

# El OLEOZON<sup>®</sup> sobre la viabilidad, la permeabilidad celular y la ultraestructura de *Staphylococcus aureus*

Vicente Curtiellas, Oscar Ledea,\* Sandra Rodríguez,\*\* Odelsa Ancheta,\*\* Mayelin Echevarría,\* Elaine Sánchez e Irán Fernández.

Centro de Investigaciones del Ozono. Avenida 15 y 230., Siboney, Playa. \*Dirección de Química, \*\*Laboratorio de Microscopia Electrónica, Dirección de Biotecnología, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Apartado Postal 6414, Ciudad de La Habana, Cuba. Correo electrónico: oscar.ledea@cnic.edu.cu

Recibido: 16 de noviembre de 2007. Aceptado: 18 de marzo de 2008.

Palabras clave: OLEOZON<sup>®</sup>, aceite ozonizado, *Staphylococcus aureus*, viabilidad celular, permeabilidad celular, ultraestructura.

Key words: OLEOZON<sup>®</sup>, ozonized oil, *Staphylococcus aureus*, cell viability, cell permeability, ultrastructure.

**RESUMEN.** El mecanismo de acción de los aceites vegetales ozonizados sobre los microorganismos no está aún establecido. Dada la naturaleza oxidante de sus principales componentes es posible que ocurran daños en los lípidos insaturados y las proteínas que presentan grupos sulfhidrilos de los microorganismos. No existen evidencias que demuestren los posibles efectos causados por aceites vegetales ozonizados sobre la membrana celular bacteriana, la que constituye uno de los sitios primarios de ataque de numerosos agentes antimicrobianos de elevado poder oxidante. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del OLEOZON<sup>®</sup> sobre la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, en cuanto a la viabilidad, la permeabilidad de la membrana plasmática y posibles variaciones de su ultraestructura. A los 1, 3, 10 y 30 min de exposición al OLEOZON<sup>®</sup>, se realizó un estudio de susceptibilidad de los cultivos y se determinó el contenido de iones K<sup>+</sup> liberados al medio por las células bacterianas, como criterio de alteración de la permeabilidad de la membrana plasmática. Se realizaron exámenes por Microscopia Electrónica de Transmisión a muestras expuestas al OLEOZON<sup>®</sup> durante 30 min y 24 h para evaluar los posibles cambios ultraestructurales. El OLEOZON<sup>®</sup> presentó un marcado efecto bactericida sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, que se manifestó en una disminución de la viabilidad de más del 90 % desde el primer minuto de contacto. El OLEOZON<sup>®</sup> modificó la permeabilidad de la membrana plasmática de *Staphylococcus aureus*, al detectarse la pérdida del contenido intracelular de iones K<sup>+</sup> con posterioridad a la afectación de la viabilidad celular. Este medicamento alteró la ultraestructura de las células de *Staphylococcus aureus*, al provocar la reducción del contenido citoplasmático, aunque no afectó la integridad de la envoltura celular bacteriana. Los cambios encontrados en la viabilidad, la permeabilidad celular y la ultraestructura de *Staphylococcus aureus* aumentaron con el tiempo de exposición al OLEOZON<sup>®</sup>.

**ABSTRACT.** The action mechanism of ozonized vegetable oils on microorganisms is still unknown. According to the oxidant nature of its main components, damages are expected on unsaturated lipids and proteins containing sulfhydryl groups of microorganisms. There is no evidence of effects induced by ozonized vegetable oils on bacterial cell membrane, which is one of the primary attack sites of several antimicrobial agents with a high oxidant power. The aim of this work was to evaluate the effect of ozonized sunflower oil (OLEOZON<sup>®</sup>) on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 strain, considering viability, cell membrane permeability and possible ultrastructural changes. At 1, 3, 10, and 30 min of exposition to OLEOZON<sup>®</sup> a microorganism susceptibility study was done. The content of potassium ions released to media by bacterial cells was employed as a criterion of alteration of the cell membrane permeability. Analysis of transmission electron microscopy to samples exposed to OLEOZON<sup>®</sup> during 30 min and 24 h were applied to evaluate possible ultrastructural changes. OLEOZON<sup>®</sup> showed a strong bactericidal effect on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 strain, which was manifested in a reduction of the viability of more than 90 %, since the first minute of exposition. OLEOZON<sup>®</sup> modified the cell membrane permeability of *Staphylococcus aureus* strain since a reduction of intracellular potassium content took place after the lost of cell viability. This drug altered *Staphylococcus aureus* ultrastructure causing a reduction of cytoplasmic content; nevertheless it did not affect the bacterial cell envelope integrity. The intensity of changes in viability, cell permeability and ultrastructure on *Staphylococcus aureus* increased with the exposure time to OLEOZON<sup>®</sup>.

## INTRODUCCIÓN

El OLEOZON<sup>®</sup> es el primer aceite vegetal ozonizado registrado como medicamento. Este producto ha mostrado una eficaz actividad *in vitro* frente a especies bacterianas Gram positivas y Gram negativas, así como frente a hongos filamentosos.<sup>1-4</sup> La actividad biológica de

los aceites ozonizados se atribuye a especies peroxídicas. Las principales especies peroxídicas triglicéridicas del OLEOZON<sup>®</sup> son:  $\alpha$ -hidroxi-hidroperóxidos, perácidos,  $\alpha$ -aciloxi-hidroperóxidos y ozónidos.<sup>5</sup> Se plantea la hipótesis de que ocurren daños en la membrana celular debido a la oxidación producida por los peróxidos y afectaciones en complejos enzimáticos esenciales para

la célula microbiana.<sup>6</sup> Se afirma además, que la actividad del OLEOZON® puede deberse a un efecto tóxico y no a la interrupción de un proceso metabólico, como es generalmente el caso de los antibióticos convencionales.<sup>3</sup>

El mecanismo de acción de los aceites vegetales ozonizados sobre los microorganismos se desconoce, pero dada la naturaleza de sus principales compuestos es de esperar que ocurran daños en las biomoléculas más sensibles al ataque oxidante, como son los lípidos insaturados y las proteínas que presentan grupos sulfhidrilos. Otros compuestos con similar composición o que contienen algunos de los principales grupos funcionales presentes en los aceites vegetales realizan su acción a través de estos dos grupos de compuestos (lípidos y proteínas).<sup>7,8</sup>

Un estudio reciente demostró que la oxidación de los grupos sulfhidrilos constituye uno de los daños primarios asociados al efecto letal del OLEOZON® sobre *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*,<sup>9</sup> sin embargo, no existen reportes que demuestren las posibles afectaciones causadas por aceites ozonizados a la membrana celular bacteriana, la que constituye uno de los sitios primarios de ataque de antimicrobianos de elevado poder oxidante, como es el caso de estos agentes.<sup>10</sup>

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del OLEOZON® sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en cuanto a: viabilidad, permeabilidad de la membrana plasmática y ultraestructura.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Preparación del inóculo de *S. aureus*

Se empleó la cepa *S. aureus* ATCC 25923. Se utilizaron cultivos de 16 a 18 h en caldo triptona soya, a los que se les realizó una dilución 1 : 10 en caldos frescos y se incubaron durante 3 h a 35 °C. Los inóculos obtenidos fueron lavados dos veces y resuspendidos en disolución estabilizadora de fosfato de sodio 0,01 mol/L a pH 7,5; con lo que se obtuvo una concentración final de 0,5 a 1 · 10<sup>10</sup> unidades formadoras de colonias (UFC)/mL.

### Preparación del OLEOZON®

Se preparó una emulsión empleando OLEOZON®, Tween 80 y disolución estabilizadora de fosfato de sodio 0,01 mol/L a pH 7,5 en proporción de 3 : 2 : 3 (v/v), a la que posteriormente se le aplicó ultrasonido durante 15 min.

### Exposición del inóculo al OLEOZON®

Las suspensiones bacterianas se sometieron a la acción de una concentración de OLEOZON® de 89 mg/mL. A los 1, 3, 10 y 30 min, se tomaron muestras para los estudios de viabilidad y permeabilidad y a los 30 min y 24 h para el estudio por Microscopia Electrónica de Transmisión.

### Estudio de susceptibilidad

La evaluación se realizó según el método de tiempo de muerte.<sup>11</sup> La mezcla de reacción se preparó con 2 mL de inóculo y 2 mL de OLEOZON®. Posteriormente, las muestras se centrifugaron a 6 500 rpm y los precipitados resultantes se lavaron tres veces y resuspendieron en 900 µL de disolución estabilizadora de fosfato de sodio 0,01 mol/L a pH 7,5. Se extrajeron 100 µL de muestra para efectuar el conteo de viables en agar triptona soya. La incubación se efectuó a 35 °C durante 24 h. Como control se empleó una emulsión de aceite de girasol con Tween 80 y disolución estabilizadora de fosfato de sodio 0,01 mol/L a pH 7,5 en proporción de 3 : 2 : 3 (v/v), a la que posteriormente se le aplicó ultrasonido durante 15 min.

Cada análisis se realizó cuatro veces y los resultados se evaluaron mediante análisis de varianza con el auxilio del programa Statgraphics Plus versión 5.0.

### Estudio de permeabilidad de la membrana plasmática

Este estudio se realizó a través de la determinación de la concentración de iones potasio (K<sup>+</sup>) en el medio extracelular. El líquido sobrenadante de la mezcla de reacción y los lavados se utilizaron para determinar el contenido de iones K<sup>+</sup> liberado al medio por las células bacterianas. Las muestras inicialmente se sometieron a una digestión ácida, empleando una mezcla formada por los ácidos: nítrico, sulfúrico y perclórico en proporción de 10:4:1. Luego de digeridas, se realizó la determinación de la concentración de iones K<sup>+</sup> en las muestras mediante espectrometría de absorción atómica con llama aire-acetileno y fotometría de llama, en un equipo Solar 919 (UNICAM). Las condiciones experimentales empleadas fueron: longitud de onda de 768 nm; flujos de aire y acetileno de 4,6 y 1,0 L/min respectivamente. Cada análisis se realizó cuatro veces. Se empleó el programa Statgraphics Plus versión 5.0. para comparar los valores medios del contenido de iones K<sup>+</sup> a los diferentes tiempos de contacto mediante el análisis de varianza.

### Estudio por Microscopia Electrónica de Transmisión

Las pastillas resultantes de la centrifugación se fijaron en glutaraldehído 2,5 % en disolución amortiguadora de cacodilato de sodio 0,1 mol/L a pH 7,4 y posteriormente con tetróxido de osmio 1 % en la misma disolución amortiguadora. Se realizó la deshidratación en etanol y la inclusión en resina Spurr. Los cortes ultrafinos se contrastaron con acetato de uranilo y citrato de plomo y se observaron mediante un Microscopio Electrónico de Transmisión JEOL JEM 100 S (Jeol, Japón) a 80 kV.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Estudio de susceptibilidad

En el estudio de susceptibilidad de la cepa *S. aureus* ATCC 25923 al OLEOZON® se observó un marcado efecto bactericida del medicamento sobre el microorganismo (Fig. 1).

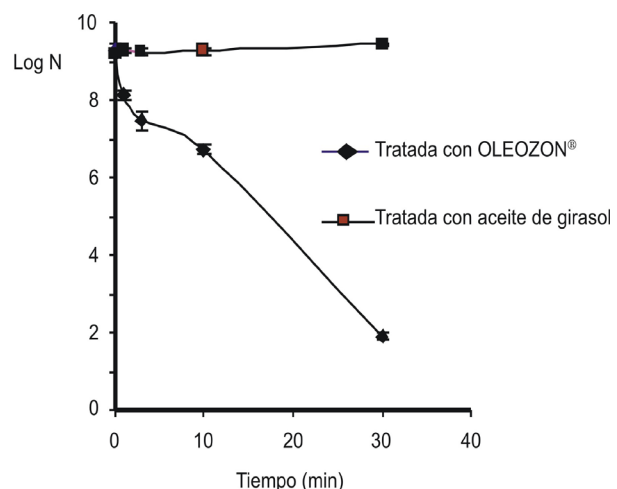
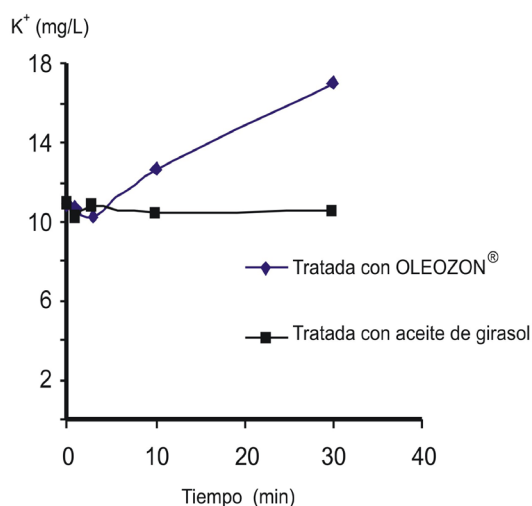


Fig. 1. Susceptibilidad de *S. aureus* al OLEOZON® (89 mg/mL) mediante el método de tiempo. Cada valor representa el promedio de cuatro determinaciones. (N cantidad de UFC).

Transcurrido el primer minuto de contacto entre la cepa bacteriana y el medicamento se alcanzó una letalidad superior al 90 %, lo cual representa una diferencia estadísticamente significativa respecto al número inicial de células viables. A los 30 min de tratamiento se logró la inactivación cercana al 99,9 % de la población inicial, lo que demuestra la elevada sensibilidad que presenta este microorganismo al OLEOZON®. La muestra tratada con aceite de girasol no mostró variaciones estadísticamente significativas durante los 30 min de contacto respecto al número inicial de microorganismos.

### Estudio de permeabilidad de la membrana plasmática

La pérdida del contenido intracelular de iones  $K^+$  es un indicador eficiente de la alteración de la permeabilidad celular bacteriana como respuesta a la acción de determinados agentes antimicrobianos.<sup>12,13</sup> Al enfrentar la cepa de estudio a una concentración letal de OLEOZON® de 89 mg/mL, no se apreciaron diferencias estadísticamente significativas con respecto al control tratado con aceite de girasol durante 3 min de contacto (Fig. 2). A los 10 min se observó una acumulación de iones  $K^+$  en el medio extracelular, significativamente superior al detectado en el control para el mismo tiempo de contacto ( $p < 0,01$ ). Esta diferencia se incrementó a los 30 min, lo que evidencia que la causa del flujo de salida de iones  $K^+$  debe ser la acción de los compuestos presentes en el OLEOZON®.



**Fig. 2.** Efecto del OLEOZON® (89 mg/mL) en la liberación de iones  $K^+$ . Cada valor representa el promedio de cuatro determinaciones.

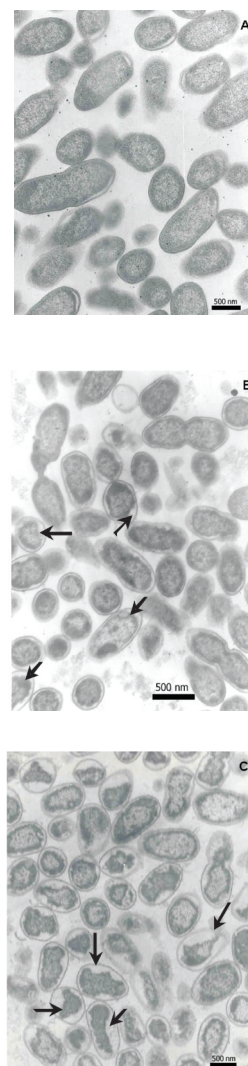
Al relacionar estos resultados con los obtenidos en el estudio de susceptibilidad empleando una concentración de OLEOZON® de 89 mg/mL (Fig. 2), se aprecia que la liberación de iones  $K^+$  se detecta con posterioridad a la pérdida de viabilidad de más del 99,9 % de las células expuestas, lo que sugiere que la alteración de la permeabilidad celular causada por este antimicrobiano, es un fenómeno que se evidencia luego de la pérdida de la capacidad de multiplicación de las bacterias.

No existen reportes sobre posibles alteraciones en la membrana celular causadas por aceites ozonizados. Sin embargo, empleando ozono se han detectado alteraciones en la permeabilidad de la membrana de *E. coli*<sup>8</sup> y *Euglena gracilis*.<sup>14</sup> En ambos casos, se atribuye la alteración a los daños oxidativos causados por el ozono sobre los lípidos y proteínas de membrana. La gravedad

de las lesiones impide que la membrana pueda ejercer su función de barrera, con lo que se origina un flujo no controlado de iones  $K^+$ , que obedece al gradiente de concentración creado por la célula empleando un transporte activo. Daños similares podrían ocurrir al actuar los compuestos presentes en el OLEOZON® sobre las membranas, ya que presentan un alto poder oxidante, aunque inferior al del ozono.<sup>5</sup>

### Estudio por Microscopía Electrónica de Transmisión

Las imágenes obtenidas mediante Microscopía Electrónica de Transmisión muestran que el OLEOZON® provocó la pérdida de parte del contenido citoplasmático de las células, con lo que se observaron espacios vacíos entre la envoltura celular bacteriana y el citoplasma (Fig. 3). Este fenómeno aumentó con el tiempo de exposición al OLEOZON®, no solo en cuanto a la cantidad de células afectadas, sino también, en cuanto a la severidad de la lesión ocasionada: a los 30 min de exposición, se observó en muchas células bacterianas (Fig. 3B); mientras que a las 24 h, la mayoría de las células presentaron una pérdida considerable de su contenido citoplasmático y una mayor separación entre la membrana plasmática y el citoplasma (Fig. 3C).



**Fig. 3.** Células de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. A) Cultivo control no tratado. B, C) Cultivos tratados con OLEOZON®. B) 30 min de exposición, C) 24 h de exposición. Saetas zonas de retracción citoplasmática.



La pérdida de material citoplasmático se considera un indicador de daño grueso e irreversible de la membrana plasmática y otros autores han reportado este tipo de daño en cultivo bacterianos después del tratamiento con agentes antimicrobianos.<sup>15</sup> Sin embargo, en ninguna de las muestras estudiadas se observó daño a nivel de la envoltura celular bacteriana (Fig. 3). Esto puede atribuirse a las condiciones de preparación empleadas (fijación química e inclusión en resina) y al Microscopio Electrónico que se utilizó, cuyo voltaje de aceleración es de 80 kV, pero no puede descartarse la posibilidad de que la membrana plasmática haya sido afectada.

La técnica de inclusión en resinas, usada tradicionalmente en los estudios de bacterias por Microscopía Electrónica de Transmisión, se basa en la extracción del agua celular. Al extraerse el agua del interior de la bacteria, la mayoría de las estructuras se encogen y las macromoléculas cambian su configuración. Actualmente, con el empleo de criotécnicas y criomicroscopios electrónicos cuyo voltaje de aceleración es de 200 kV, es posible estudiar la estructura nativa hidratada de las bacterias, ya que este tipo de técnicas permiten preservar las estructuras de mayor ordenamiento como las capas de la envoltura bacteriana.<sup>16</sup>

En trabajos encaminados a evaluar otros agentes antimicrobianos en cultivos de *Staphylococcus aureus*, se ha considerado el análisis de la liberación de potasio como un indicador sensible de daño de la membrana plasmática,<sup>17</sup> aún cuando por Microscopía Electrónica convencional la envoltura bacteriana no esté afectada.<sup>15</sup>

La pérdida del contenido citoplasmático detectada por Microscopía Electrónica, unido con la pérdida de iones K<sup>+</sup> demostrada en este trabajo, sugieren que el OLEOZON<sup>®</sup>, al igual que otros agentes antimicrobianos de elevado poder oxidante, es capaz de alterar la permeabilidad selectiva de la membrana plasmática de *S. aureus*.

Estos resultados indican que el efecto letal del OLEOZON<sup>®</sup> sobre *S. aureus* puede deberse a la interrupción de uno o varios pasos metabólicos en los que toman parte enzimas que presentan grupos sulfhidrilos u otros sensibles al ataque oxidante de los peróxidos; a la modificación de sistemas de transducción de señales o a la alteración de forma irreversible del balance redox intracelular, siendo la alteración de la permeabilidad celular una consecuencia de estos procesos, o un evento cronológicamente posterior causado también por la acción directa de los peróxidos sobre los lípidos y proteínas de membrana.

## CONCLUSIONES

El OLEOZON<sup>®</sup> presenta un marcado efecto bactericida sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, que se manifestó en cambios en cuanto a viabilidad, permeabilidad celular y ultraestructura, los cuales aumentan con el tiempo de exposición.

El OLEOZON<sup>®</sup> provoca disminución de la viabilidad de *S. aureus* en más del 90 % desde el primer minuto de contacto y modifica la permeabilidad de la membrana plasmática de estas células, al detectarse la pérdida del contenido intracelular de iones K<sup>+</sup> con posterioridad a la afectación de la viabilidad celular. Este medicamento induce la reducción del contenido citoplasmático de las células de *S. aureus*. En las condiciones de trabajo empleadas no se observa afectación de la integridad de la envoltura celular bacteriana.

## AGRADECIMIENTOS

A Tania Valdés y Yahima Harvey, técnicas del laboratorio de Microscopía Electrónica del Centro Nacional de Investigaciones Científicas, por su valiosa contribución durante la preparación de las muestras y en el trabajo fotográfico.

## BIBLIOGRAFÍA

- Lezcano I., Núñez N., Molerio J. y Gómez M. Actividad *in vitro* del aceite de girasol ozonizado (OLEOZON<sup>®</sup>) frente a diferentes especies de bacterias. **Revista CENIC Ciencias Biológicas**, **27**, 46, 1996.
- Lezcano I., Núñez N., Gómez M. and Espino S. Antibacterial activity of Ozonized Sunflower Oil, OLEOZON<sup>®</sup>, against *S. aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. **Ozone Sci. Eng.**, **22**, 207, 2000.
- Sechi L.A., Lezcano I., Núñez N., Espino M., Dupre L., Pinna A., Molicotti P, Fadda G. and Zanetti S. Antibacterial activity of ozonized sunflower oil (OLEOZON<sup>®</sup>). **J. Appl. Microbiol.**, **90**, 279, 2001.
- Rodríguez M., Guerra M., Molerio J., García M. y Díaz W. Actividad antifúngica *in vitro* del OLEOZON<sup>®</sup> pinceladas. **Revista CENIC Ciencias Biológicas**, **26 (Especial)**, 104, 1995.
- Ledeo O., Martínez E., Garcés F., Alaiz M., Díaz M., Dobarbanes C., Molerio J., Hernández C., Rosado A. y Correa T. Aplicación de métodos cromatográficos en el estudio de la composición química del aceite de girasol ozonizado "OLEOZON<sup>®</sup>". **Revista CENIC Ciencias Químicas**, **36**, 2005.
- Viebahn R. Therapeutical efficacy and toxicity of ozone induced peroxides. Proceeding of the 11th Ozone World Congress, San Francisco, USA, 133-144, 1993.
- Nastasijevic I., Nastasijevic B., Postic M., Mitrovic R., Lozance O. and Vrvic M. Investigation of actions of peroxyacetic acids on lipid component of bacterial spores and contribution to standardization of efficiency evaluation test. **Acta Veterinaria (Beograd)**, **55**, 147, 2005.
- Shin S.Y., Bajpai V.K., Kim H.R. and Kang S.C. Antibacterial activity of bioconverted eicosapentaenoic acid (EPA) and docosaheaxenoic acid (DHA) against foodborne pathogenic bacteria. **Int. J. Food Microbiol.**, **113**, 233, 2007.
- Curtiellas V., Gómez M., Ledea O., Fernández I. y Sánchez E. Actividad antimicrobiana del OLEOZON<sup>®</sup> sobre *S. aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. **Revista CENIC Ciencias Biológicas**, **36**, 2005.
- Bünning G. and Hempel D.C. Vital fluorochromization of microorganisms using 3', 6'-Diacetylfluorescein to determine damages of cell membranes and loss of metabolic activity by ozonation. **Ozone Sci. Eng.**, **18**, 173, 1996.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS. Methods for Determining Bactericidal Activity of Antimicrobial Agents. Approved Standard M26 - A. 12. 19, 1-20, 1999.
- Matsuzaki K.S., Harada M., Fuji N. and Koichiro M. Interactions of an antimicrobial peptide, magainin 2, with outer and inner membranes of Gram-negative bacteria. **Biochim. Biophys. Acta**, **1327**, 119, 1997.
- Bredin J., Davin-Régli A. and Jean-Marie P. Propyl paraben induces potassium efflux in *Escherichia coli*. **J. Antimicrobial Chemother.**, **55**, 1013, 2005.
- Chevrier N., Young S. and Fathey S. Oxidative damages and repair in *Euglena gracilis* exposed to ozone. II. Membrane permeability and uptakes of metabolites. **Plant Cell Physiol.**, **31**, 987, 1990.
- Carson C.F., Mee B.J. and Riley T.V. Mechanism of Action of Melaleuca alternifolia (Tea Tree) Oil on *Staphylococcus aureus* Determined by Time-Kill, Lysis, Leakage, and Salt Tolerance Assays and Electron Microscopy. **Antimicrobial Agents Chemother.**, **46**, 1914, 2002.
- Beveridge T.J. Visualizing Bacterial Cell Walls and Biofilms. **Microbe**, **1**, 279, 2006.
- Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Gustafson J.E., Warwington J.R. and Wyllie S.G. Determining the Antimicrobial Actions of Tea Tree Oil. **Molecules**, **6**, 87, 2001.

# TRATAMIENTO DE AGUA CON OZONO

Se aplican experiencias de más de 27 años de trabajo en el estudio de la Química y las Aplicaciones del Ozono, fundamentalmente en el tratamiento de agua, tanto en potabilización como en el desarrollo de tecnologías de desinfección.

Se cuenta con soluciones aplicables en industrias farmacéuticas, biotecnológicas, alimentarias, cosmética, del turismo y embotelladoras de agua mineral y bebidas, así como en instituciones hospitalarias y de investigación científica, en la cría de animales para laboratorios y muchas otras.

## **Obtención de agua potable**

Se posee gran experiencia en la obtención de agua potable con ozono, la cual se aplica en muchas plantas embotelladoras en Cuba.

Las fuentes de abasto pueden ser subterráneas o superficiales. En este último caso, el tratamiento incluye la decoloración.

El fuerte carácter oxidante y desinfectante del ozono permite:

- Disminución o eliminación efectiva de olores, sabores y de color.
- Reducción de la concentración de metales pesados, entre otros, hierro y manganeso a niveles muy bajos.
- Control de contaminantes orgánicos e inorgánicos.
- Destrucción efectiva y rápida de bacterias e inactivación de virus.
- Reducción de la cantidad de cloro necesaria para mantener la concentración residual requerida de desinfectante, lo que reduce la formación de productos clorados que son tóxicos.

## **Tratamiento de aguas de piscina**

Se cuenta con un sistema desarrollado para el tratamiento de agua de piscina en condiciones tropicales, aplicable a piscinas en funcionamiento y a nuevos proyectos, el cual garantiza: mejor desinfección, ausencia de irritación por subproductos de la cloración, seguridad para los bañistas y razonable costo de operación.

## **Tratamiento de aguas residuales de actividades industriales**

El ozono es cada vez más usado para el tratamiento de aguas residuales domésticas e industriales debido a sus numerosas ventajas: disminución de contaminantes orgánicos e inorgánicos, control del olor y el color, incremento de la biodegradabilidad, efectividad en la desinfección, reúso de efluentes en los tratamientos terciarios.

## **Investigaciones y Tecnologías**

La experiencia acumulada posibilita ofrecer:

- Estudios del problema y propuestas de solución.
- Diseño y construcción de la tecnología a la medida.
- Montaje y puesta en marcha.
- Evaluación de la tecnología.
- Servicios garantizados de postventa.



**Centro de Investigaciones del Ozono**

Calle 230 y 15, No. 1313, Siboney, Playa, Apartado Postal 6412, Ciudad de La Habana, Cuba.

Teléfonos: (53-7) 271-9264; 271-2089. Fax: (53-7) 271-0233. E-mail: ozono@infomed.sld.cu <http://www.ozono.cubaweb.cu>