

## artículo original

# Aspectos prácticos en ozonoterapia: Comprobación de la concentración de ozono generada /tiempo de vida media del gas en la jeringuilla

**Gregorio Sánchez- Martínez**

Medical Center Beauty Benefits.r.l  
(Ancona. Italia)

---

### Palabras clave

ozono  
estabilidad  
calibración  
densidad  
métodos espectrofotométricos

---

### Resumen

A pesar de los avances alcanzados en la aplicación médica del ozono, algunos aspectos relacionados con la manipulación clínica de este gas no han sido esclarecidos o estudiados con profundidad. El presente trabajo aplicó un método espectrofotométrico simple para el control de la concentración del ozono que proviene de un generador médico. Además se estudió el tiempo de vida media del ozono dentro de una jeringa ubicada en diferentes posiciones. Se demostró como realizando lecturas espectrofotométricas (240 nm) y mediante cálculos matemáticos (que toman en consideración la temperatura y presión ambiental de trabajo) se puede determinar la concentración de ozono que emite el generador de uso clínico, en caso de sospechar que no funciona adecuadamente o que no esté correctamente calibrado. Adicionalmente se demuestra la importancia de usar el gas en los primeros 10 min después de ser generado, en los cuales se pierde el 10% de la dosis inicial. También se comprobó que la posición en que se coloca la jeringuilla, aunque si es aconsejado tenerla con el cono hacia arriba, no es determinante en el manejo del gas.

## ***Practical aspects of ozone therapy: Checking the generated ozone concentration / average lifetime of gas in the syringe.***

---

### **Keywords**

ozone  
stability  
calibration  
density  
spectrophotometric  
measurement

---

### **Abstract**

*Despite the current advances in the medical uses of ozone, some aspects of the clinical handling of this gas have not been clarified and studied property. The present work applies a spectrophotometric method for controlling the concentration of the medical ozone generator. In addition we studied the half life time of the ozone inside a syringe located at different positions. As was demonstrated by performing spectrophotometric measurement (240nm) and by mathematical calculations (taking into account working temperature and pressure) is possible to know the concentration of ozone generated by ozone devices for clinical use. This method is useful in case of doubt about the right functioning of the device or if it suspected a loss of calibration. Additionally, it was demonstrate the importance of using O<sub>3</sub> in the first 10 min after being generated, because the loses of the 10% of the initial dose. Also it was found that the position, in which the syringe is placed, even if advised to have it with the cone up, is not decisive in handling the gas.*

### **Sugerencia sobre cómo citar este artículo:**

Gregorio Martínez Sánchez (2013). Aspectos prácticos en ozonoterapia: Comprobación de la concentración de ozono generada / tiempo de vida media del gas en la jeringuilla. *Revista Española de Ozonoterapia*, vol. 3, nº 1, pp. 67-73.

## 1. Introducción

Durante experimentos en una instalación para la electrificación, en 1975, el físico holandés Mak Van Marumom, descubrió que al pasar un arco eléctrico a través del aire aparecía una sustancia gaseosa con olor característico, que poseía fuertes propiedades oxidantes. En 1840 el profesor de la universidad de Basilea (Suiza), Cristian Frederick Schonbein relacionó los datos de los cambios con las propiedades del oxígeno y la formación de un gas en particular, al cual llamó ozono (de la palabra griega ozein “oloroso”). Schonbein detectó por primera vez la capacidad del ozono para unirse con sustratos biológicos en las posiciones correspondientes a los dobles enlaces.<sup>1</sup>

La utilidad de la ozonoterapia en el tratamiento de diversas patologías se ha ido consolidando en el tiempo. A manera de ejemplo, dos estudios recientes de meta-análisis que aportan una fuerte evidencia científica, demuestran que la ozonoterapia en el tratamiento de la hernia discal, es tan eficiente como la cirugía, pero con un índice mucho menor de eventos adversos y también enormes ventajas en cuanto a los costos.<sup>2,3</sup>

No obstante los avances alcanzados en esta práctica médica, algunos aspectos relacionados con la manipulación clínica de este gas no han sido esclarecidos o estudiados con profundidad. El objetivo del presente trabajo fue aplicar un método espectrofotométrico simple para el control de la concentración del ozono que proviene de un generador médico y estudiar el tiempo de vida media del ozono dentro de una jeringa ubicada en diferentes posiciones.

## Materiales y métodos

El ozono (mezcla O<sub>2</sub>/O<sub>3</sub>) se obtuvo de un generador OzonosanAlpha Plus (Alemania) a partir de oxígeno médico. El generador tiene incorporado un espectrofotómetro interno. Para el cálculo del tiempo de vida media y la comprobación del generador se utilizó un espectrofotómetro externo de simple haz y lámpara de deuterio (LKB, Alemania) ajustado a 254 nm.

Medición de la concentración de ozono: Se tomaron muestras de ozono ajustando el equipo a diferentes concentraciones. Las muestras recogidas en una jeringuilla se inyectaron de manera inmediata en una cubeta de cuarzo de 1 cm, se tapó y se leyó la densidad óptica a 254 nm contra blanco aire. Los experimentos se repitieron 5 veces por cada concentración analizada. Partiendo de los valores de densidad óptica y el coeficiente de extinción molar del ozono (3000 M<sup>-1</sup>. cm<sup>-1</sup> a 273,15 K y 1,103 •10<sup>5</sup>Pa)<sup>4,5</sup> se realizaron los cálculos de la concentración real de ozono. Se calcularon los porcentajes de desviación de las diferentes concentraciones obtenidas con respecto a las que indicaba el control interno del equipo. Los cálculos se basaron en la fórmula de Lambert-Beer, donde:

$C = D.O. / \epsilon \cdot L$ , siendo: D.O., densidad óptica;  $\epsilon$ , coeficiente de extinción molar del ozono (3000 M<sup>-1</sup>. cm<sup>-1</sup>) y L, paso de luz de la cubeta (1 cm).

Se consideraron las modificaciones que ejercen sobre el coeficiente de extinción la temperatura y la presión.

$C = (D.O. / \epsilon \cdot L) \cdot (P_{NTP} / P) \cdot (T / T_{NTP})$ , siendo: P<sub>NTP</sub>, la presión normal (1,103 •10<sup>5</sup>Pa), P la presión a la que se hacen las mediciones; T<sub>NTP</sub> (Temperatura normal, 273,15 K), y T la temperatura a la cual se realizó el experimento (20 °C = 273,1 K).

Para los cálculos, se multiplicó la concentración en (mol/L) por el factor de conversión 48.000 mg/mol para obtener la concentración de ozono en µg/mL.

Estudio del tiempo de vida media de la mezcla O<sub>2</sub>/O<sub>3</sub> en una jeringuilla: Una jeringuilla plástica cono Luer central reutilizable de 50 mL se cargó con una concentración conocida de O<sub>2</sub>/O<sub>3</sub> (20 µg/mL) y se colocó con el cono hacia arriba o hacia abajo con el auxilio de un soporte universal. A tiempo cero y cada 10 min se vertió en una cubeta de cuarzo de 1 cm, 3 mL del contenido de la jeringuilla y se midió la densidad óptica a 254 nm en el espectrofotómetro contra blanco aire. La cinética se siguió por 30 min. Los experimentos se repitieron 5 veces. Se calculó la variación de la concentración en el tiempo, el tiempo de vida media y el tiempo en que se degrada el 90% de la concentración inicial. Se registró la temperatura y la presión de trabajo, que durante el tiempo del estudio se mantuvieron constantes.

Procesamiento estadístico de los datos: El análisis estadístico se inició con la prueba preliminar OUTLIERS para detectar los valores aberrantes. Se calcularon diferentes parámetros descriptivos para las variables analizadas (media y coeficiente de variación). Después se empleó el método ANOVA (una cola) seguido por la prueba de homogeneidad de varianzas (Levene) y la prueba de comparación múltiple (Rangos de Duncan). El nivel de significación estadístico empleado en todos los casos fue como mínimo de  $p < 0,05$ . Para el estudio de la relación existente entre los valores de concentración y densidad óptica se utilizó el análisis de regresión y correlación lineal. Se tomó en cuenta, para validar la aceptabilidad del modelo escogido, los valores obtenidos para la prueba Durbin-Watson en el análisis de residuos. Se reportó el coeficiente de correlación de Pearson. Los datos se procesaron utilizando el paquete estadístico STATISTICA (versión 6) para WINDOWS.

## Resultados y discusión

Los resultados de las mediciones de la densidad óptica de diferentes muestras de ozono y los cálculos de las concentraciones se recogen en la tabla 1.

Tabla 1. Concentraciones calculadas de ozono y su variación con respecto al valor teórico.

Concentración T µg/mL	Densidad Óptica 254 nm	Concentración Cµg/mL	Diferencia T/C	Porcentaje de variación T/C
5	0,281	4,83	0,174	3,48
10	0,563	9,67	0,331	3,31
20	1,12	19,24	0,764	3,82
40	2,45	42,08	-2,078	5,19

T, concentración teórica, se refiere a la indicada en el equipo (OzonosanAlpha Plus, Alemania). C, concentración calculada sobre la base de la fórmula referida en materiales y métodos, a temperatura 273,1 K y presión 1,103 10<sup>5</sup> Pa.

Nota. Los valores de D.O. son el promedio de 5 determinaciones con un coeficiente de variación inferior al 5%.

Como se puede apreciar en la tabla, las variaciones de la concentración que se establecieron en el equipo con respecto a aquellas calculadas mediante el método espectrofotométrico no superan un 10 % (valor medio de la desviación encontrada 3,95 %). Debido a las diferentes fuentes de error del propio método fotométrico, para establecer las concentraciones del ozono, se ha establecido que este tiene una variación de un 10 % con respecto al valor de concentración real.<sup>4</sup> Por lo anterior, una desviación de un 10 % podría ser el límite aceptado para considerar la precisión del equipo. Un problema desde el punto de vista práctico, sería analizar concentraciones de ozono por encima de 40  $\mu\text{g/mL}$  (si el espectrofotómetro no es capaz de detectar una absorbancia mayor de 3), para ello serían necesarias diluciones. Una variante para una dilución gaseosa, sería por ejemplo mezclar 5 mL de oxígeno y 5 mL del ozono, tomando en cuenta el factor de dilución para los cálculos finales.

Aunque los equipos generadores de ozono son calibrados por los fabricantes y deben ser certificados con cierta periodicidad, para garantizar las dosis requeridas en la terapia,<sup>6</sup> el método U.V. propuesto puede servir de apoyo ante cualquier incerteza o para comprobar el funcionamiento en condiciones de presión o temperatura particulares. En general un espectrofotómetro es un equipo común en los laboratorios clínicos de los hospitales. Debe tenerse en consideración que para hacer las mediciones el equipo generador debe estar cerca del espectrofotómetro, de manera que entre la toma del gas y la lectura de la absorbancia trascorra el menor tiempo posible. Es también importante que el espectrofotómetro con que se trabaja esté debidamente calibrado.

En la figura 1, se representa la cinética de degradación del ozono. La concentración de ozono llegó a un 50 % de la concentración inicial a los 32 min en las jeringuillas que se colocaron boca arriba y 30 min en las colocadas boca abajo. La concentración se redujo en un 10 % con respecto a la concentración inicial a los 10 min en las que se colocaron boca arriba y 9 min en las colocadas boca abajo. Tanto para los cálculos de degradación de un 50 % o 10% no se encontraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las dos variantes de posiciones de las jeringuillas usadas.

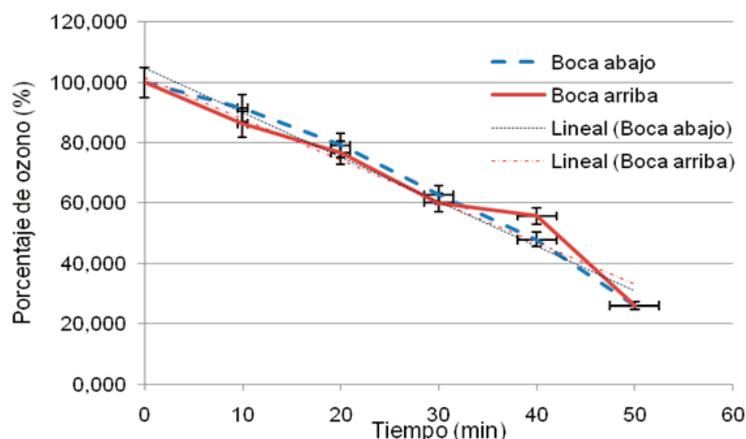


Figura 1. Cinética de degradación del ozono contenido en una jeringuilla de 50 mL cono Luer. Se partió de una concentración de 20  $\mu\text{g/mL}$ . Temperatura de 20 °C, presión 1,103  $\cdot 10^5$  Pa.

Las líneas finas representan las rectas de ajuste lineal. Para las jeringuillas posicionadas boca arriba la ecuación de la recta fue: Porcentaje de degradación =  $72,44 \cdot \text{Tiempo} - 0,703$  ( $r = -0,979$ ) y para las colocadas boca abajo: Porcentaje de degradación =  $70,02 \cdot \text{Tiempo} - 0,663$  ( $r = -0,990$ ). Cada punto representa la media de 5 determinaciones con un coeficiente de variación (representado en las líneas de error) inferior al 5%.

La densidad del ozono es de  $2,14 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$  (a  $273,1 \text{ K}$  y  $1,103 \cdot 10^5 \text{ Pa}$ ),<sup>7</sup> siendo más denso que el aire que en igualdad de condiciones tiene una densidad de  $1,29 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$ . Lo más frecuente en la práctica médica es trabajar con líquidos inyectables. El trabajo con gases que no son visibles al ojo humano implica el conocimiento de otros aspectos como es el caso de la densidad de los gases. En la práctica, al ser el ozono más denso que el aire, tiende a ocupar la posición inferior. Por tanto, colocar las jeringas con el cono hacia abajo favorece la pérdida de ozono. En el experimento descrito en la figura 1, podemos observar que probablemente al originar el cono de la jeringuilla una reducción del flujo (por ser este muy estrecho,  $1,52 \text{ mm}$ ), no se aprecian diferencias significativas en cuanto a la pérdida del ozono, con relación a la posición en que se coloque la jeringuilla. Por otra parte, es de destacar que en unos 10 min la dosis presente en la jeringuilla, en las condiciones ambientales de trabajo, se reduce en un 10 % (quedando un 90 % de la dosis inicial). Lo anterior ratifica el hecho de que el ozono se debe aplicar al paciente en un tiempo muy breve, desde el momento en que es generado.<sup>8,9</sup>

El presente trabajo muestra cómo de una manera simple y con el empleo de un método espectrofotométrico, se puede controlar la concentración de ozono que emite el generador de uso clínico, en caso de sospechar que no funciona adecuadamente o que no esté correctamente calibrado. Adicionalmente se demuestra la importancia de usar el gas en los primeros 10 min después de ser generado y que la posición en que se coloca la jeringuilla, aunque si es aconsejado tenerla con el cono hacia arriba, no es determinante en el manejo del gas.

## **Bibliografía.**

1. Schwartz A, Martínez-Sánchez G. Ozone Therapy and Its Scientific Foundation. *Revista Española de Ozonoterapia* 2012; 2(1): 163-198.
2. De Oliveira Magalhaes FN, Dotta L, Sasse A, Teixeira MJ, Fonoff ET. Ozone Therapy as a Treatment for Low Back Pain Secondary to Herniated Disc: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Pain Physician* 2012 Mar;15(2):E115-29.
3. Steppan J, Meaders T, Muto M, Murphy K J. A meta-analysis of the effectiveness and safety of ozone treatments for herniated lumbar discs. *J VascInterv Radiol* 2010; 21: 534-548.
4. Delgado, M. Ozone concentration measurements. State of the art. *Revista Espanola de Ozonoterapia* 2011;1(1): 87-92.

5. Kerwin Raknessl, Gilbert Gordonz, Bruno Langlaiss, et al. Guideline for Measurement of Ozone Concentration in the Process Gas From an Ozone Generator. *Ozone Science and Engineering* 1996;18:209-229.
6. Re L, Malcangi G, Martinez-Sanchez G. Medical ozone is now ready for a scientific challenge: current status and future perspectives. *J ExplIntegr Med.* 2012; 2(3): 193-196. [doi:10.5455/jeim.070612.ir.012](https://doi.org/10.5455/jeim.070612.ir.012)
7. Menéndez Cepero, Silvia et al. *Ozono Aspectos Básicos y Aplicaciones Clínicas*. Centro de Investigaciones del Ozono, La Habana, Cuba. Ed. CENIC ISBN 959-7145-06-5. (2008).
8. Achwartz Adriana, Claudia Nikolaevna Kontorschikova, Oleg Vitorovich Malesnoko, Gregorio Martínez Sánchez, Lamberto Re, Irina Avenerovna Gribkova. "Guía para el uso médico del ozono - Fundamentos terapéuticos e indicaciones", AEPROMO, 2011, 315 p. + XVIII + 11 p. láminas de color. ISBN: 978-84-615-2244-6
9. AEPROMO, Madrid Declaration on Ozone Therapy, in International Meeting of Ozone Therapy Schools, Madrid, Spain, 2010. [Consultado 17/01/2013]  
[http://www.aepromo.org/declaracion\\_madrid/Declaracion\\_madrid.pdf](http://www.aepromo.org/declaracion_madrid/Declaracion_madrid.pdf)