

Ensayo cuantitativo de la eficacia bactericida de una máquina de ozonización en el interior de botas de fermentación con recirculación de aire (basado en UNE-EN 14476)

Orden: **C21331**

Informe: **Informe_Ozono_OLINCO_botas**

Emitido para:

OLINCO GLOBAL SOLUTIONS SL
Plaça Marquès de Camps, 9 -10
17001 Girona
Girona
NIF: B55322184

Ensayo realizado por:



Parc Científic de Girona
Edifici J. Casademont porta E
Pic de Peguera 15
17003 Girona

Recepción muestras:	16/04/2021
Inicio ensayo:	16/04/2021
Final ensayo:	19/04/2021
Emisión informe:	20/04/2021

Objetivo

Obtener una estimación cuantitativa de la capacidad bactericida de un proceso de ozonización en el interior de botas de fermentación vinícola de madera (volumen aproximado de 0,5 m³) sobre bacterias depositadas en superficie inerte mediante una adaptación de la norma UNE-EN 14476

Se ensayan dos tiempos de tratamiento: 15 minutos y 30 minutos

El material sobre el que se realiza el ensayo es una superficie de polipropileno dispuesta a tres niveles de altura distintos según esquema adjunto

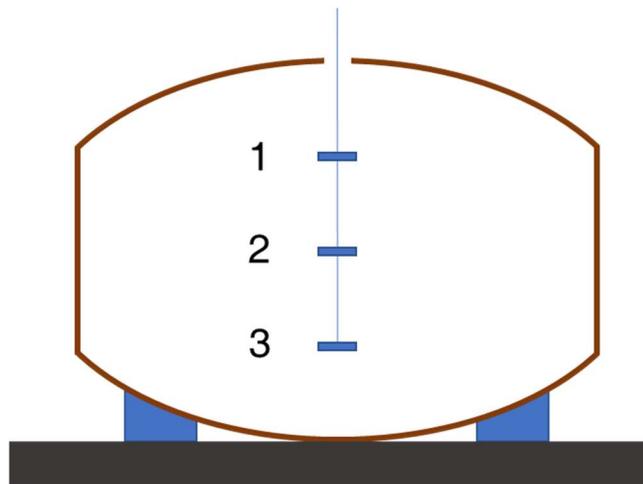


Figura 1. Disposición vertical a distintas alturas de las superficies experimentales

Test: Modificado para la cuantificación

Resumen del procedimiento del test

Sobre una superficie circular de 0,8 cm², se depositan 10 µl de cada suspensión bacteriana consistentes en las cepas *Staphylococcus saprofiticus* CECT235y *Escherichia coli* ATCC11775 con una densidad de 10⁶ ufc/ml. Un juego se utiliza de control y el otro se somete a tratamiento. Los ensayos se conducen por duplicado en cada uno de los materiales elegidos.

Se deja secar el volumen depositado y se procede a la recogida de las muestras con un hisopo estéril humedecido en tampón PBS. Una vez recogida la muestra, los hisopos se introducen en un tubo con 0,2 ml de solución PBS para su traslado en condiciones de refrigeración al laboratorio.

Una vez en el laboratorio se siembran placas a partir de las diluciones -2, -3 y -4 de las muestras en placas de Agar Nutritivo (AN) y se incuban a 24 (*Escherichia coli*) y 48 (*Staphylococcus aureus*) horas.

Una vez finalizada la incubación se cuentan las placas que contienen entre 15 y 150 colonias y se calcula la concentración de la muestra inicial en ufc/ml

Tabla 1. Variables del ensayo

<i>Organismos ensayados</i>	<i>Staphylococcus saprofiticus</i> CECT235 <i>Escherichia coli</i> ATCC11775
<i>Medio de dilución empleado</i>	Phosphate buffer saline (PBS)
<i>Medio neutralizante empleado</i>	N.A.
<i>Método de desinfección</i>	Ozonización a distintos tiempos con generador de 10.000 mg/h
<i>Descripción de las muestras</i>	Superficie inerte de polipropileno
<i>Cantidad de muestra</i>	10 µl (10 ⁴ ufc)
<i>Tiempos de contacto</i>	1 minuto
<i>Tiempos de tratamiento</i>	15 minutos; 30 minutos
<i>Desviaciones del método estándar</i>	n.a.

Los resultados expresados más adelante corresponden exclusivamente a las muestras ensayadas.

Resultados contra *Staphylococcus saprofiticus* CECT235

		<i>Staphylococcus aureus</i>			
		15 min		30 min	
	t= 0 min UFC/ml	UFC/ml	%	UFC/ml	%
Nivel 1	2,14E+06	6,25E+04	97,1%	0,00E+00	100,0%
Nivel 2	2,14E+06	2,02E+05	90,6%	1,86E+05	91,3%
Nivel 3	2,14E+06	1,00E+06	53,3%	5,80E+05	72,9%

Resultados contra *Escherichia coli* ATCC11775

		<i>Escherichia coli</i>			
		15 min		30 min	
	t= 0 min UFC/ml	UFC/ml	%	UFC/ml	%
Nivel 1	7,30E+06	7,00E+02	100,0%	0,00E+00	100,0%
Nivel 2	7,30E+06	1,45E+05	98,0%	2,85E+04	99,6%
Nivel 3	7,30E+06	3,07E+06	57,9%	1,45E+06	80,1%

Porcentaje de reducción expresado con unidades logarítmicas según la siguiente conversión:

- Reducción del 90%: 1 unidad logarítmica (log)
- Reducción del 99%: 2 logs
- Reducción del 99,9%: 3 logs
- Reducción del 99,99%: 4 logs

Girona, 20 de abril de 2020

Firmado:



Dr. Jesús García-Gil
Director
Microbial SL