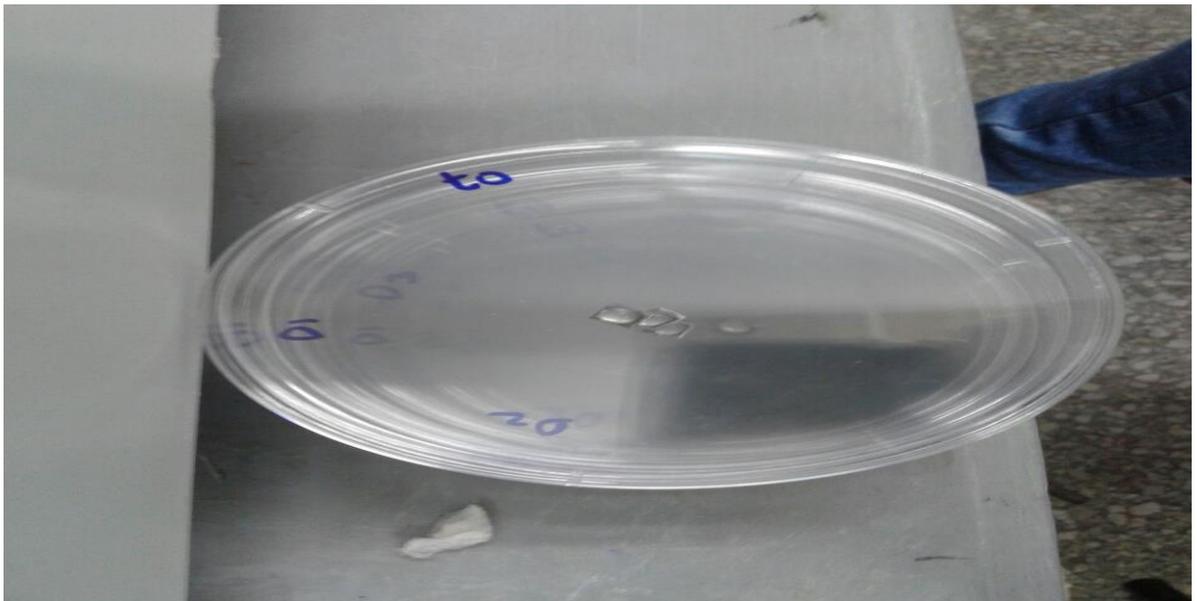


Figura 11. Resultados obtenidos usando una intensidad de  $1.722 \text{ w/cm}^2$  a 30 cm de distancia de la lámpara y variando el tiempo entre de exposición teniendo tiempos de (5, 10, 15) segundos.

En el segundo experimento se volvieron a inocular  $1E6 \text{ CFU/ml}$  de *Staphylococcus Aureus* ATCC 29213 RL, en esta ocasión se buscó ver el crecimiento microbiano durante tres distancias de radiación distintas de (10,15,30) cm y un tiempo estándar de veinte segundos, teniendo de nuevo una muestra denominada tiempo cero la cual no es

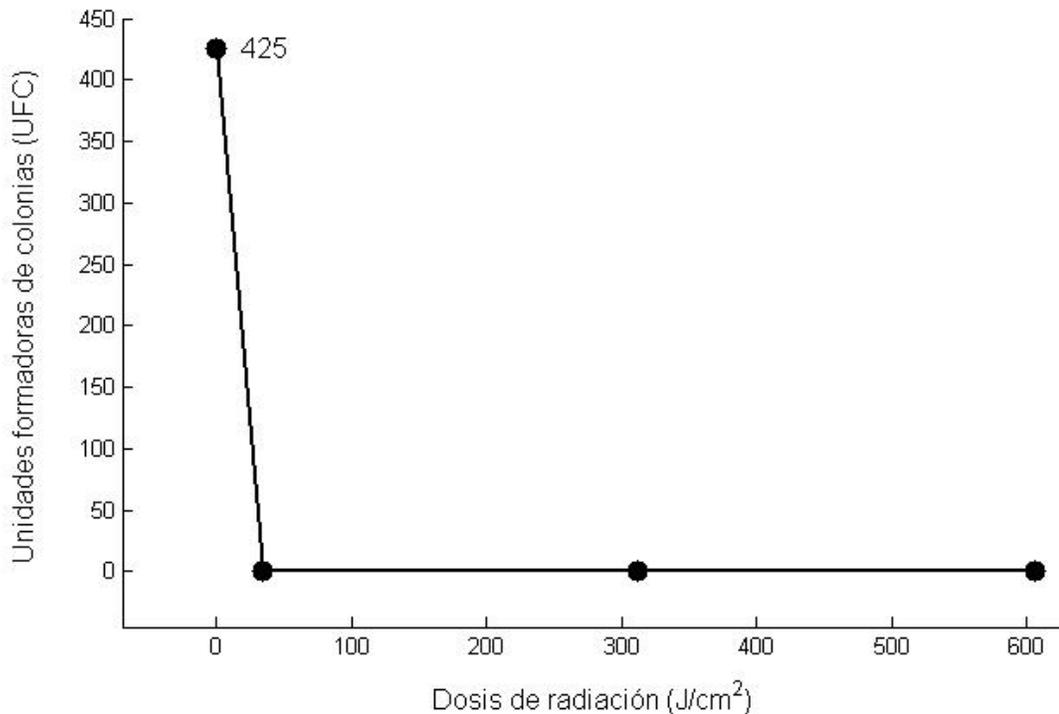
irradiada (ver figura 12). Las dosis utilizadas en este experimento fueron de (603.6, 311.8, 34.44)  $J/cm^2$ . Después de irradiar las muestras se sometieron a vortex durante tres minutos y se hicieron diluciones en serie y todas las muestras se homogenizaron correctamente para posteriormente ser incubadas en la cajas de Petri. Dieciocho horas después se procedió a contar las colonias encontrando que solo se había registrado crecimiento de *Staphylococcus Aureus* en las muestras no irradiada, sin embargo se registró crecimiento de una bacteria desconocida en la mayoría de las cajas de petri por lo que no fue posible hacer el conteo correctamente (ver figura 13). En este experimento los procedimientos fueron realizados con mechero, debido a que la cabina de flujo laminar presento fallas, teniendo como desventaja el uso de una zona estéril de solo 15 centímetros y mayor probabilidad de encontrar partículas contaminantes en el aire que pueden transmitirse al cultivo [30]



**Figura 12. Muestras contaminadas con *Staphylococcus Aureus* ATCC 29213 RL**

En trabajos similares se ha logrado inactivar cepas de *Staphylococcus Aureus* con dosis de  $7.2 J/cm^2$  mientras que las cepas de *E-coli* han sido inactivadas con dosis menores a

8.7 J/cm<sup>2</sup> [3][31]. Además la FDA<sup>5</sup> sostiene que las dosis mayores a 1.5 J/cm<sup>2</sup> son dosis de alta radiación y pueden ser suficientes para inactivar un amplio rango de microorganismos [1].



**Figura 13.** Resultado obtenidos a tres distancias de radiación distintas de (10, 15,30) cm y usando un tiempo estándar de veinte segundos.

Aunque las dosis utilizadas en este trabajo fueron altas y sobrepasaron las dosis utilizadas por otros autores, no se logró obtener un resultado microbiológico totalmente confiable debido a errores en los procedimientos [3][31][32][33]. Sin embargo estas intensidades de radiación pueden seguir siendo útiles para la inactivación de bacterias de E-coli y Staphylococcus Aureus.

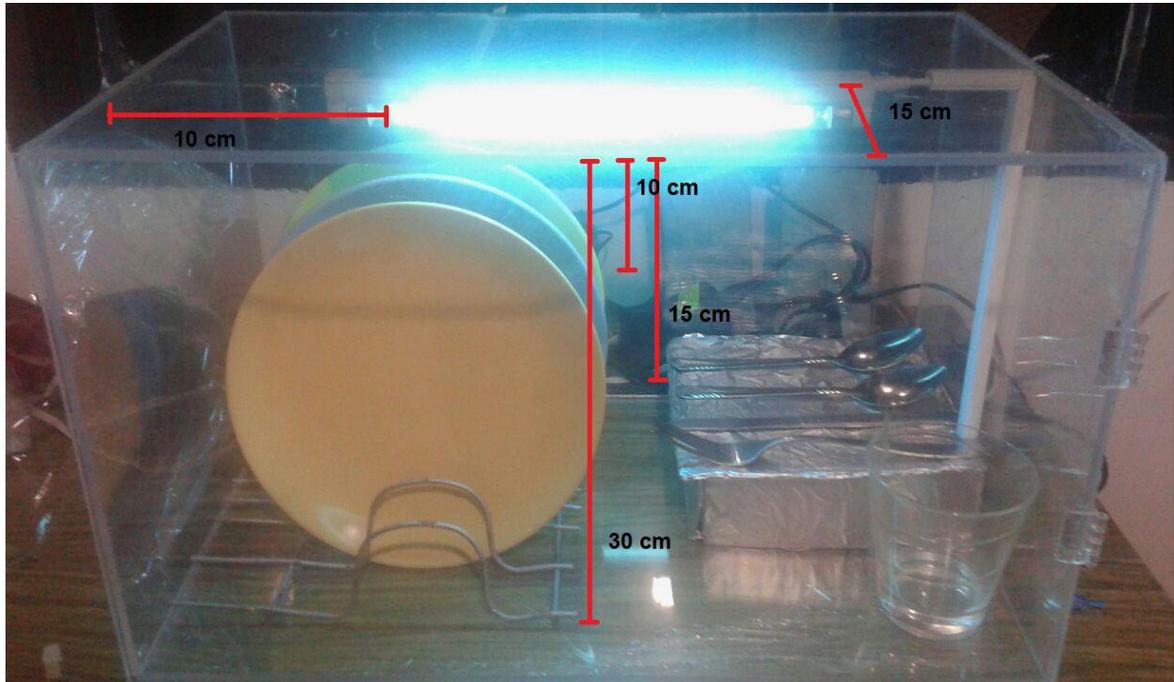
#### **Cámara de radiación germicida.**

La cámara de radiación germicida se diseñó con una altura de 30 cm de alto, con el fin de garantizar en la parte inferior dosis de radiación UV-C mayores a 34.44 J/cm<sup>2</sup>, en la

---

<sup>5</sup> Food and Drug Administration

parte media del prototipo se pueden lograr dosis mayores a  $311.8 \text{ J/cm}^2$  y en la parte alta del equipo pueden existir dosis mayores a  $603.6 \text{ J/cm}^2$ . Además la cámara tiene un fondo 30 cm y un ancho de 50 cm, la lámpara tiene una longitud de 30 cm por lo que fue ubicada en el centro para lograr una radiación uniforme en el interior (ver figura 14).



**Figura 14. Cámara de radiación germicida con tres distribuciones. Parte inferior a 30 cm, parte medio a 15 cm y parte alta a 10 cm de distancia de la fuente de luz UV-C.**

El encendido y apagado de la cámara está programado con el software libre de Arduino uno, se programa de modo que al poner el switch en uno y regresarlo a cero la lámpara quede encendida por veinte segundos tiempo en el cual se logran dosis de (34.44, 311.8, 603.6)  $\text{J/cm}^2$  en el interior de esta. Debido a que los puertos digitales de arduino solo pueden suministrar 5 voltios fue necesario utilizar un relay el cual se activa con 5 V y eleva el voltaje a 56 V, voltaje suficiente para el funcionamiento de la fuente de radiación. El puerto ocho de Arduino uno fue configurado para recibir la señal de entrada mientras que el puerto cuatro fue programado como puerto de salida del

Arduino. El releo está alimentado con un voltaje de 5 V y al recibir la señal del puerto cuatro de la placa de Arduino el electroimán se activa a causa de la magnetización de la bobina interna de este, logrando cerrar el circuito y de esta manera activar la lámpara de radiación UV-C. Todos los circuitos se introdujeron al interior de una caja forrada con papel aluminio con el fin de evitar el alto ruido electromagnético que pueda causar la radiación UV-V en la placa de Arduino.

### **Conclusiones**

Es posible controlar el crecimiento cepas bacterianas de E-coli y Staphylococcus Aureus en instrumentos de cocina usando una cámara de radiación germicida de bajo costo, sin embargo puede ser necesario realizar nuevas pruebas donde se puedan establecer un número exacto de colonias inactivas, resultados que puedan ser más veraces y materiales más económicos en la construcción de la cámara.

En este estudio la radiación UV-C se aplicó a muestras de instrumentos de cocina, usando dosis de radiación UV-C de (8.6, 17.22, 25.83, 34.44, 311.8, 603,6)  $J/cm^2$ . Las dosis seleccionadas principalmente para la construcción de la cámara de radiación germicida fueron de (34.44, 311.8, 603.6)  $J/cm^2$ , debido a que son altas y de esta manera pueden lograr una correcta inactivación de las bacterias E-coli y Staphylococcus Aureus. Sin embargo la cámara se diseñó de modo que se puedan obtener dosis más altas con el objetivo de poder lograr una correcta inactivación en microorganismos que presentan mayor resistencia a la luz UV-C y de este modo poder garantizar una mayor confianza al usuario.

### **Referencias:**

- [1] O. T. Antonio-Gutiérrez, E. Palou, and A. López-Malo, "Equipos para tratamientos de alimentos con radiación UVC," *Temas Sel. Ing. Aliment.*, vol. 2, pp. 149–159, 2012.
- [2] J. W. Rhim, A. Gennadios, D. Fu, C. L. Weller, and M. A. Hanna, "Properties of ultraviolet irradiated protein films," *LWT - Food Sci.*

- Technol.*, vol. 32, no. 3, pp. 129–133, 1999.
- [3] A. B. AVasiliki Sfikab ApostolosVantarakis, “Ultraviolet light and Ultrasound as non-thermal treatments for the inactivation of microorganisms in fresh ready-to-eat foods,” *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 167, no. 1, pp. 96–102, 2013.
  - [4] R. R. Mijangos, G. G. Boué, F. B. Dominguez, J. Manuel, and V. López, “CÁMARA DE IRRADIACIÓN UV-C ECONÓMICA Y DESINFECCIÓN DE ALIMENTOS,” *Epistemus*, pp. 72–78, 2014.
  - [5] J. R. Bolton, *Ultraviolet Applications Handbook*. Bolton Photosciences, 2010.
  - [6] G. V. B. J. A. Guerre Beltran, “Advantages and Limitations on Processing Foods by UV Light,” *Food Sci. Technol. Int.*, vol. 10, pp. 137–147, 2004.
  - [7] N. G. D. E. Seguridad, “Normas de higiene y seguridad en el uso de lámparas de radiación ultravioleta,” Medellín, 2004.
  - [8] “OMS | Inocuidad de los alimentos,” *WHO*, 2017. [Online]. Available: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs399/es/>. [Accessed: 05-Mar-2018].
  - [9] J. A. Troya Chavarriaga, “Evaluacion De La Efectividad De Los Desinfectantes Divosan Forte Y Mh En La Desinfeccion De Equipos Y Areas De Trabajo En Una Empresa Procesadora De Helados,” 2007.
  - [10] Ministerio de Salud y Proteccion Social, “Informe Nacional de la Calidad del Agua para Consumo Humano 2016,” 2015.
  - [11] E. P. N. Ramírez-corona, “Métodos para la determinación de la dosis de radiación ultravioleta de onda corta ( uvc ) en alimentos,” vol. 7, pp. 34–40, 2015.
  - [12] L. F. L. Pórtela, “Dispositivo de Entrega y Embalaje para Implantes,” U.S Patent O2015192259A1, 2015.
  - [13] K. M. Mahdavian, K. Ghorbanu, M. Kalanatari, “The Effects of Ultraviolet Radiation on the Contents of Chlorophyll, Flavonoid, Anthocyanin and Proline in *Capsicum annum* L,” *Turk. J. Bot.*, vol. 32, pp. 25–33, 2008.
  - [14] J. W. J. Raymond A. Serway, “Ondas Electromagneticas,” in *Fisica para Ciencia e Ingenieria con Fisica Moderna*, Sergio R. Cervantes Gonzales, Ed. Mexico D.F, 2009, pp. 966–968.
  - [15] 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](http://goo.gl/MK2jHt). [Accessed: 28-May-2018].
  - [16] Cistema-Suratep, “RADIACIONES,” Medellín, 2004.
  - [17] K. Bengt, “Radiaciones no ionizantes,” *Encicl. salud y Segur. en el Trab.*, vol. 49, p. 36, 1996.
  - [18] “Ultraviolet Applications Handbook,” no. April, pp. 1–4, 2015.
  - [19] Efraim Ponce Ochoa, “Diseño de un Tren de Potabilización para una Planta de Agua Embotelladora,” Universidad de la américas, 2005.
  - [20] “Biología | Biblioteca de Investigaciones,” 2009. [Online]. Available: [goo.gl/oWpeSLcontent\\_copy](http://goo.gl/oWpeSLcontent_copy). [Accessed: 28-May-2018].

- [21] “Microbiología, Wikipedia,” 2012. [Online]. Available: [goo.gl/hNQ7Urcontent\\_copy](http://goo.gl/hNQ7Urcontent_copy). [Accessed: 28-May-2018].
- [22] N. Noffke, D. Christian, D. Wacey, R. M. Hazen, and D. Wacey, “Microbially induced sedimentary structures recording an ancient ecosystem in the ca. 3.48 billion-year-old Dresser Formation, Pilbara, Western Australia.,” *Astrobiology*, vol. 13, no. 12, pp. 1103–24, Dec. 2013.
- [23] I. A. D. E. Números, “INTRODUCCIÓN A LA MICROBIOLOGIA,” 2014, no. November, pp. 2–4.
- [24] A. María *et al.*, “Biología Conceptos básicos,” p. 23, 2015.
- [25] E. Cervantes-García, R. García-González, and P. M. Salazar-Schettino, “Características generales del *Staphylococcus aureus*,” *Rev Latinoam Patol Clin Med Lab*, vol. 61, no. 1, pp. 28–40, 2014.
- [26] Sashenka Bonilla Rojas, “*Staphylococcus Aureus* Universidad Veracruzana,” 2011. [Online]. Available: <https://www.uv.mx/personal/sbonilla/files/2011/06/Staphylococcus-aureus.pdf>. [Accessed: 28-May-2018].
- [27] S. B. R. Reyes Ramírez, “*Escherichia coli*, Universidad Veracruzana,” 2011. [Online]. Available: <https://www.uv.mx/personal/sbonilla/files/2011/06/Escherichia-coli-l.pdf>. [Accessed: 28-May-2018].
- [28] Roger Philips, *Sources applications of Ultraviolet Radiation*. New York, 1883.
- [29] Willy j. Masschelein, “Available Lamps Technologies,” in *Ultraviolet Light in Water and Wastewater Sanitation*, Rip G. rice, Ed. New York, 2002, p. 192.
- [30] Salvador Resino, “Barreras primarias: cabinas de seguridad biológica | EMEI,” 2011. [Online]. Available: <http://epidemiologiamolecular.com/barreras-primarias-cabinas-seguridad-biologica/>. [Accessed: 27-May-2018].
- [31] F. J. Haro and J. A. Guerrero, “Efecto de la radiación UV-C en frutas y verduras,” *Temas Sel. Ing. Aliment.*, vol. 7, pp. 68–77, 2013.
- [32] R. Y. Discusión, “Análisis, diseño y construcción de reactores a escala para desinfección de agua potable con radiación UV,” 2005.
- [33] M. Schenk, S. Guerrero, and S. M. Alzamora, “Response of some microorganisms to ultraviolet treatment on fresh-cut pear,” *Food Bioprocess Technol.*, vol. 1, no. 4, pp. 384–392, 2008.

## Anexos

### Informe de calibración

#### Medición intensidad de campo electromagnético

Equipo usado: Narda Brodband Field Meter MBN-520

Equipo comparado: Reactor de luz UV-C con lámpara SYLVANIA ULTRAVIOLET G30W

Variable: Densidad de energía (Intensidad)

Unidades:  $w/cm^2$

#### Observaciones:

- se encendió el reactor y se esperó cinco minutos para tomar las medidas, esto para garantizar el correcto arranque de la lámpara.
- Se tomaron mediadas a tres distancias diferentes, tomando como referencia la lámpara.

#### Medición a 30 cm de distancia.

Datos	Intensidad ( $w/cm^2$ )
1	1,87
2	1,672
3	1,708
4	1,633
5	1,729
Promedio	1,722

#### Incertidumbre tipo A:

$$u_A = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

$$u_a = 0,040354182 w/cm^2$$

#### Incertidumbre tipo B:

Incertidumbre por resolución

$$u_{res} = \frac{\text{Resolución}}{2\sqrt{3}}$$

$$U_{res} = 2,88675E - 5 \text{ w/cm}^2$$

Incertidumbre combinada:

$$u_{combinada} = \sqrt{U_A^2 + U_B^2}$$

$$u_{combinada} = 0,040354192 \text{ w/cm}^2$$

Grados de libertad

$$v_{eff} = \frac{u_c^4}{\frac{u_A^4}{n-1}}$$

$$v_{eff} = 4$$

K (para una confianza del 95% tabla t-student)

$$K=2,776$$

$$u_{expandida} = u_{combinada} * k$$

$$u_{expandida} = 0,112023237 \text{ w/cm}^2$$

Valor medido:

$$U = \bar{u} \pm u_{expandida}$$

$$U = 1,722 \pm 0,1120 \text{ w/cm}^2$$

**Medición a 15 cm de distancia**

Datos	Intensidad (w/cm <sup>2</sup> )
1	15,91
2	16,08
3	14,97
4	15,96
5	15,01

Promedio	15,59
----------	-------

**Incertidumbre tipo A:**

$$u_A = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

$$u_a = 0,244961221 \text{ w/cm}^2$$

**Incertidumbre tipo B:**

Incertidumbre por resolución

$$u_{res} = \frac{\text{Resolución}}{2\sqrt{3}}$$

$$U_{res} = 2,88675E - 5 \text{ w/cm}^2$$

Incertidumbre combinada:

$$u_{combinada} = \sqrt{U_A^2 + U_B^2}$$

$$u_{combinada} = 0,060006 \text{ w/cm}^2$$

Grados de libertad

$$v_{eff} = \frac{u_c^4}{\frac{u_A^4}{n-1}}$$

$$v_{eff} = 4$$

K (para una confianza del 95% tabla t-student)

$$K=2,776$$

$$u_{expandida} = u_{combinada} * k$$

$$u_{expandida} = 0,166576656 \text{ w/cm}^2$$

Valor medido:

$$U = \bar{u} \pm u_{\text{expandida}}$$

$$U = 15,59 \pm 0,1666 \text{ w/cm}^2$$

**Medición a 10 cm de distancia**

Datos	Intensidad (w/cm <sup>2</sup> )
1	30,12
2	30,39
3	29,57
4	32,11
5	28,72
Promedio	30,18

**Incertidumbre tipo A:**

$$u_A = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

$$u_a = 0,560191039 \text{ w/cm}^2$$

**Incertidumbre tipo B:**

Incertidumbre por resolución

$$u_{res} = \frac{\text{Resolución}}{2\sqrt{3}}$$

$$U_{res} = 2,88675E - 5 \text{ w/cm}^2$$

Incertidumbre combinada:

$$u_{combinada} = \sqrt{U_A^2 + U_B^2}$$

$$u_{combinada} = 0,313814001 \text{ w/cm}^2$$

Grados de libertad

$$v_{eff} = \frac{u_c^4}{\frac{u_A^4}{n-1}}$$

$$v_{eff} = 4$$

K (para una confianza del 95% tabla t-student)

$$K=2,776$$

$$u_{expandida} = u_{combinada} * k$$

$$u_{expandida} = 0,871147667 \text{ w/cm}^2$$

Valor medido:

$$U = \bar{u} \pm u_{expandida}$$

$$U = 30,18 \pm 0,8711 \text{ w/cm}^2$$

### **Código implementado en Arduino UNO**

```
#include <Time.h>

int estado;

int segundo;

void setup(){

  pinMode(4, OUTPUT);

  pinMode(8, INPUT);

  Serial.begin(9600);

}

void loop(){

  setTime(0,0,0,20,10,2015);
```

```
estado=digitalRead(8);

if(estado==HIGH){

    digitalWrite(4,HIGH);

    time_t t=now();

    if(second(t)>=20){

        digitalWrite(4,LOW);

        setTime(0,0,0,20,10,2015);

    }

    else{

        delay(20000);

        setTime(0,0,0,20,10,2015);

    }

}

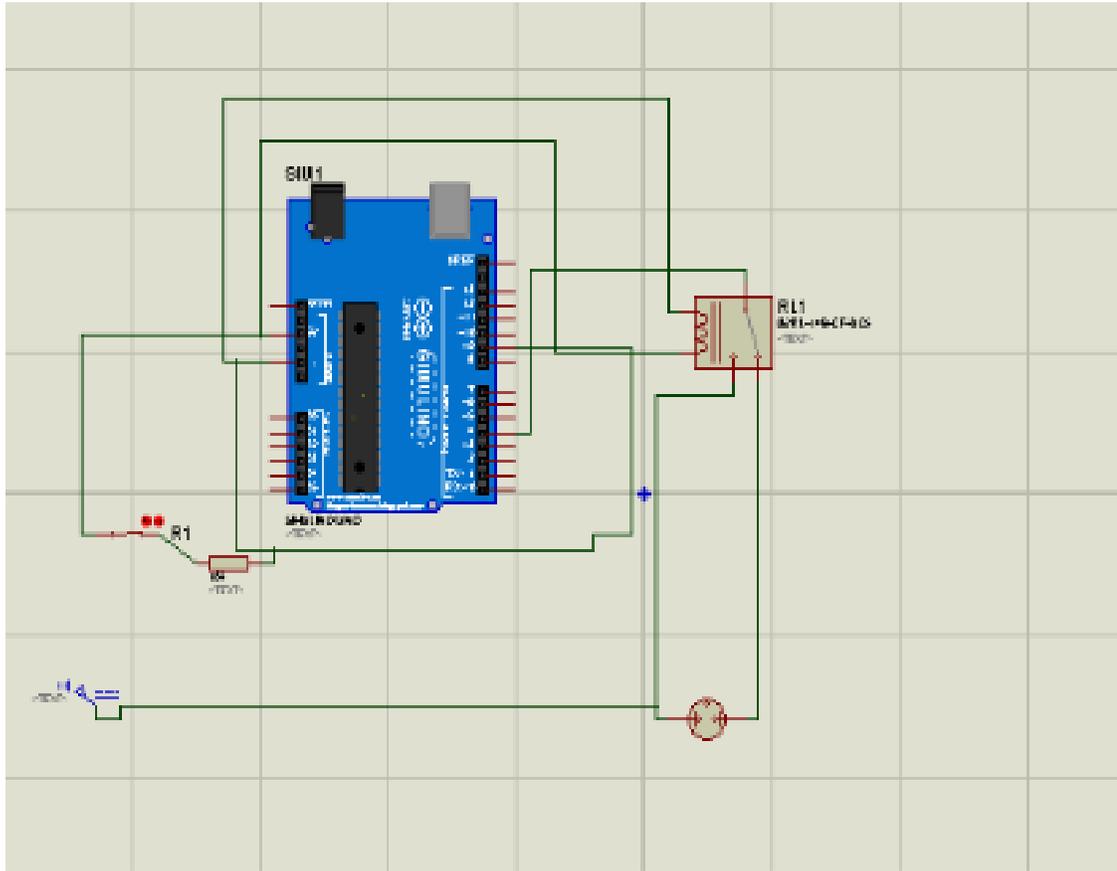
else{

digitalWrite(4,LOW);

}

}
```

**Simulación del circuito implementado Aduino UNO.**



**Figura 15. Simulación del circuito eléctrico, en Proteus siete, implementado en la cámara de radiación germicida.**

## **Protocolo de bacterias en solidos**

### **Experimental method**

#### *2 Determination of antibacterial activity of cotton fabrics coated with CuO.*

The antibacterial activity of cotton fabrics coated with CuO was tested on *Escherichia coli* bacteria. All cotton fabrics were sterilized by autoclaving at 121°C for 2 h. 20 µL aliquot of culture at an initial concentration of  $3,8 \times 10^9$  CFU mL<sup>-1</sup> (Table 1) in NaCl:kCl was placed on each coated and uncoated (negative control) cotton fabrics. The samples

were placed on petri dish to prevent medium evaporation and after 6 min, the fabric was transferred into a sterile 2 ml eppendorf tube containing 1 mL autoclaved NaCl:KCl saline solution. This was then mixed thoroughly using a vortex for 3 min. Serial dilutions were made in NaCl/KCl.

A 100 µL of each dilution was pipetted onto a nutrient agar plate. This was then spread over the surface of the plate using standard plate method. Agar plates were incubated, lid down, at 37 °C for 24 h before colonies were counted. All experiments were replicated at least two times. The percentage recovery for this experimental method was 88.82 ±12.09. The result is shown in table1.

Table 1. The percentage recovery for this experimental method

<b>Parameter</b>	<b>Sample 1</b>	<b>Sample 2</b>	<b>Mean</b>
Initial concentration of colony on the pellet	4,20x10 <sup>9</sup>	3,70 x10 <sup>9</sup>	3,80 x10 <sup>9</sup>
Initial concentration on the fabric	3,50x10 <sup>9</sup>	3,40 x10 <sup>9</sup>	3,40 x10 <sup>9</sup>
% Bacteria loss	25,00	8,11	16,56
<b>Percentage Recovery</b>			
			10.53
			<b>89.47 ±12.0</b>

$$\% \text{ Bacteria loss} = \frac{A - B}{A} \times 100$$

Where A is the number of microorganisms on the pellet and B is the number of microorganisms on the fabric.

$$\text{Percentage recovery} = \frac{y}{x} \times 100\%$$

Where x and y are the CFU on the pellet and on the fabric, respectively.

#### PROTOCOL FOR DETERMINATION OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF COTTON FABRICS.

1. Sterilize all cotton fabrics (2x2 cm) by autoclaving at 121°C for 2 h.
2. Add 20 µL aliquot of pellet solution (containing approximately  $1 \times 10^9$  UFC mL<sup>-1</sup>) on each cotton fabrics. Put the samples in petri dish in order to (to prevent) medium evaporation and then leave dry during 5 min.
3. Transfer the fabric into a sterile 2 ml eppendorf tube containing 1 mL sterile NaCl:KCl saline solution. Mix the solution vigorously using a vortex during 3 min. Make serial dilutions in NaCl/KCl saline solution.
4. Take 100 µL of each dilution, then add to petri dishes containing plate count agar and spread over the surface. Incubate petri dishes at 37 °C during 24 h. Finally, the colonies are counted.