



Efecto del agua ozonizada sobre la reducción poblacional de *Escherichia coli* en hortalizas mínimamente procesadas

Effect of ozonated water on the population reduction of *Escherichia coli* in minimally processed vegetables

E. M. Caro-Degollar^{1*}, F. Fernández¹, D. J. Miranda¹, G. N. Vásquez¹,
F. A. Bautista¹, J. V. Nunja-García²



<https://doi.org/10.51431/par.v3i2.707>

Resumen

Objetivos: Determinar el efecto de la aplicación del agua ozonizada a diferentes concentraciones y tiempos de inmersión sobre la reducción poblacional de *Escherichia coli* (*E.coli*) presente en hortalizas mínimamente procesadas en un mercado peruano. **Metodología:** Se recolectaron e identificaron muestras de hortalizas mínimamente procesadas en ocho puestos de venta en el mercado Modelo de la Provincia de Huaral - Perú, posteriormente se determinó el recuento de *E. coli* en todas las muestras por triplicado y se seleccionó la muestra que presentó la media más alta; esta muestra se subdividió y se sometió a desinfección empleando agua ozonizada en los que se combinaron dos factores con tres niveles cada uno; concentración de ozono (0,1; 0,5 y 1 ppm) y tiempo de inmersión (30; 150 y 300 segundos), finalmente se volvió a realizar el recuento de *E. coli* por triplicado para los nueve tratamientos a fin de ver su efecto en la población control inicial. **Resultados:** De las ocho muestras analizadas la más contaminada alcanzó recuentos de $4,06 \pm 0,02$ Log ufc g^{-1} para *E. coli* y tras su aplicación con agua ozonizada se lograron reducciones poblacionales desde $0,5 \pm 0,01$ hasta $1,76 \pm 0,09$ Log ufc g^{-1} con respecto al control. **Conclusiones:** El tratamiento con niveles de concentración de 1 ppm de ozono en el agua y tiempo de inmersión de 300 segundos tuvo el mayor efecto bactericida sobre la población microbiana de *E. coli* presente en hortalizas mínimamente procesadas en el mercado modelo de Huaral.

Palabras clave: Calidad microbiológica, coliformes fecales, higiene, vegetales

Abstract

Objectives: To determine the effect of the application of ozonated water at different concentrations and immersion times on the microbial reduction of *Escherichia coli* (*E.coli*) present in minimally processed vegetables in a Peruvian market. **Methodology:** samples of minimally processed vegetables were collected and identified in eight stalls in the Modelo market of the Province of Huaral - Peru, later the *E. coli* count was determined in all the samples in triplicate and the sample that presented the highest average; This sample was subdivided and subjected to disinfection using ozonated water in which two factors were combined with three levels in each one; ozone concentration (0.1; 0.5 and 1 ppm) and immersion time (30, 150 and 300 seconds), finally the *E. coli* count was re-counted in triplicate for the nine treatments in order to see their effect in the initial control population. **Results:** Of the eight samples analyzed, the most contaminated reached counts of 4.06 ± 0.02 Log cfu g^{-1} for *E. coli* and after its application with ozonated water, population reductions were achieved from 0.5 ± 0.01 to 1.76 ± 0.09 Log cfu g^{-1} with regarding control. **Conclusions:** Treatment with concentration levels of 1 ppm of ozone in water and an immersion time of 300 seconds had the greatest bactericidal effect on the microbial population of *E. coli* present in minimally processed vegetables in the Huaral model market.

Keywords: Microbiological quality, fecal coliforms, hygiene, vegetables

¹Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias, Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión, Lima, Perú.

²Escuela Profesional de Ingeniería Química, Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión, Lima, Perú.

*Autor para correspondencia: ecaro@unjfsc.edu.pe

Introducción

Las hortalizas mínimamente procesadas (HMP), vienen marcando las nuevas tendencias de consumo de alimentos saludables y nutritivos; debido a sus características organolépticas, las facilidades que se presenta para su consumo y el gran aporte nutricional que brinda en fibra y vitaminas (Milte & McNaughton, 2016; Castro-Ibáñez et al., 2017; Silberbauer & Schmid, 2017; Almeida et al., 2021); sumado a esto los desórdenes nutricionales causantes de obesidad por el alto consumo de alimentos ultra procesados, excesivamente ricos en carbohidratos y grasas (Monteiro et al., 2018), promovieron la búsqueda de nuevas alternativas alimentarias saludables por parte de la población (Vidal et al., 2013), lo que trajo como consecuencia una creciente oferta de las HMP bajo una amplia variedad de presentaciones, siendo las ensaladas a base principalmente de lechuga y una porción de la mezcla de tomates, pepinillos, zanahoria y/o rabanitos (picados, rayados o en rodajas), las más populares en los mercados y mercadillos de las ciudades del Perú; lugares de venta que en su gran mayoría están formados por asociaciones de pequeños comerciantes con escasos conocimientos de manipulación de alimentos y deficientes condiciones higiénico sanitarias, el cual es agravado por la falta de acceso al agua potable, perjudicando notablemente la calidad microbiológica de los alimentos que ahí se expendían (Gil et al., 2014; Ramirez-Hernandez et al., 2020).

La presencia de enterobacterias como la *E. coli* en las HMP (Dos Santos et al., 2010, Dos Santos et al., 2021), es un indicador que alerta de un problema crítico en estos productos y que demanda de acciones eficaces urgentes para su prevención o mitigación (Vilas et al., 2020), pues esta bacteria es considerada como uno de los principales microorganismos indicadores de higiene por los criterios microbiológicos peruanos (Resolución Ministerial N° 591-2008/MINSA, 2008), sin embargo debemos precisar que se han identificado hasta siete patotipos perjudiciales para el hombre (Farfán-García et al., 2016), lo que constituye una gran problemática para la salud de la población. Por ello se han intensificado campañas para el uso de desinfectantes a base de cloro como

Peruvian Agricultural Research 3(2), 104-109, 2021

una alternativa eficaz contra la presencia de patógenos en alimentos en los países en vías de desarrollo (Villeminot, 2018), no obstante uno de los inconvenientes que enfrentan los procesos que emplean al cloro, es la aparición de residuos de los sub-productos de la desinfección (SPD) en el agua y alimentos, como es el caso de los trihalometanos (Coroneo et al., 2017; Garrido et al., 2020; Marín et al., 2020) y su relación con efectos mutagénicos y cancerígenos en seres humanos (Villanueva, 2019), que alertan a la población mundial sobre los riesgos del uso del cloro.

Muchos países, conscientes del grave problema que atenta contra la salud de su población, tienen altas exigencias frente trazas de SPD (United States Environmental Protection Agency, 2020). Por ello, es importante buscar alternativas que aseguren la desinfección de las frutas y hortalizas, sin la generación de sustancias nocivas (Ali et al., 2018; Vilas et al., 2020), sobre todo en la reducción a niveles aceptables de la contaminación por *E. coli* en alimentos que omiten la desinfección o tratamiento térmico alguno, como es el caso de las ensaladas expandidas en los mercados del Perú.

Frente a esta problemática una alternativa es la desinfección de las HMP con ozono (O_3), una molécula triatómica de oxígeno con alta reactividad (Guzel-Seydim et al., 2004) y capacidad de dañar componentes celulares (Aslam et al., 2020; Santos et al., 2021), con el cual se ha conseguido reducir de forma significativa la presencia de microorganismos en tomates (Aguayo et al., 2014), lechugas (Akbas & Ölmez, 2007), cebollas (Aslam et al., 2021a; Aslam et al., 2021b) y otros alimentos donde se aplicó de forma gaseosa y disuelto en agua (Vijay et al., 2021). Sin embargo, los experimentos imitan condiciones similares a las que se podrían encontrar en un lugar de expendio de las HMP ya que se inoculan cepas seleccionadas en cantidades preestablecidas parecidas a los que se encontrarían en diversos escenarios, dejando un vacío en la efectividad de la aplicación del ozono acuoso bajo condiciones de operación y contaminación real de los puntos de elaboración y expendio de las HMP como los mercados y mercadillos del Perú. Es por ello que la presente investigación tuvo como objetivo determinar

el efecto de la aplicación del agua ozonizada a diferentes concentraciones y tiempos de contacto sobre la reducción microbiana de *E. coli* presente en las HMP en el mercado Modelo de Huaral - Perú.

Metodología

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de la Facultad de Ingeniería Agraria, Industrias Alimentarias y Ambiental de la Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión (UNJFSC).

Material vegetal

Las muestras se obtuvieron de ocho puestos del mercado Modelo de Huaral – Perú. Por cada puesto se recogió bolsas de 515 ± 25 g, los cuales estuvieron conformados mayoritariamente por lechugas picadas y una pequeña cantidad de una mezcla de hortalizas (zanahoria rayada, tomate en rodajas y rabanito picado). Las muestras fueron identificadas, pesadas y almacenadas en refrigeración a $5 \pm 1^\circ\text{C}$ y $95 \pm 1\%$ HR.

Producción de agua ozonizada

Para la producción de O_3 se empleó un generador de descarga de corona (Marca OZOTECH, modelo OZ2PCS, USA) con un flujo de 1100 mg h^{-1} , para ello se unió a un compresor que impulso un flujo de aire desde el ozonizador hasta un difusor de burbuja fina que se sumergió en un matraz de vidrio cerrado que contenía 1 L de agua tratada (libre de cloro) a $21 \pm 1^\circ\text{C}$, el matraz presentaba un orificio pequeño cubierto con gasa para favorecer la salida de gases no solubilizados, el burbujeo con aire ozonizado se realizó hasta alcanzar la concentración de ozono en agua de cada tratamiento. Para la medición de la concentración de ozono en agua se empleó el método colorimétrico N, N-dietil-p-fenilenediamina (DPD) CHECKIT® (Lovibond, M2532, Alemania).

Desinfección con agua ozonizada

A partir de la muestra de HMP del mercado con el recuento de *E. coli* más alto (muestra crítica) se pesaron sub-muestras de 10 g, a las que se llevó al proceso de desinfección con agua ozonizada. Cuando el agua en el contenedor de

vidrio conseguía la concentración de ozono dado por cada tratamiento se procedió a añadir la sub-muestra de HMP y se dejó en inmersión por un lapso de tiempo. El ozonizado se realizó con nueve tratamientos en los que se combinó tres concentraciones de ozono (0,1; 0,5 y 1 ppm) y tres tiempos de inmersión (30, 150 y 300 segundos), también se añadieron tres controles a quienes se les sometió bajo las mismas condiciones de tiempos de inmersión en agua burbujeada, pero sin ozono.

Recuento microbiano

La enumeración de *E. coli* en las muestras recolectadas del mercado se realizó por triplicado por cada puesto de venta; siguiendo la metodología de la Association of Official Analytical Chemists (Food and Drug Administration, 2018), para ello se pesaron 20 g de las HMP y se homogenizaron con 180 ml agua peptonada tamponada (Merck, Darmstadt, Alemania) durante 1 minuto en una bolsa estéril, posteriormente se prepararon diluciones en serie de hasta 10^{-5} y se extrajeron alícuotas de 1 ml para la siembra en las películas secas hidratables de Petrifilm® Rapid *E. coli*/Coliform Count Plate (3M, Saint Paul, Minesota, USA), luego se llevaron a incubación de 18 a 24 horas a $42 \pm 1^\circ\text{C}$; los recuentos totales fueron reportados como la media del logaritmo base 10 de unidades formadoras de colonia por gramo ($\log \text{ufc g}^{-1}$). Pasado el periodo de incubación se realizó la selección de la muestra más crítica es decir la que presentó mayor recuento *E. coli* y se sometió a la aplicación con agua ozonizada a diferentes condiciones de concentración y tiempo. Posteriormente se volvió a realizar el recuento de *E. coli* siguiendo la misma metodología empleada para el recuento previo al tratamiento de desinfección con agua ozonizada con la única variación en la dilución inicial, la cual fue de 10 g de HMP en 90 ml de agua peptonada tamponada. Para determinar la reducción poblacional (RP) se restaron los valores de recuento poblacional inicial del control (N_0) y el recuento poblacional final (N) obtenido después de la aplicación de los tratamientos con agua ozonizada.

$$\text{Reducción poblacional} = \log_{10}(N_0) - \log_{10}(N)$$

Diseño estadístico

Para el análisis de la información se empleó el análisis de la varianza de un diseño completamente al azar con nueve tratamientos (cada tratamiento fue la combinación de tres concentraciones de ozono y tres tiempos de inmersión). La comparación de medias se realizó con la prueba de Tukey ($P = 0,05$). El software empleado fue el R versión 4.1.2.

Resultados y discusión

Recuento de *E. coli* en muestra crítica

Los recuentos de *E. coli* en las muestras de HMP provenientes del mercado y sin desinfectar con agua ozonizada reportó valores entre $2,51 \pm 0,03$ y $4,06 \pm 0,02$ Log ufc g^{-1} , presentando diferencia significativa entre ellos ($P < 0,05$) (Tabla 1), resultados que son concordantes con los encontrados por Dos Santos et al., (2010) quienes reportaron valores de hasta 4,2 Log ufc g^{-1} en lechugas; y contradictorios con lo reportado por Dos Santos et al., (2021), quienes no observaron la presencia de *E. coli* en ensaladas de hojas mixtas de lechuga y repollo, lo cual puede deberse a que las muestras provenían de supermercados donde se aplican programas pre-

Tabla 1

Recuento de *E. coli* en hortalizas mínimamente procesadas en el mercado Modelo de Huaral

Muestra*	Recuento (Log ufc g^{-1})
M ₁	$3,39 \pm 0,01^c$
M ₂	$4,06 \pm 0,02^a$
M ₃	$2,89 \pm 0,02^d$
M ₄	$2,51 \pm 0,03^e$
M ₅	$3,49 \pm 0,01^b$
M ₆	$2,93 \pm 0,05^d$
M ₇	$3,39 \pm 0,01^c$
M ₈	$3,56 \pm 0,03^b$

*M₁₋₈: cada muestra fue por triplicado y corresponde a cada puesto de verdura del mercado

requisitos o sistemas de gestión de la calidad para garantizar la calidad microbiológica de las HMP. La muestra M₂ presentó el mayor recuento en placa de *E. coli* ($P < 0,05$), con lo que resultó ser la muestra más crítica y la que se escogió para realizar los tratamientos de desinfección con agua ozonizada. Los resultados también demuestran que el 100% de las muestras de HMP presentan altos niveles de contaminación por *E. coli* resultando un indicador de las grandes deficiencias higiénico sanitarias que en los mercados del Perú se presentan.

Reducción poblacional

Las sub-muestras tomadas a partir de M₂ y sometidas al tratamiento control es decir sumergidas a tiempos de 30, 150 y 300 segundos, pero sin la aplicación de ozono reportaron resultados de $3,68 \pm 0,04$; $3,52 \pm 0,03$ y $3,45 \pm 0,01$ Log ufc g^{-1} respectivamente, siendo estos valores empleados como población inicial de control (N_0) para el cálculo de RP en cada nivel del tiempo de inmersión.

Los resultados de RP de las sub-muestras de HMP sometida a los tratamientos con agua ozonizada a diferentes concentraciones y tiempos de inmersión se presentan en la Tabla 2. Donde se encontró que los niveles de concentración de ozono en agua más altos y tiempo de inmersión más prolongados aplicados a las HMP reportan mayores reducciones poblacionales de *E. coli*, consiguiéndose disminuciones desde $0,50 \pm 0,01$ hasta $1,76 \pm 0,09$ Log ufc g^{-1} con respecto al control, siendo concordantes con Hyun-Gyun et al. (2006) quienes reportan reducciones de hasta 1,09 Log para *E. coli* O157: H7 en concentraciones de 5 ppm O₃ por 300 segundos y Akbas & Ölmez (2007) quienes reportan reducciones de 1.3 Log para *Enterobacteriaceae* en lechugas frescas recién cortadas.

Conclusiones

El agua ozonizada utilizada a concentraciones de ozono y tiempos de inmersión crecientes, favoreció la reducción de la población microbiana. El tratamiento con niveles de concentración de 1 ppm ozono en el agua y tiempo de inmersión de 300 s tuvo el mayor efecto bactericida sobre la población microbiana

Tabla 2

Efecto de los tratamientos con agua ozonizada y tiempos de inmersión en la reducción poblacional de *E. coli* en hortalizas del mercado Modelo de Huaral

Tratamiento	Ozono (ppm)	Tiempo (s)	Reducción Poblacional (Log ufc g ⁻¹)
T ₁	0,1	30	0,50 ± 0,01 ^f
T ₂	0,1	150	0,62 ± 0,02 ^{ef}
T ₃	0,1	300	0,82 ± 0,03 ^d
T ₄	0,5	30	0,59 ± 0,02 ^{ef}
T ₅	0,5	150	0,65 ± 0,03 ^e
T ₆	0,5	300	0,99 ± 0,04 ^e
T ₇	1	30	1,45 ± 0,04 ^b
T ₈	1	150	1,51 ± 0,03 ^b
T ₉	1	300	1,76 ± 0,09 ^a

de *E. coli* presente en hortalizas mínimamente procesadas en el mercado modelo de Huaral.

Referencias

- Aguayo, E., Escalona, V., Silveira, A. C., & Artés, F. (2014). Quality of tomato slices disinfected with ozonated water. *Food Science and Technology International*, 20(3), 227-235. <https://doi.org/10.1177/1082013213482846>
- Akbas, M. Y., & Ölmez, H. (2007). Effectiveness of organic acid, ozonated water and chlorine dippings on microbial reduction and storage quality of fresh-cut iceberg lettuce. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(14), 2609-2616. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3016>
- Ali, A., Yeoh, W. K., Forney, C., & Siddiqui, M. W. (2018). Advances in postharvest technologies to extend the storage life of minimally processed fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(15), 2632-2649. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1339180>
- Almeida, L. F. F., Novaes, T. G., Pessoa, M. C., Do Carmo, A. S., Mendes, L. L., & Ribeiro, A. Q. (2021). Fruit and vegetable consumption among older adults: Influence of urban food environment in a medium-sized Brazilian city. *Public Health Nutrition*, 24(15), 4878-4887. <https://doi.org/10.1017/S136898002000467X>
- Aslam, R., Alam, M. S., & Pandiselvam, R. (2021) a. Aqueous Ozone Sanitization System for Fresh Produce: Design, Development, and Optimization of Process Parameters for Minimally Processed Onion. *Ozone: Science and Engineering*. <https://doi.org/10.1080/01919512.2021.1984206>
- Aslam, R., Alam, M. S., & Saeed, P. A. (2020). Sanitization Potential of Ozone and Its Role in Postharvest Quality Management of Fruits and Vegetables. *Food Engineering Reviews*, 12(1), 48-67. <https://doi.org/10.1007/s12393-019-09204-0>
- Aslam, R., Alam, M. S., Singh, S., & Kumar, S. (2021) b. Aqueous ozone sanitization of whole peeled onion: Process optimization and evaluation of keeping quality during refrigerated storage. *LWT-Food Science and Technology*, 151. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112183>
- Castro-Ibáñez, I., Gil, M. I., & Allende, A. (2017). Ready-to-eat vegetables: Current problems and potential solutions to reduce microbial risk in the production chain. *LWT - Food Science and Technology*, 85, 284-292. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.11.073>
- Coroneo, V., Carraro, V., Marras, B., Marrucci, A., Succa, S., Meloni, B., Pinna, A., Angioni, A., Sanna, A., & Schintu, M. (2017). Presence of Trihalomethanes in ready-to-eat vegetables disinfected with chlorine. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 34(12), 2111-2117. <https://doi.org/10.1080/19440049.2017.1382723>
- Dos Santos, da Silva, L. V., Lepaus, B. M., & de São José, J. F. B. (2021). Microbial quality and labeling of minimally processed fruits and vegetables. *Bioscience Journal*, 37. <https://doi.org/10.14393/BJ-v37n0a2021-53734>
- Dos Santos, Silva, N. da, Junqueira, V. C. A., & Pereira, J. L. (2010). Microrganismos indicadores em frutas e hortaliças minimamente processadas. *Brazilian Journal of Food Technology*, 13(02), 141-146. <https://doi.org/10.4260/BJFT2010130200019>
- Farfán-García, A. E., Ariza-Rojas, S. C., Vargas-Cárdenas, F. A., & Vargas-Remolina, L. V. (2016). Mecanismos de virulencia de *Escherichia coli* enteropatógena. *Revista chilena*

- de infectología*, 33(4), 438-450. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182016000400009>
- Food and Drug Administration. (2018). *Bacteriological Analytical Manual* (8th ed.). Association of Official Analytical Chemists Gaithersburg. <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bacteriological-analytical-manual-bam>
- Garrido, Y., Marín, A., Tudela, J. A., Truchado, P., Allende, A., & Gil, M. I. (2020). Chlorate accumulation in commercial lettuce cultivated in open field and irrigated with reclaimed water. *Food Control*, 114. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107283>
- Gil, A. I., Lanata, C. F., Hartinger, S. M., Mäusezahl, D., Padilla, B., Ochoa, T. J., Lozada, M., Pineda, I., & Verastegui, H. (2014). Fecal contamination of food, water, hands, and kitchen utensils at the household level in rural areas of Peru. *Journal of Environmental Health*, 76(6), 102-106. <https://europepmc.org/article/med/24645420#abstract>
- Guzel-Seydim, Z. B., Greene, A. K., & Seydim, A. C. (2004). Use of ozone in the food industry. *LWT - Food Science and Technology*, 37(4), 453-460. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2003.10.014>
- Hyun-Gyun, Y., Mee-Young, Y., Jae-Won, Y., Kwang-Deog, M., Marshall, D. L., & Deog-Hwan, O. (2006). Effect of Combined Ozone and Organic Acid Treatment for Control of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* on Lettuce. *Journal of Food Science*, 71(3), M83-M87. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.tb15636.x>
- Marín, A., Tudela, J. A., Garrido, Y., Albolafio, S., Hernández, N., Andújar, S., Allende, A., & Gil, M. I. (2020). Chlorinated wash water and pH regulators affect chlorine gas emission and disinfection by-products. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 66. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102533>
- Milte, C. M., & McNaughton, S. A. (2016). Dietary patterns and successful ageing: A systematic review. *European Journal of Nutrition*, 55(2), 423-450. <https://doi.org/10.1007/s00394-015-1123-7>
- Monteiro, C. A., Cannon, G., Moubarac, J.-C., Levy, R. B., Louzada, M. L. C., & Jaime, P. C. (2018). The un Decade of Nutrition, the NOVA food classification and the trouble with ultra-processing. *Public Health Nutrition*, 21(1), 5-17. <https://doi.org/10.1017/S1368980017000234>
- Ramirez-Hernandez, A., Galagarza, O. A., Álvarez Rodríguez, M. V., Pachari Vera, E., Valdez Ortiz, M. D. C., Deering, A. J., & Oliver, H. F. (2020). Food safety in Peru: A review of fresh produce production and challenges in the public health system. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(6), 3323-3342. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12647>
- Resolución Ministerial N° 591-2008/MINSA, (2008). <https://www.gob.pe/institucion/minsa/normas-legales/247682-591-2008-minsa>
- Santos, L. M. C. D., Silva, E. S. da, Oliveira, F. O., Rodrigues, L. de A. P., Neves, P. R. F., Meira, C. S., Moreira, G. A. F., Lobato, G. M., Nascimento, C., Gerhardt, M., Lessa, A. S., Mascarenhas, L. A. B., & Machado, B. A. S. (2021). Ozonized Water in Microbial Control: Analysis of the Stability, In Vitro Biocidal Potential, and Cytotoxicity. *Biology*, 10(6), 525. <https://doi.org/10.3390/biology10060525>
- Silberbauer, A., & Schmid, M. (2017). Packaging Concepts for Ready-to-Eat Food: Recent Progress. *Journal of Packaging Technology and Research*, 1(3), 113-126. <https://doi.org/10.1007/s41783-017-0019-9>
- United States environmental protection agency. (2020). National Primary Drinking Water Regulations. <https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-drinking-water-regulations>
- Vidal, L., Ares, G., & Giménez, A. (2013). Projective techniques to uncover consumer perception: Application of three methodologies to ready-to-eat salads. *Food Quality and Preference*, 28(1), 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2012.08.005>
- Vijay Rakesh Reddy, S., Sudhakar Rao, D. V., Sharma, R. R., Preethi, P., & Pandiselvam, R. (2021). Role of Ozone in Post-Harvest Disinfection and Processing of Horticultural Crops: A Review. *Ozone: Science and Engineering*. <https://doi.org/10.1080/01919512.2021.1994367>
- Vilas, I. A., Seró, M. A., Medà, P. C., Cordero, C. C., & Almenar, I. V. (2020). Biopreservation against foodborne pathogens on minimally processed fruits and vegetables. *Arbor*, 196(795), 1-11. <https://doi.org/10.3989/arbor.2020.795n1007>
- Villanueva, C. M. (2019). Carcinogenicity of disinfection byproducts in humans: Epidemiological studies. *Encyclopedia of Environmental Health* (pp. 517-527). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.11191-1>
- Villeminot, N. (2018). Strengthening market systems that provide water and hygiene items for cholera mitigation and emergency preparedness in Haiti. *Waterlines*, 37(4), 307-318. <https://doi.org/10.3362/1756-3488.17-00027>