

Artigo original

## ANÁLISE DA DEGRADAÇÃO DO OZÔNIO EM DIFERENTES TIPOS DE ÁGUA

Fabiele Chieragato<sup>1</sup>; Michele Akemi Nishioka<sup>1</sup>; Patricia Brassolatti<sup>1</sup>; Ana Carolina Araruna Alves<sup>1</sup>; Paola Montañó Flores<sup>2</sup>; Thaysa Raquel<sup>2</sup>; Andrea Daza Montañó<sup>2</sup>; Ruth Esther Rojas Ávila<sup>2</sup>; Daniel Romero Macias<sup>2</sup>; Rafael de Castro Ferreira<sup>3</sup>; Diogo Bonifácio<sup>4</sup>; Patricia Froes Meyer<sup>2,5</sup>; José Ricardo de Souza<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação da Empresa Ibramed – Indústria brasileira de equipamentos médicos, Amparo/SP, Brasil

<sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação Internacional em Fisioterapia Dermatofuncional – Faculdades Inspirar, São Paulo/SP, Brasil

<sup>3</sup>Instituto Rafael Ferreira e Faculdade de Medicina do ABC

<sup>4</sup>Mestrando na Universidade Fernando Pessoa, Porto, Portugal.

<sup>5</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Universidade Potiguar (UnP), Natal/RN, Brasil

<sup>6</sup>Empresa Ibramed – Indústria brasileira de equipamentos médicos, Amparo/SP, Brasil

### Autor Correspondente:

Fabiele Chieragato, Analista, Ibramed – Indústria brasileira de equipamentos médicos

Av. Dr. Carlos Burgos, 2800 - Jardim Itália, Amparo - SP, 13901-080

+55 (19) 38179633 ramal:9679

e-mail: fabiele.ch90@gmail.com

### ► RESUMO

O ozônio é um gás que apresenta diversas aplicabilidades e por isso, vem sendo amplamente investigado nas áreas de pesquisa em saúde. Sua inserção em meios líquidos para finalidades de descontaminação já é bem documentada, e com isso, surge o interesse de sua aplicabilidade em âmbitos de saúde que envolvem tanto tratamentos como também esterilização de componentes. Neste sentido, o uso da água ozonizada pode favorecer diferentes áreas, porém como trata-se de um gás instável, seu processo de degradação em meio líquido sofre influência de vários fatores ambientais que dificultam a padronização da concentração de interesse. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o nível de degradação do gás, após o processo de ozonização de dois diferentes tipos de água, em diferentes períodos de tempo. Para o processo de ozonização da água (destilada e bidestilada) foi utilizado o equipamento Ozion - IBRAMED. A ozonização foi realizada para 500 mL

com um tempo de 2,56 min e concentração de 20 ug/mL. Os resultados obtidos demonstraram que na água destilada a concentração inicial após a ozonização apresentou-se minimamente acima da concentração de interesse. O processo de degradação do gás apresentou-se similar em ambos os tipos de água avaliados permanecendo em aproximadamente metade da concentração inicial após o período de 30 min. Com isso, foi possível concluir que o O<sub>3</sub> é solúvel nos dois tipos de água utilizados, porém sua degradação ocorre de maneira rápida e tempo dependente.

**Palavras Chaves:** Ozônio, água destilada, água bidestilada, processo de degradação

## ► ABSTRACT

*Ozone is a gas that has several applications and, therefore, has been widely investigated in health research areas. Its insertion in liquid media for decontamination purposes is already well documented, and with that, the interest in its applicability in health areas that involves both treatments and sterilization of components arises. In this sense, the use of ozonized water can favor different areas, but as it is an unstable gas, its degradation process in liquid medium is influenced by several environmental factors that make it difficult to standardize the concentration of interest. Therefore, the objective of this study was to evaluate the level of gas degradation, after the ozonation process of two different types of water, in different periods of time. For the water ozonation process (distilled and double-distilled) the Ozion - IBRAMED was used. Ozonation was performed for 500 mL with a time of 2.56 min and a concentration of 20 ug/mL. The results obtained showed that in distilled water the initial concentration after ozonation was minimally above the concentration of interest. The gas degradation process was similar in both types of water evaluated, remaining at approximately half of the initial concentration after a period of 30 min. Thus, it was possible to conclude that O<sub>3</sub> is soluble in both types of water used, but its degradation occurs quickly and time-dependently.*

**Keywords:** *Ozone, distilled water, bidestilated water, degradation process*

## ► INTRODUÇÃO

Ozônio (O<sub>3</sub>) é um gás incolor quando em estado gasoso e possui coloração azul quando em estado líquido, de odor característico, composto por três átomos de oxigênio em uma estrutura dinamicamente instável devido a presença de estados mesoméricos. Sua formação ocorre pela ruptura do oxigênio puro através de exposição a uma descarga elétrica, gerando uma conformação tri atômica com carência eletrônica em seu balanceamento químico, conferindo suas propriedades oxidativas. Embora

seja muito útil na atmosfera por ajudar a absorver os raios ultravioletas, efeitos tóxicos são relatados quando em contato direto ao sistema respiratório por inalação. Entretanto, sua instabilidade permite uma rápida decomposição em oxigênio tornando-se um eficiente agente oxidante para combater microorganismos (1–8)

Os mecanismos de ação do  $O_3$  são sustentados por uma interação direta na membrana celular mediante afinidade pelo ácido graxo poliinsaturado que desencadeia o aumento do estresse oxidativo com ativação também dos produtos anti-oxidantes, ou em alguns casos, de subprodutos (peróxido de hidrogênio, óxido nítrico, radical hidroxila, entre outros) que se formam após contato com as biomoléculas (2,9,10). Mediante tais eventos, o  $O_3$  pode ser utilizado para ações antimicrobianas por sua capacidade de romper as membranas celulares e combater diretamente os microorganismos, mas também pode atuar estimulando vias imunológicas mais específicas, proporcionando alguns benefícios a saúde (9,11–18).

Uma aplicação emergente e com bons relatos é a capacidade de ozonização da água, que pode ser destinado tanto ao tratamento e o controle de pureza, relacionado a área ambiental e biossegurança, quanto para esterilização de objetos e limpeza de regiões teciduais infectadas. A capacidade de dissolução do  $O_3$  em meios fluídos é alta, sendo considerada 10 vezes mais solúvel em água do que o próprio oxigênio, porém deve-se levar em consideração sempre a temperatura e também a qualidade do meio, pois no caso da água por exemplo, impurezas orgânicas e/ou inorgânicas ou até mesmo altas temperaturas, podem provocar alterações no potencial de hidrogênio (PH) e então desencadear sua decomposição (2,6). Outros aspectos a serem levados em consideração quando o intuito é utilizar água ozonizada, é a meia-vida do ozônio nestas condições, que é mais baixa do que quando em estado gasoso, porém ainda não há um consenso na literatura sobre como esta degradação ocorre e qual o tempo que o  $O_3$  consegue permanecer estável em diferentes tipos de água. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi verificar o comportamento da degradação do gás após a ozonização da água mantendo-se na mesma temperatura, porém em dois diferentes tipos de água (água destilada e água bidestilada).

## ► METODOLOGIA

### Local do estudo

O estudo foi realizado pelo Instituto Inspirar mediante parceria estabelecida previamente com a Indústria brasileira de equipamentos médicos - IBRAMED. Para este estudo, o equipamento utilizado foi o Ozion (registro da ANVISA - 10360319022), desenvolvido e fabricado pela IBRAMED.

## ► MATERIAIS E MÉTODOS

Para a identificação da estabilidade após processo de ozonização de líquidos e a determinação do processo de degradação do gás, dois tipos de água foram utilizados, água destilada e água bidestilada. A concentração de ozônio desejada no líquido foi determinada em 20 ug/mL para 500 mL de água. Para a ozonização foi utilizado o protocolo programado para ozonização de água presente no equipamento Ozion, que realiza o cálculo do tempo automaticamente, sendo para a quantidade utilizada em volume de água (500 mL) necessários 2,56 min de exposição do gás na concentração de interesse determinada para este estudo.

### Geração de Ozônio

A produção do  $O_3$  foi obtida pelo método de borbulhamento através da emissão de  $O_2$  puro com vazão de aproximadamente 110 ml/min, utilizando o equipamento (Ozion-IBRAMED) através de um cilindro de oxigênio medicinal (Horto OXI gases, concentração ~99,5%, REMAN indústria e comércio de equipamentos LTDA, Campinas-SP) gerando ao final uma concentração de 90ug/mL de  $O_3$ . Para o experimento foi padronizado o volume de 500mL de água (destilada ou biodestilada) no método borbulhamento contínuo à uma mistura de gás oxigênio/ozônio ( $O_2/O_3$ ) com tempo de exposição de até 2,56 min para cada frasco de água utilizado.

## **Análise da concentração de ozônio em água**

Para análise da concentração de  $O_3$  em meio líquido, foi utilizado o método de coloração oxidativa de N,N'-dietil-p-fenilediamina (DPD) mediante reação de fenton, sendo os resultados expressos em ppm (partes por milhão) ou miligramas por litro (mg/L) de  $O_3$ . A cada período de tempo avaliado, 1mL de água ozonizada foi diluído em 9mL de água controle (destilada ou biodestilada) e em seguida adicionado o conteúdo de 0,15 g do reagente (ozone reagente – Hanna Instruments (HI93757-01)). Em seguida realizou-se a leitura da concentração em 415 nm de absorvância utilizando o equipamento colorímetro compatível (HKMS-101). Após a mensuração de cada amostra, o valor obtido foi inserido na fórmula descrita abaixo para a obtenção do valor da concentração. Para o cálculo foi considerado ainda o fator da diluição e fator de conversão do gás estabelecido pelo gerador do equipamento:

$$\text{VALOR COLORÍMETRO} \times 10\text{mL} \times 4,15 \\ = \text{CONCENTRAÇÃO (ug/mL)}$$

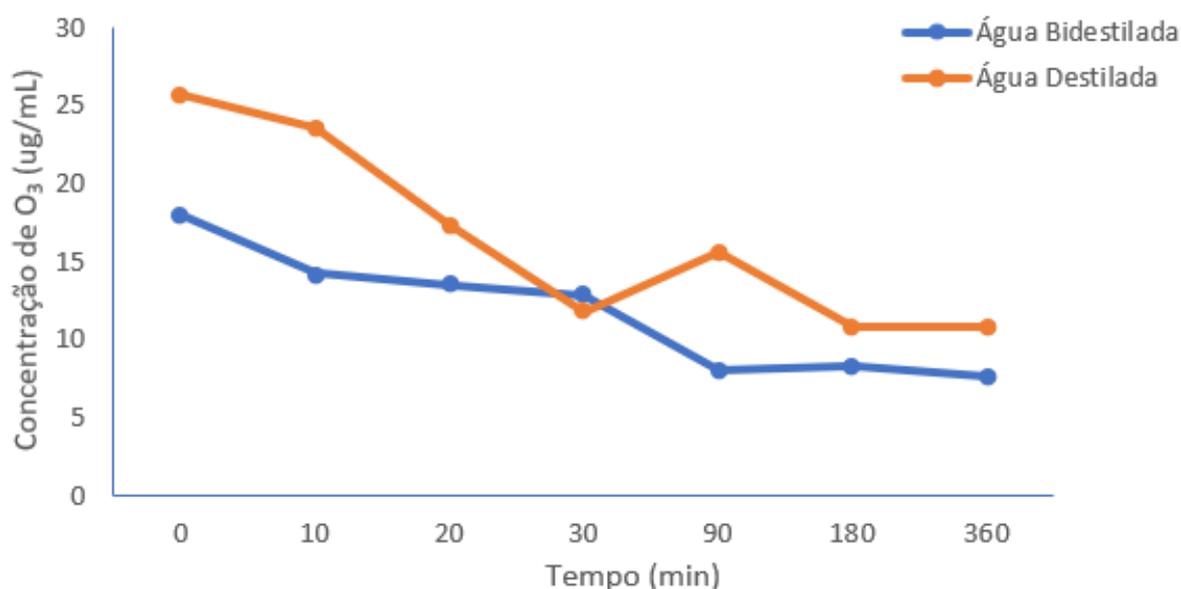
## **Análise estatística**

Os dados obtidos foram expressos considerando a média dos valores de concentração adquiridos para cada período de tempo avaliado. Para cada período avaliado, três amostras distintas de água foram coletadas gerando três valores representativos para cada tempo.

## **Resultados**

Os resultados referentes a degradação do ozônio estão representados em valores de média e demonstraram similaridade na comparação dos dois tipos de água. A primeira coleta de amostra após o processo de ozonização, considerada como o tempo 0, demonstrou diferenças entre os valores de concentração de  $O_3$  obtidos, em que a água destilada apresentou 25 ug/mL, o que pode predizer uma boa solubilidade do gás neste tipo de meio, e a

água bidestilada 17,9 ug/mL, próximo ao valor de interesse. Nos períodos de tempo subsequentes a degradação do  $O_3$  observada também ocorreu de maneira similar, porém decaindo mais rapidamente na água bidestilada com valores de média abaixo de 10 ug/mL após 30 min. Já na água destilada somente após 90 min foi observado que a média da concentração permaneceu próximo a 10 ug/mL, ou seja, metade da concentração inicial, sendo estes valores mantidos até o período de 360 min.



**Figura 1.** – Gráfico representativo da média de concentração de  $O_3$  obtido em água bidestilada e água destilada nos períodos de tempo entre 0 a 360 min.

## ► DISCUSSÃO

As possibilidades de utilização de ozônio inserido em água para terapias complementares vêm ganhando espaço dentre a vasta possibilidade de aplicação advinda de  $O_3$ , porém a estabilização de sua concentração em um

determinado volume de líquido ainda necessita de diversas padronizações, uma vez que variações do meio podem desencadear rápida degradação deste gás (19). Com isso, o objetivo deste estudo foi avaliar o tempo de degradação do gás após a ozonização com 20ug/mL de  $O_3$  em 500mL de duas diferentes condições de água (destilada e bidestilada).

Os achados deste estudo mostram que o tipo de água não interfere significativamente na concentração atingida no meio bem como em sua estabilidade. Relatos prévios da literatura apontam que a estabilidade do ozônio depende em grande parte da matriz hídrica, da temperatura, do PH e tipo de água utilizada. Além disso, produtos de sua degradação devem ser levados em consideração, uma vez que a produção aumentada de  $H_2O_2$  pode promover efeitos tóxicos dependendo da indicação terapêutica (20,21).

Zainuddin et al., 2017 (22) aponta que a concentração de ozônio inserida em água de uso geral foi de 20 mg/L nos primeiros 10 minutos com o método de borbulhamento. De Paula et al., 2021 evidenciaram que o tempo de ozonização para 500 ml de água (para injeção estéril) com concentração de  $O_3$  a 56 mg/L e temperatura entre 19°C e 30°C é de 15 minutos, tempo considerado relativamente maior do que o necessário para o protocolo do equipamento utilizado neste estudo. Além disso, os autores apontam que a alta taxa de degradação do  $O_3$  em meio aquoso dificulta a padronização das doses pois é dependente da especificidade da água a ser utilizada. Yang et al., 2019 (23) investigaram uma cinética de decomposição e demonstraram que o aumento da degradação de  $O_3$  ocorreu de acordo com o aumento do PH e da quantidade de íons inorgânicos presentes no meio. Para fins terapêuticos, a concentração de  $O_3$  considerada ideal encontra-se entre 20-40 ug/mL, portanto além da padronização da concentração o conhecimento sobre o tempo de degradação torna-se uma variável importante para atingir os fins desejados.

Diferentes métodos de produção e vias de administração são reportados quando se trata do uso de  $O_3$  para fins ambientais e para saúde. Cabe ressaltar que a meia vida do  $O_3$  é maior em estado gasoso do que em solução aquosa, então o maior desafio para sua inserção em solução

aquosa é sua instabilidade e rápida degradação. Contudo, existe uma grande dificuldade em estabelecer cientificamente quais os melhores parâmetros e condições para ozonizar a água para fins terapêuticos, pois existe uma grande diversidade de protocolos, com diferentes meios, concentrações e condições sendo avaliados. Devido a isso, estudos futuros que visam a padronização desta técnica ainda são necessários para determinar os melhores protocolos. Informações a respeito de sua decomposição vem sendo exploradas, pois devido ao seu tempo de meia vida descrito de 40 min em uma temperatura de 20°C, seu uso é indicado logo após sua inserção em meio líquido, não sendo interessante fazer longos períodos de armazenamento (2). No âmbito terapêutico, autores investigam a aplicação deste método de ozonização como tratamento e relatam que a utilização de água e óleo vegetal ozonizado é capaz de auxiliar os mecanismos celulares envolvidos na cicatrização de feridas diabéticas (24,25). No aspecto ambiental, relatos positivos também são encontrados com resultados direcionados a descontaminação da água pela capacidade do ozônio em combater tipos diferentes de microorganismos e cepas bacterianas (12,13,19).

Diante do exposto, fica evidente que a ozonização da água possui características interessantes para ser utilizada em descontaminação de poluente, combate de microorganismos e também para fins terapêuticos. Entretanto, com os relatos prévios encontrados na literatura, cuidados para sua produção são necessários, como conhecimento a respeito do meio aquoso a ser ozonizado e controle de suas possíveis variáveis. Além disso, protocolos vêm sendo investigados afim de determinar o tempo necessário para atingir uma concentração adequada para cada tipo de meio aquoso de interesse. Nosso estudo aponta que variáveis do meio utilizado, como tipo de água (destilada e bidestilada) não interferem significativamente na indução da concentração de interesse, sendo também o tempo de degradação deste gás similar após o período de ozonização. Adicionalmente, a partir desta avaliação foi possível observar que o processo de degradação do gás é tempo dependente quando em temperatura ambiente, independentemente do tipo de água utilizado.

## ► CONCLUSÃO

Para a ozonização de meios líquidos, tanto a água destilada como a bidestilada apresentam-se como boas alternativas, uma vez que atinge a concentração desejada e determinada no display do equipamento. Cabe ressaltar que para isso, é necessário um tempo de exposição que já está estabelecido e calculado automaticamente pelo equipamento utilizado, o que facilita o processo. Em relação a degradação do gás, após o período de ozonização, uma instabilidade foi observada, pois houve um decaimento progressivo e constante da concentração até o período de 30 min para a água bidestilada e de até 90 min para a água destilada, permanecendo após isso, com aproximadamente metade da concentração de interesse, ou seja 10 ug/mL. Sendo assim, é possível concluir que o O<sub>3</sub> apresenta instabilidade quando em meio líquido sendo seu uso recomendado logo após o seu processo de ozonização para garantir a concentração previamente estabelecida e adequada para o tratamento.

## ► REFERÊNCIAS

1. Elvis AM, Ekta JS. Ozone therapy: A clinical review. *J Nat Sci Biol Med.* 2011;2(1):66–70.
2. Bocci VA. Scientific and medical aspects of ozone therapy. State of the art. *Riv Ital di Ossigeno-Ozonoterapia.* 2006;5(2):93–104.
3. Schwartz A, Güémez FA, Nazarov SEI, Viebahn-Haensler R, Rieck A, Stefan T. DECLARAÇÃO DE MADRID SOBRE TERAPIA OZÔNICA Documento oficial do ISCO3 [Internet]. 2020. Available from: [www.isco3.org](http://www.isco3.org)
4. Suckling DM, Baker G, Salehi L, Woods B, Foster SP, Paul VL, et al. No 主観的健康感を中心とした在宅高齢者における健康関連指標に関する共分散構造分析 Title. *J Agric Food Chem* [Internet]. 2009;54(1):1–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11270-016-3076-8><http://dx.doi.org/10.1080/02772248.2015.1031668><http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2016.09.073><http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.09.027><http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.02.022>

5. Gardoni D, Vailati A, Canziani R. Decay of Ozone in Water: A Review. *Ozone Sci Eng.* 2012;34(4):233–42.
6. Jordana K, Paula S De, Irrazabal WM. ARTIGO ORIGINAL Determinação da concentração de ozônio em diferentes tipos de soluções aquosas para uso na prática clínica Determination of ozone concentration in different types of aqueous solutions for use in clinical practice Determinación de la concen. 2021;2(1):1–8.
7. Sagai M, Bocci V. Mechanisms of action involved in ozone therapy: Is healing induced via a mild oxidative stress? *Med Gas Res [Internet]*. 2011;1(1):29. Available from: <http://www.medicalgasresearch.com/content/1/1/29>
8. Suh Y, Patel S, Kaitlyn R, Gandhi J, Joshi G, Smith N, et al. Clinical utility of ozone therapy in dental and oral medicine. *Med Gas Res.* 2019;9(3):163–7.
9. Cisterna B, Costanzo M, Nodari A, Galiè M, Zanzoni S, Bernardi P, et al. Ozone activates the NRF2 pathway and improves preservation of explanted adipose tissue in vitro. *Antioxidants.* 2020;9(10):1–15.
10. Ölmez H. 10 Ozone. *Decontam Fresh Minim Process Prod.* 2012;(1).
11. Zeng J, Lu J. Mechanisms of action involved in ozone-therapy in skin diseases. *Int Immunopharmacol [Internet]*. 2018;56(138):235–41. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.01.040>
12. Banach JL, Sampers I, Haute S Van, van der Fels-Klerx HJ. Effect of disinfectants on preventing the cross-contamination of pathogens in fresh produce washing water. *Int J Environ Res Public Health.* 2015;12(8):8658–77.
13. César J, Sumita TC, Junqueira JC, Jorge AOC, do Rego MA. Antimicrobial effects of ozonated water on the sanitization of dental instruments contaminated with *E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans*, or the spores of *B. atrophaeus*. *J Infect Public Health [Internet]*. 2012;5(4):269–74. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiph.2011.12.007>
14. von Gunten U. The basics of oxidants in water treatment. Part B: Ozone reactions. *Water Sci Technol.* 2007;55(12):25–9.

15. Cattell F, Giordano S, Bertiond C, Lupia T, Corcione S, Scaldaferrri M, et al. Ozone therapy in COVID-19: A narrative review. *Virus Res* [Internet]. 2021;291(August 2020):198207. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2020.198207>
16. Güzel-Seydim Z, Bever PI, Greene AK. Efficacy of ozone to reduce bacterial populations in the presence of food components. *Food Microbiol.* 2004;21(4):475–9.
17. Breidablik HJ, Lysebo DE, Johannessen L, Skare, Andersen JR, Kleiven O. Effects of hand disinfection with alcohol hand rub, ozonized water, or soap and water: time for reconsideration? *J Hosp Infect* [Internet]. 2020;105(2):213–5. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2020.03.014>
18. Viebahn-haensler R, Fernández OSL. Ozone in medicine. The low-dose ozone concept and its basic biochemical mechanisms of action in chronic inflammatory diseases. *Int J Mol Sci.* 2021;22(15).
19. Martinelli M, Giovannangeli F, Rotunno S, Trombetta CM, Montomoli E. Water and air ozone treatment as an alternative sanitizing technology. *J Prev Med Hyg.* 2017;58(1):E48–52.
20. Yang W, Both SK, Van Osch GJVM, Wang Y, Jansen JA, Yang F. Performance of different three-dimensional scaffolds for in vivo endochondral bone generation. *Eur Cells Mater.* 2014;27:350–64.
21. Oberdörster G, Oberdörster E, Oberdörster J. Nanotoxicology: An emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect.* 2005;113(7):823–39.
22. Zainuddin NS, Chee FP, Chang JHW, Pien CF, Dayou J. Development and Operational Implementation of a Novel Method for Production of Ozonated Water. *Trans Sci Technol.* 2017;4(3):218–23.
23. Yang P, Luo S, Liu H, Jiao W, Liu Y. Aqueous ozone decomposition kinetics in a rotating packed bed. *J Taiwan Inst Chem Eng* [Internet]. 2019;96(xxxx):11–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2018.10.027>

24. Bocci V, Zanardi I, Huijberts MSP, Travagli V. Diabetes and chronic oxidative stress. A perspective based on the possible usefulness of ozone therapy. *Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev* [Internet]. 2011;5(1):45–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dsx.2010.05.014>
25. Travagli V, Zanardi I, Valacchi G, Bocci V. Ozone and ozonated oils in skin diseases: A review. *Mediators Inflamm*. 2010;2010.

Recebido em 27/07/2023  
Revisado em 30/09/2023  
Aceito em 30/10/2023