

# Centro Analisi Chimiche s.r.l.

**Analisi chimiche, microbiologiche e ambientali**

Via Avogadro, 23 – 35030 RUBANO (PADOVA) Tel. 049631746 Fax 049 8975477  
E-mail: info@centroanalischimiche.it Internet: www.centroanalischimiche.it

## RAPPORTO DI PROVA N. 183262-001

Cliente

Spett.le

OZONO NATURA srl

Via Fossolovara, 46

30039 Strà (VE)

Data di emissione: 06/05/2019

Ns. Rif. 183262

Descrizione del campione:

**“OZOBOX”**

– generatore di ozono per la sanificazione ambienti , superfici, acqua

Data di ricevimento campione:

11-nov-2018

Data di inizio analisi:

04-feb-2019

Data di fine analisi:

05-apr-2019

## Verifica efficacia di abbattimento microbico mediante sanificazione ad ozono prodotto da apposito strumento

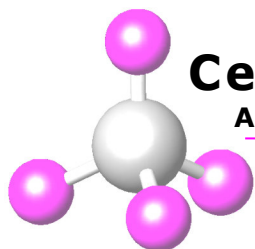
### Metodo

Per verificare la funzionalità dello strumento a produrre una concentrazione di ozono sufficiente a permettere una aggressività nei confronti dei microrganismi, nei confronti del comparto:

- Acqua; si provvederà a contaminare una bottiglia con 2litri di acqua potabile sterile con un numero noto di microrganismi; da questa si produrranno poi 2 diversi campioni da 1litro ciascuno, dei quali uno servirà da controllo e l'altro verrà sottoposto al programma di ozonizzazione. Una volta terminato il programma testato si valuteranno le percentuali di riduzione paragonando quelle rilevate nel campione sottoposto ad ozonoterapia con quelle del campione iniziale. Si verificherà poi la vitalità nella soluzione di controllo durante il tempo test.

Prodotto di prova





# Centro Analisi Chimiche s.r.l.

Analisi chimiche, microbiologiche e ambientali

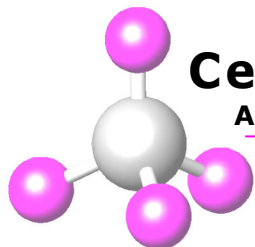
Via Avogadro, 23 – 35030 RUBANO (PADOVA) Tel. 049631746 Fax 049 8975477  
E-mail: info@centroanalisichimiche.it Internet: www.centroanalisichimiche.it

## Verifica capacita di abbattimento microbico su acqua

|  |  |
|--|--|
| Terreno test   | Acqua potabile di acquedotto sterilizzata  |
| Processo di sterilizzazione  | Filtrazione mediante filtro con porosità di 0,22 µm  |
| Quantità di acqua sottoposta a test  | 1L   |
| Programma testato  | Acqua da bere  |
| Tempo programma di ozonizzazione   | 3 minuti (1ciclo) – 6 minuti (2 cicli)   |
| Microrganismi contaminanti,<br>Temperatura e tempo di incubazione di incubazione | <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 – (37±1)°C per 48h<br><i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 – (37±1)°C per 48h<br><i>Legionella pneumophila</i> ATCC 33152 –(36±2)°C per 5-10gg<br><i>Candida albicans</i> ATCC 10231 – (30±1)°C per 3-5gg<br><i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 28188 – (30±1)°C per 3-5gg<br><i>Epidermophyton floccosum</i> ATCC 52066 – (30±1)°C per 3-5gg |
| Volume inoculo   | 2,5 ml   |
| Parametro di prova   | % di riduzione   |
| Data inizio analisi  | 04/02/2019   |
| Data fine analisi  | 05/04/2019   |

Visione processo di ozonizzazione





# Centro Analisi Chimiche s.r.l.

**Analisi chimiche, microbiologiche e ambientali**

Via Avogadro, 23 – 35030 RUBANO (PADOVA) Tel. 049631746 Fax 049 8975477  
E-mail: info@centroanalisichimiche.it Internet: www.centroanalisichimiche.it

## TEST con 1 ciclo di ozonizzazione da 3 minuti

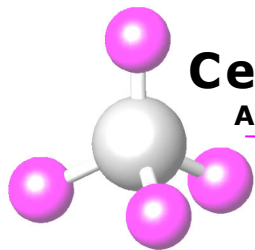
**prospetto D.1:** verifica della preparazione e convalida del recupero delle sospensioni di microrganismi di prova dopo il periodo test.

| Microrganismo di prova          | Sospensione al tempo t0           |        | Sosp. da sz. di controllo al termine dei test |        | Convalida del metodo di recupero<br>$\log(C) - \log(N) \leq 0,5$ |
|---------------------------------|-----------------------------------|--------|---|--------|--|
|                                 | Sospensione di prova iniziale (N) | Log(N) | Controllo recupero (C)                        | Log(C) |  |
| <i>Escherichia coli</i>         | $4,5 \times 10^6$                 | 6,7    | $4,0 \times 10^6$                             | 6,6    | 0,1  |
| <i>Staphylococcus aureus</i>    | $1,8 \times 10^6$                 | 6,3    | $1,6 \times 10^6$                             | 6,2    | 0,1  |
| <i>Legionella pneumophila</i>   | $3,4 \times 10^6$                 | 6,5    | $2,9 \times 10^6$                             | 6,5    | 0,0  |
| <i>Candida albicans</i>         | $7,8 \times 10^4$                 | 4,9    | $6,5 \times 10^4$                             | 4,8    | 0,1  |
| <i>Trichophyton rubrum</i>      | $6,8 \times 10^4$                 | 4,8    | $9,5 \times 10^4$                             | 5,0    | 0,2  |
| <i>Epidermophyton floccosum</i> | $1,6 \times 10^4$                 | 4,2    | $2,0 \times 10^4$                             | 4,3    | 0,1  |

**prospetto D.2:** risultati conteggio delle colonie rilevate in UFC/ml di acqua contaminata nei tempi di ozonizzazione testati.

| Tempo di ozonizzazione          |                 | 0 minuti          | 2 minuti          | 4 minuti          | 6 minuti          |
|---------------------------------|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Microrganismo di prova          | Unità di misura | Conta colonie     |                   |                   |                   |
| <i>Escherichia coli</i>         | UFC/ml          | $4,5 \times 10^6$ | < 1               | < 1               | < 1               |
| <i>Staphylococcus aureus</i>    | UFC/ml          | $1,8 \times 10^6$ | $1,8 \times 10^3$ | $1,5 \times 10^3$ | $2,5 \times 10^2$ |
| <i>Legionella pneumophila</i>   | UFC/ml          | $3,4 \times 10^6$ | < 4               | < 4               | < 4               |
| <i>Candida albicans</i>         | UFC/ml          | $7,8 \times 10^4$ | $2,4 \times 10^1$ | < 1               | < 1               |
| <i>Trichophyton rubrum</i>      | UFC/ml          | $6,8 \times 10^4$ | 4                 | 4                 | 2                 |
| <i>Epidermophyton floccosum</i> | UFC/ml          | $1,6 \times 10^4$ | $4,8 \times 10^1$ | $1,6 \times 10^1$ | $1,4 \times 10^1$ |

- I risultati espressi nel presente rapporto di prova si riferiscono esclusivamente al campione sottoposto ad analisi
- Il presente rapporto di prova non può essere riprodotto parzialmente senza autorizzazione da parte del responsabile del laboratorio



# Centro Analisi Chimiche s.r.l.

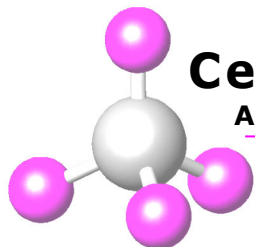
**Analisi chimiche, microbiologiche e ambientali**

Via Avogadro, 23 – 35030 RUBANO (PADOVA) Tel. 049631746 Fax 049 8975477  
E-mail: info@centroanalisichimiche.it Internet: www.centroanalisichimiche.it

**prospetto D.3:** risultati riduzioni percentuali dei conteggi sulla base del valore di contaminazione iniziale di acqua contaminata per il tempo di ozonizzazione testato.

| Tempo di ozonizzazione          |                 | 3 minuti  |          |          |
|---------------------------------|-----------------|---|----------|----------|
|                                 |                 | Riduzione percentuale % $\frac{tempo_{x\dots} - t_0}{t_0} \times 100$ |          |          |
| Microorganismo di prova         | Unità di misura | Tempo di prelievo dall'inizio del ciclo                               |          |          |
|                                 |                 | 2 minuti (durante il ciclo)   | 4 minuti | 6 minuti |
| <i>Escherichia coli</i>         | %               | > 99,999  | > 99,999 | > 99,999 |
| <i>Staphylococcus aureus</i>    | %               | 99,900  | 99,916   | 99,986   |
| <i>Legionella pneumophila</i>   | %               | 99,999  | > 99,999 | > 99,999 |
| <i>Candida albicans</i>         | %               | 99,999  | > 99,999 | > 99,999 |
| <i>Trichophyton rubrum</i>      | %               | 99,994  | 99,994   | 99,997   |
| <i>Epidermophyton floccosum</i> | %               | 99,700  | 99,900   | 99,912   |

- I risultati espressi nel presente rapporto di prova si riferiscono esclusivamente al campione sottoposto ad analisi
- Il presente rapporto di prova non può essere riprodotto parzialmente senza autorizzazione da parte del responsabile del laboratorio



# Centro Analisi Chimiche s.r.l.

**Analisi chimiche, microbiologiche e ambientali**

Via Avogadro, 23 – 35030 RUBANO (PADOVA) Tel. 049631746 Fax 049 8975477  
E-mail: info@centroanalisichimiche.it Internet: www.centroanalisichimiche.it

## TEST con 2 cicli consecutivi di ozonizzazione da 3 minuti (6 minuti totale)

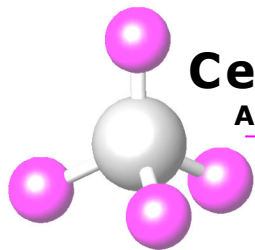
**prospetto D.4:** verifica della preparazione e convalida del recupero delle sospensioni di microrganismi di prova dopo il periodo test.

| Microrganismo di prova          | Sospensione al tempo t0           |        | Sosp. da sz. di controllo al termine dei test |        | Convalida del metodo di recupero<br>$\log(C) - \log(N) \leq 0,5$ |
|---------------------------------|-----------------------------------|--------|---|--------|--|
|                                 | Sospensione di prova iniziale (N) | Log(N) | Controllo recupero (C)                        | Log(C) |  |
| <i>Escherichia coli</i>         | $1,3 \times 10^5$                 | 5,1    | $1,0 \times 10^5$                             | 5,0    | 0,1  |
| <i>Staphylococcus aureus</i>    | $1,7 \times 10^6$                 | 6,2    | $1,8 \times 10^6$                             | 6,3    | 0,1  |
| <i>Legionella pneumophila</i>   | $1,0 \times 10^6$                 | 6,0    | $5,6 \times 10^5$                             | 5,7    | 0,3  |
| <i>Candida albicans</i>         | $7,2 \times 10^4$                 | 4,9    | $5,5 \times 10^4$                             | 4,7    | 0,2  |
| <i>Trichophyton rubrum</i>      | $2,4 \times 10^4$                 | 4,4    | $1,8 \times 10^4$                             | 4,3    | 0,1  |
| <i>Epidermophyton floccosum</i> | $1,6 \times 10^4$                 | 4,2    | $1,9 \times 10^4$                             | 4,3    | 0,1  |

**prospetto D.5:** risultati conteggio delle colonie rilevate in UFC/ml rilevate di acqua contaminata e per il tempo di ozonizzazione testato.

| Tempo di ozonizzazione          |                 | 0 minuti          | 3 minuti          | 6 minuti | 10 minuti |
|---------------------------------|-----------------|-------------------|-------------------|----------|-----------|
| Microrganismo di prova          | Unità di misura | Conta colonie     |                   |          |           |
| <i>Escherichia coli</i>         | UFC/ml          | $1,3 \times 10^5$ | < 1               | < 1      | < 1       |
| <i>Staphylococcus aureus</i>    | UFC/ml          | $1,7 \times 10^6$ | $1,0 \times 10^3$ | 2        | < 1       |
| <i>Legionella pneumophila</i>   | UFC/ml          | $1,0 \times 10^6$ | < 4               | < 4      | < 4       |
| <i>Candida albicans</i>         | UFC/ml          | $7,2 \times 10^4$ | < 1               | < 1      | < 1       |
| <i>Trichophyton rubrum</i>      | UFC/ml          | $2,4 \times 10^4$ | $3,1 \times 10^1$ | < 4      | < 4       |
| <i>Epidermophyton floccosum</i> | UFC/ml          | $1,6 \times 10^4$ | $1,6 \times 10^1$ | < 4      | < 4       |

- I risultati espressi nel presente rapporto di prova si riferiscono esclusivamente al campione sottoposto ad analisi
- Il presente rapporto di prova non può essere riprodotto parzialmente senza autorizzazione da parte del responsabile del laboratorio



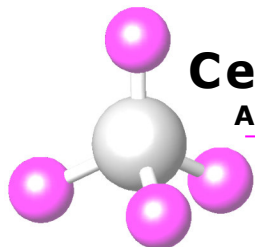
# Centro Analisi Chimiche s.r.l.

**Analisi chimiche, microbiologiche e ambientali**

Via Avogadro, 23 – 35030 RUBANO (PADOVA) Tel. 049631746 Fax 049 8975477  
E-mail: info@centroanalischimiche.it Internet: www.centroanalischimiche.it

**prospetto D.6:** risultati riduzioni percentuali dei conteggi sulla base del valore di contaminazione iniziale di acqua contaminata per il tempo di ozonizzazione testato.

| Tempo di ozonizzazione          |                 | 6 minuti  |                          |           |
|---------------------------------|-----------------|---|--------------------------|-----------|
|                                 |                 | Riduzione percentuale % $\frac{tempo_{x\dots} - t_0}{t_0} \times 100$ |                          |           |
| Microorganismo di prova         | Unità di misura | Tempo di prelievo dall'inizio del ciclo                               |                          |           |
|                                 |                 | 3 minuti (fine 1° ciclo)  | 6 minuti (fine 2° ciclo) | 10 minuti |
| <i>Escherichia coli</i>         | %               | > 99,999  | > 99,999                 | > 99,999  |
| <i>Staphylococcus aureus</i>    | %               | 99,941  | 99,999                   | > 99,999  |
| <i>Legionella pneumophila</i>   | %               | > 99,999  | > 99,999                 | > 99,999  |
| <i>Candida albicans</i>         | %               | > 99,998  | > 99,998                 | > 99,998  |
| <i>Trichophyton rubrum</i>      | %               | 99,870  | > 99,983                 | > 99,983  |
| <i>Epidermophyton floccosum</i> | %               | 99,900  | > 99,975                 | > 99,975  |



# Centro Analisi Chimiche s.r.l.

**Analisi chimiche, microbiologiche e ambientali**

Via Avogadro, 23 – 35030 RUBANO (PADOVA) Tel. 049631746 Fax 049 8975477  
E-mail: [info@centroanalischimiche.it](mailto:info@centroanalischimiche.it) Internet: [www.centroanalischimiche.it](http://www.centroanalischimiche.it)

## Conclusioni

Come si può vedere dai risultati riscontrati nel prospetto D.2 e D3, il programma preimpostato “acqua da bere”, che produce un flussaggio di ozono per 3 minuti in bottiglie/caraffe d’acqua da 1 litro, comporta riduzioni microbiche significative per tutte e tre le classi microbiche testate, ovvero su batteri gram positivi, batteri gram negativi e funghi (lievito e muffe).

A seguito di queste prove si è evidenziato come, dopo 6 minuti (con ciclo di ozonizzazione di 3 minuti), per tutte e tre le classi di microrganismi si raggiungono ottime riduzioni percentuali;

pari a :

- batteri gram negativo:
  - *Escherichia coli* > 99,999%
  - *Legionella pneumophila* > 99,999%
- % battere gram positivo:
  - *Staphylococcus aureus* 99,986%
- funghi
  - *Candida albicans* (Lievito) > 99,999%
  - *Trichophyton rubrum* (Muffa) 99,997%
  - *Epidermophyton floccosum* (Muffa) 99,912%

Le riduzioni percentuali sono ancora maggiori se si effettua un ciclo di ozonizzazione pari a 6 minuti invece che 3 (prospetti D.5 e D.6). In questo caso anche dei batteri come lo Stafilococco aureo e delle muffe più ostiche, non se ne è rilevata più presenza dopo 10 minuti dall’inizio del processo.

Dai dati analitici si è evidenziato come la maggior parte dell’abbattimento microbico avvenga durante il processo di ozonizzazione e in minima parte nel periodo successivo. Ciò è dovuto all’effetto ossidante dell’ozono durante la sua effettiva emissione.

Si può perciò concludere che per quanto concerne la sanificazione microbica dell’acqua per entrambi i cicli (3 minuti e 6 minuti) di programma testato “acqua da bere”, l’apparecchio è in grado, nel tempo stabilito, di produrre una concentrazione di ozono tale da dar luogo ad ottimi effetti antimicrobici.

***Direttore del Laboratorio***

Dr. Berto Giorgio

Firmato digitalmente da Giorgio Berto

Ordine Interprovinciale dei chimici del Veneto n. 329