

OZONO GASEOSO COMO AGENTE PRESERVADOR EN CARNE BOVINA: EFECTO SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS Y LA FLORA MICROBIANA NATURAL Y PATÓGENA

Giménez María B (1), Graiver Natalia G. (1), Giannuzzi Leda (1), Zaritzky Noemí (1,2)

(1) Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCA), CONICET, Fac. de Ciencias Exactas, UNLP, La Plata, Buenos Aires Argentina.

(2) Depto. Ingeniería Química, Fac. de Ingeniería, UNLP, La Plata, Buenos Aires Argentina.
belengimenez@live.com.ar, nataliagraiver@hotmail.com, zaritzkynoemi@gmail.com

Palabras claves: ozono gaseoso, carne bovina, *Listeria monocytogenes*, oxidación lipídica

INTRODUCCIÓN

Dentro de las tecnologías no térmicas utilizadas para conservar alimentos, manteniendo la seguridad y calidad del producto, se encuentra el tratamiento con ozono gaseoso. El ozono es un potente oxidante y agente de desinfección y tiene como ventajas su baja toxicidad, sus propiedades como desinfectante, desodorizante y la escasez de residuos al finalizar el proceso; tiene actividad antimicrobiana contra una variedad de patógenos transmitidos por los alimentos ya que actúa sobre diferentes constituyentes celulares, desorganizando las paredes y membranas, llevando a la lisis celular. Food and Drug Administration (FDA) reconoció al ozono como GRAS (Generally Recognized As Safe) para su utilización en contacto con alimentos y se aprobó la utilización del ozono como aditivo de alimentos, durante su procesamiento o almacenamiento (Kim y col., 1999) para la preservación de frutas, verduras y carne. El ozono puede llegar a perjudicar la calidad de las carnes debido a que puede oxidar fácilmente los tejidos musculares, producir decoloraciones indeseables y dar lugar a sabores rancios en los tejidos grasos (Clark y Takacs, 1980).

Entre los microorganismos patógenos *Listeria monocytogenes* es capaz de sobrevivir a temperaturas de refrigeración, crecer a 4°C en pocos días y sobrevivir a altas concentraciones de NaCl (16-20%) siendo un serio problema de salud pública. Ha demostrado una alta capacidad para resistir altas y bajas temperaturas, atmósfera modificada y ambientes de procesamiento, su presencia indica una posible contaminación durante el procesamiento y posprocesamiento de alimentos (Magalhães y col., 2016). *L. monocytogenes* es mundialmente responsable de más de 20000 enfermedades y 5000 muertes por año y su inactivación es extremadamente importante para garantizar productos alimenticios microbiológicamente seguros. En algunos países se han establecido criterios o recomendaciones para niveles tolerables de *L. monocytogenes* en alimentos procesados. Las regulaciones de seguridad alimentaria en la Unión Europea establecen un máximo de 100 UFC g⁻¹ *L. monocytogenes* para los productos listos para consumir durante su vida útil (Reglamento de la Comisión, 2005), mientras que el criterio en EE. UU. es de "tolerancia cero", es decir, no encontrar organismos en 25 g de un producto alimenticio (Shank y col. 1996; USDA-FSIS, 2014). Se tolera un nivel de no más de 100 UFC g⁻¹ en ciertos productos alimenticios, mientras que se aplica tolerancia cero a los alimentos que favorecen el crecimiento de *L. monocytogenes* y tienen una vida útil prolongada (AFSSA 2000).

Los objetivos del trabajo fueron i) analizar el efecto de ozono gaseoso sobre el desarrollo de flora natural heterótrofa y *L. monocytogenes* inoculada en carne bovina y almacenada en condiciones de refrigeración; ii) estudiar el efecto de los tratamientos sobre las características fisicoquímicas y parámetros de calidad (coloración, oxidación lipídica)

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima: Se utilizaron cortes de los músculos *aductor femoris* y *semimembranoso* de carne bovina que se separaron luego de 48 horas postmortem y se eliminó grasa visible y se extrajeron discos (diámetro 6 cm y espesor 3 mm); el pH se encontraba entre 5.4 y 5.7.

Tratamiento con ozono gaseoso: el generador de ozono (Dobzono, modelo Ozolab100) produce ozono mediante una tensión eléctrica (llamada "efecto Corona"). Consiste en aplicar un alto voltaje (del orden de kV) entre dos electrodos por los que se hace pasar oxígeno (o

aire). Los ensayos de ozonización se llevaron a cabo en cámaras de 3 L de volumen diseñadas utilizando recipientes de vidrio herméticos. Se implementó un sistema de cierre del pasaje de gas en las conducciones conectadas al generador de ozono para controlar el flujo del mismo y de salida de gas de la cámara para mantener una atmósfera constante dentro de la misma. El ozonizador fue alimentado con aire a un caudal de 2 L/min

Ensayos de aplicación de ozono en muestras de carne: el sistema generador de ozono que se utilizó en todos los ensayos es de tipo semi-continuo, generando ozono durante un tiempo máximo de 10 minutos. Se realizaron ensayos en los cuales las variables fueron: i) concentración de ozono utilizada en la cámara (rango entre 276-286 mg O₃/m³) ii) número y duración de los pulsos de ozono aplicados. Mediante la introducción del ozono se realizó un barrido del aire presente en la cámara. La concentración de ozono se determinó analíticamente mediante una titulación iodométrica. Se suministró un flujo de ozono a una temperatura controlada de 4°C. Las muestras de carne se suspendieron en forma vertical dentro de la cámara para que el ozono entre en contacto con toda su superficie. Se aplicaron pulsos de ozono de 5, 10, 20, 40 minutos durante de 5 horas con intervalos sin tratamiento de 30 minutos. Las muestras quedaron 24 horas en contacto con el ozono remanente; la descripción de cada tratamiento se indica en la **Tabla 1**.

Tabla 1: Tratamientos aplicados con ozono gaseoso.

Código	C ozono (mg/m ³)	Pulsos de ozono (min)	Nº de pulsos aplicados	Intensidad tratamiento (It)
D5*	276	5	10	36.66
D10*	283	10	8	58.66
D20*	283	20	6	87.98
D40*	283	40	5	146.64

En cada caso se calculó la intensidad de tratamiento (It) de ozono como: $It = \int C \cdot V dt$, donde C, es la concentración de ozono y V el volumen de la cámara.

Preparación del inóculo y proceso de inoculación: Se estudió el efecto del tratamiento con ozono sobre el crecimiento de *L. monocytogenes* mediante la inoculación de cepas. Los ensayos se realizaron con muestras que fueron inoculadas con una cepa L261 (cultivo proporcionado por la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, UNLP). Inicialmente, la cepa se mantuvo congelada a -80°C en TSB (Tryptic Soy Broth, Biokar) con 30% de glicerol. Para su activación luego de descongelar, se tomó 1 mL del cultivo, se sembró en un tubo con 9 mL de TSB y se incubó por 24 h a 37 °C. Al día siguiente, se tomó 1 mL del caldo de cultivo y se realizaron 3 repiques. Cada muestra de carne se inoculó individualmente con 100 µl de *L. monocytogenes* (concentración de inóculo de 10³ UFC mL⁻¹) en muestras de carne que fueron sometidas a tratamiento con ozono. El tratamiento de ozonización ensayado correspondió al protocolo D5 (**Tabla 1**).

Análisis microbiológicos: Semanalmente se analizó el desarrollo microbiano de *L. monocytogenes* en los productos mediante recuento en placa en agar PALCAM, que contiene cloruro de litio, polimixina B, acriflavina y ceftazidima. Las muestras de carne vacuna inoculadas (10 g) se transfirieron asépticamente a bolsas Stomacher estériles, se diluyeron y se homogeneizaron. Las bacterias se sembraron y las placas se incubaron durante 24 horas a 37°C. Se utilizó para los ensayos microbiológicos carne fresca inoculada como control; las pruebas se realizaron por duplicado. En PALCAM Agar, las colonias de *L. monocytogenes* aparecen de color gris verdoso con un precipitado negro. Se analizó además el efecto del ozono sobre la flora heterotrófica natural presente (no inoculada) en carne vacuna (recuentos de hongos y levaduras, bacterias ácido lácticas, bacterias mesófilas y enterobacterias). Las muestras de carne sin ozonizar se consideraron control. Se realizó el recuento en placa de microorganismos mesófilos totales (Plate Count Agar, PCA, Biokar, 30°C, 48 h), psicótrofos totales (PCA, 4°C, 7 días), Enterobacteriaceae (Violet Red Bile Agar, AVR B, Biokar 37°C, 24 h), bacterias ácido lácticas, LAB (MRS, 30 °C, 48 h); mohos y levaduras (Agar Cloranfenicol Glucosa, YGC, Biokar, 5 días, 30°C). Los recuentos microbianos se realizaron inmediatamente después de la aplicación del tratamiento de ozono y durante el almacenamiento refrigerado a 4°C (cada 4 días) de las muestras de carne vacuna envasadas al vacío.

Determinación de parámetros de color. Se realizó con un colorímetro triestímulo Minolta C400 el cual utiliza la escala de color CIE Lab*, mediante la cual el color es descrito por los parámetros de luminosidad L*, y de cromaticidad a* y b*. Las determinaciones se realizaron semanalmente sobre 3 rodajas de carne, obteniendo 6 medidas para cada muestra.

Oxidación lipídica. Se evaluó la oxidación de lípidos en muestras control y en muestras ozonizadas por duplicado utilizando el método de ácido tiobarbitúrico (TBA) que reporta sustancias reactivas a TBA (TBARS) como mg.malonaldehído (MDA) Kg⁻¹ producto.

Almacenamiento refrigerado. Para evaluar la vida útil durante el almacenamiento refrigerado, se almacenaron muestras tratadas con ozono (tratamiento D5) a 4°C. Para ello las muestras de carne control y las muestras tratadas se envasaron individualmente al vacío en bolsas Cryovac BB4L (Sealed Air, Buenos Aires, Argentina. Durante todo el período de almacenamiento, el color, la oxidación de lípidos y los recuentos microbianos se midieron semanalmente durante 12 a 16 días. En el caso de las muestras inoculadas con *L. monocytogenes*, las muestras se almacenaron a 4°C.

Análisis estadístico. Los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el software SYSTAT (SYSTAT Inc., 1990, v. 10.0). Las diferencias significativas entre las medias fueron determinadas por el método de la menor diferencia significativa, LSD (P<0.05).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Modelado matemático de la evolución de la concentración de ozono en la cámara de ozonización: se planteó la ec. (1) que permite predecir la concentración de ozono en función del tiempo C (t) en la cámara de ozonización basada en un balance de materia no estacionario. Se consideró como valor asintótico a la concentración de ozono en la cámara que no difería en más del 10% de la concentración de ozono en la entrada.

Una corriente Q proveniente del ozonizador con una concentración de ozono Ce (mg O₃/m³) ingresaba a la cámara de ozonización de volumen V conteniendo inicialmente aire, resultando:

$$V \frac{dC}{dt} = Q(C_e - C(t)) \quad (1)$$

$$\text{Integrando resulta: } \ln \frac{C_e - C}{C_e - C_0} = \frac{Q}{V} t \quad (2)$$

donde C₀=0 es la concentración inicial de ozono en la cámara. Si se considera mezclado perfecto, la concentración de ozono a la salida (C (t)) coincide con la concentración dentro de la cámara. Considerando que la cámara de ozonización tenía: V=3 litros; Q= 2.2 L/h, densidad del ozono= 2.14Kg/m³, se pudo predecir la concentración de ozono en función del tiempo en la cámara de ozonización de acuerdo a la ecuación

$$CO_3 = 283,6 * (1 - \exp(-0.318 t)) \quad (3)$$

Los valores calculados con la ec.3 muestran que luego de 30 segundos la concentración en la cámara fue 86.9 mg/m³ y luego de 600 segundos (10 minutos) la concentración llegaba a un estado estacionario 286 mg O₃/m³.

Efectos del ozono en el desarrollo microbiano y parámetros de calidad de la carne: Se observó la influencia de la intensidad de tratamiento (It) de ozono sobre los distintos parámetros estudiados y en el desarrollo microbiano.

Color: en la Fig. 1 se presentan los resultados de la variación color superficial (ΔL^* , Δa^* , Δb^* , ΔE y relación $[(a^*/b^*) - (a^*/b^*)_0]$) de las carnes tratadas con ozono utilizando los valores de la carne fresca como referencia (L_0^* , a_0^* , b_0^*). Puede observarse que las muestras **D5** tratadas con una concentración de ozono de 276 mg O₃/m³ presentaron los menores valores de Δa^* , correspondiente a la variación de la coloración rojiza respecto a la carne sin tratamiento, indicando que la ozonización no modificó apreciablemente la coloración de la carne. Sin embargo, las muestras **D40** donde la intensidad del tratamiento fue mayor, el parámetro a* se modificó en forma significativa (p<0.05) disminuyendo casi a la mitad respecto del control (23.65±0.43) obteniéndose un valor promedio de a* de 12.23±0.13; este valor de a* no es aceptado por el consumidor, y se atribuye a la oxidación de la mioglobina a metamioglobina

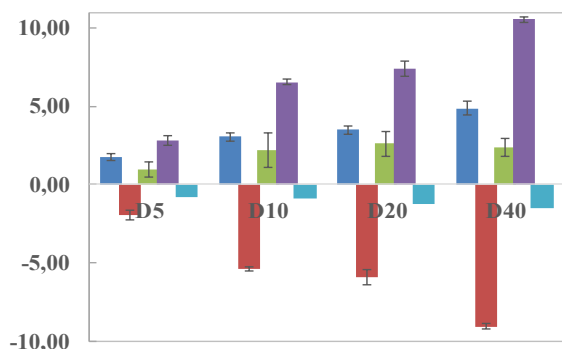


Figura 1: Efecto del ozono sobre los parámetros de color: ΔL^* (■), Δa^* (■), Δb^* (■), ΔE (■) y relación $[(a^*/b^*)-(a^*/b^*)_0]$ (■).

Tabla 2: Efecto del tratamiento con ozono sobre la oxidación lipídica en muestras cármicas.

Tratamiento	Oxidación lipídica (TBARS)
CF	0.7274±0.2052 ^a
D5	0.7381±0.0233 ^a
D10	1.1677±0.0086 ^{a,b}
D20	1.4248±0.0331 ^{b,c}
D40	1.7026±0.1718 ^c

Letras distintas indican resultados que difieren significativamente ($p < 0.05$).

Oxidación lipídica: la acción oxidante del ozono puede llegar a perjudicar la calidad de las carnes aumentando la rancidez. Los valores obtenidos de rancidez, expresados como mg de malonaldehído /Kg de carne se presentan en la **Tabla 2**. De los resultados obtenidos pudo determinarse que no hay una diferencia significativa entre las carnes tratadas con ozono circulando durante 5 minutos (**D5**) (concentración 276 mg/m³) y la carne sin tratamiento. Los tratamientos de ozonización durante el rango entre 10-40 minutos (**D10**, **D20** y **D40**, con una concentración 283 mg O₃/m³), presentaron valores por encima del límite de rancidez de productos cármicos (1 mg MDA/Kg según Boles y Parrish 1990) alcanzando valores de 1.7026 mg MDA/kg para 40 minutos de tratamiento, lo cual resulta inaceptable. Se puede concluir que tiempos excesivos de contacto con una concentración de ozono de 286 mg/m³ resulta perjudicial en la muestra tanto desde el punto de vista de la coloración superficial como de la oxidación lipídica.

Recuentos de microorganismos heterótrofos: se investigó el efecto del ozono en los recuentos inmediatamente

posterior a la aplicación del tratamiento. El ANOVA realizado, indicó que los 2 factores estudiados (concentración de ozono dentro de la cámara y la intensidad de tratamiento (It) tuvieron un efecto significativo ($p < 0.05$) en la reducción de los recuentos obtenidos de bacterias mesófilas (M), bacterias ácido-lácticas (BAL), enterobacterias (E) y hongos y levaduras (H y L). En la **Tabla 3** se observa que las reducciones de los recuentos en las carnes con tratamiento de ozonización fueron mayores a medida que aumentaba la intensidad de tratamiento (It) obteniéndose reducciones de más de 1 ciclo logarítmico para todas las bacterias ensayadas. Se puede concluir que los efectos más significativos en la reducción de los recuentos microbianos se encontraron en los tratamientos con un mayor tiempo de exposición al ozono (**D20**, **D40**), pero sin embargo esta exposición al ozono afectaba negativamente a los parámetros de color y rancidez.

Definición del tratamiento óptimo con ozono: debido a que un excesivo tratamiento con ozono afecta negativamente los parámetros de color y la oxidación lipídica, se buscó el tratamiento óptimo en función de las características deseadas en el producto: reducción de microorganismos, baja oxidación lipídica (TBARS <1 mgMDA/g carne) y una variación del color (Δa^* por debajo de 5). Respetando estas condiciones se encontró que tratamientos con ozono utilizando una concentración de aproximadamente 276 mgO₃/m³ con pulsos de 5 minutos de tratamiento cada 30 minutos durante un periodo de 5 horas (**D5**), lograron mantener las características fisicoquímicas de la carne en valores aceptables obteniendo reducciones de la carga microbiana cercanas a 1 ciclo logarítmica

Tabla3: Recuentos de la flora heterótrofa en las muestras control (CF) y en carne vacuna tratado con 276-286 mgO₃/m³ durante los distintos periodos de tratamiento.

Muestras	M (Log UFC/g)	BAL (Log UFC/g)	E (Log UFC/g)	H y L (Log UFC/g)
CF	3.69±0.05 ^d	2.84±0.08 ^c	2.34±0.18 ^c	<2
D5	3.33±0.14 ^c	2.11±0.06 ^b	<2	<2
D10	3.00±0.07 ^b	2.22±0.13 ^b	<2	<2
D20	2.54±0.05 ^a	<2	<2	<2
D40	2.56±0.08 ^a	<2	<2	<2

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (p<0.05); los valores promedio ± Error estándar de la media.

Almacenamiento refrigerado de muestras ozonizadas:

Durante el almacenamiento refrigerado a 4°C, los parámetros de color a*, L* y b* no mostraron diferencias significativas (P>0.05) entre las muestras de carne fresca y ozonizada.

El parámetro a* disminuyó significativamente durante el almacenamiento; en carne fresca el valor inicial fue a*=23.22±0.85, y el valor final, a los 16 días fue a*=11.99±0.50. En el caso de la carne tratada con ozono (tratamiento D5) el valor inicial fue a*=17.99±0.62, disminuyendo después de 1 semana (a*=15.05±0.41) y después de 16 días a*=11.10±0.62. No se encontraron diferencias significativas (P>0.05) en la oxidación de lípidos durante el almacenamiento refrigerado; el valor promedio de TBARS fue 0.640±0.034 mg MDA Kg⁻¹ carne. Este es un valor aceptable debido al corte magro de carne vacuna que se utilizó. Además, se analizó la vida útil de la carne vacuna tratada con ozono durante el almacenamiento refrigerado. La **Tabla 4** muestra que el crecimiento de microorganismos en las muestras tratadas con ozono fue menor que en la carne fresca. La fuerte capacidad oxidante del ozono puede inducir la destrucción de las paredes celulares y las membranas citoplasmáticas de las bacterias. El ozono puede atacar los componentes principales de las células, e interrumpir o inhibir el sistema enzimático de la célula (Sheng y col., 2018). Estos cambios aumentan la permeabilidad de la membrana, lo que resulta en el cese funcional del sistema celular y el crecimiento normal de microorganismos (Aponte y col., 2018).

Tabla 4: Desarrollo de microorganismos durante el almacenamiento refrigerado a 4°C de la carne Fresca (CF) y la carne tratada con ozono (CO).

Muestra	Tiempo (días)	Mesófilas	BAL	Enterobacterias	Hongos y levaduras	Psicotrofilas
Carne fresca	0	5.00±0.07 ^b	2.63±0.28 ^{a,b}	2.34±0.72 ^a	3.53±0.13 ^c	4.03±0.64 ^a
	4	6.45±0.35 ^d	3.74±0.07 ^c	3.59±0.20 ^c	4.18±0.22 ^d	6.10±0.53 ^c
	8	7.40±0.11 ^e	4.82±0.06 ^d	5.13±0.34 ^d	4.62±0.60 ^e	7.54±0.13 ^d
	12	9.54±0.16 ^f	5.73±0.08 ^e	6.31±0.10 ^e	6.52±0.25 ^f	8.47±0.21 ^e
Carne ozonizada	0	4.26±0.12 ^a	2.36±0.14 ^a	2.34±0.15 ^a	2.56±0.17 ^a	4.53±0.28 ^a
	4	5.27±0.15 ^b	2.71±0.04 ^{a,b}	2.36±0.04 ^a	2.76±0.06 ^{a,b}	5.20±0.15 ^b
	8	5.82±0.23 ^c	2.78±0.10 ^b	2.93±0.02 ^b	3.14±0.13 ^{b,c}	5.1±0.25 ^{b,c}
	12	6.07±0.07 ^{c,d}	2.98±0.05 ^b	3.88±0.17 ^c	4.15±0.11 ^d	6.15±0.07 ^c

Durante el almacenamiento refrigerado a 4°C, las muestras de carne control mostraron recuentos microbianos más altos que las muestras ozonizadas D5 (**Tabla 4**). Teniendo en cuenta los límites microbiológicos para la carne envasada al vacío (recuento total viable <10⁶ UFC / g, Enterobacteriaceae <10⁴ UFC / g se puede observar que las muestras de control perdieron las condiciones sanitarias tras 4 días de almacenamiento a 4 °C frente a una vida útil de 8 días en las muestras ozonizadas.

Efecto del tratamiento con ozono sobre *Listeria monocytogenes*: Los resultados se presentan en la **Tabla 5**; los recuentos microbianos de las muestras cárnicas inoculadas sin tratamiento con ozono fueron considerados como control (CF). Los recuentos de *L. monocytogenes* en la carne antes del tratamiento con ozono fue 2 log UFC/g. Se observó una disminución de los recuentos en las muestras tratadas, siendo esta disminución de más de 1 ciclo logarítmico con respecto a la muestra sin tratar. Esta condición se mantuvo durante el

Tabla 5: Efecto del tratamiento con ozono sobre la inactivación de *L. monocytogenes* en muestras cárnicas inoculadas y almacenadas a 4°C.

<i>L. monocytogenes</i> (log UFC/g)		
Almacenamiento a 4°C (días)	CF	Carne ozonizada D5
0	2.03±0.07a	<2
4	3.19±0.11	<2
8	3.84±0.07c	<2
12	5.10±0.29c	<2
16	6.70±0.20	<2

Letras distintas indican resultados que difieren significativamente ($p < 0.05$)

almacenamiento refrigerado de las muestras inoculadas, lo que podría demostrar que hay un efecto del ozono sobre *L. monocytogenes* que impide su crecimiento normal. Debe destacarse que la carne fresca inoculada sin tratamiento de ozono, envasada al vacío y almacenada a 4°C presentó un incremento de los recuentos de *L. monocytogenes* llegando a valores mayores de 10^5 UFC/g luego de 16 días mientras que las tratadas con ozono los recuentos se mantuvieron menores a 10^2 UFC/g

CONCLUSIONES

Se diseñó una cámara de ozonización y modeló matemáticamente mediante un balance de materia no estacionario la evolución de la concentración de ozono dentro de dicha cámara en función del tiempo. Se logró disminuir hasta 1.5 ciclos logarítmicos el recuento de heterótrofos (bacterias ácido-lácticas, mesófilos y enterobacterias) utilizando ozono gaseoso en un rango de concentraciones de 276-286 mg O_3/m^3 en las muestras cárnicas. Los períodos prolongados de exposición al ozono (> 10 min) afectaron negativamente el color rojo y la rancidez oxidativa. El tratamiento óptimo (D5, pulsos de 5 min cada 30 min durante 5h) permitió la reducción de más de 1 ciclo logarítmico el recuento de *L. monocytogenes* inoculada, limitando su crecimiento durante el almacenamiento refrigerado a 4°C y manteniendo los parámetros de seguridad (crecimiento de flora heterótrofa natural) y calidad (estabilidad oxidativa y parámetros de color).

BIBLIOGRAFÍA

- Aponte, M., Anastasio, A., Marrone, R., Mercogliano, R., Peruzzy, M. F., Murru, N. (2018). "Impact of gaseous ozone coupled to passive refrigeration system to maximize shelf-life and quality of four different fresh fish products." *LWT Food Science and Technology* 93: 412-419
- Boles J.A. y Parrish F.C. Jr. (1990). Sensory and chemical characteristics of precooked microwave-reheatable pork roasts. *Journal of Food Science* 55: 618-620.
- Bridges, D. F., B. Rane, Wu, V. C. (2018). The effectiveness of closed-circulation gaseous chlorine dioxide or ozone treatment against bacterial pathogens on produce. *Food Control* 91: 261-267.
- Clark, D.S. Takacs, J. (1980). Gases as preservatives. In: *Microbial Ecology of Foods I. Factors Affecting Life and Death of Microorganisms*. J.H.
- Kim, J. G., Yousef, A. E., & Dave, S. (1999). Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: A review. *Journal of Food Protection*, 62(9), 1071-1087.
- Magalhães, R., Ferreira, V., Brandão, T. R., Palencia, R. C., Almeida, G. & Teixeira, P. (2016). "Persistent and non-persistent strains of *Listeria monocytogenes*: A focus on growth kinetics under different temperature, salt, and pH conditions and their sensitivity to sanitizers." *Food microbiology* 57: 103-108.
- Shank, F. R., Elliot, E. L., Wachsmuth, I. K. & Losikoff, M. E. (1996) US position on *Listeria monocytogenes* in foods. *Food Control* 7, 229-234.
- Sheng, L., Hanrahan, I., Sun, X., Taylor, M. H., Mendoza, M. & Zhu, M.J. (2018). Survival of *Listeria innocua* on Fuji apples under commercial cold storage with or without low dose continuous ozone gaseous. *Food Microbiology* 76: 21-28.
- USDA/FSIS (2014). Compliance guidelines to control *Listeria monocytogenes* in postlethality exposed ready-to-eat meat and poultry products. Washington D.C.: US Department of Agriculture.