

# Pruebas de que los radicales OH- desinfectan el aire y las superficies interiores de forma inocua para el ser humano.

Martínez Vimbert R<sup>1,2</sup> , Arañó Loyo M<sup>1,2</sup> , Custodio Sánchez D<sup>2</sup> , Garcia Raurich J<sup>3</sup> ,  
Monagas Asensio P<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Emovere Natura, Comunicaciones de Investigación Biomédica

<sup>2</sup>e-Salud, Consultoría sanitaria, Parc Científic Universitari Tecno Campus Mataró

<sup>3</sup>Centre de Recerca en Seguretat i Control Alimentari, de la UPC (CRESCA)

**Resumen-** *El desarrollo de las sociedades humanas en todo el mundo ha generado un daño ambiental muy grave que amenaza la salud humana y la supervivencia de animales y plantas debido a una mayor incidencia de enfermedades infecciosas.*

*Esta toma de conciencia condujo al diseño de un método avanzado de saneamiento ambiental inocuo para la eliminación de microorganismos patógenos y compuestos orgánicos volátiles (COV) en grandes espacios aéreos y superficies. Los procesos avanzados de oxidación (AOP) basados en radicales hidroxilo (OH•) en concentraciones suficientes realizan funciones biocidas sobre microorganismos patógenos y degradan los compuestos orgánicos transportados por el aire a formas minerales de compuestos orgánicos inocuos.*

*Es una tecnología reconocida como limpia y segura y generalmente se lleva a cabo a través de la radiación solar como iniciador del proceso con material fotocatalizador. El problema que presentan los métodos de fotocatalisis es su baja velocidad, la generación de intermedios de degradación tóxicos, la desactivación del material y la necesidad de irradiación UV.*

*El aumento de la propagación aérea de microorganismos patógenos ha suscitado gran preocupación por su amenaza para la seguridad medioambiental. Sin embargo, no existe ningún método eficaz para eliminar rápidamente estos microorganismos nocivos en un gran espacio aéreo. En comparación con los desinfectantes convencionales, los procesos de oxidación basados en radicales OH• presentan excelentes ventajas.*

**Palabras clave:** *proceso de oxidación avanzada, desinfección, radicales hidroxilos (OH•), enfermedades infecciosas, ozono, terpenos, COV.*

## I. INTRODUCCIÓN

El desarrollo de las sociedades humanas en todo el mundo ha generado un daño medioambiental muy grave que amenaza la salud humana y la supervivencia de animales y plantas debido a una mayor incidencia de enfermedades infecciosas.

La atmósfera no tiene una microbiota autóctona, pero es un medio de dispersión rápido y global para muchos tipos de microorganismos. La historia de la aerobiología ha demostrado hasta el siglo pasado el papel fundamental que juega la contaminación del aire respiratorio en el desarrollo de epidemias como el cólera, la gripe o la Legionella [1]. Esta contaminación del aire respiratorio junto con la facilidad de movilidad de los seres humanos por todo el mundo ha generado en este nuevo siglo síndromes respiratorios de extrema gravedad para la supervivencia.

Entre noviembre de 2002 y julio de 2003, el síndrome respiratorio agudo severo (SRAS) se propagó rápidamente desde China a otros 37 países de todo el mundo, causando 775 muertes humanas y unas pérdidas económicas de 40.000 millones de dólares [2].

A principios de 2009, una nueva cepa de H1N1 de origen porcino se propagó por todo el mundo desde México. La Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró la gripe H1N1 pandémica, causando alrededor de 17.000 muertes humanas a principios de 2010[3].

En 2012 surgió un nuevo episodio de coronavirus, el MERS-CoV (Middle East Respiratory Syndrome coronavirus). La aparición del SARS-CoV en 2002 y del MERS-CoV en 2012 ha cambiado la perspectiva de la familia Coronaviridae ya que las neumonías que han causado (SARS y MERS) tienen tasas de mortalidad del 10% y 30% respectivamente, elevadas en comparación con el resto de virus de la familia [4].

En diciembre de 2019 (después de 17 años) surgió un tercer coronavirus nuevo, denominado SARS-CoV2 (coronavirus del

síndrome respiratorio agudo severo 2), en la provincia china de Wuhan Hubei [5]. En febrero de 2020, fue rebautizado como COVID-19 y declarado pandémico por la Organización Mundial de la Salud (OMS). Por lo tanto, es muy importante desarrollar un método rápido y eficaz para la eliminación de microorganismos patógenos en grandes espacios de aire.

Esta toma de conciencia condujo al diseño de un método avanzado de saneamiento ambiental inocuo para la eliminación de microorganismos patógenos y compuestos orgánicos volátiles (COV) en grandes espacios aéreos y superficies. Oxidación avanzada

(AOP) basados en radicales hidroxilo ( $\text{OH}^\bullet$ ) en concentraciones suficientes realizan funciones biocidas sobre microorganismos patógenos y degradan los compuestos orgánicos transportados por el aire a formas minerales de compuestos orgánicos inocuos [6].

Los resultados de diferentes estudios muestran que los radicales  $\text{OH}^\bullet$  destruyen rápidamente diferentes microorganismos con una concentración de 0,8 mg/L y una densidad de pulverización de 21  $\mu\text{L}/\text{m}^2$  en 4 segundos [7]. También se observan al microscopio cambios morfológicos celulares vitales y esenciales en microorganismos patógenos cuando se exponen a una dosis mortal de radicales  $\text{OH}^\bullet$ .

Es una tecnología reconocida como limpia y segura y generalmente se lleva a cabo mediante radiación solar como iniciador del proceso con material fotocatalizador. El problema que presentan los métodos de fotocatalisis es su baja velocidad, la generación de intermedios de degradación tóxicos, la desactivación del material y la necesidad de irradiación UV.

El aumento de la propagación aérea de microorganismos patógenos ha suscitado gran preocupación por su amenaza para la seguridad medioambiental. Sin embargo, no existe ningún método eficaz para eliminar rápidamente estos microorganismos nocivos en un gran espacio aéreo. En comparación con los desinfectantes convencionales, los procesos de oxidación basados en radicales  $\text{OH}^\bullet$  presentan excelentes ventajas.

En la actualidad, el cloro, el álcali y el álcali-alcohol-amina son los tres tipos principales de desinfectantes químicos que se utilizan ampliamente para eliminar la contaminación microbiana, pero presentan algunos inconvenientes. Un desinfectante químico sólo puede matar selectivamente uno o tipos similares de microorganismos patógenos; su tiempo de procesamiento es largo, en un rango de 0,5 - 1 hora debido a la baja velocidad de reacción química y un valor de dosificación letal muy alto, que podría alcanzar el 9% (v/v); los productos intermedios de cloro restantes implican una grave contaminación secundaria. Por último, su tratamiento letal se limita a la superficie de los objetos, por lo que es imposible aplicarlo en grandes espacios aéreos [8,9].

En comparación con los desinfectantes químicos anteriores, la avanzada tecnología de oxidación basada en radicales  $\text{OH}^\bullet$  presenta varias ventajas: 1) Ausencia de selectividad, pueden matar cualquier microorganismo patógeno en dosis letales bajas debido a su fuerte carácter oxidativo, con un potencial de oxidación de 2,8 V, ligeramente inferior al de los fluoruros (3,03 V). 2) El tiempo de transformación de los radicales  $\text{OH}^\bullet$  es muy corto, de varios segundos, ya que la velocidad de reacción química de los radicales  $\text{OH}^\bullet$  es superior a  $10^9 \text{ L mol}^{-1} \text{ segundo}^{-1}$ , que es  $10^7$  veces superior a la de otros oxidantes como el  $\text{O}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{Cl}_2$ , etc. 3) Como oxidante verde, los radicales  $\text{OH}^\bullet$  se descomponen en  $\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{O}_2$  sin oxidantes residuales después de sus reacciones bioquímicas [10,11].

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Formación de radicales $\text{OH}^\bullet$

El oxígeno es una molécula esencial para la vida, pero debido a su alta reactividad también se convierte en un elemento tóxico que da lugar a la llamada *paradoja del oxígeno*. El oxígeno es básicamente una molécula oxidante. En el aire exterior "limpio" (sin fuentes de contaminación) se suele encontrar la siguiente concentración de contaminantes: dióxido de carbono, 320 ppm; ozono, 0,02 ppm, monóxido de carbono, 0,12 ppm, óxido nítrico, 0,003 ppm, y dióxido de nitrógeno, 0,001 ppm. Sin embargo, estos valores aumentan significativamente en el aire urbano [12].

El radical  $\text{OH}^\bullet$  es el oxidante natural más importante de la química troposférica, a menudo llamado el "detergente" de la atmósfera ya que reacciona con muchos contaminantes, iniciando el proceso de limpieza de los mismos. También desempeña un papel importante en la eliminación de gases de efecto invernadero como el dióxido de carbono, el metano o el ozono. El uso de Procesos de Oxidación Avanzada (POA) es atractivo, entre otras razones, porque se destruye el contaminante, no se concentra ni se transfiere al medio ambiente, se consigue una mineralización total o casi total de los contaminantes orgánicos. Por ello se pueden aplicar en la destrucción de la gran mayoría de compuestos orgánicos, especialmente en compuestos no biodegradables como organoclorados, PCBs, PAHs, etc. Es una tecnología limpia y segura y en algunos procesos se puede utilizar la radiación solar como iniciador.

El principal problema para eliminar rápidamente los microorganismos patógenos en grandes espacios de aire es cómo producir los radicales  $\text{OH}^\bullet$  con alta concentración y gran producción. Actualmente, los principales métodos son la catálisis de Fenton, la fotocatalisis y el ozono, así como sus efectos de colaboración [13-17]. Sin embargo, estas tecnologías presentan algunos inconvenientes graves: 1) La tasa de producción de radicales  $\text{OH}^\bullet$  es baja y se obtienen a baja concentración, por lo que el tiempo total de reacción bioquímica es largo, del orden de 15 - 360 min. 2) Las tecnologías mencionadas sólo se

aplican a experimentos o aplicaciones a pequeña escala. 3) En el proceso de producción de  $\text{OH}^\bullet$  se necesita un gran número de reactivos químicos, como  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{TiO}_2$  o  $\text{Fe}^{2+}$ , lo que supone un coste elevado y un problema de seguridad. 4) Con el fin de aumentar la producción de radicales  $\text{OH}^\bullet$ , varios tipos de tecnologías colaboran entre sí dando lugar a equipos accesorios de gran volumen como la torre de burbujas o el lecho empacado rotatorio.

En estudios anteriores, se ha informado de la producción de un gran número de radicales  $\text{OH}^\bullet$  por ionización y disociación de  $\text{O}_2$  en el aire y  $\text{H}_2\text{O}$  en estado gaseoso, utilizando un método físico de descarga de campo eléctrico fuerte. De este modo, los radicales  $\text{OH}^\bullet$  se han utilizado con éxito en el tratamiento del agua de lastre de los barcos y de la marea roja en el océano [18,19].

El óxido de titanio es la referencia actual como material fotocatalizador dada su alta actividad, relativa estabilidad, bajo coste y baja toxicidad. Sin embargo, existen problemas por resolver como la baja tasa de fotocatalisis, la generación de intermedios tóxicos de degradación, la desactivación del material y la necesidad de irradiación UV ya que su band gap no se acopla con la luz solar [20].

## 2.2 Desarrollo de un nuevo proceso de oxidación avanzada para la descontaminación del aire y las superficies.

Ante el escenario descrito, se genera un reto de desarrollo tecnológico seguro y eficaz en la descontaminación de aire y superficies. El objetivo tecnológico se basa en el hito de conseguir un método capaz de producir radicales  $\text{OH}^\bullet$  en cantidades suficientes mediante un sistema innovador que garantice su eficacia y seguridad para el ser humano. El sistema Wadu02® es un dispositivo mediante el cual son especies activas de oxígeno (ROS) como el peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) o un terpeno como el d-limoneno, se evapora y reacciona con una emisión interna de ozono por debajo de una concentración de 0,050 ppm (0,1 mg / m<sup>3</sup>). Este límite de exposición al ozono, establecido en la normativa emitida por la OMS en los valores límite ambientales (VLA) del año 2000 para el público en general en exposiciones de hasta 8 horas [21], se toma como referencia internacional de seguridad en la emisión de ozono para obtener una producción constante y no dañina de radicales  $\text{OH}^\bullet$ .

Las emisiones de ozono de Wadu02® se evaluaron mediante pruebas de limpiadores de aire electrostáticos domésticos en un laboratorio externo

[22] bajo la norma de limpiadores electrostáticos de aire, SUN - UL 867 y probado con un calibrador y monitor de ozono Teledyne, a temperatura y humedad controladas por transductor y caudalímetro Vaisala. La emisión de ozono del dispositivo Wadu02® fue certificada en modo activo y modo nocturno en parámetros inferiores a 0,020ppm (0,012 - 0,015 ppm sin filtros y 0,015 - 0,016 ppm con filtros respectivamente). Los resultados fueron inferiores a todas las normas internacionales relativas a la seguridad en exposiciones prolongadas al ozono.

La producción de radicales  $\text{OH}^\bullet$  mediante la oxidación de  $\text{H}_2\text{O}_2$  se evaluó en condiciones controladas según la funcionalidad oxidativa del dispositivo Wadu02® y se comparó con peróxidos de hidrógeno líquidos en los intervalos de pureza de 0,25% a 0,75%, con la ayuda de la reacción colorimétrica realizada en una tira reactiva de yoduro de potasio. Los resultados indican que la capacidad oxidativa media del  $\text{H}_2\text{O}_2$  al 0,5% de pureza es equivalente a la capacidad oxidativa ofrecida por los dispositivos modelo Wadu02®, con una producción máxima de 0,9 mg/m<sup>3</sup> (0,64 ppm), lo que representa aproximadamente el 64,2% del límite de exposición laboral (LEP) actual ajustado a 1,4 mg / m<sup>3</sup> (1ppm)[23,24].

La concentración umbral para los efectos irritantes agudos del gas peróxido de hidrógeno en las vías respiratorias es de 10 mg/m<sup>3</sup> (equivalente a 7 ppm) en humanos, mientras que los valores correspondientes para la piel son de 20mg/m<sup>3</sup>. En cuanto a su exposición prolongada, no se ha observado que el peróxido de hidrógeno cause efectos teratogénicos o carcinogénicos en humanos. Tampoco se han observado efectos mutagénicos o cromosómicos.

También se comprobó como alternativa a la alta reactividad natural del peróxido de hidrógeno, la sustitución de la carga del cartucho por esencias aromáticas extraídas de flores y plantas debido al papel biocida que tienen los terpenos por sus propiedades antivirales y antibacterianas. Se analizó el proceso de oxidación avanzada en las mismas condiciones de baja emisión de ozono (menos de 0,02ppm) con el modelo Wadu02®, para comparar la eficacia demostrada del peróxido de hidrógeno.

El limoneno es uno de los monoterpenos más abundantes en la naturaleza, presente en los aceites esenciales extraídos de la cáscara de los cítricos, incluidos los aceites esenciales de naranja y mandarina. Este monoterpeno es susceptible de oxidarse para generar compuestos de mayor valor añadido [25].

Los terpenos son hidrocarburos presentes en los aceites esenciales que constan de más de una unidad de isopreno con cinco carbonos. Los monoterpenos, la mayoría de los terpenos, junto con los sesquiterpenos y los diterpenos, constituyen la mayor parte de los aceites esenciales. Debido al bajo peso molecular y a la alta volatilidad de los monoterpenos y sesquiterpenos, el uso de aceites esenciales en ambientes interiores puede aumentar los niveles de compuestos orgánicos volátiles (COV) [26].

Los terpenos contienen uno o más dobles enlaces C=C, que interactúan fácilmente con oxidantes fuertes como el ozono, los radicales hidroxilo [27-29] y los radicales nitrato. El ozono es un contaminante común en interiores, cuyos niveles generales

se distribuyen aproximadamente entre 20 y 40 ppb [30,31]. El uso de máquinas de oficina, como fotocopadoras, impresoras y faxes, también eleva las concentraciones de ozono en interiores [32]. Los COV emitidos por la evaporación de productos terpénicos de interior pueden interactuar con el ozono y generar contaminantes atmosféricos secundarios, principalmente formaldehído y partículas en suspensión [33-37]. Los aerosoles orgánicos secundarios generados por la interacción de los terpenos y el ozono consisten en partículas finas y ultrafinas [38-40]. Por consiguiente, antes

Se realizaron evaluaciones del consumo total de limoneno en el dispositivo Wadu02® para obtener una evaporación controlada y segura.

Se determinó que el consumo total de d-limoneno en los productos Wadu02® era del orden de 0,4 g/24 h. Según la funcionalidad de este dispositivo y la evaporación media de las mediciones registradas en el laboratorio, los productos Wadu02® emiten una nube que contiene d-limoneno con una concentración aproximada de 1,84 ppm, que en una sala de 60m<sup>2</sup> (180m<sup>3</sup>) puede dar lugar a una concentración máxima con un valor inferior a 2ppb. Esta concentración es significativamente inferior a los niveles OEL [41] (límites de exposición profesional) suecos y alemanes, que son de 27ppm y 10ppm, respectivamente.

### 2.3 Toxicología

Para la evaluación y el análisis de las cantidades de formaldehído, que pueden generarse directamente a partir de la reacción del ozono con las unidades estructurales de los enlaces C=C, se evaluaron informes que indicaban que las proporciones de formaldehído formadas por este mecanismo durante las reacciones iniciadas por el ozono con terpenos representan sólo un pequeño porcentaje de las reacciones al ozono [33,34].

El mecanismo principal que forma el formaldehído se inicia mediante la reacción del ozono con el grupo funcional C = C para generar ozónido. Posteriormente, el ozónido se descompone en un carbonilo y un intermediario Criegee rico en energía (bi-radical). Ambos productos participan en varias reacciones de oxidación adicionales para formar especies altamente reactivas como radicales hidroxilo y productos estables. Estos productos estables pueden ser cetonas y ácidos carboxílicos si el proceso ha tenido lugar en un medio oxidante, o aldehídos y cetonas si el proceso ha tenido lugar en un medio reductor.

Durante las reacciones en fase gaseosa del ozono con terpenos se observó la formación de carbonilos estables de bajo peso molecular, entre ellos formaldehído, acetaldehído, acetona y propionaldehído [31,33,36]. Los radicales hidroxilo reactivos generados a partir de las reacciones del ozono con los terpenos desempeñaron un papel vital en la formación de formaldehído en interiores.

Varios estudios han indicado que las concentraciones de radicales OH• en interiores generadas por reacciones del ozono con compuestos insaturados eran superiores a las de exteriores al mediodía o por la noche [42-44]. Los radicales OH• fueron responsables del 56~70% del formaldehído en interiores en las reacciones entre el ozono y 23 COV y el ozono y los terpenos [45]. Por lo tanto, un nuevo objetivo de seguridad es la evaluación de las reacciones de los radicales OH• mediante terpenos y la posible contribución a la obtención de altos niveles de formaldehído en interiores y los efectos potenciales sobre la calidad del aire interior [46].

### 2.4 Prueba de seguridad

Una vez comprobado que el consumo total de limoneno y peróxido de hidrógeno no supera los límites considerados teratogénicos y cancerígenos en humanos y que la emisión de ozono es inferior a lo establecido en la normativa internacional, se evaluó la eficacia en la reducción de formaldehídos. La oxidación avanzada del limoneno con Wadu02® se evaluó utilizando el método de ensayo SPS-KACA002-132: 2016 en condiciones controladas de temperatura y humedad (21 ± 1) °C (45 ± 5)% HR con d-limoneno en el cartucho y con d-limoneno en un gel [47]. Los resultados indican que la reducción de formaldehído en reacciones de ozonólisis con emisiones inferiores a 0,020 ppm y con bajas concentraciones de emisión de d-limoneno con una evaporación de 0,4 g / 24 h equivalente a 1,84 ppm es significativa y alcanza valores del 19% con gel y del 41% con cartucho de limoneno líquido.

Estos resultados demuestran que, a pesar de la alta reactividad del d-limoneno con el ozono para la formación de formaldehído, la emisión controlada de ozono por debajo de 0,02ppm y la evaporación de limoneno por debajo de 2ppb en un espacio de 60m<sup>2</sup> es una reacción segura e inocua.

Para validar esta hipótesis, se llevaron a cabo una serie de pruebas experimentales para determinar la reducción de partículas y contaminantes atmosféricos emitidos por la quema de una varilla de incienso durante una exposición de 2 horas a un purificador de aire Wadu02®, utilizando cartuchos cargados con d-limoneno y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en una cámara de volumen controlado de 225,72 m<sup>3</sup> (6,6 X 6 X 5,7) [48].

Se realizaron cinco mediciones de la calidad del aire en condiciones diferentes. En la primera lectura se determinó la calidad inicial del aire de la sala, sin exposición a incienso ni purificadores de aire. La segunda conferencia se tomó después de 2 horas, ya que se quemó la mitad de una barrita de incienso. La tercera conferencia se determinó después de alcanzar la calidad inicial del aire y quemar la mitad de una varilla de incienso, con la presencia de un purificador de aire de cartucho de

peróxido de hidrógeno durante dos horas. La cuarta lectura se realizó en las mismas condiciones que la tercera pero, en este caso, con un purificador de aire de cartucho de D-limoneno. Por último, la quinta lectura se determinó en las mismas condiciones que las mediciones tercera y cuarta pero, esta vez, con la presencia de ambos purificadores de aire (cartuchos de D-limoneno y de peróxido de hidrógeno).





**FIGURA 1. Valores de la calidad del aire antes y después de contaminar la habitación con la combustión de una varilla de incienso. Comparación de la seguridad y eficacia de Wellis en la eliminación de COV y formaldehído con peróxido de hidrógeno y limoneno.**

El estudio demuestra que, en estas condiciones, quemar una barrita de incienso genera una mala calidad del aire una media de 30 minutos después del inicio de la combustión, con tendencia a regularizarse al cabo de una hora y a volver a las condiciones iniciales al cabo de dos horas, a medida que las partículas emitidas se dispersan en el espacio aéreo de la habitación. Sin embargo, las lecturas de formaldehído y COV son superiores a las del control, lo que refleja el riesgo de una exposición prolongada.

Los resultados en presencia de purificadores Wadu02® independientemente del contenido del cartucho (d-limoneno o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) mantienen la calidad inicial del aire desde la primera media hora de exposición, reduciendo significativamente los valores de materia particulada, formaldehído y COV. La eficacia en términos de reducción de formaldehído y COVs, según se utilice d-limoneno o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para llevar a cabo la emisión de radicales OH•, no es significativa aunque el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> presenta valores más eficaces.

Esto nos permite determinar que el funcionamiento del purificador de aire Wadu02®, basado en la emisión de ozono en bajas concentraciones (< 20 ppb) y la evaporación de cantidades normalizadas de d-limoneno o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> del cartucho (como resultado de la ejecución del proceso de oxidación avanzada) es seguro, inocuo y eficaz en la reducción de partículas en suspensión, COV y formaldehído.

## 2.5 Aplicación de radicales OH• como biocida de amplio espectro.

Los radicales libres y los iones causan alteraciones irreversibles en las macromoléculas (proteínas, membranas y ADN) como consecuencia del movimiento de electrones, lo que provoca un efecto mórbido. Las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (RONS) son las más inestables y reactivas, es decir, son las primeras en reaccionar con otras. Dentro de este grupo, los radicales OH• son las especies con una vida media más efímera debido a su alta reactividad, y por tanto las más peligrosas [49].

Se estudió la eficacia de la concentración de radicales OH• en la eliminación de microorganismos patógenos. En condiciones de densidad de pulverización de 21 μL/cm<sup>2</sup> y con tiempos de tratamiento de 4 segundos, se ha observado una disminución drástica de las células supervivientes de *S. Marcescens* en concentraciones ligeramente superiores a 0,15 mg/L y casi total en concentraciones de 0,41 mg/L. En *B. subtilis*, los niveles eran prácticamente indetectables a concentraciones de 0,5 mg/L, mientras que en las esporas de *bacilo* la reducción era significativa a niveles de 0,3mg/L y prácticamente total a concentraciones máximas de 0,8mg/L [50].

La función biocida de los radicales OH• se basa en el proceso de oxidación avanzada, un mecanismo de estrés celular iniciado por la "explosión respiratoria" (similar a la mitocondrial) y potenciado a través de una cascada de reacciones por la liberación de especies reactivas de oxígeno [51-52], como el peróxido de hidrógeno, que puede atravesar las membranas biológicas, y el ion hipoclorito, que modifica y degrada todas las moléculas biológicas.

Los principales efectos de estas formas reactivas se producen sobre las membranas, los lípidos y los enlaces sulfhidrilos de las proteínas y nucleótidos del ADN [53], produciendo:

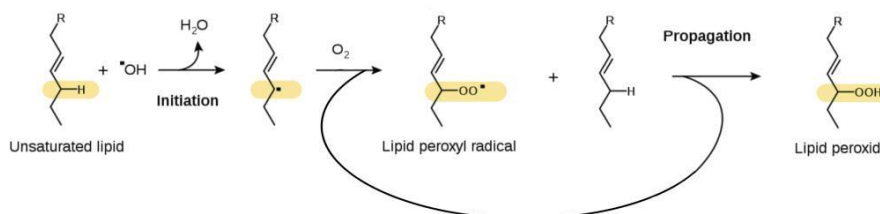
- La peroxidación lipídica, cuyos peróxidos resultantes inician una reacción catalítica en cadena que conduce a una mayor pérdida de ácidos grasos insaturados y a grandes daños en las membranas.
- Producción de enlaces cruzados entre proteínas, mediante la formación de enlaces disulfuro.
- Mutaciones en el material genético del microorganismo patógeno.

Durante el proceso de oxidación celular, las cadenas insaturadas son fácilmente atacadas por los radicales  $\text{OH}^\bullet$ . La peroxidación de los ácidos grasos en las membranas genera radicales peroxilo ( $\text{ROO}^\bullet$ ), disminuyendo su funcionalidad. Estos radicales tienen una reactividad menor que los radicales  $\text{OH}^\bullet$  y, por lo tanto, su vida media es algo más larga.

La presencia de daño celular causado por el estrés oxidativo provoca una respuesta antioxidante en la célula: intentan pasar electrones de una especie a otra hasta que los radicales quedan inactivos y se restablece la estabilidad. Por otro lado, estas interacciones pueden generar cascadas que extiendan el daño [54].

**2.5.1 Oxidación de lípidos.**

Las membranas biológicas están formadas por cadenas de ácidos grasos insaturados y se oxidan fácilmente. Los radicales OH• atacan los dobles enlaces de estas estructuras y dejan un electrón no apareado en la cadena que se unirá a una molécula de oxígeno para volver a estabilizarse, dando lugar a un radical peroxilo. La presencia de radicales de peróxido modifica la funcionalidad de la membrana de forma irreversible, ya que cambia su distribución espacial provocando inestabilidad [55].

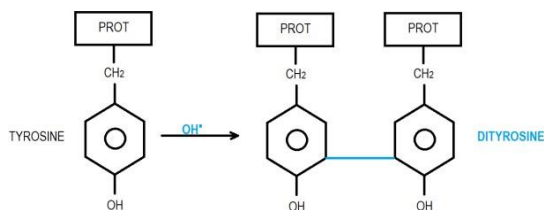


**FIGURA 2: Los radicales •OH atacan los enlaces de estas estructuras y generan una cadena con un electrón no apareado, que reaccionará con una molécula de oxígeno (O<sub>2</sub>) para volver a estabilizarse. Como producto aparecen radicales peroxilo en la membrana, que actúan como retroalimentación positiva aumentando aún más el daño.**

**2.5.2 Oxidación de proteínas: directa (producida por RONS) o indirecta (producida por peroxidación lipídica).**

Los radicales libres provocan cambios en la estructura molecular de los aminoácidos modificando su carga, lo que puede acabar rompiendo la cadena polipeptídica, fragmentando la proteína.

Los radicales peroxilo dan lugar a sustancias con grupos aldehído, especies altamente reactivas que establecen puentes covalentes entre aminoácidos produciendo entrecruzamientos intra e interproteicos. Finalmente, las proteínas pierden conformación y forman agregados, lo que conduce a la disminución o inhibición del correcto funcionamiento de la proteína



**FIGURA 3. Los radicales OH• forman puentes covalentes irreversibles entre dos tirosinas. El producto (ditirosina) no es reconocido por las quinasas de las vías de señalización, por lo que se pierde la información que la tirosina tenía que transmitir. Además, esta estructura no es degradable, por lo que se acumulan proteínas no funcionales con puentes intra e intermoleculares.**

**2.5.3 Cambios morfológicos de los microorganismos.**

El estudio de Bai et al. 2012 [50] verificó los cambios morfológicos de las esporas de *B. subtilis* y *Bacillus* con el tratamiento con radicales OH• bajo observación microscópica en esporas de *B. Subtilis*, *S. Marcescens* y *Bacillus*.

Se observó claramente que *B. subtilis* en forma de bastón intacto y citoplasma uniformemente distribuido tras el tratamiento con radicales OH•, perdía en gran medida la integridad de la membrana. Por otra parte, las células de esporas de *Bacillus* presentan un revestimiento exterior resistente y multicapa que hace imposible matar rápidamente las esporas de *Bacillus* con desinfectantes químicos convencionales como el cloro, el álcali y el álcali-alcohol-amina. Sin embargo, tras el tratamiento con radicales OH•, las esporas de *Bacillus* también se rompieron y desaparecieron las células de forma redondeada. En consecuencia, las esporas de *Bacillus* requieren una mayor concentración de barrido de radicales OH•, densidad de pulverización - dispersión y tiempo. La concentración, la densidad de pulverización - dispersión y el tiempo de tratamiento son los tres parámetros importantes para el efecto destructivo de los radicales OH• sobre los microorganismos.

La demostración de que el efecto de los radicales OH• sobre un microorganismo será con mayor eficacia biocida según su estructura más superficial (recogida en estudios anteriores) determina la necesidad de reconocer las características morfológicas de los microorganismos patógenos desde su capa externa hasta el interior de la célula específica [56,57].

Algunos microorganismos han sido capaces de revertir este proceso oxidativo a través de la superóxido dismutasa (SOD), una familia de tres metaloenzimas (FeSOD, MnSOD y CuZnSOD) con gran capacidad para interactuar con los oxidantes, neutralizándolos y reduciendo el daño oxidativo.

La MnSOD es sintetizada por *Escherichia coli* [58] tras la exposición al oxígeno y es inducida por la presencia de radicales superóxido. Tanto la actividad de la SOD como la de la catalasa se han detectado en el citosol de las células microbianas y en el espacio periplásmico (situado entre la membrana plasmática y la pared celular) de las bacterias. Asimismo, se ha demostrado un papel protector frente a las ERO generadas en el estallido respiratorio de la catalasa en *Staphylococcus aureus*. [59-61]

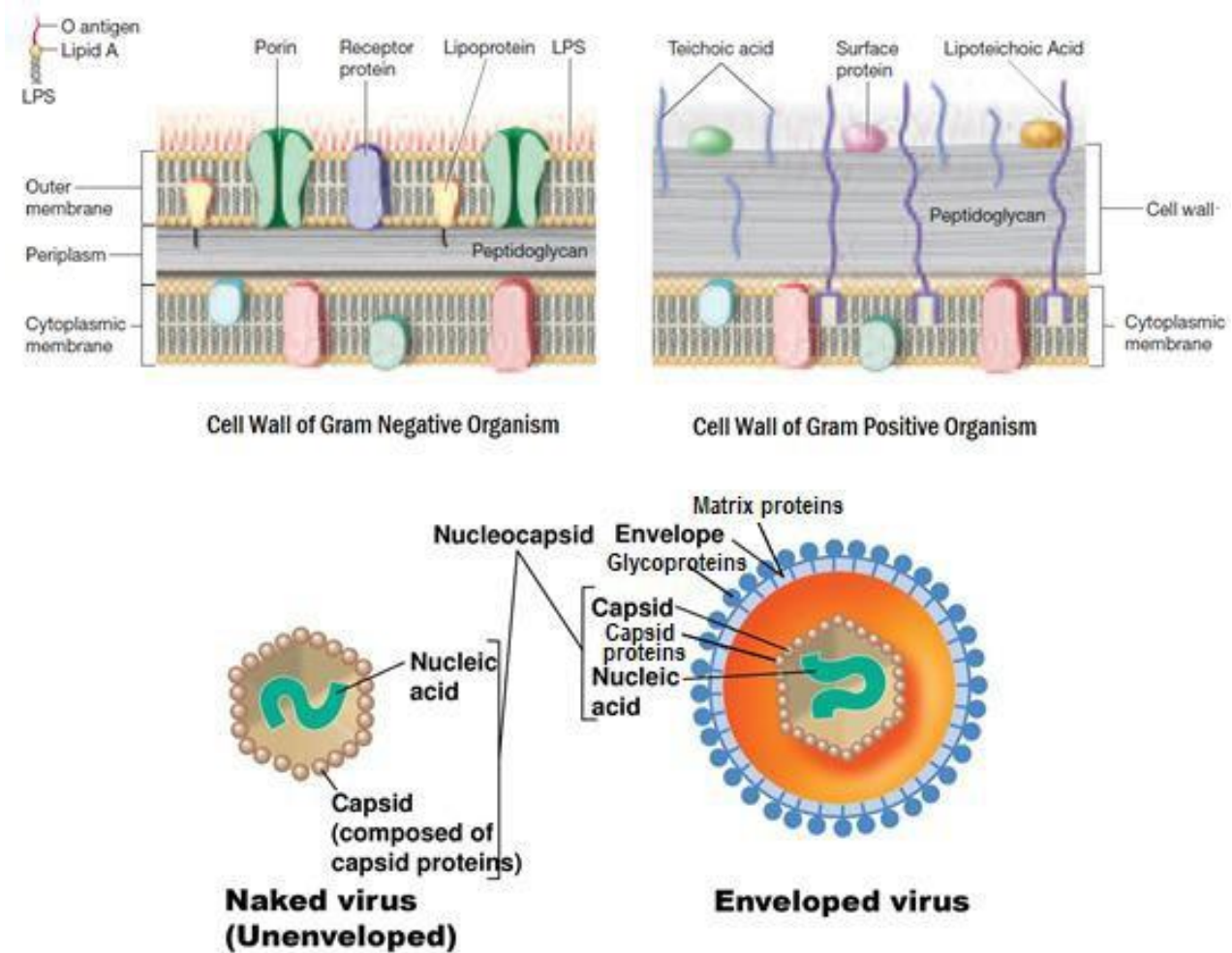


FIGURA 4: Envolturas celulares según el tipo y morfología de virus y bacterias. Adaptado de Pearson education, Inc ©2015 & laboratoryinfo.com.

En los últimos años, diferentes laboratorios, certificadoras externas y centros de investigación universitarios han desarrollado diversos estudios para comprobar la eficacia biocida del Wadu02®, en presencia de microorganismos patógenos en diferentes espacios.

Los resultados se reflejan en la Tabla 1, en la que podemos observar que en el caso de bacterias gram + y gram - la reducción alcanza una media del 99,9% en la primera hora de exposición al proceso de oxidación avanzada, tanto en aire como en superficies.

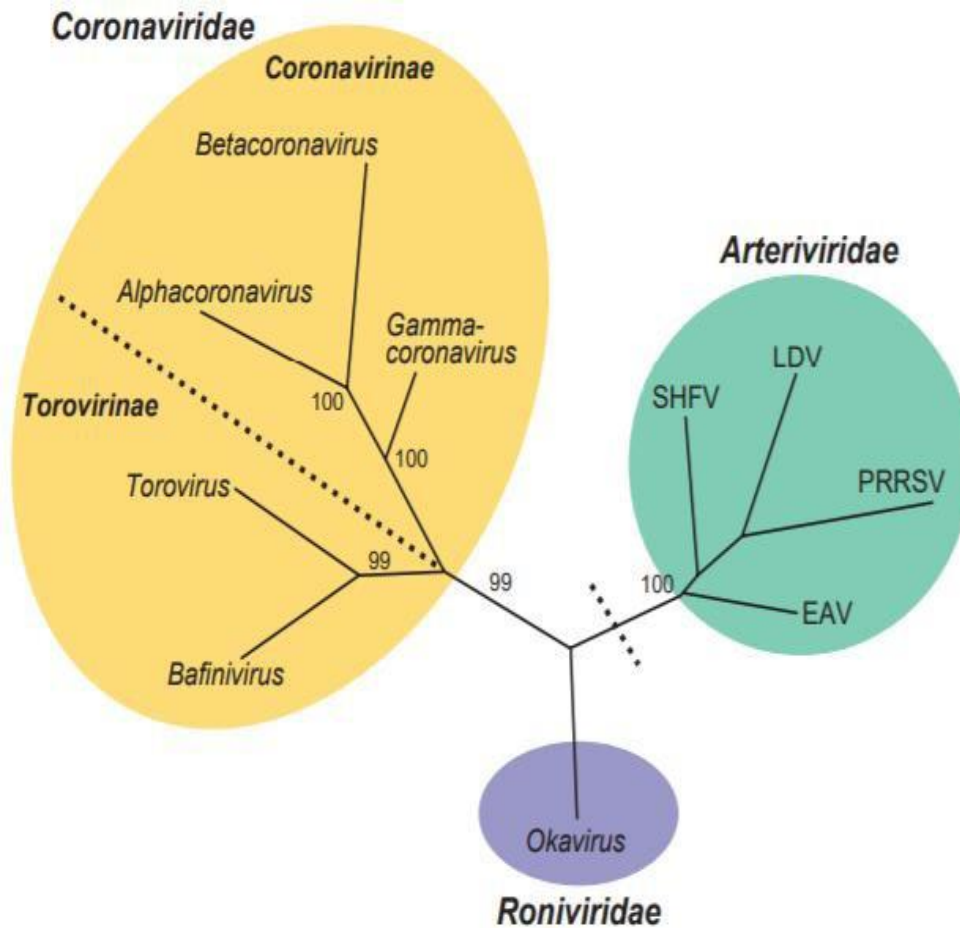
En el caso de los virus, los resultados se observan en función de las condiciones de humedad relativa y de la morfología del virus. Los resultados de eficacia de Wadu02® en virus no envueltos indican que en condiciones de humedad la eficacia es menor que en ambientes secos, alcanzándose medias del 99%; mientras que en virus envueltos la humedad favorece el

proceso de oxidación avanzada y la eliminación del virus que en ambientes secos.

**2.5.4 Informe sobre la estabilidad y la desinfección de 2019-nCoV**

El 2019-nCoV es una nueva cepa de coronavirus que se detectó por primera vez en la ciudad de Wuhan (China) en diciembre de 2019. El número de pacientes infectados creció rápidamente en las últimas semanas, convirtiéndose en un grave problema de salud pública. La transmisión del virus se produce principalmente a través de gotitas respiratorias producidas por una persona infectada que pueden caer en la boca o la nariz de personas cercanas o posiblemente ser inhaladas en los pulmones. Los coronavirus son una gran familia de virus comunes en muchas especies diferentes de animales, como camellos, ganado, gatos y murciélagos. En raras ocasiones, los coronavirus animales pueden infectar a las personas y propagarse entre nosotros, como ocurrió con el MERS, el SARS y ahora con el 2019-nCoV [62].

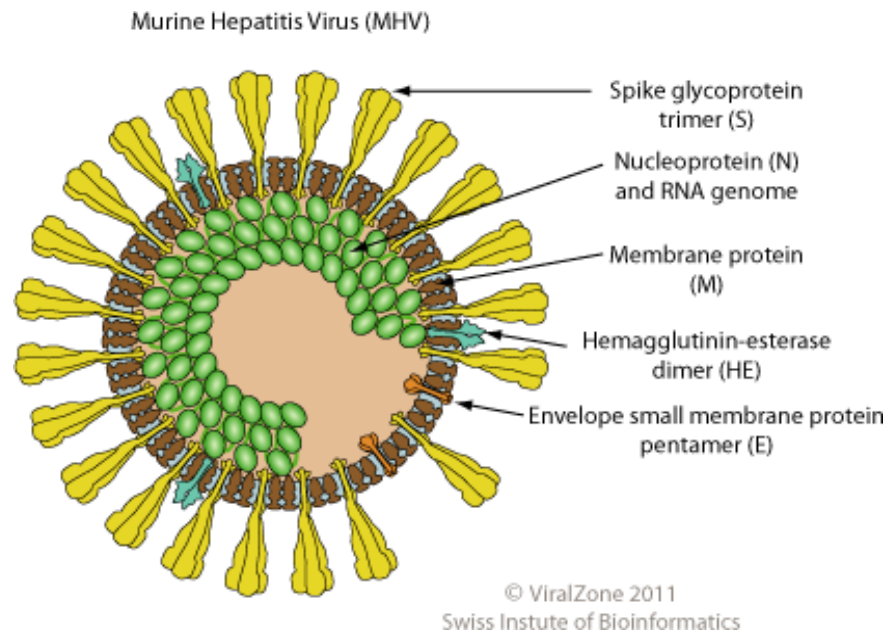
El nuevo coronavirus ha sido clasificado como un *Betacoronavirus*, como el MERS y el SARS, ambos originados en murciélagos. Los coronavirus pertenecen a la subfamilia *Coronavirinae* de la familia *Coronaviridae*, en el orden *Nidovirales*. Se dividen en 4 subgéneros *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Deltacoronavirus* y *Gammacoronavirus*[63].



**FIGURA 5: Filogenia de los nidovirus. El orden Nidoviral consta de tres familias: *Coronavirinae*, *Roniviridae* y *Arteriviridae* del Comité Internacional de Taxonomía de Virus, 2012 ©.**

Basándose en el material genético, estos virus se incluyen en el grupo IV de la clasificación de Baltimore, ya que la partícula vírica contiene un único ARN de cadena de sentido positivo. Por lo tanto, el propio material genético actúa como un ARN mensajero, ya que ambos son de sentido positivo. Cuando se traduce, se sintetizan la ARN polimerasa y las diferentes proteínas estructurales que forman la cápside [64].

El diámetro de los coronavirus es de unos 60-200 nm. Presentan una nucleocápside con simetría helicoidal y una vaina lipídica, que deriva de la membrana de la célula huésped previamente infectada y contiene glicoproteínas y antígenos de superficie. De la vaina lipídica surgen las proyecciones características de este género formando una corona solar a su alrededor que es visible al microscopio y da nombre a la familia. A pesar de lo que cabría esperar, el hecho de tener una envoltura implica que el virus es sensible a diferentes factores y agentes externos como el calor, los disolventes lipídicos, los detergentes no iónicos, el formaldehído, los agentes oxidantes y la irradiación UV [63].



**FIGURA 6: Proteínas estructurales de los coronavirus (de ViralZone©)**

Como puede verse en la Figura 6, la cápside del coronavirus consta de las siguientes proteínas estructurales:

La glicoproteína Spike (S) sobresale de la envoltura externa del virus formando la "corona" visible al microscopio. Su función es adherirse a las proteínas que se encuentran en la superficie de las células e infectarlas. En algunos casos, la proteína S hace que la célula infectada se fusione con otras células adyacentes, favoreciendo así la propagación del virus. La proteína de la Envoltura (E) es responsable de la formación de nuevas partículas virales y de su liberación de la célula infectada, siendo necesaria para la difusión del virus. La proteína de la Membrana (M) está unida a la parte interna de la membrana del virus y hace que esta membrana se doble, determinando la forma esférica de los viriones. La M también interactúa con la nucleocápside formada por el ARN del virus y la proteína N. Por último, la proteína de la nucleocápside (N) se fosforila y se une al genoma viral durante el ensamblaje.

Son virus distribuidos por todo el mundo debido a su diversidad genética, sus cortos periodos de incubación y la elevada tasa de mutación que presentan. La combinación de estos factores permite al patógeno infectar no sólo a animales, sino también a seres humanos.

Es bien sabido que el ozono, en concentraciones superiores a 100ppm y con altos índices de humedad, es un tratamiento de desinfección eficaz especialmente para los virus ARN con o sin envoltura [65-67]. Sin embargo, las altas concentraciones de ozono pueden ser perjudiciales para la coexistencia en entornos urbanos habitables. Se ha descrito que las especies reactivas de oxígeno (ROS), incluidos los radicales  $\text{OH}^\bullet$ , el peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) y el ozono ( $\text{O}_3$ ) mejoran la eficacia de desinfección de varios microorganismos [68,69].

### III. RESULTADOS

De acuerdo con los resultados obtenidos con Wadu02® en virus con estructuras similares al Covid-19 (RSV), podemos esperar que la eficacia del dispositivo tenga un resultado de eliminación esperado de una media del 99 al 92% dependiendo de las condiciones de humedad relativa.

### IV. CONCLUSIONES

Los resultados demuestran que el uso de radicales  $\text{OH}^\bullet$  en el proceso de oxidación avanzada producido por el purificador Wadu02® es un método nuevo, seguro y eficaz para eliminar rápidamente microorganismos patógenos en grandes espacios y superficies de aire.

La aplicación de radicales  $\text{OH}^\bullet$  en diferentes estudios ha demostrado que su uso en procesos de oxidación avanzada, estandarizados como medida de seguridad llevada a cabo por Wadu02®, es seguro, inocuo y eficaz en el control de microorganismos patógenos y la eliminación de partículas en suspensión, formaldehído y COVs.

Las evidencias sobre la eficacia de los radicales  $\text{OH}^\bullet$  como biocida demuestran que su uso está avalado por ser un oxidante fuerte, capaz de eliminar microorganismos en bajas concentraciones (0,8 mg/L) equivalentes a 10 milésimas de la dosis de los convencionales



desinfectantes químicos. Su densidad de pulverización - dispersión es de 22ml/cm<sup>2</sup> que representa una milésima parte de otros desinfectantes, su alta velocidad de reacción constante 10<sup>9</sup> L/mol - seg en el procesamiento de radicales OH• es inferior a 4 segundos, que es una milésima parte de los desinfectantes químicos. Por último, los daños que se han observado en los patógenos al microscopio son irreversibles.

Basando nuestro estado homeostático en el correcto funcionamiento de nuestro sistema antioxidante interno y la demostración experimental del uso de radicales OH• de forma eficaz en la desinfección de aire y superficies, podemos emitir una declaración de seguridad sobre el uso de la tecnología Wadu02® para conseguir procesos de oxidación avanzada seguros, eficaces e inocuos en humanos en los procesos de purificación y descontaminación de aire y superficies.

**CUADRO 1**  
**EFICACIA DEL BIOCIDA WADU02© RESULTADO DE LA PRUEBA CON LIMONENO**

Patógeno	Medios de dispersión	Exposición	de eficacia	Pruebas documentadas
<i>Bacillus subtilis</i> (Gram +)	Superficie	1 h	99,4	Bacillus, Esch, Estafilococo - KNU
	Aire	20 minutos	99,6	Bacillus, Esch, Estafilococo - KNU
<i>Staphylococcus aureus</i> (Gram +)	Superficie	1 h	52,3	Bacillus, Esch, Estafilococo - KNU
	Superficie	4 h	99,9	Esch, Pseudo, Staphy- KCL
	Aire	1 h	99,9	Bacillus, Esch, Estafilococo - KNU
<i>Staphylococcus aureus resistente (SARM)</i> (Gram + resistente)	Superficie	4 h	99,9	Salm, Kleb, SARM - KCL
	Aire	4 h	99,9	SARM - KCL
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Gram -)	Superficie	4 h	99,9	Esch, Pseudo, Staphy- KCL
Especies de <i>Enterobacter: Salmonella</i> (Gram -)	Superficie	4 h	99,9	Salm, Kleb, SARM - KCL
Especies de <i>Enterobacter: Klebsiella</i> (Gram -)	Superficie	4 h	99,9	Salm, Kleb, SARM - KCL
	Aire	4 h	99,9	Klebsiella - KCL
Especies de <i>Enterobacter: Escherichia coli</i> (Gram -)	Superficie	1 h	99,9	Bacillus, Esch, Estafilococo - KNU
	Superficie	4 h	99,9	Esch, Pseudo, Staphy- KCL
	Aire	20 minutos	99,9	Bacillus, Esch, Estafilococo - KNU
<i>Virus de la gripe (con envoltura)</i>	Mojado	30 min	86	Gripe A - UB
	Seco	30 min	38	Gripe A - UB
VRS - <i>Virus respiratorio sincitial (envuelto)</i>	Mojado	2 h	99	VRS - UB
	Seco	2 h	92	VRS - UB
<i>Rotavirus (desnudo)</i>	Mojado	2 h	37	RoV - UB
	Seco	2 h	99	RoV - UB

## REFERENCIAS

- [1] De la Rosa, MC; Mosso, MA; Ullán, C. (2002) El aire: hábitat y medio de transmisión de microorganismos. *Observ. Medioambiental*; 5:375-402.
- [2] Smith RD. (2006) Responding to global infectious disease outbreaks: lessons from SARS on the role of risk perception, communication and management. *SocSci Med*;63(12):3113-23.
- [3] Comité de Redacción de la Consulta de la OMS sobre Aspectos Clínicos de la Gripe Pandémica (H1N1) 2009, Bautista E, Chotpitayasunondh T, Gao Z, Harper SA, Shaw M, Uyeki TM, Zaki SR, Hayden FG, Hui DS, Kettner JD, Kumar A, Lim M, Shindo N, Penn C, Nicholson KG. (2010) Clinical aspects of pandemic 2009 influenza A (H1N1) virus infection. *N Engl J Med*; 362(18):1708-19. Revisión. Fe de erratas en: *N Engl J Med*. 27 de mayo de 2010;362(21):2039.
- [4] Chan PK, Chan MC. (2013) Tracing the SARS-coronavirus. *J Thorac Dis*;5(Suppl.2): S118-21.
- [5] Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, Zhang L, Fan G, Xu J, Gu X, Cheng Z, Yu T, Xia J, Wei Y, Wu W, Xie X, Yin W, Li H, Liu M, Xiao Y, Gao H, Guo L, Xie J, Wang G, Jiang R, Gao Z, Jin Q, Wang J, Cao B. (2020) Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*;395(10223):497-506.
- [6] Isaksen, I.S.A.; Dalsoren, SB. (2011) Obteniendo una mejor estimación de un radical atmosférico. *Science* 331: 31-9.
- [7] Mindong Bai, Zhitao Zhang, Yiping Tian & Mindi Bai (2012) Rapidly eliminating pathogenic microorganisms in large air space using spraying OH• radicals, *Journal of the Air & Waste Management Association*, 62:4, 393-7.
- [8] Raber, E., Jin, A., Noonan, K., McGuire, R. y Kirvel, R.D. (2001) Decontamination issues for chemical and biological warfare agents: ¿Hasta qué punto es suficientemente limpio? *Int. J. Environ. Health Res.*, 11: 128-148.
- [9] Raber, E. y McGuire, R. (2002) Oxidative decontamination of chemical and biological warfare agents using L-Gel. *J. Hazard. Mater.*, 93: 339-352.
- [10] Roberto, A. y Vincenzo, C. (1999) Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery. *Catal. Today*, 53: 51-9.
- [11] Glaze, W.H., Kang, J.W. y Chapin, D.H. (1987) The chemistry of water treatment processes involving ozone, hydrogen peroxide and ultraviolet radiation. *Ozone Sci. Eng.*, 9: 335-6.
- [12] Elías, A; Rogero, S; Fernández, I; Montes, J; Luengas, T; Gurtubay, L. (2012) Contribución de los COV's a la contaminación del aire interior, *Comunicación XVI Congreso Internacional de Ingeniería de Proyectos*. Valencia, España.
- [13] Shreya, S., Boris, D. y Vishal, S. (2007) Development of a new approach for microbial decontamination of water using modified Fenton's reaction. *Environ. Pollut*, 148: 674-8.
- [14] Veressinina, G.Y. y Trapido, M. (2008) Degradation of salicylic acid by Fenton and modified Fenton treatment. *Chem. Eng. J.*, 143: 1-9.
- [15] Maurizio, A. y Vincenzo, A. (2005) Oxidación del ion oxalato en suspensiones acuosas de TiO<sub>2</sub> mediante fotocatalisis y ozonización. *Catal. Today*, 107-108: 612-8.
- [16] Naoyuki, K. y Yukako, M. (2005) Advanced oxidation effect of ozonation combined with electrolysis. *Water Res.*, 39: 4661-72.
- [17] Nick, S. y Satoshi, H. (2010) Microondas en procesos avanzados de oxidación para aplicaciones medioambientales. *J. Photochem. Photobiol. C Photochem. Rev.*, 11: 114-31.
- [18] Bai, M.D., Bai, X.Y., Zhang, Z.T., Bai, M.D. and Yang, B. (2005) Treatment of red tide in Ocean using non-thermal plasma based advanced oxidation technology. *Plasma Chem. Plasma Process*, 25: 539-50.
- [19] Bai, X.Y., Zhang, Z.T., Bai, M.D. and Yang, B. (2005) Killing of invasive species of ship's ballast water in 20t/h system using hydroxyl radicals. *Plasma Chem. Plasma Process.*, 25: 41-54.
- [20] Gargori, C; Galindo, R; Llusar, M; Tena, MA; Monrós, G; Badenes, JA. (2009) Degradación fotocatalítica del Naranja II por adición de titanio a vidrios sol-gel. *Sci and Tech*; 50:314-20
- [21] OMS (2000) Guías de la calidad del aire de la OMS relativas al material particulado, el ozono, el dióxido de nitrógeno y el dióxido de azufre. (2005) (<http://www.euro.who.int/Document/E87950>)
- [22] Intertek (2018) Pruebas de emisiones de ozono de limpiadores de aire electrostáticos domésticos número de informe:103502990CRT-001, GFT-OP-10o.
- [23] Real Decreto 374/2001, de 6 de abril sobre la protección de la salud y seguridad de los trabajadores contra los riesgos relacionados con los agentes químicos durante el trabajo. (BOE núm. 104 de 1 de mayo de 2001.)
- [24] Ley 31/1995, de 8 de noviembre, de Prevención de Riesgos Laborales.
- [25] Castellanos, FE. (2007). Biotransformación de limoneno y aceites esenciales de naranja y mandarina empleando *aspergillus niger*. Tesis de Maestría Química. Universidad Industrial de Santander.
- [26] Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Waomar M. (2008) Biological effects of essential oils - A review. *Food Chem Toxicol*. 46:446-75.
- [27] Nøjgaard JK, Bilde M, Stenby C, Nielsen OJ, Wolkoff P. (2006) The effect of nitrogen dioxide on particle formation during ozonolysis of two abundant monoterpenes indoors. *Atmos Environ*; 40:1030-42.
- [28] Weschler CJ. (2006) El impacto del ozono en la salud pública: Contributions from indoor exposures to ozone and products of ozone-initiated chemistry. *Environ Health Perspect*; 114:1489-96.
- [29] Wells JR, Forester CD. (2009) Yields of carbonyl products from gas-phase reactions of fragrance compounds with OH radical and ozone. *Environ Sci Technol*; 43:3561-8.
- [30] Sabersky RH, Sinema DA, Shair FH. (1973) Concentrations, decay rates, and removal of ozone and their relation to establishing clean indoor air. *Environ Sci Technol*; 7:347-53.

- [31] Weschler CJ. (2000) Ozono en ambientes interiores: Concentración y Química. *Indoor Air*;10:269-88.
- [32] Grosjean D, Williams EL, Grosjean E, Andino JM, Seinfeld JH. Atmospheric oxidation 1 of biogenic hydrocarbons: reaction of ozone with beta-pinene, D-limonene and trans caryophyllene.(1993) *Environ Sci Technol*;27:2754-8.
- [33] Shu Y, Kwok ESC, Tuazon EC, Atkinson R, Arey J. (1997) Products of the gas-phase reactions of linalool with OH radicals, NO<sub>3</sub> radicals, and O<sub>3</sub>. *Environmental science & technology*; 31:896-904.
- [34] Fan Z, Liou P, Weschler C, Fiedler N, Kipen H, Zhang J. (2003) Ozone-initiated reactions with mixtures of volatile organic compounds under simulated indoor conditions. *Environ Sci Technol*; 37:1811-21.
- [35] Tamás G, Weschler CJ, Toftum J, Fanger PO. (2006) Influencia de las reacciones ozono-limoneno en la calidad del aire percibida. *Indoor Air*; 16:168-78.
- [36] Lamorena RB, Lee W. (2008) Influence of ozone concentration and temperature on ultra-fine particle and gaseous volatile organic compound formations generated during the ozone-initiated reactions with emitted terpenes from a car air freshener. *J Hazard Mater*; 158:471-7.
- [37] Huang YT, Chen CC, Chen YK, Chiang CM, Lee CY. (2012) Environmental test chamber elucidation of ozone-initiated secondary pollutant emissions from painted wood panels in buildings. *Build Environ*; 50:135-40.
- [38] Wainman T, Zhang J, Weschler CJ, Liou PJ. (2000) Ozono y limoneno en el aire interior: una fuente de exposición a partículas submicrónicas. *Environ Health Perspect*; 108:1139-45.
- [39] Lamorena RB, Jung SG, Bae GN, Lee W. (2007) The formation of ultra-fine particles during ozone-initiated oxidations with terpenes emitted from natural paint. *J Hazard Mater*; 141:245-51.
- [40] Sarwar G, Corsi R. (2007) The effects of ozone/limonene reactions on indoor secondary organic aerosols. *Atmos Environ*; 41:959-73.
- [41] Directiva 98/24/CE sobre agentes químicos y Directiva marco 89/391/CEE
- [42] Weschler CJ, Shields HC. (1996) Producción del radical hidroxilo en el aire interior. *Environ Sci Technol*; 30:3250-8.
- [43] Weschler CJ, Shields HC. (1997) Mediciones del radical hidroxilo en un ambiente interior manipulado pero realista. *Environ Sci Technol*; 31:3719-22.
- [44] Sarwar G, Corsi R, Kimura Y, Allen D, Weschler CJ. (2002) Hydroxyl radicals in indoor environments. *Atmos Environ*; 36:3973-88.
- [45] Weschler CJ. (2004) Reacciones químicas entre contaminantes de interior: lo que hemos aprendido en el nuevo milenio; 14:184-94.
- [46] Huang, H. L., Tsai, T. J., Hsu, N. Y., Lee, C. C., Wu, P. C., & Su, H. J. (2012). Efectos de los aceites esenciales en la formación de formaldehído y aerosoles orgánicos secundarios en un entorno de aromaterapia. *Building and Environment*, 57, 120-125.
- [47] Laboratorios de Conformidad de Corea (2017). SPS-KACA002-132:2016 / Wadu02-A-03.
- [48] Universitat Politècnica de Catalunya CRESCA-UPC. Salmeron D, AM; Picón T, J; García R, J. (2019) Ensayo de eliminación efecto partículas, COV's y formaldehído mediante peróxido de hidrógeno y d-limoneno.
- [49] Riley PA. (1994) Radicales libres en biología: estrés oxidativo y efectos de la radiación ionizante. *Int J Radiat Biol*;65(1):27-33.
- [50] Bai M, Zhang Z, Tian Y, Bai M. (2012) Eliminación rápida de microorganismos patógenos en grandes espacios de aire mediante pulverización de radicales \*OH. *J Air Waste Manag Assoc*; 62(4):393-7.
- [51] Shapoval GS, Gromova VF. (2003) Mechanism of antioxidant protection of an organism from oxidative stress. *Ukr Biokhim Zh*;75(2):5-13.
- [52] Adair TM. (1996) ¿Es el peróxido un peligro? *J Am Dent Assoc*;127(4):422.
- [53] Huttunen J. (1994) Radicales libres y antioxidantes. Ventajas de los antioxidantes en medicina clínica, ¿verdad o ficción? *Duodecim*;110(17):1606-8.
- [54] Ede S, Hafner L, Dunlop P, Byrne J, Will G. (2012) Photocatalytic disinfection of bacterial pollutants using suspended and immobilized TiO<sub>2</sub> powders. *Photochem Photobiol*;88(3):728-35.
- [55] Estrela C, Sydney GB, Bammann LL, Felipe Júnior O. (1995) Mecanismo de acción de los iones calcio e hidroxilo del hidróxido de calcio sobre tejidos y bacterias. *Braz Dent J*;6(2):85-90.
- [56] O'Brien D, Stevens N, Fitzgerald-Hughes D, Humphreys H. Effect of a novel air disinfection system on airborne micro-organisms in a hospital outpatient clinic (2012) *J Hosp Infect*;80(1):98-9.
- [57] Wong V, Staniforth K, Boswell TC. (2011) Contaminación ambiental y recuentos microbianos en el aire: ¿un papel para las unidades de desinfección por radicales hidroxilo? *J Hosp Infect*;78(3):194-9.
- [58] Hao J, Qiu S, Li H, Chen T, Liu H, Li L. (2012) Roles of hydroxyl radicals in electrolyzed oxidizing water (EOW) for the inactivation of *Escherichia coli*. *Int J Food Microbiol*;155(3):99-104.
- [59] Zhang Q, Ma R, Tian Y, Su B, Wang K, Yu S, Zhang J, Fang J. (2016) Sterilization Efficiency of a Novel Electrochemical Disinfectant against *Staphylococcus aureus*. *Environ Sci Technol*;50(6):3184-92.
- [60] O'Brien D, Stevens N, Fitzgerald-Hughes D, Humphreys H. Effect of a novel air disinfection system on airborne microorganisms in a hospital outpatient clinic. *J Hosp Infect*. 2012 Jan;80(1):98-9.
- [61] Wong V, Staniforth K, Boswell TC. (2011) Contaminación ambiental y recuentos microbianos en el aire: ¿un papel para las unidades de desinfección por radicales hidroxilo? *J Hosp Infect*;78(3):194-9.
- [62] Novel coronavirus 2019 situation summary, Wuhan, China, CDC (fecha desconocida)
- [63] Lefkowitz, E. J., Dempsey, D. M., Hendrickson, R. C., Orton, R. J., Siddell, S. G., & Smith, D. B. (2018). Taxonomía de virus: la base de datos del Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV). *Nucleic acids research*, 46(D1), D708-D717.
- [64] Fehr AR, Perlman S. (2015) Coronavirus: una visión general de su replicación y patogénesis. *Métodos Mol Biol*; 1282:1-23.
- [65] Directrices de la OMS sobre la higiene de las manos en la atención sanitaria: primer reto mundial para la seguridad del paciente una atención limpia es una atención más segura

- 
- [66] Sato H, Wananabe, Y; Miyata, H. (1990) Virucidal effect of ozone treatment of laboratory animal viruses. *ExpAnim*; 39:223-9.
- [67] Breidablik, HJ; Lysebo, DE; Johannessen, L; Skare, A; Andersen, JR; Kleiven, OT (2019) Agua ozonizada como alternativa a la desinfección de manos basada en alcohol. *J Hosp Infect*, 102:419-24.
- [68] Jeong, J; Kim, JY; Yoon, J. (2006) The role of Reactive oxygen species in the electrochemical inactivation of microorganisms. *Environ SciTechnol* 40:6117-122.
- [69] Huang, X; Qu, Y; Cid, CA; Finke, C; hoffman, MR; Lim, K; Jiang, SC. (2016) Electrochemical disinfection of toilet wastewater electrolysis cell 92:164-72.