

## Artículo Original

# Estudio sobre la estabilidad del ozono en solución salina y agua bidestilada bajo nanoburbujeo.

## Study on the stability of ozone in saline solution and double-distilled water under nanobubbles.

**Dra. Adriana Schwartz. M.D. Ginecóloga.**

Presidenta de AEPROMO e ISCO3. Clínica Fiorela S.L: Madrid, España.

### Palabras clave

ozono, solución salina ozonizada, nanoburbujeo, microburbujeo, agua bidestilada, generador de ozono, dispositivo ASSO3®, SSO3, transferencia de masa, estabilidad concentración de ozono, saturación de líquidos, bromatos, biocompatibilidad..

### Resumen

La terapia del ozono es una tecnología que se está utilizando actualmente en el tratamiento de una gran variedad de enfermedades, con una difusión creciente en el ámbito médico.

Una de las técnicas más eficientes y seguras para transferir ozono a un paciente consiste en burbujear ozono en una solución salina a concentraciones personalizadas calculadas por kilogramo de peso del paciente.

**Objetivo:** analizar la eficiencia y seguridad de la técnica de ozonización de una solución salina y agua bidestilada bajo nanoburbujeo a diferentes concentraciones en un sistema de dispositivo de cristal cerrado, establecer su estabilidad en el tiempo, comparar las ventajas frente al microburbujeo, determinar si hay aumento de producción de radicales hidroxilo y formación de bromatos en solución salina.

**Material y Método:** Para el estudio se usó el generador de ozono Ozonobaric P® clasificación IIb. Sedecal® (España) y dos dispositivos de cristal para la ozonización de los líquidos. Uno con placa para nanoburbujeo (menos de 1 nm) y otro con placa para microburbujeo (20 nm). El estudio fue realizado en CSI ANALITICA S.L., Tres Cantos, Madrid, España.

Se trata de un estudio observacional descriptivo. Se procedió a nanoburbujear ozono a distintas concentraciones normalizadas (3 y 5 µg/NmL) en un dispositivo de cristal cerrado, especialmente diseñado para este propósito, ASSO3®, con solución salina 250 mL (NaCl 0.9%) para luego hacerla pasar por un analizador de concentración de ozono en líquidos marca BMT964 AQ-LC, Messtechnik GmbH, (Alemania), por un espectrofotómetro Anseros® modelo OZONE MONITOR GM-RTI® (Alemania) kit de ozono de Merck y un espectrofotómetro de masas, (GCMS) para verificar la estabilidad en el tiempo la concentración de ozono en solución salina y agua bidestilada, al mismo tiempo verificar si había aumento de trazas de bromo y radical hidroxilo tanto en solución salina como en agua bidestilada bajo ozonización a bajas concentraciones. El mismo ejercicio se realizó con agua bidestilada a dos concentraciones, 250 mL (20 y 80 µg/NmL)

**Resultados:** A pesar que se burbujearon la solución salina durante 5 minutos para saturarla, se observó que en 3.45 min de nanoburbujeo, tanto la solución salina como el agua bidestilada se saturaron de ozono. En cambio el microburbujeo de la solución salina la saturación con ozono se logró en 5 min

Aunque las concentraciones de ozono bajo nanoburbujeo, tanto en solución salina como en agua bidestilada disminuyeron lentamente en las diferentes franjas de tiempo, estas no comprometieron sus usos terapéuticos que se sostuvieron hasta por 72 h. La concentración de ozono en agua bidestilada fue más intensa que en la solución salina, lo cual es comprensible. El agua bidestilada no contiene elementos ni residuos que impidan la disolución del ozono, como sí ocurre en la solución salina. Al mismo tiempo se ha demostrado que, no se observó ningún aumento en la producción de radicales hidroxilo ni formación de bromatos. Al mantenerse la concentración del ozono estable en la solución salina postsaturación bajo nanoburbujeo, esta puede administrarse al paciente sin burbujear, durante las 24-48 h siguientes a condición de mantenerla refrigerada a 8° C. En el caso del agua bidestilada, esta puede utilizarse durante una semana sin burbujear (mantenida en refrigeración). Esto permite liberar el generador, ahorrar tiempo, oxígeno y optimizar los tratamientos...

---

## Keywords

ozone, ozonated saline solution, nanobubbling, microbubbling, double-distilled water, ozone generator, ASSO3® device, O3SS, mass transfer, ozone concentration stability, liquid saturation, bromates, biocompatibility.

---

## Abstract

*Ozone therapy is a technology currently used to treat a wide variety of diseases, with increasing interest in the medical field.*

*One of the most efficient and safe techniques for delivering ozone to a patient involves bubbling ozone through a saline solution at customized concentrations.*

**Objective:** *To analyze the efficiency and safety of ozonation using a saline solution and double-distilled water under nanobubbling at different concentrations in a closed glass device, establish its stability over time, compare its advantages over microbubbling, and determine if there is an increase in the production of hydroxyl radicals and the formation of bromates in the saline solution.*

**Materials and Methods:** *For this study, the Ozonobaric P® Sedecal® classification IIb, ozone generator (Spain) and two glass devices for liquid ozonation were used. One device had a plate for nanobubbling (less than 1 nm) and the other a plate for microbubbling (20 nm). The study was conducted at CSI ANALITICA S.L., Tres Cantos, Madrid, Spain.*

*This is a descriptive observational study. Ozone was nanobubbled at different standardized concentrations (3 and 5 µg/NmL) in a specially designed, sealed glass device, ASSO3®, using 250 mL of saline solution (0.9% NaCl). The solution was then tested using a BMT964 AQ-LC ozone concentration analyzer (Messtechnik GmbH, Germany), an Anseros® OZONE MONITOR GM-RTI® spectrophotometer (Germany), a Merck ozone kit, and a GC-MS to verify the stability of the ozone concentration over time in saline solution and double-distilled water. Simultaneously, the study was conducted to determine if there was an increase in trace amounts of bromine and hydroxyl radicals in saline solution and double-distilled water under ozonation at low concentrations. The same procedure was performed with double-distilled water at two concentrations: 250 mL (20 and 80 µg/NmL).*

**Results:** *Although the saline solution was bubbled for 5 minutes to saturate it, it was observed that in 3.45 min of nanobubbling, both the saline solution and the double-distilled water became saturated with ozone.*

*In contrast, with microbubbling of the saline solution, ozone saturation was achieved in 5 min. Although ozone concentrations under nanobubbling in both saline solution and double-distilled water decreased slowly over time, this did not compromise its therapeutic use, which was the ozone concentrations under nanobubbling, which were maintained for up to 72 h. This was not the case with microbubbling, where concentrations were maintained for 30 min without refrigeration.*

*The ozone concentration in double-distilled water was more intense than in the saline solution, which is understandable. Double-distilled water does not contain elements or residues that prevent ozone dissolution, as occurs in saline solution. At the same time, it has been shown that, when normalized with respect to the amount of ozone transferred to the water, no increase in hydroxyl radical production or bromate formation was observed.*

*By maintaining a stable ozone concentration in the post-saturation saline solution under nanobubbling, it can be administered to the patient without bubbling for the following 24–48 hours, provided it is kept refrigerated at 8°C. In the case of double-distilled water, it can be used for one week without bubbling (kept refrigerated). This frees up the generator, saves time and oxygen, and optimizes treatments.*

### Sugerencia sobre cómo citar este artículo:

Schwartz, Adriana (2026). Estudio sobre la estabilidad del ozono en solución salina y agua bidestilada bajo nanoburbujeo. *Ozone Therapy Global Journal* Vol. 15, nº 1, pp. 39-55.

<https://doi.org/10.67442/cjvys349>

## INTRODUCCIÓN

Conforme a los avances científicos, la ciencia del ozono está preparada para lograr grandes avances en medicina, el nanoburbujeo de la solución salina es uno de esos grandes alcances. Durante la última década, la tecnología de nanoburbujas se ha convertido en una vía prometedora para la mejora de diversos procesos que utilizan burbujas, como el crecimiento de vegetales, la maduración y la eliminación de pesticidas residuales en productos frutales,<sup>1</sup> la aireación de la pesca,<sup>2</sup> la producción de biodiésel y en procesos de contacto gas-líquido para el tratamiento de agua y aguas residuales.<sup>3,4</sup>

La ozonización es particularmente útil en la eliminación de color, compuestos orgánicos aromáticos, productos farmacéuticos,<sup>5-7</sup> pesticidas<sup>8</sup> y una amplia variedad de otros micro contaminantes.<sup>9</sup>

El mecanismo de acción de la Solución Salina Ozonizada (SSO3) en medicina es genómico, es decir que la respuesta es dependiente de la activación de los mecanismos de transducción de señales nucleares Nrf2 (factor nuclear eritroide 2),<sup>10-14</sup> que es una proteína de gran alcance situada dentro de cada célula en el organismo y que es accionada por el activador Nrf2, inductor de la síntesis de proteínas antioxidantes tales como la SOD (superóxido dismutasa), CAT (Catalasa) y HO1 (hemo-oxigenasa 1) entre muchas otras.

**Comportamiento del ozono en líquidos.** La hidrosolubilidad del ozono es 10 veces superior a la del oxígeno: 49,0 mL de O<sub>3</sub> por cada 100 mL de agua, comparado con 4,89 mL de O<sub>2</sub> por cada 100 mL de agua. En general, la solubilidad del ozono en agua se ajusta a la ley de Henry (1803),<sup>15</sup> que establece que el estado de saturación del gas en el agua es proporcional a su concentración y que esta disminuye con el aumento de la concentración de la sal.

En medio acuoso, la descomposición del ozono depende en gran medida de la calidad del agua, la temperatura y el pH del medio. El aumento del pH del medio acelera la descomposición del ozono y disminuye la concentración de este en el agua. Ante el aumento de la temperatura ocurren procesos análogos.<sup>16, 17</sup>

Cabe destacar que si recipiente en donde se ozoniza la solución es de plástico o polipropileno, el recipiente puede oxidarse por la acción del ozono, lo que resulta en liberación de ftalatos y un aumento del contenido de cloratos que tienen múltiples efectos tóxicos para el organismo.<sup>18, 19</sup> Por lo tanto, el material de la botella de solución salina debe ser resistente al ozono (de cristal). Algo similar sucede cuando se utilizan concentraciones altas de ozono en una Solución Salina Ozonizada (SSO3), ya es sabido que las concentraciones más altas de ozono resultan en mayores niveles de clorato que son muy tóxicas para el organismo.<sup>20</sup>

El período de semi descomposición del ozono en agua bidestilada es de 10 h; en agua desmineralizada es de 80 min, y en agua destilada es de 120 min.<sup>21-23</sup>

Hasta la aparición de las nanoburbujas, la cantidad máxima de ozono en una muestra de agua se observaba durante (8-15) min; al cabo de una hora, en la solución se detectaban sólo radicales libres de oxígeno. El más importante es el radical hidroxilo (.OH) algo que debe tenerse en cuenta en la utilización del agua ozonizada con fines terapéuticos.

En relación al bromuro. Aunque el bromuro está presente como impureza en la sal (cloruro sódico), los procesos de fabricación farmacéutica minimizan la conversión a bromato. No hay indicios en los resultados de que el bromato sea un componente relevante en las soluciones salinas al 0,9% estándar. Rango de pH: 4.5 – 7.0

Químicos rusos demostraron que concentraciones de hipoclorito de sodio en Sol. Salina eran menos de 0.001 µg/mL.<sup>24</sup> Los análisis químicos de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en las muestras de SSO<sub>3</sub> y agua tampoco revelaron acumulación alguna de peróxido de hidrógeno mayor de 0.002%. Tampoco se detectó presencia de bromatos en la solución ozonizando a concentraciones bajas.

Todo esto ha cambiado mucho con la aparición de la nanoburbuja. El tamaño de una burbuja de gas ozono en solución salina o en agua bidestilada es una característica determinante para comprender sus propiedades, ya que una distribución de tamaño a escala nanométrica se asocia con una mejor estabilidad, transferencia de masa, influyendo significativamente en su comportamiento y otras características fisicoquímicas y eléctricas dentro de un líquido como una solución salina.<sup>25</sup>

En general, la mejora observada en el rendimiento puede atribuirse al aumento del coeficiente de transferencia de masa volumétrica mediante la combinación de un aumento del área interfacial específica y una disminución del coeficiente de transferencia de masa.

El estudio del Dr. Alexander del 2023,<sup>26</sup> estableció que el aumento del área superó la disminución del coeficiente de transferencia de masa, de modo que se observó un factor de mejora general de 1,6 para las microburbujas en comparación con las burbujas convencionales. Todas las demás diferencias se debieron a la mayor transferencia de masa, lo que resultó en mayores concentraciones de ozono disuelto al operar con una dosis de entrada fija.

Gracias a la inhibición de la coalescencia de las burbujas bajo nanoburbujeo, esto conduce a una mayor exposición del ozono con la superficie de tejido tratante, por tanto, optimiza, agiliza y acorta los tratamientos.<sup>27</sup>

Las nanoburbujas a diferencia de otras burbujas de mayor tamaño, poseen características únicas como su carga de superficie que les confiere una vida media de hasta 6 meses en condiciones *in vitro*.<sup>28</sup>

Entre las propiedades que tienen las burbujas se encuentra su capacidad de retener gases versus la ocupación del gas disuelto en solución. Esto se explica por la mayor superficie que confieren las nanoburbujas por unidad de área, lo que las hace hasta 200 veces más eficientes que una burbuja normal.<sup>29</sup>

Las burbujas de mayor tamaño tienden a emerger mostrando una mayor fuerza de flotación, mientras que las burbujas más pequeñas permanecen en el medio líquido con mayor facilidad y duración debido a un patrón de movimiento aleatorio o movimiento browniano.<sup>30</sup>

Las nanoburbujas permanecen en el agua o solución salina durante largo tiempo y actúan como una batería que suministra ozono continuamente al agua. Cuando el ozono se va consumiendo, aquéllas van difundiendo más cantidad, manteniendo el nivel de ozono disuelto (la concentración). Las nanoburbujas no se van a la superficie, sino que se distribuyen de forma homogénea dentro del cuerpo de agua.

Las indicaciones terapéuticas del ozono se basan en el conocimiento que la utilización de dosis horméticas, fisiológicas bajas de ozono juegan un papel importante dentro de la célula.<sup>31-34</sup> En el caso de la ozonización de la solución salina se marca con mayor hincapié. Las dosis que se usan en esta técnica son bajas y calculadas por kg de peso del paciente, lo que la hace segura y eficaz.

Como se puede constatar, aplicada a la ozonización, la técnica de nanoburbujeo ha demostrado mejoras significativas en la transferencia de masa, el ozono disuelto residual, la velocidad y el alcance de la eliminación de compuestos respecto a la aplicación de ozono por burbujeo coalescente.

La tecnología de nanoburbujas representa un avance prometedor en la optimización del proceso de elaboración de la solución salina ozonizada.

### **UTILIDAD DE LA SOLUCIÓN SALINA OZONIZADA (SSO3) EN MEDICINA**

La aplicación de la SSO3 bajo nanoburbujeo en medicina es amplia. La SSO3 bajo nanoburbujeo ozoniza mayor cantidad de sangre.<sup>35,36</sup> En un solo procedimiento la SSO3 ozoniza entre 5-6 litros de sangre, optimizando y acortando los tratamientos de forma sustancial, ahorrando de esta forma, tiempo, sufrimiento y costo económico al paciente. Con menos sesiones (1 a 2) se obtienen resultados. Este es uno de los puntos más cruciales de la efectividad de la SSO3 bajo nanoburbujeo.<sup>37</sup>

Otra de las ventajas es que las dosis se calculan por kg de peso del paciente, haciéndola personalizada, segura y eficaz.<sup>38</sup>

Ya se tienen datos sobre la acción SSO3 en insuficiencia renal en pacientes bajo hemodiálisis, en donde la función renal (todos los biomarcadores renales) mejoraron de forma ostensible en comparación a los marcadores arrojados con SSO3 con burbuja coalescente.<sup>39</sup>

Los estudios realizados con SSO3 para tratar la Covid-19 en un hospital de Madrid durante el pico de la pandemia en el 2020, arrojaron datos excepcionales.<sup>40</sup> En 24h las curvas de PCR cayeron en picado. En 72 h la saturación de oxígeno se normalizó. Con 5 sesiones se comenzaron a dar altas. Al 10º día toda la planta Covid había sido dada de alta. No se registraron fallecimientos.

Gracias a la acción antiinflamatoria y antibacteriana del ozono, la irrigación de la vejiga urinaria con agua bidestilada ozonizada bajo nanoburbujeo es prioritaria en el tratamiento de infecciones urinarias recurrentes y resistentes.<sup>41, 42</sup>

En cardiología el uso de la SSO3 está ya demostrado. Las investigaciones de B.A. Korolev et al., entre el 1980 y 1983 demostraron que el ozono, además de la acción bactericida y virucida de la administración parenteral de soluciones ozonizadas, proporciona una protección más eficaz del miocardio frente a la isquemia.<sup>43-45</sup>

Otra de las principales aplicaciones de esta tecnología es en odontología, que ahora se vuelve segura gracias a los prometedores efectos de la irrigación intraoral con solución salina ozonizada o agua bidestilada bajo nanoburbujeo. Los procesos de irrigación subgingival con agua bidestilada ozonizada provoca una rápida inactivación de microorganismos por ruptura de la membrana de la pared celular de los organismos asociados con la lesión.<sup>46</sup>

El uso intraoral de ozono en forma de gas ha sido durante mucho tiempo el método más crítico de aplicación del ozono en odontología, a causa de la dificultad de su administración debido a la aspiración inadvertida o accidental del gas ozono, por su estrecha proximidad con las vías respiratorias superiores del paciente. La SSO<sub>3</sub> bajo nanoburbujeo ha resuelto este gran problema. Es mucho más seguro trabajar con irrigación de solución salina o agua bidestilada ozonizada que aplicar gas seco. Al ser la SSO<sub>3</sub> hemostática y bactericida, la hace una gran aliada en las cirugías.

La irrigación con SSO<sub>3</sub> o agua bidestilada bajo nanoburbujeo es más biocompatible y menos irritante para las células epiteliales que el gas ozono seco. Ideal para irrigación bucal. Las nanoburbujas de ozono provocan perfusiones más profundas, debido a su minúsculo tamaño, y su efecto de cavitación liberan ozono y energía cinética, al mismo tiempo que perturba las biopelículas y destruye los microorganismos.<sup>47</sup>

Por otro lado, reduce la cantidad de especies bacterianas asociadas al biofilm bucal, mitigando la dependencia al uso de antibióticos con su respectiva resistencia que cada día se hace más evidente favoreciendo así la periodontitis y las caries.<sup>48</sup> Por lo que el desarrollo de estas nuevas tecnologías se hace muy necesario y útil.

En diferentes estudios, se ha demostrado su capacidad antimicrobiana y propiedades de cito compatibilidad al ser comparada con otro tipo de enjuagues como la clorhexidina, que actualmente es considerada el estándar de oro.<sup>49-51</sup>

Los desinfectantes de uso clínico suelen ser irritantes y causar problemas cutáneos. El agua ozonizada es única entre los desinfectantes. No daña las células cutáneas y se descompone fácilmente en oxígeno sin generar residuos nocivos. Por otro lado, pierde rápidamente su actividad desinfectante. El agua ozonizada con nanoburbujas, recientemente desarrollada, puede mantener su actividad desinfectante durante mucho más tiempo.

Un estudio tuvo como objetivo examinar los efectos microbicidas de la nanoburbuja tras un almacenamiento prolongado. La concentración de ozono en nanoburbujeo se examinó midiendo el potencial redox de las nanoburbujas. La actividad microbicida se evaluó mediante ensayos de formación de colonias, tras incubar las bacterias con nanoburbujeo durante períodos de tiempo determinados.

Almacenado en congelado a 4°C, la nanoburbuja mantuvo una actividad microbicida apreciable tras un año de almacenamiento. El *Mycobacterium smegmatis*, una de las bacterias más resistentes a los desinfectantes, fue eliminada en 15 minutos. La nanoburbuja fue resistente a la congelación-descongelación.

La nanoburbuja almacenada y congelada mostró suficiente actividad microbicida para eliminar bacterias incluso después de un año de almacenamiento.<sup>52</sup>

La SSO<sub>3</sub> bajo nanoburbujeo remineraliza el esmalte dental, alivia el dolor al raspar y alisar la raíz, detiene el sangrado, por lo tanto, cualquier cirujano puede trabajar en un área aséptica y libre de sangrado.<sup>53</sup> Por último, la SSO<sub>3</sub> bajo nanoburbujeo permite la disolución del sarro,<sup>54, 55</sup> lo que se traduce en una reducción del tiempo de trabajo así como menos dolor para el paciente.

## MATERIALES Y MÉTODO

Para el estudio se usó el generador de ozono con clasificación IIb, el Ozonobaric P® Sedecal® (España)(Fig 1.) Para el nano y el microburbujeo se usaron los dispositivos de cristal cerrados de nano y microburbuja, ASSO3® (Fig 2). El estudio fue realizado en CSI ANALITICA SL, Tres Cantos, Madrid, España, <https://www.csianalitica.com> entre noviembre del 2025 y febrero 2026.



Fig. 1. Generador Ozonobaric P.

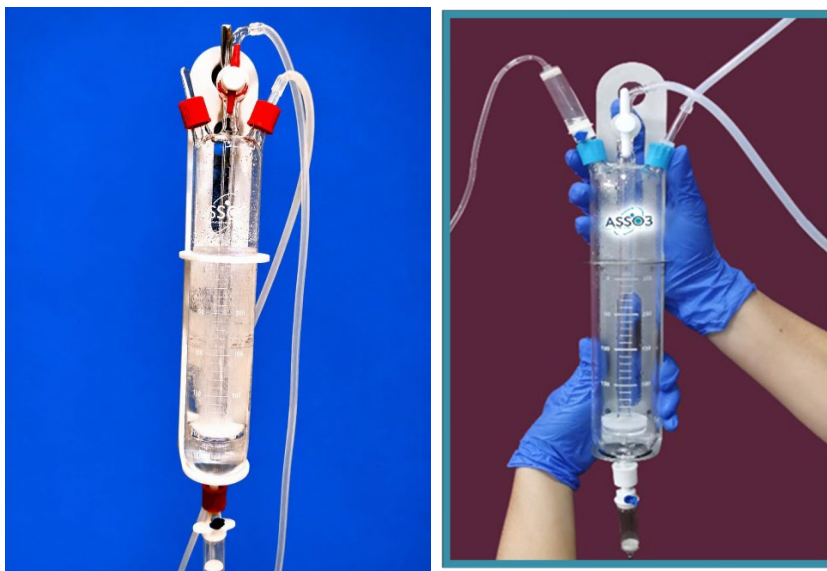


Fig 2. A. Dispositivo de nanoburbujeo. B. Dispositivo de microburbujeo.

### PREPARACIÓN DE MUESTRA Y CONDICIONES ANALÍTICAS

Las estrategias analíticas, la instrumentación y material utilizado, las preparaciones de muestra y los métodos analíticos fueron desarrollados para alcanzar el objetivo y están descritos en documentos propios de CSI Analítica SL. Cabe destacar que en los proveedores de productos químicos habituales para CSI Analítica no se disponen de patrones de ozono debido a su propia naturaleza fisicoquímica.

Con el objetivo de comprobar el funcionamiento del kit de ozono de Merck, se han realizado dos medidas de suero salino. Una con una muestra con y otro sin ozono. Se observa mayor señal de absorción a 550 nm en la muestra que contiene ozono frente a la que no lo tiene. Esto indica que el protocolo es válido para medir ozono en este tipo de muestras.

Bajo nanoburbujeo se borbotea ozono en 250 mL de suero salino 0,9% a (3 y 5) µg/NmL a un caudal de 200 mL/min durante 5 min, pero se observa que la saturación ocurre antes de ese tiempo, a los 3.45 min Para el análisis de ozono se aplica el protocolo del kit ozono Merck y se realizan las medidas de absorbancia introduciendo primero el blanco luego las muestras. Para detectar presencia de bromo y radicales de hidroxilo se usó un espectrofotómetro de masas, (GCMS).

## RESULTADOS

En la tabla 1 se presentan los resultados obtenidos junto al porcentaje de residuales.

### Primera fase. Análisis de unas muestras de suero salino con ozono bajo nano burbujeo.

Se procedió a nanoburbujear con ozono las dos primeras muestras que se analizaron in situ y no precisaron de refrigeración a (3 y 5) µg/NmL de concentración. Para este propósito se utilizó un dispositivo de cristal cerrado, especialmente diseñado para este propósito, ASSO3®, con 250 mL de solución salina (NaCl 0.9%). Luego se procedió a ozonizar 5 muestras más a 3 µg/NmL de concentración para posterior análisis que sí se refrigeraron a 8°C .

Las muestras ozonizadas se hicieron pasar por un analizador de concentración de ozono en líquidos marca BMT964 AQ-LC, Messtechnik GmbH, (Alemania), por un espectrofotómetro Anseros® modelo OZONE MONITOR GM-RTI® (Alemania), por el kit ozono Merck y un espectrofotómetro de masas, (GCMS). El mismo ejercicio se realizó con 250 mL de agua bidestilada bajo dos concentraciones (20 y 80) µg/NmL

Se observó que 3.45 min de nanoburbujeo fueron suficientes para saturar de ozono la solución salina.

Se genera una ecuación de los datos obtenidos para la cuantificación de las muestras.

La ecuación  $Y = 0.0339 X$ , donde Y es la señal de absorbancia y X es la concentración de ozono en la muestra.

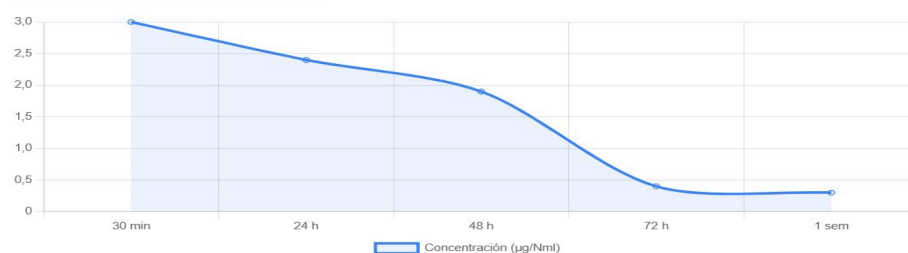
Se preparó una muestra de 250 mL de suero salino 0,9% borboteando por ella ozono a 3 µg/NmL a un caudal de 200 mL/ min durante 5 min. Se preparan cinco viales con 10 mL de la muestra de suero salino con ozono que se guardan bajo refrigeración. Se miden las muestras a diferentes tiempos a 30 min, 24 h, 48 h, 72 h y una semana. Una vez aplicado el protocolo de Merck, las señales de estas medidas y su cuantificación utilizando la ecuación calculada antes de la Tabla 1 se presentan los resultados de absorbancia obtenidos. Los resultados se presentan en la Tabla 2.

**TABLA 1.** Factor de respuesta suero salino 0,9%

| FACTOR DE RESPUESTA SUERO SALINO 0,9% |                                 |       |                                    |                 |  |
|---------------------------------------|---------------------------------|-------|------------------------------------|-----------------|--|
| #                                     | Concentración añadida en µg/NmL | Abs   | Concentración encontrada en µg/NmL | Residuales en % | Tiempo de saturación mínimo en minutos |
| 1                                     | 3                               | 0,099 | 3,0                                | 97              | 5                                      |
| 2                                     | 5                               | 0,171 | 5,0                                | 101             | 5                                      |

**TABLA 2.** Datos obtenidos en suero salino bajo nanoburbujeo.

| <b>SUERO SALINO</b> |                            |       |                         |
|---------------------|----------------------------|-------|-------------------------|
| #                   | Código Muestra<br>3 µg/NmL | Abs   | Concentración<br>µg/NmL |
| 1                   | CS 30 min                  | 0,099 | 3,0                     |
| 2                   | CS 24 h                    | 0,079 | 2,4                     |
| 3                   | CS 48 h                    | 0,063 | 1,9                     |
| 4                   | CS 72 h                    | 0,013 | 0,4                     |
| 5                   | CS 1 semana                | 0,009 | 0,3                     |

**Estabilidad Temporal: Suero Salino****Gráfica 1.** Gráfica de estabilidad de la concentración de ozono en solución salina bajo nanoburbujeo.

**Segunda fase. Análisis de unas muestras de agua bidestilada con ozono bajo nanoburbujeo con agua bidestilada.** Se nanoburbujea ozono en 250 mL de agua bidestilada a (20 y 80) µg/NmL de concentración a un caudal de 200 ml/min durante 5 min. Para el análisis de ozono se aplica el protocolo del kit ozono Merck y se realizan las medidas de absorbancia introduciendo primero el blanco y luego las muestras. En la Tabla 3 se presentan los resultados obtenidos junto al porcentaje de residuales.

**TABLA 3.** Factor de respuesta del agua bidestilada

| <b>Factor de respuesta agua bidestilada</b> |                |                               |       |                                  |               |
|---|----------------|-------------------------------|-------|----------------------------------|---------------|
| #   | Código Muestra | Concentración Añadida, µg/NmL | Abs   | Concentración encontrado, µg/NmL | Residuales, % |
| 1   | CD20           | 20                            | 0,326 | 19,1                             | 95            |
| 2   | CD80           | 80                            | 1,421 | 83,1                             | 104           |

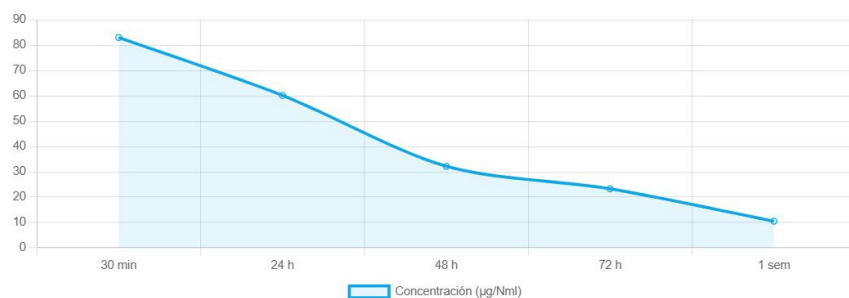
Se genera una ecuación de los datos obtenidos para la cuantificación de las muestras. La ecuación  $Y = 0.0171 X$ , donde Y es la señal de absorbancia y X es la concentración de ozono en la muestra.

Se prepara, una muestra de 250 mL de agua bidestilada borboteando por ella ozono en nanoburbujas a 80 µg/NmL a un caudal de 200 mL/ min durante 5 min. Se preparan 5 viales con 10 mL de la muestra de agua bidestilada con ozono que se refrigeraron. Se miden las muestras a diferentes tiempos a 30 min, 24 h, 48 h, 72 h y una semana. Una vez aplicado el protocolo de Merck, las señales de estas medidas y su cuantificación utilizando la ecuación calculada antes de la Tabla 3 se presentan los resultados de absorbancia obtenidos. Los resultados se presentan en la Tabla 4.

**TABLA 4.** Resultados en agua bidestilada.

| Agua Bidestilada |                |       |                       |
|------------------|----------------|-------|-----------------------|
| #                | Código Muestra | Abs   | Concentración, µg/Nml |
| 1                | CD 30 min      | 1,368 | 80,0                  |
| 2                | CD24 h         | 1,315 | 76,9                  |
| 3                | CD 48 h        | 1,046 | 61,2                  |
| 4                | CD 72 h        | 0,621 | 36,3                  |
| 5                | CD1 semana     | 0,011 | 0,6                   |

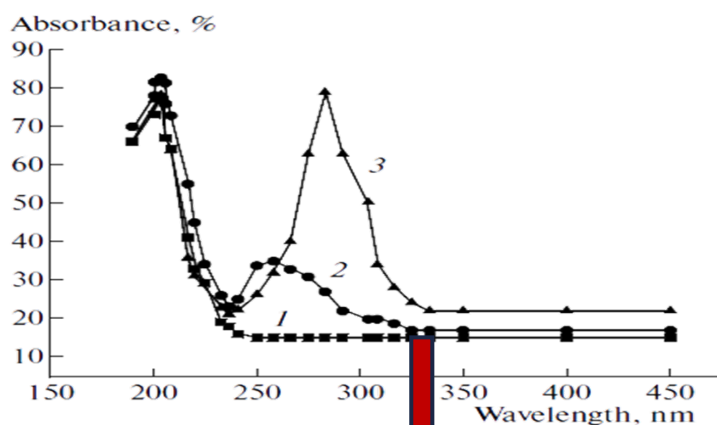
**Estabilidad Temporal: Agua Bidestilada**



**Gráfica 2.** Estabilidad de la concentración de ozono en agua bidestilada bajo nanoburbujeo. **Presencia de Bromo en SSO3.**

En relación a la presencia de bromo en solución salina se observó que entre los primeros 5-8 min de ozonización a bajas concentraciones de ozono el bromo cayó, no se detectó. Si a la gráfica de Razumovski, S. D. se le agrega la longitud de onda de hipobromito ( 330 nm), se observa que este desaparece y no se observa aumento alguno de radicales de hidroxilo. 330 nm de longitud de onda para la detección o espectroscopia del ion hipobromito en agua es un valor normal, muy razonable y característico.

**Gráfica 3.** Espectros UV de soluciones de (1) NaCl 0,9 %; (2) O<sub>3</sub> + NaCl 0,9 %, (3) agua bidestilada.<sup>56</sup>



| Species  | BrO <sup>-</sup> | HOBr | BrO <sup>-</sup> | HOBr |
|--|------------------|------|------------------|------|
| $\lambda$ (nm)   | 330              | 261  | 254              | 254  |
| Absorption coefficient (L mol <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> ) <sup>1)</sup> | 340              | 93   | 90               | 22   |

Aunque el bromuro está presente como impureza en la sal (cloruro sódico), los procesos de fabricación farmacéutica minimizan la conversión a bromato. No hay indicios en los resultados de que el bromato sea un componente relevante en las soluciones salinas 0,9% estándar. Por otro lado ya se ha establecido que a medida que aumenta el pH de ozonización del agua, aumenta la tasa de formación de bromato. Además, la formación de radicales hidroxilo se promueve también a pH alto debido a la mayor concentración de iones hidroxilo presentes y la menor estabilidad del ozono a pH alto. El rango de pH de la solución salina es de 4,5-7,0.

La temperatura también influye. Se ha demostrado que el aumento de la temperatura incrementa la velocidad de formación de bromato. Con ese pH de 4,5-7,0, la presencia de iones de hidroxilo, uso de concentraciones bajas de ozono, y uso de bajas temperaturas en la ozonización, la formación de bromatos se ve muy contrariada.

Químicos rusos demostraron que concentraciones de hipoclorito de sodio en Sol. Salina eran menos de 0.001  $\mu\text{g/mL}$ . Los análisis químicos de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en las muestras de SSO<sub>3</sub> y agua tampoco revelaron acumulación alguna de peróxido de hidrógeno mayor de 0.002%. Tampoco se detectó presencia de bromatos en la solución ozonizando a concentraciones bajas.<sup>56</sup>

No ocurre lo mismo con el agua potable. La formación de bromato es un factor operativo importante al considerar la implementación del ozono, ya que se controla en el agua potable a niveles de alrededor de 0,08  $\mu\text{mol L}^{-1}$ .<sup>57</sup>

El bromato se ha identificado como un posible carcinógeno humano y sus niveles en el agua potable se controlan estrictamente a 10  $\mu\text{g/L}$  en la mayoría de los países desarrollados. Por este motivo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha establecido una concentración guía provisional de 10  $\mu\text{g/L}$  de bromato en el agua potable (OMS, 2004). La legislación de la Unión Europea también especifica que todos los Estados miembros deben aplicar esa concentración

máxima de bromato. (Directiva Europea sobre el Agua Potable. 2008).<sup>58</sup> La normativa de Estados Unidos, también especifica un valor máximo de 10 µg/L (Reglamento de la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (USEPA)).

## CONCLUSIONES

1. El kit de ozono de Merck es adecuado para la medición de ozono disuelto en líquidos acuosos. Lo mismo aplica para el analizador de concentración de ozono en líquidos marca BMT964 AQ-LC, Messtechnik GmbH, (Alemania) y el espectrofotómetro Anseros® modelo OZONE MONITOR GM-RTI® (Alemania).
2. El microburbujeo sostuvo concentraciones por 30 min y se necesitaron 5 min de burbujeo para obtener la saturación. La SSO<sub>3</sub> bajo nanoburbujeo resultó ser más estable y más rápida de saturar. Se observó que 3.45 min fueron suficientes para saturar de ozono tanto el agua bidestilada como el suero salino 0,9%.
3. La concentración de ozono se mantiene en suero salino y agua bidestilada durante el tiempo estudiado, aunque va disminuyendo con el tiempo no compromete su utilidad terapéutica.
4. Al mantenerse la concentración del ozono estable en la solución salina post saturación bajo nanoburbujeo, esta puede administrarse al paciente sin burbujear durante las 24-48 h siguientes, evitando así el riesgo de pasar burbujas al paciente y ocasionar una embolia accidental. Además al sostenerse la concentración por tanto tiempo, la SSO<sub>3</sub> puede transportarse bajo control de temperatura.
5. En el caso del agua bidestilada, esta puede utilizarse durante una semana sin burbujear. Si se mantiene refrigerada el agua durará aún más. Esto permite almacenar el agua en refrigeración y darla al paciente para enjuagues en domicilio.
6. La concentración de ozono en agua bidestilada fue más intensa que en la solución salina, lo cual es comprensible. El agua bidestilada no contiene elementos ni residuos que impidan la disolución del ozono, como ocurre en la solución salina.
7. No se observó en SSO<sub>3</sub> ningún aumento en la producción de radicales hidroxilo ni formación de bromatos.
8. La SSO<sub>3</sub> bajo nanoburbujeo tiene capacidad de mayor biocompatibilidad y penetración en los tejidos.
9. Los desinfectantes de uso clínico suelen ser irritantes y causar problemas cutáneos. El agua ozonizada bajo nanoburbujeo es única entre los desinfectantes. No daña las células cutáneas y se descompone fácilmente en oxígeno sin generar residuos nocivos.
10. En odontología, elimina el riesgo de aspiración accidental de ozono por parte del paciente.
11. De amplia y probada utilidad terapéutica en medicina (urología, cardiología, neurología, endocrinología, tratamiento de heridas y úlceras) y odontología.
12. Al utilizar un dispositivo de cristal cerrado no existe riesgo de toxicidad como con el plástico.
13. El dispositivo al ser cerrado y de cristal, es reutilizable (se esteriliza en autoclave) es ecológico. Abarata el costo económico tanto para el médico como para el paciente.

## **CONSIDERACIONES ÉTICAS**

El trabajo fue aprobado por el comité de ética del Centro de Investigaciones Analíticas de Madrid (CSI Madrid) y Clínica Fiorela S.L.

La realización del tratamiento y la publicación del estudio, garantizando en todo momento el cumplimiento de los principios de confidencialidad, anonimato y ética clínica.

Financiación: El autor declara que este trabajo no ha recibido financiación específica de agencias del sector público y/o comercial. Ha sido realizado sin ánimo de lucro.

Conflicto de intereses: La autora declara no tener ningún conflicto de intereses en relación con el presente trabajo.

La autora es responsable de la concepción del estudio, el diseño metodológico, la revisión de la literatura y la redacción del manuscrito.

## **AGRADECIMIENTOS**

Especiales agradecimientos a los colaboradores de este trabajo que aportaron toda su sabiduría y saber hacer para garantizar que el artículo saliese lo mejor posible. Dr. Carlos Morales M.D. Anestesista. España. Dra. Consuelo Martínez Wbaldo. M.D. Especialidad en docencia e investigación científica. México. Dra. Ana Gossweiler. Odontóloga. USA. Dr. Roberto Quintero. Abogado. Especialista en historia y lengua castellana. España.

## Bibliografía

1. Pongprasert, N. et al. (2020). An alternative technique using ethylene micro-bubble technology to accelerate the ripening of banana fruit. [https://www.researchgate.net/publication/342451180\\_An\\_alternative\\_technique\\_using\\_ethylene\\_micro-bubble\\_technology\\_to\\_accelerate\\_the\\_ripening\\_of\\_banana\\_fruit](https://www.researchgate.net/publication/342451180_An_alternative_technique_using_ethylene_micro-bubble_technology_to_accelerate_the_ripening_of_banana_fruit)
2. Heriyati, E. et al. (2021) Microbubble aerator test and harvest target prediction based on oxygen consumption of red tilapia (*Oreochromis* sp.). <https://www.proquest.com/openview/701e7c72ce32f48710fc705f7aec4759/1?pq-origsite=gscholar&cbl=2046424>
3. Marbelia, L. et al. (2020). A Comparative Study of Conventional Aerator and Microbubble Generator in Aerobic Reactors for Wastewater Treatment. [https://www.researchgate.net/publication/341086903\\_A\\_Comparative\\_Study\\_of\\_Conventional\\_Aerator\\_and\\_Microbubble\\_Generator\\_in\\_Aerobic\\_Reactors\\_for\\_Wastewater\\_Treatment](https://www.researchgate.net/publication/341086903_A_Comparative_Study_of_Conventional_Aerator_and_Microbubble_Generator_in_Aerobic_Reactors_for_Wastewater_Treatment)
4. Ebina, K. et al. Oxygen and air nanobubble water solution promote the growth of plants, fishes, and mice. *PLoS One* 2013, 8, e65339.
5. Azuma et al., 2019. Removal of pharmaceuticals in water by introduction of ozonated microbubbles. *Sep. Purif. Technol.*, 212 (2019), pp. 483-489. View PDF View article. View in Scopus Google Scholar
6. Paucar et al., 2019. O<sub>3</sub> treatment process for the removal of pharmaceuticals and personal care products in wastewater. *O<sub>3</sub>: Sci. Eng.*, 41 (1) (2019), pp. 3-16 Cross ref View in Scopus Google Scholar.
7. Li et al., 2021 Effects of O<sub>3</sub>-microbubble treatment on the removal of residual pesticides and the adsorption mechanism of pesticides onto the apple matrix. *Food Control*, 120 (2021), Article 107548 View PDF View article View in Scopus Google Scholar.
8. Ikehata, K. (2005). Aqueous Pesticide Degradation by Ozonation and Ozone-Based Advanced Oxidation Processes: A Review (Part II). [https://www.researchgate.net/publication/249032482\\_Aqueous\\_Pesticide\\_Degradation\\_by\\_Ozonation\\_and\\_Ozone-Based\\_Advanced\\_Oxidation\\_Processes\\_A\\_Review\\_Part\\_II](https://www.researchgate.net/publication/249032482_Aqueous_Pesticide_Degradation_by_Ozonation_and_Ozone-Based_Advanced_Oxidation_Processes_A_Review_Part_II)
9. Derco, J. et al. (2012). Removal of Selected Micropollutants by Ozonation. [https://www.researchgate.net/publication/233790236\\_Removal\\_of\\_Selected\\_Micropollutants\\_by\\_Ozonation](https://www.researchgate.net/publication/233790236_Removal_of_Selected_Micropollutants_by_Ozonation).
10. Kim et al., 2004. Ozone induced  $\uparrow$ Nrf2 in lungs and livers of B6C3F1 mice. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15192340/>
11. Qu et al., 2011. Effect of ozonized saline activation of the Keap1-Nrf2- ARE in rat hepatocytes. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21645446/>
12. Cho et al., 2013. (Nrf2(-/-)) and wild-type (Nrf2(+/+)) mice.
13. Pecorelli A., et al. "NRF2 activation is involved in ozonated human serum upregulation of OH-1 endothelial cells". 2013 Elsevier. *Toxicology and Applied Pharmacology* 267 (20B 30-40) <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23253326/>
14. Delgado-Roche L., et al. "Medical ozone promotes Nrf2 phosphorylation reducing oxidative stress and pro-inflammatory cytokines in multiple sclerosis patients". *Eur J Pharmacol.* 2017. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28623000/>
15. Rolf Sander: Compilation of Henry's law constants (version 4.0) for water as solvent. April 30, 2015. <https://acp.copernicus.org/articles/15/4399/2015/>
16. Melicia Cintia G. et al.: Effect of water temperature and pH on the concentration and time of ozone saturation. September 18, 2017. <https://www.scielo.br/j/bift/a/pffGD9JdrfzvTJnRzGR7gVn/abstract/?lang=en>
17. Hamamoto S. et al. Effects of pH on nano- bubble stability and transport in saturated porous media. *J Contam Hydrol [Internet]*. 2018;208(December):61–7.

18. Ma L, Wen S, Yuan J, Zhang D, Lu YL, Zhang Y, Li Y, Cao S. Detection of chlorite, chlorate and perchlorate in ozonated saline. *Exp Ther Med*. 2020 Sep;20(3):2569-2576. doi: 10.3892/etm.2020.9005. Epub 2020 Jul 13. PMID: 32765750; PMCID: PMC7401830. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32765750/>
19. Verstraete S, Vanhorebeek I, Covaci A et al (2016) Circulating phthalates during critical illness in children are associated with long-term attention deficit: a study of a development and a validation cohort. *Intensive Care Med*. doi:10.1007/s00134-015-4159-5. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00134-015-4159-5>
20. Ali SN, Ansari FA, Arif H and Mahmood R: Sodium chlorate induces DNA damage and DNA-protein cross-linking in rat intestine: A dose dependent study. *Chemosphere* 177: 311-316, 2017.
21. Boiarinov GA, Riabov SV, Serova AN. et al., Descomposición del ozono en el agua destilada. *Ozono y métodos de terapia eferente en la medicina*, N. Novgorod, 2000. p. 6-7.
22. Boiarinov G.A, Riabov S.V., Serova A.N., et al. Solubilidad del ozono en agua destilada. *Ozono y métodos de terapia eferente en la medicina*, N. Novgorod, 2000, p. 4-5 (en ruso).
23. Obukhova L.M., Kontorshchikova K.N., et al. Descomposición de ozono en soluciones acuosas: cinética y subproductos // *Revista Ozonoterapia*. 2009. Num. 1. vol. 3.Suppl. 49-51
24. Razumovskii SD, Konstantinova ML, Grinevich TV, Korovina GV and Zaitsev VY: Mechanism and kinetics of the reaction of ozone with sodium chloride in aqueous solutions. *Kinet Catal* 51: 492-496, 2010.
25. Zhang Yue et al. Effect of Nanobubble Evolution on Hydrate Process: A Review. *Journal of Thermal Science* Vol.28, No.5 (2019) 948-961. <https://doi.org/10.1007/s11630-019-1181-x> Article ID: 1003-2169(2019)05-0948.
26. Alexander John a, Irene Carra a, Bruce Jefferson a, Lucie Bertolaso a, Adam Brookes b, Peter Jarvis a Enhancement of ozonation using microbubbles – Micropollutant removal, mass transfer and bromate formation. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2023.119369>
27. Christenson, H.K., and V.V. Yaminsky. 1995. "Solute Effects on Bubble Coalescence." *Journal of Physical Chemistry* 99 (25): 10420. doi:10.1021/j100025a052. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/j100025a052>
28. Nirmalkar, N. et al. On the existence and stability of bulk nanobubbles (2018). [https://www.researchgate.net/publication/327431165\\_On\\_the\\_Existence\\_and\\_Stability\\_of\\_Bulk\\_Nanobubbles](https://www.researchgate.net/publication/327431165_On_the_Existence_and_Stability_of_Bulk_Nanobubbles)
29. Mounir Bouaifi et al. A comparative study of gas hold-up, bubble size, interfacial area and mass transfer coefficients in stirred gas-liquid reactors and bubble columns. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*. Volume 40, Issue 2, February 2001, Pages 97-111. Elsevier. <https://www.researchgate.net/publication/244323350>
30. Azevedo, A. et al. Aqueous dispersions of nanobubbles: Generation, properties and features. *Miner Eng* [Internet]. 2016;94(September 2019):29-37. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mineng.2016.05.001>
31. Viviana C., et al. "Exposure to low ozone concentrations induces cytoskeletal reorganization, mitochondrial activity and nuclear transcription in epithelial human cells". *European Journal of Histochemistry* 2015; volume 59:2515 <https://www.ejh.it/ejh/article/view/2515/2339>.
32. Fernández C., et al. "Medida de la concentración del ozono en agua en dosis bajas". *Ozone Therapy Global Journal*. 2019. <https://ozonetherapyglobaljournal.es/medida-de-la-concentracion-del-ozono-en-agua-en-dosis-bajas/>
33. Bocci V. "Is it true that ozone is always toxic? The end of a dogma". *Toxicol Appl Pharmacol*. Nov 1 2006;216(3):493-504. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16890971/>
34. Viebahn-Hänsler R., et al. "Ozone in Medicine: The Low- Dose Ozone Concept. Guidelines and Treatment Strategies". *Ozone Science & Engineering*. 2012;34(6):408-424. <https://haensler-medical.de/wp-content/uploads/2024/07/2012>

35. Schwartz, A. 2023. Estudio sobre Solución Salina Ozonizada (SSO3) Bajo Microburbujeo en Dispositivo de Cristal (ASSO3). Fundamentos, Ventajas y Aplicaciones Clínicas. *Ozone Therapy Global Journal*, vol. 13, nº 1, pp. 11-28, 2023. <https://ozonetherapyglobaljournal.es/>
36. Schwartz, A. (2016). Solución Salina Ozonizada (SSO3): Fundamentos Científicos. *Revista Española de Ozonoterapia*. Vol. 6, nº 1, pp 111-120. [actualmente *Ozone Therapy Global Journal*] <https://ozonetherapyglobaljournal.es/solucion-salina-ozonizada-ss03-fundamentos-cientificos/>
37. Adriana Schwartz. Analysis of Ozone Stability in Saline Solution –Vs- Double-Distilled Water Both Under Nano/Microbubbling. *Open Access J Pharma Sci and Drug*. 2026. 2(2): 1-10. DOI: doi.org/10.61440/OAJPSD.2026.v2.45
38. Schwartz A. “Ozonized Saline Solution (O3SS)”. ISCO3. Met/0025, 2025. <https://isco3.org/wp-content/uploads/2025/04/Ozonized-Saline-Solution-O3SS-Adriana-Schwartz.pdf>
39. Guevara-Aguilar E., et al. “Comparison of Micro bubbling and Conventional Bubbling Methods for Ozonated Saline Solution in CDK patients: Pilot Study”. 2025. *Free Radical Research*, 1-13. <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.>
40. Schwartz A. et al. Complementary application of the ozonized saline solution in mild and severe patients with pneumonia COVID 19. A non-randomized pilot Study. © 2021 *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 9 (2), 126-142, 2021 ISSN 0719-4250. <https://jppres.com/jppres/ozone-in-covid-19/>
41. Saijai S, et al. The Storage Effect of Ozone Fine Bubble Water on Sterilization of *Escherichia coli*. *Int J Plasma Environ Sci Technol*. 2019; 13(2):70–3. <https://doi.org/10.34343/ijpest.2019.13.02.070>
42. Saijai S, et al. Sterilization effects of ozone fine (micro/nano) bubble water. *Int J Plasma Environ Sci Technol*. 2019; 12(2):55–8. <https://doi.org/10.34343/ijpest.2019.12.02.055>
43. Korolev B.A., et al. Nizhny Novgorod, Centro Interregional de Cirugía Cardíaca. Moscú-Rusia. 1ª Conferencia Científico-Práctica de toda Rusia. Ozono en Biología y Medicina. 25-26 de Junio de 1992. Aplicación de solución Salina Ozonizada en pacientes cardioquirúrgicos en corrección de paro cardíaco complicado con endocarditis infecciosa.
44. Boiarinov A. et al. Utilization of Ozonated cardioplegic Solution in myocardium ischemia. *Cardiología №2*, 1983 C116-117
45. Kovalchuk, P.N. et al. Ozone therapy in the rehabilitation of patients with coronary heart disease. [https://medbio.ejournal.by/jour/article/view/94/0?locale=en\\_US](https://medbio.ejournal.by/jour/article/view/94/0?locale=en_US)
46. Adusumilli S. et al. Application of ozone in the treatment of periodontal disease. PMID: 23946585 PMCID: PMC3722714 DOI: 10.4103/0975-7406.113304. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23946585/>
47. Kamichika H. et al. Effects of ozone nano-bubble water on mucositis induced by cancer chemotherapy. Published by Elsevier 2019. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2019.100697>
48. Hayakumo S. et al. Effects of ozone nano-bubble water on periodontopathic bacteria and oral cells - In vitro studies. *Sci Technol Adv Mater*. 2014;15(5):1–7. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5099676/>
49. Takizawa F. et al. (2023) Ozone ultrafine bubble water exhibits bactericidal activity against pathogenic bacteria in the oral cavity and upper airway and disinfects contaminated healthcare equipment. *PLoS ONE* 18(4): e0284115. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0284115>
50. Song M. et al. The antibacterial effect of topical ozone on the treatment of MRSA skin infection. *Mol Med Rep*. 2018; 17(2):2449–55. <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.8148> PMID: 29207120
51. Nagayoshi M. et al. Efficacy of ozone on survival and permeability of oral microorganisms. *Oral microbiol immunol*. 2004; 19(4):240–6. <https://doi.org/10.1111/j.1399-302X.2004.00146.x> PMID: 15209994

52. Seki M, et al. Microbicidal Effects of Stored Aqueous Ozone Solution Generated by Nano-bubble Technology. *In Vivo*. 2017; 31(4):579–83. <https://doi.org/10.21873/invivo>. 11097 PMID: 28652423 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28652423/>
53. Sorokina S.P. Utilización de soluciones ozonizadas en el tratamiento múltiple de enfermedades inflamatorias del periodonto. Tesis doctoral en ciencias médicas. Tver, 1997 (en ruso).
54. Lukinikh L.M. Influencia de la ozonoterapia en el estado higiénico de la cavidad bucal. Ozono y métodos de terapia eferente en medicina. Resúmenes de la 3ª Conferencia Científico-práctica de toda Rusia. N. Nóvgorod, 1998, p.132-133 (en ruso).
55. Takizawa F, et al. (2023) Ozone ultrafine bubble water exhibits bactericidal activity against pathogenic bacteria in the oral cavity and upper airway and disinfects contaminated healthcare equipment. *PLoS ONE* 18(4): e0284115. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0284115>
56. Razumovski, S. D., Konstantinova, M. L., Grinevich, T. V., Korovina, G. V., & Zaitsev, V. Y. (2010). Mechanism and kinetics of the reaction of ozone with sodium chloride in aqueous solutions. *Kinetics and Catalysis*, 51(4), 492-496.
57. P. Jarvis, R. Smith, S.A. Parsons. Bromate formation during drinking water treatment: an assessment of modelling approaches. *Ozone Sci. Eng.*, 29 (6) (2007), pp. 429-442
58. European Drinking Water Directive: Council Directive 98/83/EC.