






ARTÍCULO ORIGINAL

Agua ozonizada e Industria Alimentaria: Evaluación antimicrobiana en la desinfección de filetes de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*)

Ozonated water and Food Industry: Antimicrobial evaluation in the disinfection of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets.

Sandra Pasapera-Campos¹, Greycy Ventura-Chávez¹, Hans Minchán-Velayarce¹, Christian Rivera-Salazar¹, Juan Ticona-Yujra²

RESUMEN

Los productos hidrobiológicos son altamente perecibles, es por ello que se desarrolla esta investigación con el objetivo de evaluar la carga microbiana en la desinfección de filetes de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) respecto a *Staphylococcus aureus*, mesófilos aerobios, *Salmonella sp* y *Escherichia coli*, sumergiendo a distintos tiempos (30, 60 y 90 s) y concentración (0.5, 1.5 y 2.5 ppm). Se efectuó análisis microbiológico los días 1, 8, 15, y 22 de refrigeración (4 °C), controlando el pH según AOAC 981.12 (1990). El diseño experimental fue factorial 3O x 3T, con tres repeticiones por tratamiento. Se usó R Project para efectuar el ANOVA y pruebas de Tukey. Los resultados revelaron que el tratamiento con agua ozonizada, especialmente utilizando 2.5 ppm de ozono y 30 segundos de inmersión (O3T1), mostró un efecto antimicrobiano significativo contra *Staphylococcus aureus*, mantuvo los niveles de mesófilos aerobios por debajo del límite mínimo y evitó el desarrollo de *Salmonella sp* por cada 25 g de filete y *Escherichia coli* por cada 10 g de filete. En conclusión, los resultados demuestran que el uso de ozono juega un papel crucial tanto en la estabilización del pH como en la disminución significativa de las cargas microbianas examinadas.

Palabras claves: Microbiología, ozono, *Oncorhynchus mykiss*

ABSTRACT

Hydrobiological products are highly perishable, which is why this research was carried out with the objective of evaluating the microbial load in the disinfection of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets concerning *Staphylococcus aureus*, aerobic mesophiles, *Salmonella sp.* and *Escherichia coli*, submerging at different times (30, 60 and 90 s) and concentrations (0.5, 1.5 and 2.5 ppm). Microbiological analysis was performed on days 1, 8, 15, and 22 of refrigeration (4 °C), controlling pH according to AOAC 981.12 (1990). The experimental design was 3O x 3T factorial, with three replicates per treatment. R Project was used to perform ANOVA and Tukey's tests. The results revealed that treatment with ozonated water, especially using 2.5 ppm ozone and 30 seconds of immersion (O3T1), showed a significant antimicrobial effect against *Staphylococcus aureus*, maintained the levels of aerobic mesophiles below the minimum limit and prevented the development of *Salmonella sp* per 25 g of fillet and *Escherichia coli* per 10 g of fillet. In conclusion, the results demonstrate that the use of ozone plays a crucial role in both stabilizing pH and significantly decreasing the microbial loads examined.

Keywords: Microbiology, ozone, *Oncorhynchus mykiss*.

*Autor para correspondencia

¹ Universidad Nacional de Jaén, Perú. Email: spasaperac@unj.edu.pe; greycyventura@gmail.com; hans.minchan@unj.edu.pe; christian.rivera@unj.edu.pe

² Empresa Privada Ecofriendly Engineers S.A.C., Perú. Email: juan.ticona.yujra@unj.edu.pe

INTRODUCCIÓN

En la actualidad la actividad acuícola, económicamente se ha globalizado con una perspectiva de crecimiento muy importante. El Perú es un potencial cultivador y generador de productos de derivados hidrobiológicos, ya que se posee los recursos acuícolas y climatológicos adecuados para la producción de *Oncorhynchus mykiss* (Tantaleán, 2014). Múltiples países europeos y latinoamericanos emplean ozono (O₃) para prevenir la contaminación con bacterias, mohos, virus en varios tipos de alimentos como quesos, pescados, carnes, huevos, frutas, pudiéndose así prolongar su tiempo de conservación (Sanjuás, 2012).

Los pescados y productos hidrobiológicos en general son altamente perecibles, lo que conlleva a la industria alimentaria a buscar métodos de conservación para estos productos. Entre estos métodos están la aplicación de ozono en la manipulación y lavado del pescado, ya que evita el desarrollo de microorganismos patógenos causantes del daño de estos alimentos perecederos (Top Ozono, 2021). Por esta razón, se han desarrollado investigaciones en esta área de interés, destacando el estudio de Espinosa (2015), que exploró el impacto de sumergir filetes de dorada (*Sparus aurata*) en agua ozonizada a varias concentraciones (0.35, 0.50, y 0.75 mg L⁻¹) por un lapso de 10 minutos, así como a una concentración de 0.30 mg L⁻¹ durante periodos de 20 y 40 minutos. Los resultados fueron que concentraciones menores a 0.75 mg L⁻¹ no fueron suficiente para disminuir la carga microbiana en filetes de dorada. Así mismo, Medeiros y Gonçalves (2016), sumergieron muestras enteras y filetes de tilapia en agua fría (11 °C) sin ozono (control) y con ozono (0.5, 1.0, 1.5 ppm) durante 0, 5, 10 y 15 minutos. Los hallazgos revelaron que la tilapia entera, tras ser sumergida en una solución de 1.5 ppm, experimentó una reducción del 88.25% en su carga microbiana después de 15 minutos de exposición. Respecto a los filetes, los tratamientos con concentraciones de 1 y 1.5 ppm resultaron en disminuciones del 77.2% y 79.49%, respectivamente.

De manera similar, Karamah et al. (2019) trataron carne de atún con agua ozonizada, sumergiendo por 40, 80, 120 minutos en concentraciones de ozono de 0.3 mg/L y 0.24 mg/L. posteriormente conservaron en refrigeración a 8 °C durante 7 días. Después de este intervalo, la evaluación de los resultados mostró que un mayor tiempo de contacto y una mayor concentración de ozono se correlacionan con una menor tasa de deterioro en la calidad del atún, logrando una eliminación de microorganismos del 66.7%. Se observó también que el valor de pH disminuye a 5.58 tan pronto como el atún entra en contacto con el agua ozonizada.

En Jaén, Ecofriendly Engineers SAC, una empresa privada, se especializa en el procesamiento y venta de productos hidrobiológicos, incluyendo la trucha arco iris. Sin embargo, enfrentan una desventaja en su flujo de procesamiento debido a la falta de desinfección de los filetes. Actualmente, esta empresa no realiza la desinfección debido a la falta de conocimiento sobre la metodología adecuada a emplear. Por esta razón, se llevó a cabo la presente investigación con el objetivo de evaluar la carga microbiana en la desinfección de filetes de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) respecto a *Staphylococcus aureus*, mesófilos aerobios, *Salmonella* sp y *Escherichia coli*. Este estudio resultará beneficioso para todas las empresas del sector interesadas en mejorar sus procesos de desinfección.

MATERIALES Y MÉTODOS

La cosecha de trucha arco iris se realizó en las piscigranjas del centro de acuicultura “El Diamante”, ubicado en el distrito de Chirinos, provincia de Jaén, departamento de Cajamarca, las coordenadas del distrito son 5°18'18”S 78°54'00”O. El procesamiento primario para la obtención de filetes y la desinfección con agua ozonizada fue realizado en las instalaciones de la empresa privada Ecofriendly Engineers SAC. Los análisis microbiológicos se realizaron en laboratorios de la Escuela Profesional de Tecnología Médica (Química, Tecnología Médica y Biología) de la Universidad Nacional de Jaén. La muestra fue 80 kg de filetes, se realizó un muestreo por conveniencia, descartando a aquellas truchas con signos de deterioro y aquellas que no cumplían con el peso (250 g – 350 g) y tamaño (29 cm – 32 cm) ideal para filetes (INACAL, 2019).

El proceso experimental empieza con la recepción de truchas frescas en un recipiente plástico con hielo para mantener la cadena de frío. El eviscerado se realizó meticulosamente con cuchillos de acero inoxidable, extrayendo las vísceras y las agallas, con el uso de guantes quirúrgicos. Posteriormente, las truchas fueron lavadas con agua potable para eliminar cualquier residuo (sangre). En la etapa de fileteado, se realizaron cortes precisos para obtener filetes de alta calidad, eliminando la cabeza, aleta caudal y costillas, siguiendo los protocolos de limpieza y seguridad alimentaria de la empresa. Para la etapa de desinfección, se sumergieron los filetes en agua ozonizada a una concentración de 0.5, 1.5 y 2.5 ppm, por 30, 60 y 90 segundos para cada concentración. Después, los filetes de trucha fueron colocados en canastillas limpias y desinfectadas, y posteriormente se sometieron a un proceso de aireado durante 10 minutos para eliminar el exceso de agua. Luego, fueron transferidos a una congeladora doméstica a 4°C para mantener la cadena de frío hasta ser envasados en bolsas de polietileno y sellados individualmente utilizando una máquina empacadora selladora. Cada paquete, que contenía aproximadamente 8 filetes con un peso de 400 a 550 g, fue rotulado indicando el tratamiento correspondiente y el número de

repetición (I, II, III repetición). Finalmente, los paquetes fueron almacenados en una congeladora exclusiva para la investigación, a una temperatura de 4°C, hasta su análisis microbiológico posterior.

Los criterios microbiológicos se basaron en la Norma Técnica Peruana 041.001.Pescado fresco (INACAL, 2019), analizándose cuatro microorganismos: Recuento de mesófilos aerobios, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp y el control fisicoquímico (pH) al primer, octavo, quinceavo y veintidosavo día de refrigerado. Este parámetro fisicoquímico se realizó de acuerdo con el método AOAC 981.12.(1990). El diseño experimental es de tipo factorial 3O x 3T, lo que implica 3 niveles de ozono (O) y 3 niveles de tiempo (T), con tres repeticiones para cada tratamiento, esto se puede apreciar en la Tabla 1.

Tabla 1. Interacción de las variables independientes, según diseño experimental

Concentración Ozono, ppm (O)	Tiempo de exposición en inmersión, segundos. (t)		
	T ₁	T ₂	T ₃
O ₁	O ₁ T ₁	O ₁ T ₂	O ₁ T ₃
O ₂	O ₂ T ₁	O ₂ T ₂	O ₂ T ₃
O ₃	O ₃ T ₁	O ₃ T ₂	O ₃ T ₃

Leyenda:

O : Concentración de ozono

O₁: Ozono a 0.5 ppm

O₂: Ozono a 1.5 ppm

O₃: Ozono a 2.5 ppm

T : Tiempo de inmersión

T₁: 30 segundos

T₂: 60 segundos

T₃: 90 segundo

Adicionalmente, se incorporó una muestra control que no estuvo expuesta a ninguna variable independiente, pero que fue objeto de análisis microbiológicos de manera semanal.

RESULTADOS

La Figura 1 revela que, a partir del octavo día, el pH de la muestra control disminuye, situándose por debajo del umbral mínimo aceptable, similar a lo observado con el tratamiento O1T1 en el día veintidós. Por otro lado, los niveles de pH de los demás tratamientos se mantienen dentro de los límites considerados como aceptables.

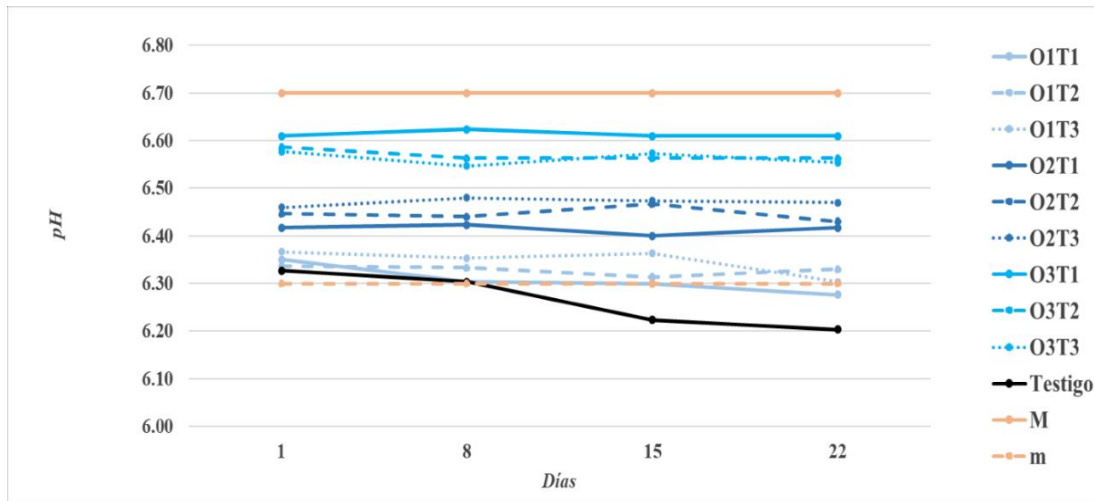


Figura 1. Registro de pH de los filetes en todos los días de evaluación

Nota: M representa el máximo nivel de pH y m indica el mínimo nivel de pH, siendo la zona aceptable (Suárez et al., 2007)

En la Figura 2, se observa que todos los tratamientos y la muestra Testigo van disminuyendo la carga microbiana conforme van pasando los días. Para el último día de evaluación se puede ver que todos los tratamientos se localizan dentro de los límites establecidos, a excepción de la muestra Testigo.

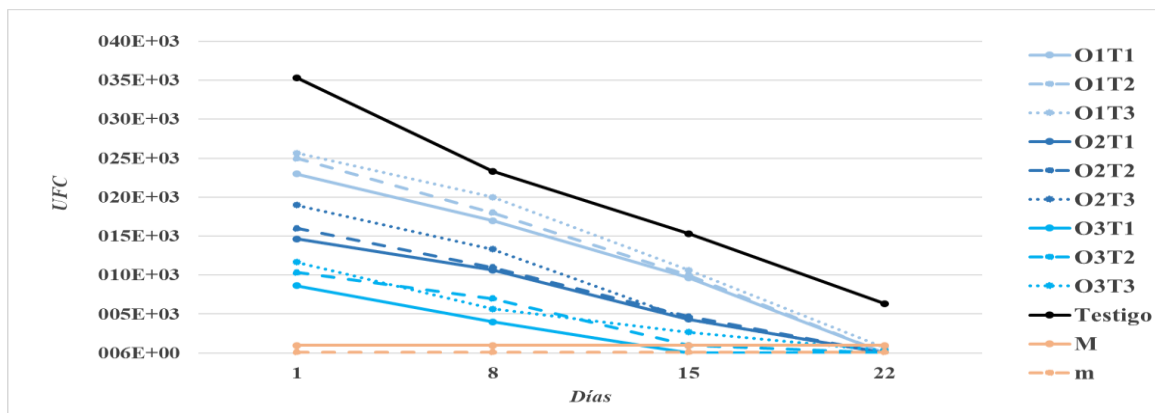


Figura 2. Registro del desarrollo de *Staphylococcus aureus* en todos los días de evaluación

Nota: M representa el máximo nivel de UFC/g y m indica el mínimo nivel de UFC/g, siendo la zona aceptable (Suárez et al., 2007)

En la Figura 3, se muestra que, desde el día uno hasta el día veintidós, la presencia de este microorganismo se ha encontrado por debajo de los límites establecidos en todos los tratamientos, incluyendo el testigo; siendo los tratamientos O3T1, O3T2 y O3T3 los que presentaron menor actividad.

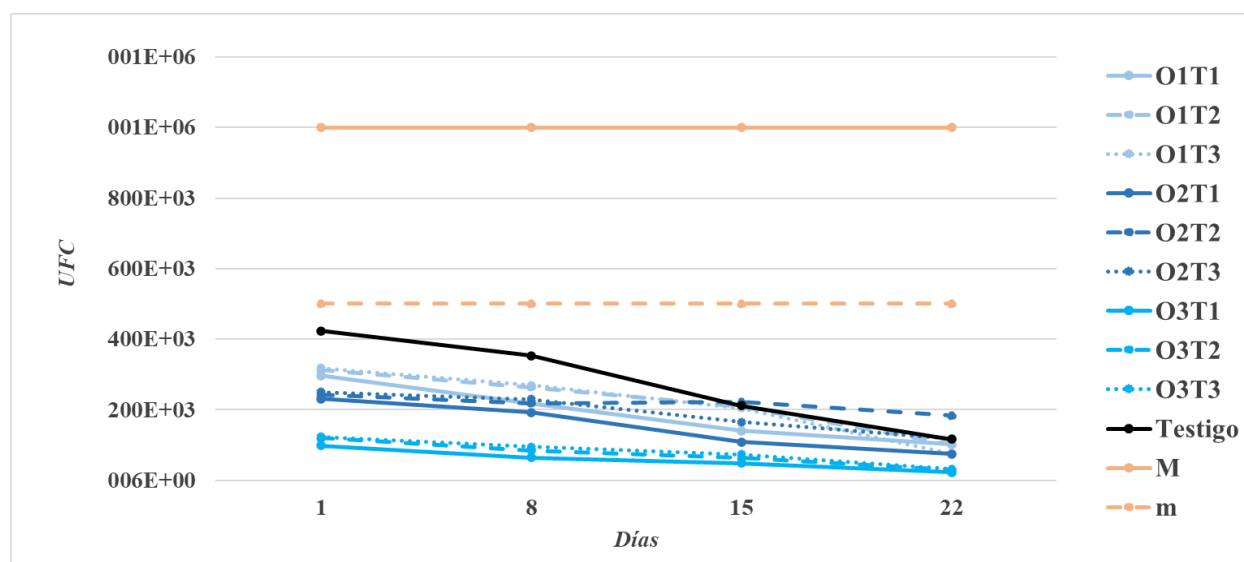


Figura 3. Registro del desarrollo de Mesófilos aerobios en todos los días de evaluación. Nota: M representa el máximo nivel de UFC/g y m indica el mínimo nivel de UFC/g, siendo la zona aceptable (Suárez et al., 2007)

Los microorganismos *Salmonella sp* y *Escherichia coli*, no fueron sometidos a un análisis estadístico ya que reportaron ausencia y 0 UFC/g en placas, respectivamente. Los demás indicadores pasaron a un análisis de varianza, considerándose un nivel de significancia del 5%.

En la Tabla 2 se presentan los valores de pH, destacando el tratamiento O3T1 por tener un nivel de pH significativamente más alto en comparación con los demás tratamientos. Por otro lado, la muestra testigo muestra los valores más bajos de pH, diferenciándose de manera significativa del resto de los tratamientos.

Tabla 2. Prueba de Tukey: Agrupaciones de los tratamientos de acuerdo con los valores de pH

Tratamientos	Promedio	Grupos
O3T1	6.61	a
O3T2	6.57	b
O3T3	6.56	b
O2T3	6.47	c
O2T2	6.45	c d
O2T1	6.41	d
O1T3	6.35	e
O1T2	6.33	e
O1T1	6.31	e
Testigo	6.26	f

En la Tabla 3, se observa el comportamiento de *Staphylococcus aureus*, donde los tratamientos O3T1, O3T2 y O3T3 muestran valores similares, indicando la menor carga microbiana. Mientras tanto, la muestra Testigo representa el extremo opuesto, ya que se diferencia significativamente de los demás tratamientos al presentar los niveles más altos de *Staphylococcus aureus*.

Tabla 3. Agrupación de tratamientos basada en los niveles de *Staphylococcus aureus*, según Prueba de Tukey

Tratamientos	Promedio	Grupos		
O3T1	3.17E+03	a		
O3T2	4.58E+03	a	b	
O3T3	5.08E+03	a	b	
O2T1	7.42E+03		b	c
O2T2	7.92E+03		b	c
O2T3	9.17E+03		c	d
O1T1	1.24E+04			d e
O1T2	1.33E+04			e
O1T3	1.43E+04			e
Testigo	2.01E+04			f

En la Tabla 4 se muestra que los tratamientos O3T1, O3T2 y O3T3 muestran la menor carga microbiana de mesófilos aerobios, mientras que la muestra Testigo es la que muestra los valores más altos, distinguiéndose de manera significativa de los otros tratamientos.

Tabla 4. Agrupación de tratamientos según los niveles de Mesófilos Aerobios, según Prueba de Tukey.

Tratamientos	Promedio	Grupos		
O3T1	5.87E+04	a		
O3T2	7.48E+04	a		
O3T3	8.11E+04	a		
O2T1	1.52E+05		b	
O1T1	1.89E+05		b	c
O2T3	1.91E+05		b	c
O2T2	2.17E+05			c
O1T3	2.17E+05			c
O1T2	2.22E+05			c
Testigo	2.76E+05			d

DISCUSIÓN

El pH es un factor crítico para determinar la calidad del pescado. Según Suárez et al. (2007) el proceso de ablandamiento del pescado comienza durante las primeras 24 horas de almacenamiento en refrigeración. Durante la investigación, se monitoreó el pH, cuyos resultados se presentan en la Figura

1. Destaca que los tratamientos con ozono a concentraciones de 2.5 y 1.5 ppm mantuvieron valores destacados a lo largo de todo el periodo de evaluación. Asimismo, se nota que el tratamiento O1T1 y la muestra control se posicionaron cerca del límite mínimo permitido desde el primer día. Al llegar al octavo día, ambos descienden a un pH de 6.3, marcando el inicio del deterioro del filete de trucha en la muestra control, deterioro que se acentúa con el paso de los días. Suárez et al. (2007) indican que el pH del músculo de un pescado inmediatamente después de la captura es cercano a 7 y conforme pasan los días va descendiendo a valores de 6.5 o inferiores, datos que respaldan a los obtenidos en esta investigación. No obstante, la Red de Seguridad Alimentaria Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (2020) señala que el pH, por sí mismo, no determina la frescura ni la calidad del pescado. Con todo ello, se concluye que el ozono mantiene el pH en los filetes de trucha arco iris, sin embargo, faltan más parámetros fisicoquímicos para indicar que la muestra Testigo, aun por debajo del 6.3, esté deteriorada.

El ozono, reconocido por su poder oxidante, es un biocida muy efectivo (Pérez-Calvo, 2019), empleado en diversos alimentos (verduras, frutas y pescado) (Dobeic, 2017), es capaz de reducir o inhibir mohos, virus, bacterias, levaduras y parásitos incluso en bajas concentraciones (Saroei et al., 2019), sin embargo su eficacia puede variar con el tiempo de inmersión, estado fisiológico del cultivo, temperatura, pH del medio y humedad (Yousef et al., 1999). En este estudio, todos los tratamientos reportaron colonias de *Staphylococcus aureus* por encima del máximo nivel (10^3 UFC/g) según la NTP 041.001.2019. Pescado fresco. al primer y octavo día de evaluación, sin embargo, el tratamiento O3T1 (2.5 ppm de ozono por 30 s) mostró la menor cantidad de colonias (9×10^3 UFC/g), mientras que la muestra Testigo, la que reportó la mayor cantidad (35×10^3 UFC/g). Desde el día quince, dos de los tratamientos se ubicaron dentro del rango aceptable, específicamente el tratamiento O3T1 y O3T2, con 0 UFC/g y 103 UFC/g, respectivamente. Para el día veintidós, todos los tratamientos, a excepción de la muestra control, se encontraban dentro del área considerada como aceptable. Estos hallazgos son consistentes con los resultados obtenidos por Cosemar Ozono (2005), quienes observaron una reducción de la carga microbiana en mejillones tratados con ozono a una concentración de 0.75 ppm durante 10 minutos.

Medeiros y Gonçalves (2013) sugieren que a concentraciones mayores de 2.5 ppm pueden mejorar la calidad del pescado refrigerado, y Parra-Córdova et al. (2020) indican que a una concentración de 2.5 ppm de ozono 15 minutos lograron 10^1 UFC/g de *Staphylococcus aureus* en filetes de pescado Dorado, cumpliendo con la Norma Técnica Ecuatoriana NTE: INEN 183:2013. Se concluye que el tratamiento con ozono a una concentración de 2.5 ppm durante 30 segundos logró eliminar aproximadamente un 74% del crecimiento de microorganismos en filetes de trucha arco iris. A pesar de no alcanzar los criterios de

aceptabilidad según la norma NTP 041.001.2019 para pescado fresco, el tratamiento O3T1 se destacó por su efectividad contra este microorganismo.

En la investigación, los mesófilos aerobios fueron empleados como indicadores de la contaminación global. Se detectó que el tratamiento con agua ozonizada tuvo un impacto positivo, manteniendo todas las muestras, incluso la muestra Testigo, por debajo del umbral mínimo estipulado (5×10^5 UFC/g), conforme a los estándares de la NTP 041.001.2019. Sin embargo, la muestra Testigo destacó por ubicarse casi al límite máximo permitido (4.23×10^5 UFC/g). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Medeiros y Gonçalves (2016), quienes emplearon 0.5 ppm de ozono por 15 minutos reduciendo en su mayoría los *mesófilos aerobios* en tilapia del Nilo; y con Zhao et al. (2015) pero sumergiendo durante 30 minutos. Se concluye que el tratamiento O3T1 fue el que registró menores unidades formadoras de colonias, logrando reducir a un 77% de UFC/g en filetes de trucha.

En este estudio no se registró crecimiento de *Salmonella sp* y *Escherichia coli*, en ningún tratamiento, ni en la muestra testigo. Al igual que Tomita et al. (2010), no reportó presencia de coliformes fecales en sus filetes de merluza, y Periago et al. (2017), reportando ausencia en *Salmonella sp*.

CONCLUSIONES

El agua ozonizada demostró ser eficaz como agente antimicrobiano contra *Staphylococcus aureus*, especialmente el tratamiento O3T1 (2.5 ppm de ozono y 30 s de inmersión), respecto a mesófilos aerobios, mantuvo a todos los tratamientos por debajo del límite mínimo según la NTP 041.001.2019. Pescado fresco. Para *Salmonella sp* por cada 25 g de filete de trucha arco iris y *Escherichia coli* por cada 10 g de filete de trucha, ninguno de los tratamientos mostró desarrollo de unidades formadoras de colonias (UFC).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Association of Official Analytical Chemists. (1990). *Official Methods of Analysis* (15.^a ed.).
- Cosemar Ozono. (2005). *Tratamiento con ozono en cocedero de mejillón*.
- Dobeic, M. (2017). Ozone as a disinfectant in the food industry. En *Scientific and professional section* (4.^a ed.).
- Espinosa, M. (2015). *Envasado, conservación y desarrollo de nuevos productos de dorada (Sparus aurata)*. Universidad de Murcia.

- INACAL. (2019). *Norma Técnica Peruana 041.001. Pescado fresco. Requisitos*.
- Karamah, E., Ilmiyah, A., y Ismanintyas, N. (2019). The application of ozonated water to maintain the quality of tuna meat: The effect of contact time, contact temperature and ozone dosage. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 1, 11. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/509/1/012004>
- Medeiros, A., y Gonçalves, A. (2013). Potencialidade do uso de água ozonizada no processamento de peixes. *Acta of Fisheries and Aquatic Resources*, 2(1), 15-28. <https://doi.org/10.2312/ActaFish.2014.2.1.15-28>
- Medeiros, A., y Gonçalves, A. (2016). Effect of aqueous ozone on microbial and physicochemical quality of Nile tilapia processing. *Journal of Food Processing and Preservation*, 7. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13298>
- Parra-Córdova, J., Acosta-Garcés, J., Escobar-Segovia, K., y Palacios-Ponce, S. (2020). *Conservation process design of fresh fish using ozone as preservative agent* (18.^a ed.). <https://doi.org/10.18687>
- Pérez-Calvo, M. (2019). Special case of ozone (physicochemical properties, onsite generation technology). *Gases in Agro-food Processes*, 65-74. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812465-9.00006-2>
- Periago, M., Santaella, M., Martínez-Graciá, C., Navarro-González, I., y Puche, C. (2017). *Indicadores de calidad sanitaria y del deterioro en filetes de dorada (Spaurus Aurata) refrigerados sometidos a un tratamiento de agua ozonizada y sal de glicina*. 58, 45-58.
- Red de Seguridad Alimentaria Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. (2020). *Relevamiento de aspectos técnicos de pH y otros parámetros de calidad establecidos por Brasil para el ingreso de productos pesqueros congelados. Valores de referencia para merluza común (Merluccius hubbsi)*.
- Sanjuás Rey, M. (2012). *Aplicación de sistemas avanzados para la mejora de la calidad de productos marinos refrigerados de interés comercial*. Universidad de Santiago de Compostela.
- Sarooei, S. J., Abbasi, A., Shaghaghian, S., y Berizi, E. (2019). Effect of Ozone as a Disinfectant on Microbial Load and Chemical Quality of Raw Wheat Germ. *Ozone: Science and Engineering*, 41(6), 562-570. <https://doi.org/10.1080/01919512.2019.1642181>

- Suárez, H., De Francisco, A., Beirão, L., Pardo, S., y Cortés, M. (2007). Pérdida de textura post mortem de la carne de pescado durante el almacenamiento en frío. *Acta Biológica Colombiana*, 12(1), 3-18.
- Tantaleán, R. (2014). *Proyecto de inversión para la instalación de una piscigranja de truchas en el Centro Poblado Menor El Campamento en la provincia de Chota, Cajamarca, Perú*. Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo.
- Tomita, R., Furlan, E., Rodrigues, C., Lemos, M., y Moron, T. (2010). *Utilização do ozônio como agente sanitizante no processamento do pescado*. 15.
- Top Ozono. (2021). *Aplicación del ozono en la manipulación de pescado*. <https://topozono.com/aplicaciones-del-ozono/aplicacion-del-ozono-en-la-manipulacion-de-pescado-y-marisco/>
- Yousef, A., Kim, J.-G., y 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. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-62.9.1071>
- Zhao, Y., Yang, X., Li, L., Hao, S., Wei, Y., Cen, J., y Lin, H. (2015). Chemical, microbiological, color and textural changes in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets sterilized by ozonated water pretreatment during frozen storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 9. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12746>