

EL PAPEL DEL OZONO EN LA CALIDAD E INOCUIDAD ALIMENTARIA

THE ROLE OF OZONE IN FOOD QUALITY AND SAFETY

Mónica Liliana García-Bañuelos¹, Alfonso Antero Gardea-Béjar^{1*}, Luz Vázquez-Moreno², Jaqueline García-Hernández¹, Graciela Ávila-Quezada³,
Mauricia Guadalupe Pérez-Tello¹ y Ana María Guzmán-Partida²

¹Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD), Coordinación de Aseguramiento de Calidad y Aprovechamiento Sustentable de Recursos Naturales, Guaymas, Sonora, México. ²CIAD, Coordinación de Ciencias de los Alimentos, Hermosillo, Sonora, México. ³Universidad Autónoma de Chihuahua, Facultad de Ciencias Agrotecnológicas, Chihuahua, Chihuahua, México.

*Autor de correspondencia (gardea@ciad.mx)

RESUMEN

La preferencia del consumidor por alimentos de alta calidad ha promovido la creación de nuevos sistemas de conservación, siendo esto especialmente inducido por factores como la demanda de alimentos mínimamente procesados y la aparición de nuevos patógenos. La tecnología de ozonización proporciona importantes beneficios sobre la calidad de los alimentos, destacando por el principal atributo del ozono como agente antimicrobiano, con un amplio espectro de acción, además de ser una tecnología novedosa en la descontaminación química, reciclamiento de aguas residuales y mejora de propiedades en los alimentos. Hoy en día, esta tecnología presenta una amplia adopción comercial a nivel mundial, contando con importantes aprobaciones de organismos reguladores por ser una alternativa no-térmica, verde y bio-amigable; incluso, su certificación como aditivo alimentario se debe a su naturaleza ecológica de fácil degradación, en comparación con otros métodos. Existen relevantes investigaciones enfocadas a la aplicación del ozono que muestran sus beneficios en variados sectores de esta industria. En el presente artículo se analiza sistemáticamente el papel del ozono en eficientar tanto la inocuidad como la calidad de los alimentos, destacando las propiedades de este compuesto, sus mecanismos de acción y algunas aplicaciones con alto potencial de uso en esta industria.

Palabras clave: Agente antimicrobiano, agente multifuncional, calidad, inocuidad alimentaria, tecnología de ozonización.

SUMMARY

Consumers preference for high-quality foods has promoted the creation of new preservation systems, being especially induced by factors such as the demand for minimally processed food and the emergence of new pathogens. Ozonation technology provides important benefits on food quality, highlighting the main attribute of ozone as an antimicrobial agent, with a broad action spectrum, in addition to being a novel technology in chemical decontamination, wastewater recycling and food properties improvement. At present, this technology is commercially adopted worldwide, with important approvals from regulatory bodies as a non-thermal alternative, green and bio-friendly alternative; even, its certification as a food additive is due to its ecological nature of easy degradation, compared to other methods. There is relevant research focused on ozone uses, that show its benefits in different sectors of this industry. This article systematically analyzes the role of ozone in improving both food safety and quality, highlighting the properties of this compound, its mechanisms of action and some applications with high

potential in this industry.

Index words: Antimicrobial agent, food safety, multifunctional agent, ozonation technology, quality.

INTRODUCCIÓN

Actualmente existe un creciente interés del consumidor por adquirir alimentos procesados inocuos, con características muy parecidas a los naturales o "similares a los frescos"; en consecuencia, esta demanda ha motivado a la industria alimentaria para desarrollar nuevas tecnologías que cubran dichos requerimientos, surgiendo así tecnologías alternativas al tratamiento térmico que son eficientes en la inactivación microbiana. Este conjunto de técnicas emergentes, llamadas no térmicas, permite producir alimentos procesados inocuos, sin alterar en gran medida sus propiedades nutritivas y organolépticas (Herrero y Herrero de Ávila, 2016; Stoica *et al.*, 2013).

La ozonización pertenece a un grupo de tecnologías innovadoras que tiene gran utilidad en la industria alimentaria, al lograr mejorar la calidad microbiológica y vida útil de los alimentos (Baggio *et al.*, 2020). El ozono es una forma alotrópica del oxígeno (O₂), cuya molécula consta de tres átomos, se caracteriza por ser un gas incoloro de baja estabilidad, debido a su rápida tendencia a perder uno de sus átomos, reconvirtiéndose así en O₂; además, presenta un alto potencial de oxidación, lo que le confiere propiedades antimicrobianas (Afsah-Hejri *et al.*, 2020). Aunado a su capacidad antimicrobiana, se le considera un agente multifuncional que puede facilitar la remoción de contaminantes químicos en los alimentos, también se aplica en mejorar las propiedades de calidad de éstos, tales como nutricionales, organolépticas y funcionales, como se discutirá posteriormente (Baggio *et*

al., 2020; Pandiselvam *et al.*, 2020b).

La tecnología de ozonización fue inicialmente de gran utilidad en la desinfección del agua potable, y en 1997 se aprobó su aplicación en el procesamiento de los alimentos. Este poderoso agente oxidante resulta muy eficaz en la inactivación microbiana de los alimentos, inclusive más que el dióxido de cloro o el plasma frío (Martinelli *et al.*, 2017). Aunque el cloro es de amplio uso en esta industria, se ha recomendado su reducción al estar asociado con problemas de salud por sus subproductos cancerígenos; incluso, algunos países europeos lo han prohibido en el procesamiento de productos orgánicos (Martinelli *et al.*, 2017; Pandiselvam *et al.*, 2019a).

Hoy en día, esta tecnología es aplicada con especial énfasis en la industria alimentaria, siendo el ozono un eficiente antimicrobiano, con un amplio espectro de acción, que puede promover la inactivación de agentes patógenos de gran importancia en esta industria, tales como *Escherichia coli*, *Enterococcus spp*, *Clostridium botulinum*, *Bacillus subtilis*, *Clostridium sporogenes* (Luqueta *et al.*, 2017; Pandiselvam *et al.*, 2019a).

Dado que el ozono es un desinfectante muy efectivo contra virus, se considera que el SARS-CoV-2, responsable de la reciente pandemia por COVID-19, es un virus con cápside particularmente susceptible al ozono por la fácil oxidación de su envoltura viral, siendo propuesto dentro de los principales métodos para inactivarlo (Dennis *et al.*, 2020; Tizaoui, 2020). Esta revisión analiza el papel del ozono en la industria alimentaria, las posibles estrategias para desarrollar nuevos procesos industriales de inactivación antimicrobiana y la importancia de esta tecnología para mejorar la inocuidad de los alimentos sin alterar sus propiedades, e inclusive, en algunos casos, para mejorar cualidades nutritivas, organolépticas y funcionales.

MECANISMO DE ACCIÓN ANTIMICROBIANA DEL OZONO

Generalidades sobre el ozono

Definición y propiedades

El nombre del ozono fue propuesto por su olor, a partir del término *ozein* (palabra griega que significa olor). Este es un gas azulado, con olor pungente, cuya molécula está integrada por tres átomos de oxígeno (O_3) con una masa molar de 48 g mol^{-1} y una densidad de 2.14 kg m^{-3} a temperatura ambiente; además, por ser un alótropo de oxígeno es extremadamente reactivo e inestable, con un alto potencial de oxidación/reducción (-2.07 V), lo que le confiere las propiedades antimicrobianas mencionadas; incluso, este potencial es mayor al de otros oxidantes de uso industrial como cloro (-1.36 V), peróxido de hidrógeno

(-1.78 V) y ácido hipocloroso (-1.49 V). Su estabilidad depende de factores como temperatura, pH, presión, materia orgánica y sales minerales; tiene una vida media más corta en agua destilada (20-30 min a $20 \text{ }^\circ\text{C}$) y se reconvierte de inmediato en oxígeno molecular, que en su forma gaseosa resulta más estable (promedio de 12 h en el aire); además, a pH alto se reduce su estabilidad en solución acuosa, proponiéndose valores menores a 6.5 (baja temperatura) para optimizar su estabilidad (Afsah-Hejri *et al.*, 2020; Megahed *et al.*, 2018).

Mecanismo antimicrobiano

Importantes evidencias muestran que el ozono reacciona con los constituyentes celulares de los microorganismos, provocando un desbalance energético que acelera su muerte. Éste actúa a través de mecanismos de oxidación progresiva de compuestos vitales, tales como biomoléculas de la pared celular (proteínas y peptidoglicanos), del citoplasma (enzimas y ácidos nucleicos) y de membranas celulares (lípidos insaturados). Entre algunas formas de acción destacan el daño a los polisacáridos por la ruptura de sus enlaces glicosídicos, la oxidación de los grupos sulfhidrilo presentes tanto en proteínas como en ácidos nucleicos, así como la degradación de los ácidos grasos poliinsaturados reduciéndolos a hidroperóxidos lipídicos y aldehídos. Dado que la envoltura celular es el primer sitio que es dañado por el ozono, se induce una fuga progresiva del contenido, lo que lleva a la lisis celular; lo anterior permite que el ozono reaccione con los ácidos nucleicos (especialmente con la timina, la guanina y el uracilo), dañando sus estructuras y, por tanto, su material genético (Brodowska *et al.*, 2018; Deng *et al.*, 2020; Perry y Yousef, 2011).

En general, se considera que la reactividad del ozono es causada por mecanismos de reacción directa o indirecta, inducidos por eventos de oxidación que le confieren su potente actividad antimicrobiana. El primer mecanismo se presenta cuando la molécula de O_3 reacciona directamente con compuestos de las células microbianas, especialmente con sitios tales como dobles enlaces y algunos grupos funcionales. El segundo mecanismo involucra reacciones indirectas debidas a la acción de los radicales libres que se originan al descomponerse el ozono. Se ha encontrado que cuando el ozono se usa en solución, su descomposición en el agua crea radicales libres como hidroperóxido HO_2 , hidroxilo OH y superóxido O_2^- , pudiendo conducir a mecanismos de inactivación microbiana indirecta. Aunque aún falta investigación acerca de la inactivación microbiana del ozono, estos dos mecanismos se consideran de relevancia (Baggio *et al.*, 2020; Deng *et al.*, 2020).

Diferencias entre los mecanismos de inactivación bacteriana, fúngica y viral

En lo que concierne a la acción del ozono como agente antimicrobiano, se reconoce la existencia de una relación entre las características morfológicas de los microorganismos y su resistencia al ozono; algunos estudios plantean el siguiente orden de resistencia al ozono: hongos > bacterias esporuladas > bacterias no esporuladas > virus (Bataller *et al.*, 2010).

Inactivación bacteriana

Se ha demostrado que el ozono daña a las bacterias al degradar importantes biomoléculas unidas a la pared celular, causando así su ruptura; además, una vez que ingresa a las células degrada proteínas (en particular, sus grupos sulfhidrilos) y ácidos nucleicos, ocasionando la pérdida de sus funciones (Baggio *et al.*, 2020; Megahed *et al.*, 2018). En general, este antimicrobiano puede actuar contra bacterias Gram positivas, siendo más efectivo contra las células vegetativas que frente a las esporas. Es común que la pared celular de las esporas comprenda múltiples capas, confiriéndoles así cierta resistencia (Aguayo *et al.*, 2017; Baggio *et al.*, 2020; Lara-Fernández *et al.*, 2020). Por otro lado, también se reporta la inactivación bacteriana inducida vía el daño a los ácidos grasos poliinsaturados (AGPs) de la pared celular; por ejemplo, se ha encontrado que la sensibilidad de las esporas al ozono correlaciona con este tipo el daño a la envoltura celular, al iniciar una reacción en cadena que transforma a los AGPs en malondialdehído [MDA, $\text{CH}_2(\text{CHO})_2$]; con base en esta reacción de peroxidación lipídica inducida por el O_3 , es posible estimar la tasa de inactivación de esporas por la correlación que existe con la producción de MDA (Pagès *et al.*, 2020).

Inactivación fúngica

Al igual que las bacterias, las especies fúngicas presentan diferencias en sensibilidad al ozono vía el daño inicial a la integridad de la membrana celular (Brodowska *et al.*, 2018). Diversos estudios muestran que el ozono destruye las células de los hongos por la oxidación de los AGPs de su pared celular (Afsah-Hejri *et al.*, 2020); este agente controla el desarrollo de esporas fúngicas, aunque su sensibilidad varía según su tamaño y morfología. Como fue mencionado, el MDA se considera un eficaz indicador de la tasa de inactivación de esporas, por lo que también resulta útil para su estudio en hongos y ha sido evaluado en el grupo de hongos Ascomycota que atacan al manzano: *Venturia inaequalis*, *Botrytis cinerea* y *Neofabreae alba* (Pagès *et al.*, 2020). Comúnmente se ha empleado en forma gaseosa, logrando así una mayor eficiencia en el control de hongos

y sus micotoxinas. Se ha visto que el almacenamiento de productos hortofrutícolas a bajo nivel de ozono inhibe el crecimiento y esporulación del micelio de hongos como *Monilinia fructicola*, *Botrytis cinerea*, *Mucor piriformis* y *Penicillium expansum* (Akbar *et al.*, 2020); también es útil en el control en hongos de huevos de gallina y carne de vacuno (Brodowska *et al.*, 2018); además, el ozono evita la producción de micotoxinas en hongos que pueden ser muy sensibles como *Fusarium*, seguido de *Aspergillus* y *Penicillium* (Afsah-Hejri *et al.*, 2020).

Inactivación viral

El ozono fue reconocido como un importante viricida en 1943, al descubrir su eficiencia para inactivar el Polio virus tipo 1 (Hirneisen *et al.*, 2010). Se considera que los sitios de ataque inicial del ozono a los virus son las proteínas de su cápside (envoltura viral), los sitios receptores de antígenos (importantes para la unión de la célula hospedera) y los ácidos nucleicos en virus sin cápside. El daño a proteínas de la cápside varía según la susceptibilidad de sus aminoácidos a la oxidación por ozono, siendo más sensibles la cisteína, metionina, tirosina, histidina, cistina y fenilalanina; este tipo de daño ha sido identificado en la cápside del bacteriófago f2, integrada en su mayoría por aminoácidos sensibles. Respecto a la variabilidad en sensibilidad al ozono, se reporta que los virus más sensibles son los que carecen de cápside, ya que esta condición facilita el acceso a su ácido nucleico (Hirneisen *et al.*, 2010). Aunque el modo de acción no ha sido elucidado por completo, se reporta que el ozono también puede actuar contra los virus por los dos mecanismos antes descritos (Tizaoui, 2020). Otros ejemplos destacados de inactivación viral por el ozono son los daños dirigidos a la envoltura lipídica vía peroxidación en herpes simple, vaccinia, adenovirus tipo 2 e influenza A (Murray *et al.*, 2008).

Es importante mencionar que la pandemia del COVID-19 (COronaVIrus Disease 2019) se deriva de la enfermedad que ocasionó la cepa mutante del virus (SARS-CoV-2, coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo 2), el cual pertenece a los coronavirus (CoV), que es una numerosa familia de virus que causan desde un resfriado común hasta enfermedades fatales (Díaz-Quiñonez *et al.*, 2020). El ozono es un microbicida promisorio para inactivar a los CoV, teniendo así el potencial para actuar sobre el SARS-CoV-2; además, es un agente eficaz para inactivarlos en medios donde se reporta que contagian, como aerosoles y superficies (Tizaoui, 2020). Respecto a su mecanismo de inactivación, se ha demostrado que el SARS-CoV-2 es del tipo de virus con cápside, por lo que puede ser inactivado por el ozono vía el daño a su cápside y material genético (Dennis *et al.*, 2020; Tizaoui, 2020). En concreto, el ozono se considera especialmente letal

contra los virus ya que ha sido usado con éxito para tratar importantes enfermedades virales como hepatitis, VIH y ébola (Tizaoui, 2020).

EL USO DEL OZONO EN EL PROCESAMIENTO DE ALIMENTOS

En 1909 el ozono se aprobó como conservador de alimentos, siendo usado como antimicrobiano en carne bajo almacenamiento en frío, y en 1939 se adaptó al procesamiento de frutas con el fin de inactivar el crecimiento de levaduras y mohos. A partir del 1982 logró su certificación como un agente "GRAS" (acrónimo con siglas en inglés de "*generalmente reconocido como seguro*"), para referirse a las sustancias usadas como aditivo de alimentos), para ser usado en el tratamiento del agua embotellada. En 1997 consiguió su aceptación en el procesamiento de alimentos para consumo humano por un panel de expertos industriales. Finalmente, en el año 2000 alcanza su aprobación por parte de la Administración de Alimentos y Medicamentos y el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (Chuwa *et al.*, 2020). A continuación, se detallan algunos de sus usos, ya sea como agente antimicrobiano o multifuncional:

El ozono como agente antimicrobiano

En la industria alimentaria es primordial la higiene de las instalaciones que asegure la inocuidad de los alimentos, siendo tradicional el uso de cloro y sus derivados. La cloración es el método que ha predominado, pero la desventaja son sus subproductos con potencial cancerígeno, considerándose eliminarla de los sistemas de purificación de agua potable y los que incluyan materia orgánica. Así, dicha industria se ha enfocado en el desarrollo de métodos alternativos, como la tecnología de ozonización (Pandiselvam *et al.*, 2019a; Prabha *et al.*, 2015). El ozono es más eficaz que otros antimicrobianos disponibles a nivel comercial, tanto en sus formas gaseosa como acuosa; esta última también llamada agua enriquecida con ozono, ozono acuoso o agua ozonizada (Hamil, 2017), éste se ha evaluado en una diversidad de microorganismos, reconociéndose que su nivel de eficiencia varía según el tipo de alimento y carga microbiana; en consecuencia, esta tecnología estará influenciada por factores como temperatura, pH, humedad, turbidez y los involucrados en su procesamiento. El uso incorrecto del ozono puede ocasionar pérdidas en el contenido nutricional o propiedades sensoriales de los alimentos, sobre todo porque dosis altas promueven en gran medida el deterioro oxidativo (Pandiselvam *et al.*, 2019a; Prabha *et al.*, 2015).

Sistemas de limpieza

El agua es primordial al ser indispensable para la mayoría de las operaciones unitarias como el lavado, siendo relevantes las implicaciones ambientales, económicas y tecnológicas. La ozonización se considera una alternativa muy útil, ya que el ozono tiene la propiedad de disolverse eficazmente en agua, generando así una actividad antimicrobiana superior a los agentes más utilizados (tres mil veces superior a la del cloro); además, es un mejor biocida oxidativo que los no-oxidantes, al evitar sabores y olores indeseables (Hamil, 2017; Pandiselvam *et al.*, 2019a; Prabha *et al.*, 2015). El agua ozonizada tiene grandes ventajas para los sistemas de limpieza y reutilización de aguas residuales; incluso, su uso se ha elevado en la industria con gran requerimiento de agua como la de bebidas, vinícola y piscícola (Hamil, 2017); asimismo, el ozono es muy útil en los sistemas del tipo CIP (*Cleaning In Process*, por sus siglas en inglés) al facilitar su inyección de forma directa en la red de fluidos (líneas de tuberías, silos, máquinas de llenado, homogeneizadores y pasteurizadores) y en sistemas como torres de enfriamiento e intercambiadores de calor (Pandiselvam *et al.*, 2019a). Este agente es eficaz en el lavado y se permite recircular el agua en sistemas moderadamente limpios, o desecharla según las reglas industriales (Pandiselvam *et al.*, 2019a; Prabha *et al.*, 2015).

Sistemas para la conservación de alimentos

La preferencia del consumidor por alimentos de calidad ha generado nuevos sistemas de conservación, impulsados por factores como la demanda de alimentos mínimamente procesados, los brotes de patógenos transmitidos por los alimentos y la identificación de nuevos patógenos; por tanto, para la industria alimentaria es prioridad el control microbiano que afecta en gran medida la calidad de los alimentos (Hamil, 2017; Pandiselvam *et al.*, 2019a). Para este propósito, la ozonización es una alternativa prometedora que logra superar dicha reducción regulatoria del control de riesgo microbiano en los alimentos. Numerosos estudios reportan la capacidad del ozono en cumplir con la normativa reglamentaria para el control de especies patógenas comúnmente asociadas con los alimentos, generando importantes evidencias de su acción sobre microorganismos que son de gran preocupación para esta industria; por ejemplo, los responsables de la descomposición de los alimentos (*Zygosaccharomyces bailii* y *Pseudomonas aeruginosa*), los contaminantes fecales (*E. faecalis* y *E. coli*) y los patógenos que causan intoxicaciones alimentarias (*Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* y *Bacillus cereus*) (Pandiselvam *et al.*, 2019a); además, es una tecnología favorable

para la industria enfocada en productos amigables con el ambiente, que se comercializan en la categoría de alimentos orgánicos, con certificación de los tipos orgánicos o elaborado con ingredientes orgánicos, así como en la producción de cultivos orgánicos irrigados (Karaca, 2010; Pandiselvam *et al.*, 2019a).

Es importante mencionar que la ozonización puede ser usada en combinación con otras tecnologías de desinfección, sobre todo en casos especiales donde ésta no logra la inhibición microbiana, sin afectar las propiedades del alimento. Se ha probado la combinación con algunas tecnologías (pasteurización, radiación UV, alta presión y congelación) que resulta eficiente, tanto en el control microbiano como en la mejora de calidad de los alimentos tratados; no obstante, se recomienda considerar otros aspectos de relevancia, como su seguridad, rentabilidad, aceptación por parte del consumidor e implicaciones legales (Pandiselvam *et al.*, 2019a).

El ozono como agente multifuncional

Aunado a su uso en el control microbiano, también se reporta otro tipo de aplicaciones dirigidas a la mejora de la calidad de los alimentos (Pandiselvam *et al.*, 2019a; 2020b; Prabha *et al.*, 2015). A continuación, se describen algunas de sus aplicaciones sobresalientes como agente multifuncional:

Descontaminación de productos químicos

El ozono es eficaz en la degradación de residuos químicos presentes en los alimentos (Christ *et al.*, 2017; Pandiselvam *et al.*, 2020a). Dentro los contaminantes químicos degradados por el ozono sobresalen los relacionados con los plaguicidas, que han sido analizados en grupos por su uso (fungicidas, insecticidas y herbicidas) o clases por su naturaleza química (organoclorados, organofosforados, carbamatos y piretroides). En el caso de fungicidas, como los aplicados en uva (fenhexamida, ciprodinil pirimetan y piraclostrobin ditiocarbamato), la ozonización (10 ppm y 60 min) logra degradarlos hasta un 83 %; de igual manera, el ozono degrada de forma eficaz (hasta en 99 %) a insecticidas aplicados en semillas de trigo y maíz, como el fenvalerato, metomilo, deltametrina y fenitrotión, máxime cuando este tratamiento es aplicado de 5 a 125 mg L⁻¹ O₃, por 10-180 min y flujo de 20-100 L h⁻¹ (Christ *et al.*, 2017).

Por otro lado, las toxinas son contaminantes químicos de peligro en esta industria, siendo importante resaltar el uso del ozono para su control. Destacan los estudios de degradación de micotoxinas producidas por hongos de cereales, como las de *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*

(Christ *et al.*, 2017; Pandiselvam *et al.*, 2020a); asimismo, se reporta el control de micotoxinas en alimentos de primera necesidad como el maíz, donde se consigue inactivar a hongos (*Aspergillus flavus* y *Fusarium verticillioides*) y degradar sus micotoxinas por ozonización a 5 ppm O₃ por 5 días; mientras que en trigo reduce al 95.6 % la infección por *A. flavus* y se degrada el 100 % de aflatoxina B1 (AFB1). En frutos secos, como la nuez de Brasil (*Bertholletia excelsa*) la ozonización, a intervalos de 10 a 31.5 mg L⁻¹ O₃ por 1.5 a 5 h, también logra la eliminación de *A. flavus*, *A. parasiticus* y sus micotoxinas (Christ *et al.*, 2017).

Mejora de las propiedades nutricionales, sensoriales y funcionales

Dado que la ozonización se considera una tecnología bio-amigable, verde y sin dependencia del calor, resulta muy *benéfica* en el procesamiento de alimentos. En lo que respecta a calidad, se incluye la mejora de sus características nutricionales, organolépticas y funcionales (Pandiselvam *et al.*, 2019b).

Para la industria panificadora, la ozonización representa una alternativa innovadora que mejora las propiedades funcionales del almidón; por tanto, su actual prioridad es optimizar procesos que involucran las modificaciones estructurales de variadas fuentes de almidón, elaborando así productos de panificación de mayor calidad. Dichos estudios muestran que el ozono logra mejoras sustanciales en sus propiedades funcionales, tales como textura, retención de humedad e incremento de la vida útil (Barros *et al.*, 2021; Pandiselvam *et al.*, 2019b).

De igual manera, la ozonización se aplica en la mejora de las propiedades funcionales de las proteínas. Estas biomoléculas tienen un papel primordial como ingrediente de importantes formulaciones alimenticias y farmacéuticas, existiendo así una creciente demanda que inclusive incentiva a identificar nuevas proteínas con propiedades funcionales más específicas y consistentes; por consiguiente, se considera una valiosa alternativa que mejora dichas propiedades bajo dosis controladas de O₃ que eviten la oxidación indeseable de la proteína o sus aminoácidos. Un ejemplo son los aislados de proteínas del lactosuero (PLS) y clara de huevo (PCH), sometidos a un tratamiento que incrementa la capacidad de formación y estabilidad de espuma (4.5 ppm O₃, 15 min y 8 °C), con una oxidación de aminoácidos más alta en PCH. Como se mencionó, los altos niveles de O₃ dañan a las proteínas y a ciertos aminoácidos susceptibles de ser oxidados (Uzun *et al.*, 2012).

Otras de las aplicaciones del ozono enfocadas en la mejora de la calidad de los alimentos son las desarrolladas

para la industria hortofrutícola. La ozonización es una tecnología postcosecha ecológica y muy rentable para la conservación de las frutas bajo almacenamiento, ésta es capaz de inducir una rápida desintoxicación vía la reducción del estrés oxidativo; incluso, su combinación con un proceso de enfriamiento gradual y posterior almacenamiento en frío puede elevar los niveles de enzimas antioxidantes (peroxidasa, superóxido dismutasa y catalasa), prolongando así la vida postcosecha y mejorando su calidad (Goffi *et al.*, 2020). En la industria vinícola, este agente multifuncional tiene importantes aplicaciones en el procesamiento del vino. Sobresale su capacidad para activar las vías metabólicas implicadas en la generación de compuestos aromáticos y así inducir la síntesis de compuestos característicos de los vinos, considerándose de gran utilidad para elevar su calidad aromática (Mencarelli *et al.*, 2020).

En la industria semillera, el ozono es un eficaz potenciador de la germinación de semillas, a bajo nivel y en sus formas gaseosa y acuosa (Pandiselvam *et al.*, 2020b). Desde el punto de vista ambiental, es una tecnología eco-amigable para el pretratamiento de semillas, que no crea efectos negativos en las plantas, comparada con los métodos tradicionales que usan cloro. En cultivos como el trigo de invierno, el ozono eleva la eficiencia de germinación y mejora la calidad de las semillas (Avdeeva *et al.*, 2018). También es una tecnología promisorio para el cultivo de maíz, donde incrementa la germinación y longitud de plántulas; además, es benéfica en semilla de baja calidad, por lo que se recomienda su eficaz tratamiento (10 mg L⁻¹ y 30 min) sin importar su calidad (Rosa *et al.*, 2022).

Tecnologías de ozonización en la industria alimentaria

El ozono ha tenido una amplia adopción comercial a nivel mundial, al contar desde hace más de cien años con múltiples aprobaciones por los diferentes organismos gubernamentales. A partir del año 1970, los organismos reguladores de EUA y América Latina lo incluyeron en la lista de antimicrobianos, aprobándose para diversas aplicaciones en la industria alimentaria. Su uso se ha acelerado por el creciente interés en adoptar prácticas más sostenibles, demandadas tanto por consumidores que buscan alimentos más saludables, como por la industria que requiere reglas de seguridad más estrictas, tales como la Ley de Modernización de Inocuidad de los Alimentos, el Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control y el Análisis de Peligros y Controles Preventivos Basado en Riesgos (Hamil, 2017). Hoy en día, el ozono se autoriza para reemplazar los métodos convencionales, aunque sus normas difieren en cada país (Baggio *et al.*, 2020). Las agencias reguladoras establecen un límite de exposición permisible de 0.1 ppm en condiciones de exposición

continua (período de 8 h al día/40 h a la semana) y para una exposición corta se establece un nivel de 0.3 ppm (período de 15 min, sin exceder más de cuatro veces al día); así, el uso de dispositivos de seguridad es de extrema importancia para la seguridad de los trabajadores (Baggio *et al.*, 2020; Ziyaina y Rasco, 2021).

Importancia del ozono en la industria hortofrutícola, cárnica y avícola

El ozono tiene gran aplicación en estas industrias por sus beneficios sobre las técnicas tradicionales de conservación de alimentos. Su principal ventaja es que sólo se requiere una baja concentración de O₃ por un tiempo de exposición corto (Cuadro 1), considerándose así una alternativa verde para la industria alimentaria; esta tecnología mejora la inocuidad de alimentos, casi sin efectos en propiedades nutricionales y sensoriales, aunque aún es necesario seguir optimizando los tratamientos, según su composición y propiedades distintivas (Massoud *et al.*, 2020); por ejemplo, la carne por su alto nivel de grasa demanda una mayor dosis de ozono, en comparación con los productos hortofrutícolas bajos en grasa y con alto nivel de carbohidratos (Kim *et al.*, 2003). Algunas aplicaciones de relevancia del ozono en la industria alimentaria son las siguientes:

Industria hortofrutícola

Importantes patentes consolidan a la ozonización en la conservación de los productos hortofrutícolas, registrándose un alza en esta área agroalimentaria, con trabajos científicos y tecnológicos que valoran sus alcances y limitaciones. Esta tecnología logra elevar el grado de desinfección sin generar efluentes con alta carga contaminante, permitiendo así el reúso del agua de lavado y, de manera concomitante, la disminución del consumo de agua en este importante sector productivo (Bataller-Venta *et al.*, 2010).

El proceso de lavado con ozono reduce en gran medida la carga microbiana inicial de los productos hortofrutícolas, evitando la cuestionada práctica tradicional de lavado con cloro. También es una alternativa en el área de postcosecha, con productos en fresco o almacenados para su control de mercadeo, siendo eficaz a niveles relativamente reducidos (Cuadro 1) (Bataller-Venta *et al.*, 2010); además, es de gran interés su capacidad para promover diversas respuestas fisiológicas positivas (síntesis de antioxidantes, poliaminas, etileno, compuestos fenólicos, resveratrol y fitoalexinas) y conferir mayor resistencia microbiana (Pretell-Vásquez *et al.*, 2016).

Cuadro 1. Estudios de inactivación microbiana con ozono en productos de origen vegetal y animal.

Matriz	Inactivación microbiana	Ozonización (nivel, tiempo y temperatura)	Eficiencia/ Observaciones	Referencia
Manzana	<i>E. coli</i> O157:H7	23-30 mg L ⁻¹ 3 min	Superficie: hasta 3.7 log Tallo-cáliz: 1 log	Ziyaina y Rasco (2021)
Arándano (Blueberry)	<i>E. coli</i> <i>Salmonella</i>	5 % (p/p) 64 min	<i>E. coli</i> O157:H7: 2.2 log <i>Salmonella</i> entérica: 1.0 log	Ziyaina y Rasco (2021)
Papa (rodajas)	Mesófilos, psicrótrofos, hongos, leva.	5 % (p/p) 15-30 min	Calor: 60 °C/10 min y 100 °C/5 min, seguido de ozonización dentro de empaque: sin crecimiento hasta 4 semanas, a 4 °C.	Ziyaina y Rasco (2021)
Lechuga	<i>E. coli</i> , <i>Listeria</i>	2 ppm 2 min 10 °C	Reducción de <i>E. coli</i> O157:H7 y <i>L. monocytogenes</i> (2 log CFU g ⁻¹). Apariencia y calidad organoléptica hasta por 9 días	Sarron <i>et al.</i> (2021)
Lechuga, espinaca y perejil	<i>E. coli</i> , <i>Listeria</i>	2 mg L ⁻¹ (acuoso) 950 µl L ⁻¹ (gas) 20 min	Forma acuosa (3 vegetales): <i>E. coli</i> (2.0 log) y <i>L. innocua</i> (2.2 log). Forma gaseosa (perejil): <i>E. coli</i> (1.0 log) y <i>L. innocua</i> : (1.5 log)	Karaca y Velioglu (2014)
Chile morrón	Mesófilos, psicrótrofos y hongos.	0.7 µL L ⁻¹ (gas) 3 min	Producto fresco cortado: mesófilos (2.5 log), psicrótrofos (3.3 log) y hongos (1.8 log)	Horvitz y Cantalejo (2014)
Pistaches	<i>E. coli</i> , <i>Bacillus cereus</i>	0.1, 0.5 y 1.0 ppm, 360 min, 20 °C y 70 % HR	Mayor eficiencia en su inhibición, conforme aumentó el nivel de O ₃	Brodowska <i>et al.</i> (2018)
Carne de res	<i>E. coli</i> , mesófilos aerobios, heterótrofos totales	154 × 10 ⁻⁶ kg m ⁻³ 3 y 24 h, 0 y 4 °C	En la condición de 24 h y 0 °C hay reducción de <i>E. coli</i> (0.7 log ₁₀) y mesófilos (2.0 log ₁₀). Tiempos más cortos (3 h) reducen a <i>E. coli</i> y poblaciones microbianas posteriores en 0.6-1.0 log ₁₀ y 0.5 log ₁₀	Khanashyam <i>et al.</i> (2022)
Carne de res	<i>E. coli</i> , <i>S. typhimurium</i> y coliformes	Agua ozonizada 1 %, 7 y 15 min	Reducción de las poblaciones de dichos microorganismos, a los 15 min. Con 7 min sólo se logra inactivar a alguno de ellos	Khanashyam <i>et al.</i> (2022)

Cuadro 1. Continúa.

Matriz	Inactivación microbiana	Ozonización (nivel, tiempo y temperatura)	Eficiencia/ Observaciones	Referencia
Carne de res (corte)	<i>Clostridium perfringens</i>	5 ppm, seguido de calor a 55 °C	Corte tipo London broil beef: reducción en células vegetativas (2.1 log) y esporas (0.9 log)	Ziyaina y Rasco (2021)
Carne de res (canal)	<i>E. coli</i> y <i>Salmonella</i>	95 mg L ⁻¹ (agua ozonizada)	Reducción similar de ambos patógenos: <i>E. coli</i> 0157:H7 y <i>Salmonella typhimurium</i> .	Brodowska et al. (2018)
Pollo crudo	<i>Listeria</i>	33 mg min ⁻¹ , 1 y 9 min	A los 9 min logró ser eficaz para inactivar 2×10 ⁶ CFU g ⁻¹ de <i>L. monocytogenes</i> .	Khanashyam et al. (2022)
Filetes de pollo	<i>Bacterias aerobias mesófilas</i>	0.21 y 0.38 mg L ⁻¹ , 40, 80 y 120 min, 3, 26 y 37 °C	A la condición de 0.38 mg L ⁻¹ , 120 min y 3 °C se logra una reducción en CFU g ⁻¹ de hasta log 1. Ambos niveles de O ₃ las reducen, hasta 0.4 log y 0.9 log, respectivamente	Khanashyam et al. (2022)
Piel de pollo	<i>Salmonella Pseudomona</i>	> 2000 ppm, 30 min	<i>S. infantis</i> y <i>P. aeruginosa</i> : < 1 log. Sin efecto negativo en sus propiedades sensoriales	Al-Haddad et al. (2005)

Referente a los productos en fresco, se ha mostrado que la ozonización es muy eficaz en mejorar su inocuidad y calidad. A escala industrial, se reconocen como casos de éxito al sector empacador de fresa, que en 1998 adecuó un sistema de lavado con agua ozonizada (3 mg L⁻¹) para reducir la carga microbiana y ampliar su vida útil; la industria manzanera, con su práctica exitosa del proceso de lavado para control de hongos por métodos de canal (0.1 mg L⁻¹ O₃) y ducha de agua (1-3 mg L⁻¹ O₃), así como adaptaciones relevantes del sector hortofrutícola para el control microbiano en sus líneas de producción (Bataller-Venta et al., 2010; Kim et al., 2003; Sarron et al., 2021; Ziyaina y Rasco, 2021).

Para la industria de jugos, esta tecnología que no utiliza calor es útil para controlar patógenos que sobreviven al ambiente ácido (Patil et al., 2009). Se considera que ésta puede ser una opción más segura para su fabricación, al ser capaz de reconvertirse en O₂; además, logra ser adaptada en variados jugos, como naranja, melón cantalupo, durazno, manzana y mango (Supian et al., 2022). Otros usos valiosos para este sector son su capacidad de alargar la vida útil de los jugos, reducir la generación de etileno

en frutos, degradar residuos químicos y producir jugos orgánicos (Karaca, 2010).

En la industria de deshidratados (cereales, oleaginosas, frutos secos y especias), el ozono en su forma gaseosa consigue inactivar microorganismos, siendo eficaz al optimizar la temperatura y humedad relativa. Como se mencionó, un atractivo beneficio del ozono es ser antifúngico/anti-micotoxigénico y degradar a micotoxinas que causan serios problemas de contaminación (Afsah-Hejri et al., 2020; Christ et al., 2017; Ouf y Ali, 2021; Pandiselvam et al., 2020a).

Industrias cárnica y avícola

La vida útil de la carne, además de los procesos naturales de degradación, depende de la cantidad y la diversidad de su población microbiana; además, se considera que un número significativo de intoxicaciones por los alimentos se debe a productos cárnicos crudos, que suelen contaminarse con bacterias patógenas como *L. monocytogenes*, *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., entre otras bacterias entéricas; por tanto, la ozonización,

ya sea en su formas acuosa o gaseosa, es una opción muy eficiente para prevenir el crecimiento microbiano en los productos cárnicos (Kim *et al.*, 2003; Ziyaina y Rasco, 2021).

El mantenimiento de la inocuidad alimentaria en esta industria debe iniciar desde el sacrificio, y continuar bajo un control estricto en su procesado y almacenamiento. Diversos estudios confirman que la tecnología de ozonización es eficaz para inactivar a importantes patógenos de la carne, tales como *E. coli*, *Listeria*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Bacillus* y *Norovirus*. Hoy en día, ésta es aplicada en variados procesos con el fin de mejorar la calidad microbiológica y vida útil de los productos cárnicos, desde las operaciones preliminares (deshuesado, eviscerado y despiece de cortes de la carne) como las de limpieza (equipos, utensilios y superficies de trabajo e higiene en general); para todos estos procesos el ozono es propuesto como un método de desinfección seguro, eficaz y respetuoso del medio ambiente (Kim *et al.*, 2003; Massoud *et al.*, 2020; Ziyaina y Rasco, 2021)

De igual forma, este antimicrobiano es muy eficaz en el procesado de la carne de aves de corral, ya que mejora su calidad microbiológica sin efecto negativo en propiedades como color, sabor y peroxidación lipídica. Bajo condiciones de almacenamiento en frío, el ozono es muy eficiente en controlar el crecimiento microbiano e incrementar su vida útil (Massoud *et al.*, 2020); además, se reporta su eficiencia antimicrobiana en la desinfección de equipos de incubación, del agua de lavado de canales y del agua de enfriadores (Kim *et al.*; 2003).

Actualmente, también se evalúa la aplicación del ozono para eliminar biopelículas de los equipos, al ser fuente de contaminación que preocupa a la industria láctea, ya que además reduce la transferencia de calor de sus equipos. Dicha problemática está generando una serie de estudios que muestran su eficiencia para eliminar biopelículas que se adhieren al acero inoxidable, tales como las de *L. monocytogenes* y *E. coli* (Ziyaina y Rasco, 2021).

Componentes de los sistemas de ozonización

En el mercado existen diversos sistemas a escala industrial con alta capacidad de producción de ozono, así como también alternativas a nivel doméstico que son económicas y de fácil aplicación en el hogar (Baggio *et al.*, 2020).

Tipos de sistemas para alimentos

En la Figura 1 se ejemplifican los componentes de sistemas de ozonización para alimentos. Por lo común,

éstos incluyen los siguientes elementos: fuente de alimentación del O₂ (envasado a alta pureza, provisto por generadores de O₂ abastecidos por, aire de compresor o atmosférico), concentrador de O₂ (fuentes de bajo nivel), ozonizador (forma gaseosa o acuosa), medidores de flujo de O₃ (control de nivel), cámara de ozonización (sitio de exposición) y destructores de O₃ (desintegración del sobrante); además, en la generación de forma acuosa se usan accesorios de interfase para su homogenización (Alexandre *et al.*, 2017; Khanashyam *et al.*, 2022).

Equipos domésticos

Son equipos pequeños, muy accesibles por su fabricación económica y son considerados una alternativa confiable para desinfectar alimentos, artículos personales y aire de espacios cerrados. Estos generan ozono (1 a 20 ppm) con sólo el suministro de O₂ y electricidad; además, el agua ozonizada es de fácil producción por burbujeo en agua común (Dennis *et al.*, 2020). Es importante mencionar que este tipo de equipo casero fue de utilidad en nuestro laboratorio para evaluar la actividad antimicrobiana del ozono, empleando un modelo que genera 1 ppm y usa aire como fuente de O₂; en dicho estudio se investigó la posibilidad de medir la actividad antimicrobiana del ozono contra células bacterianas, con la adaptación de un ozonizador doméstico y un método espectrofotométrico en tiempo real (microdilución en caldo).

El modelo bacteriano fue una cepa certificada de *E. coli*, evaluada en solución tanto a diferentes niveles (1.5 × 10⁸, 6-9 × 10⁸, >12 × 10⁸ ppm) como distintos volúmenes (5, 10, 15 mL) y ozonizada a tiempos variables (0, 3, 5, 7, 10, 12 min). La cinética de crecimiento se valoró a través de la densidad óptica a 620 nm (24 h) en un lector de microplacas. Este sistema mostró eficiencia para analizar la inactivación antibacteriana, ya que el ozonizador fue capaz de inhibir el crecimiento bacteriano y el método de detección 'microplaca en caldo' resultó un ensayo cinético sensible (en tiempo real, alta capacidad de muestras y automatizado), considerándose con potencial para estudios de inactivación microbiana.

Asimismo, es de interés resaltar que en respuesta a la pandemia del COVID-19, la tecnología de ozonización se estudia como método de inactivación del SARS-CoV-2 y resulta de utilidad este tipo de equipo doméstico; por ejemplo, su uso en forma gaseosa para artículos de protección personal (artículos N95: mascarillas, guantes, etc.), mientras que el agua ozonizada es eficaz para superficies y otros artículos que no es posible colocar en cámaras de ozonización (Dennis *et al.*, 2020).

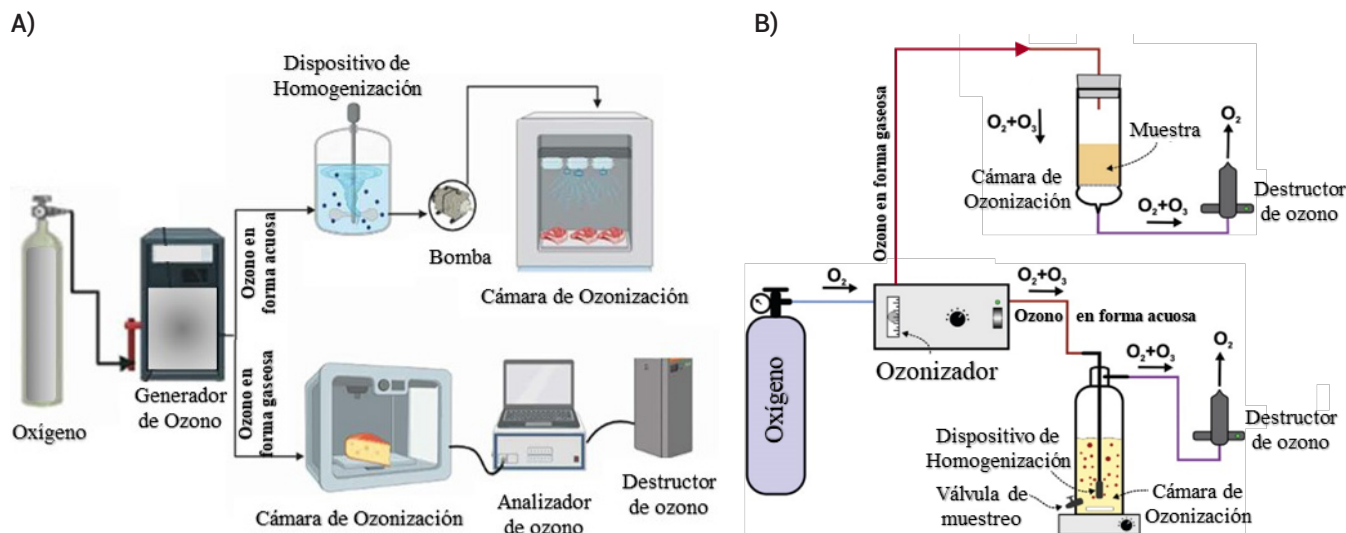


Figura 1. Diagrama de sistemas de ozonización para alimentos, empleando al ozono como agente multifuncional (adaptado de Alexandre *et al.*, 2017; Khanashyam *et al.*, 2022). A) sistemas de ozonización para la inactivación microbiana de productos de origen animal, mediante tratamientos con ozono en forma acuosa (carne) y gaseosa (queso). B) sistema de ozonización para la degradación de micotoxinas en productos de origen vegetal, bajo tratamientos con ozono en forma gaseosa (harina de trigo integral) y acuosa (efluente proveniente de molienda húmeda del trigo).

CONCLUSIONES

El ozono es un agente multifuncional con importantes beneficios en diversos sectores de la industria alimentaria. Destaca como agente antimicrobiano de amplio espectro, mayor que el cloro. En comparación con métodos tradicionales, sobresale su alta eficacia de inactivación microbiana (baja dosis y corto tiempo exposición), así como su fácil degradación a O_2 (su exceso se convierte en O_2). Se considera una tecnología muy útil para la industria de alimentos por no depender de calor y contar con la acreditación como tecnología verde para productos orgánicos, además de que es posible combinarla con otras tecnologías de desinfección para incrementar la inhibición microbiana. Como agente multifuncional destaca su aplicación en descontaminación de residuos tóxicos, mejora las propiedades funcionales, nutricionales y organolépticas de los alimentos. A pesar de sus ventajas, aún falta optimizar detalles específicos de cada alimento (composición y propiedades distintivas). Un aspecto prioritario es el control estricto de la toxicidad del ozono en el ámbito de la seguridad de los trabajadores (nivel y tiempo de exposición), por lo que es preciso seguir los lineamientos internacionales de sus límites permisibles de exposición. Es indispensable profundizar en el conocimiento de sus mecanismos de acción, ya sea como agente antimicrobiano o multifuncional, lo cual permitirá optimizar e innovar procesos industriales. Su uso podría incrementar por el creciente interés en

adoptar nuevas prácticas más sostenibles que demandan la industria y consumidores. Otros motivos que impulsan el uso del ozono son la decreciente disponibilidad de agua, la problemática asociada con aguas residuales, las frecuentes enfermedades transmitidas por los alimentos y el surgimiento de nuevos patógenos.

BIBLIOGRAFÍA

- Afsah-Hejri L., P. Hajeb and R. J. Ehsani (2020) Application of ozone for degradation of mycotoxins in food: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 19:1777-1808, <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12594>
- Aguayo E., P. Gómez, F. Artés-Hernández y F. Artés (2017) Tratamientos químicos desinfectantes de hortalizas de IV gama: ozono, agua electrolizada y ácido peracético. *Agrociencia Uruguay* 21:7-14, <https://doi.org/10.31285/AGRO.21.1.2>
- Akbar A., A. Medina and N. Magan (2020) Potential control of mycotoxigenic fungi and ochratoxin A in stored coffee using gaseous ozone treatment. *Microorganisms* 8:1462, <https://doi.org/10.3390/microorganisms8101462>
- Alexandre A. P. S., N. Castanha, M. A. Calori-Domingues and P. E. D. Augusto (2017) Ozonation of whole wheat flour and wet milling effluent: degradation of deoxynivalenol (DON) and rheological properties. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 52:516-524, <https://doi.org/10.1080/03601234.2017.1303325>
- Al-Haddad K. S. H., R. A. S. Al-Qassem and R. K. Robinson (2005) The use of gaseous ozone and gas packaging to control populations of *Salmonella infantis* and *Pseudomonas aeruginosa* on the skin of chicken portions. *Food Control* 16:405-410, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.04.009>
- Avdeeva V., E. Zorina, J. Bezgina and O. Kolosova (2018) Influence of ozone on germination and germinating energy of winter wheat seeds. *Engineering for Rural Development* 23:543-546, <https://doi.org/10.22616/ERDev2018.17.N128>
- Baggio A., M. Marino, N. Innocente, M. Celotto and M. Maifreni (2020) Antimicrobial effect of oxidative technologies in food

- processing: an overview. *European Food Research and Technology* 246:669-692, <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03447-6>
- Barros J. H. T., L. C. Oliveira, M. Cristianini and C. J. Steel (2021) Non-thermal emerging technologies as alternatives to chemical additives to improve the quality of wheat flour for breadmaking: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 63:1212-1628, <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1966380>
- Bataller M. O., L. A. Fernández y E. Véliz (2010) Eficiencia y sostenibilidad del empleo del ozono en la gestión de los recursos hídricos. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 26:85-95.
- Bataller-Venta M., S. Santa Cruz-Broche y M. A. García-Pérez (2010) El ozono: una alternativa sustentable en el tratamiento poscosecha de frutas y hortalizas. *Revista CENIC Ciencias Biológicas* 41:155-164.
- Brodowska A. J., A. Nowak and K. Śmigielski (2018) Ozone in the food industry: principles of ozone treatment, mechanisms of action, and applications: an overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 58:2176-2201, <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1308313>
- Christ D., G. D. Savi and V. M. Scussel (2017) Effectiveness of ozone gas application methods against combined multi-contaminants in food. *Food and Public Health* 7:51-58, <https://doi.org/10.5923/j.fph.20170703.01>
- Chuwa C., D. Vaidya, D. Kathuria, S. Gautam, S. Sharma and B. Sharma (2020) Ozone (O₃): an emerging technology in the food industry. *Food & Nutrition Journal* 5:224, <https://doi.org/10.29011/2575-7091.100124>
- Deng L. Z., A. S. Mujumdar, Z. Pan, S. K. Vidyarthi, J. Xu, M. Zielinska and H. W. Xiao (2020) Emerging chemical and physical disinfection technologies of fruits and vegetables: a comprehensive review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 60:2481-2508, <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1649633>
- Dennis R., A. Cashion, S. Emanuel and D. Hubbard (2020) Ozone gas: scientific justification and practical guidelines for improvised disinfection using consumer-grade ozone generators and plastic storage boxes. *Journal of Science and Medicine* 2:48-67, <https://doi.org/10.37714/JOSAM.V2I1.35>
- Díaz-Quiñonez J. A. (2020) Emergencia del coronavirus SARS-CoV2 en China y la respuesta en México. *Gaceta Médica de México* 156:91-93, <https://doi.org/10.24875/gmm.20000045>
- Goffi V., A. Magri, R. Botondi and M. Petriccione (2020) Response of antioxidant system to postharvest ozone treatment in 'Soreli' kiwifruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 100:961-968, <https://doi.org/10.1002/jsfa.10055>
- Hamil B. (2017) Ozone sanitation - a sustainable and efficacious approach to food safety. Beth Hamil O₃ Consulting. San Luis Obispo, California, USA. <http://bethhamilo3consulting.com/wp-content/uploads/2017/05/Ozone-White-Paper-05-03-17.pdf> (December 2022).
- Herrero A. M. y M. Herrero de Avila (2016) Innovaciones en el procesado de alimentos: tecnologías no térmicas. *Revista de Medicina de la Universidad de Navarra* 50:71-74, <https://doi.org/10.15581/021.50.7633>
- Hirneisen K. A., E. P. Black, J. L. Cascarino, V. R. Fino, D. G. Hoover and K. E. Kniel (2010) Viral inactivation in foods: a review of traditional and novel food-processing technologies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 9:3-20, <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2009.00092.x>
- Horvitz S. and M. J. Cantalejo (2014) Application of ozone for the postharvest treatment of fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 54:312-339, <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.584353>
- Karaca H. (2010) Use of ozone in the citrus industry. *Ozone: Science & Engineering* 32:122-129, <https://doi.org/10.1080/01919510903520605>
- Karaca H. and Y. S. Velioglu (2014) Effects of ozone treatments on microbial quality and some chemical properties of lettuce, spinach, and parsley. *Postharvest Biology and Technology* 88:46-53, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.09.003>
- Khanashyam A. C., M. A. Shanker, A. Kothakota, N. K. Mahanti and R. Pandiselvam (2022) Ozone applications in milk and meat industry. *Ozone: Science & Engineering* 44:50-65, <https://doi.org/10.1080/01919512.2021.1947776>
- Kim J. G., A. E. Yousef and M. A. Khadre (2003) Ozone and its current and future application in the food industry. *Advances in Food and Nutrition Research* 45:167-218, [https://doi.org/10.1016/S1043-4526\(03\)45005-5](https://doi.org/10.1016/S1043-4526(03)45005-5)
- Lara-Fernández G. E., C. M. Ariosa-Acuña, V. Borroto-Rodríguez, A. Puerta-Armas, R. Ortiz-Hernández y C. Villalobos-Morales (2020) Ozono como método de desinfección del ambiente hospitalario. *Acta Médica Costarricense* 62:72-78, <https://doi.org/10.51481/amc.v62i2.1064>
- Luqueta G. R., E. D. dos Santos, R. S. Pessoa and H. S. Maciel (2017) Evaluation of disposable medical device packaging materials under ozone sterilization. *Research on Biomedical Engineering* 33:58-68, <https://doi.org/10.1590/2446-4740.03216>
- Martinelli M., F. Giovannangeli, S. Rotunno, C. M. Trombetta and E. Montomoli (2017) Water and air ozone treatment as an alternative sanitizing technology. *Journal of Preventive Medicine and Hygiene* 58:E48-E52, <https://doi.org/10.15167/2421-4248/jpmh2017.58.1.757>
- Massoud R., F. S. M. M. Makki, P. Bahramizadeh, S. Fallahzad, S. Kohestani and A. Massoud (2020) Ozone technology in food preservation. 5th International Conference on Applied Researches in Science and Engineering. November 2, 2020. University of Amsterdam. Amsterdam, The Netherlands. 6 p.
- Megahed A., B. Aldridge and J. Lowe (2018) The microbial killing capacity of aqueous and gaseous ozone on different surfaces contaminated with dairy cattle manure. *PLoS ONE* 13:e0196555, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196555>
- Mencarelli F. and A. Bellincontro (2020) Recent advances in postharvest technology of the wine grape to improve the wine aroma. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 100:e0196555, <https://doi.org/10.1002/jsfa.8910>
- Murray B. K., S. Ohmine, D. P. Tomer, K. J. Jensen, F. B. Johnson, J. J. Kirsi, ... and K. L. O'Neill (2008) Virion disruption by ozone-mediated reactive oxygen species. *Journal of Virological Methods* 153:74-77, <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2008.06.004>
- Ouf S. A. and E. M. Ali (2021) Does the treatment of dried herbs with ozone as a fungal decontaminating agent affect the active constituents? *Environmental Pollution* 277:116715, <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116715>
- Pagès M., D. Kleiber and F. Violleau (2020) Ozonation of three different fungal conidia associated with apple disease: importance of spore surface and membrane phospholipid oxidation. *Food Science & Nutrition* 8:5292-5297, <https://doi.org/10.1002/fsn3.1618>
- Pandiselvam R., S. Subhashini, E. P. Banuu Priya, A. Kothakota, S. V. Ramesh and S. Shahir (2019a) Ozone based food preservation: a promising green technology for enhanced food safety. *Ozone: Science & Engineering* 41:17-34, <https://doi.org/10.1080/01919512.2018.1490636>
- Pandiselvam R., M. R. Manikantan, V. Divya, C. Ashokkumar, R. Kaavya, A. Kothakota and S. V. Ramesh (2019b) Ozone: an advanced oxidation technology for starch modification. *Ozone: Science & Engineering* 41:491-507, <https://doi.org/10.1080/01919512.2019.1577128>
- Pandiselvam R., R. Kaavya, Y. Jayanath, K. Veenuttranon, P. Lueprasitsakul, V. Divya, ... and S. V. Ramesh (2020a) Ozone as a novel emerging technology for the dissipation of pesticide residues in foods - a review. *Trends in Food Science & Technology* 97:38-54, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.12.017>
- Pandiselvam R., V. P. Mayookha, A. Kothakota, L. Sharmila, S. V. Ramesh, C. P. Bharathi, ... and V. Srikanth (2020b) Impact of ozone treatment on seed germination - a systematic review. *Ozone: Science & Engineering* 42:4:331-346, <https://doi.org/10.1080/01919512.2019.1673697>
- Patil S., P. Bourke, J. M. Frias, B. K., Tiwari and P. J. Cullen (2009) Inactivation of *Escherichia coli* in orange juice using ozone. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 10:551-557, <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.05.011>
- Perry J. J. and A. E. Yousef (2011) Decontamination of raw foods using ozone-based sanitization techniques. *Annual Review of Food Science and Technology* 2:281-298, <https://doi.org/10.1146/annurev-food-022510-133637>
- Prabha V., R. D. Barma, R. Singh and A. Madan (2015) Ozone technology in food processing: a review. *Trends in Biosciences* 8:4031-4047.

- Pretell-Vasquez C., L. Marquez Villacorta y R. Siche (2016) Efecto del ozono gaseoso sobre las características fisicoquímicas, microbiológicas y apariencia general de *Punica granatum* L. wonderful fresca. *Scientia Agropecuaria* 7:173-180, <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2016.03.03>.
- Rosa C. C., E. R. De Alencar, N. O. S. Souza, C. S. Bastos, F. A. Suinaga and W. F. S. Ferreira (2022) Physiological quality of corn seeds treated with gaseous ozone. *Ozone: Science & Engineering* 44:117-126, <https://doi.org/10.1080/01919512.2021.1940836>
- Sarron E., P. Gadonna-Widehem and T. Aussenac (2021) Ozone treatments for preserving fresh vegetables quality: a critical review. *Foods* 10:605, <https://doi.org/10.3390/foods10030605>
- Stoica M., L. Mihalcea, D. Borda and P. Alexe (2013) Non-thermal novel food processing technologies. an overview. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies* 19:212-217.
- Supian N. A. M, N. N. A. K. Shah, R. Shamsudin and A. Sulaiman (2022) Inactivation kinetics of *Salmonella enterica* serovar typhimurium NCTC 12023 in chokanan mango (*Mangifera indica* L.) fruit juice by aqueous ozone treatment. *Food Research* 6:231-240, [https://doi.org/10.26656/fr.2017.6\(2\).204](https://doi.org/10.26656/fr.2017.6(2).204)
- Tizaoui C. (2020) Ozone: a potential oxidant for COVID-19 virus (SARS-CoV-2). *Ozone: Science & Engineering* 42:378-385, <https://doi.org/10.1080/01919512.2020.1795614>
- Uzun H., E. Ibanoglu, H. Catal and S. Ibanoglu (2012) Effects of ozone on functional properties of proteins. *Food Chemistry* 134:647-654, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.146>
- Ziyaina M. and B. Rasco (2021) Inactivation of microbes by ozone in the food industry: a review. *African Journal of Food Science* 15:113-120, <https://doi.org/10.5897/AJFS2020.2074>