



Efecto del aceite esencial de orégano y ozonización como alternativa para la prolongación del tiempo de vida útil en fréjol cocido. (*Phaseolus vulgaris* L.)

Adriana Geovanna Yanchaliquín Yanchaliquín^{1*}, Renato Agustín Romero Corral¹

¹Universidad Técnica de Cotopaxi, Latacunga, Ecuador.

*Autor para correspondencia/Corresponding author: renato.romero2483@utc.edu.ec

Effect of oregano essential oil and ozonation as an alternative for shelf-life extension in cooked beans (*Phaseolus vulgaris* L.)

Resumen

El estudio tuvo como objetivo evaluar la eficacia de combinar aceite esencial de orégano (AEO) y ozono para extender la vida útil del fréjol cocido (*Phaseolus vulgaris* L.), bajo un diseño factorial AxB: un testigo (T0), y cuatro combinaciones de ozono (0.25 y 0.50 ppm), con AEO (0.30 % y 0.50 %), durante 21 días de almacenamiento a 4 °C. Los fréjoles fueron hidratados (3:1 agua: grano), cocidos 90 minutos, enfriados con agua ozonizada, recubiertos con AEO emulsificador en Tween 80 al 0.5 % y envasados en fundas de poliamida y polietileno. Se evaluaron parámetros fisicoquímicos (pH y acidez), microbiológicos (aerobios mesófilos, coliformes totales, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp.*), y sensoriales (color, olor, sabor, textura y aceptabilidad). Se aplicaron ANOVA y prueba de Tukey ($p < 0.05$). Hubo diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.001$), entre tratamientos y testigo durante el almacenamiento. T3 presentó la menor acidez (0.08 g/100 g), y el testigo la mayor (0.17 g/100 g). T0, T1 y T2 mantuvieron pH ligeramente ácido (5.2–5.5), mientras que T3 y T4 superaron pH 7.0. T3 logró la mayor reducción microbiana en aerobios mesófilos (1.37 log₁₀ UFC/g), y coliformes totales (2.60 log₁₀ UFC/g), diferenciándose significativamente del testigo. Sensorialmente, T3 obtuvo las puntuaciones más altas en todos los atributos hasta el día 21. Se concluye que la aplicación conjunta de ozono y AEO, especialmente en T3, representa una alternativa tecnológica viable y eficaz para preservar la calidad fisicoquímica, microbiológica y sensorial del fréjol cocido.

Palabras clave: aceite esencial de orégano, ozonización, calidad sensorial, fréjol cocido.

Abstract

The objective of this study was to evaluate the efficacy of combining oregano essential oil (AOE), and ozone in extending the shelf life of cooked beans (*Phaseolus vulgaris* L.), using an AxB factorial design: a control (T0), and four combinations of ozone (0.25 and 0.50 ppm), with AOE (0.30 % and 0.50 %), for 21 days of storage at 4°C. The beans were hydrated (3:1 water: bean), cooked for 90 minutes, cooled with ozonated water, coated with AOE emulsifier in 0.5 % Tween 80, and packaged in polyamide and polyethylene bags. Physicochemical parameters (pH and acidity), microbiological parameters (mesophilic



Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial 4.0



Editado por /
Edited by:
Sebastián Ponce

Recibido /
Received:
12/03/2025

Aceptado /
Accepted:
02/06/2025

Publicado en línea /
Published online:
20/05/2026



aerobes, total coliformes, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella* spp.), and sensory attributes (color, odor, flavor, texture, and acceptability) were evaluated. ANOVA and Tukey's test were applied ($p < 0.05$). There were statistically significant differences ($p < 0.001$), between treatments and control during storage. T3 presented the lowest acidity (0.08 g/100 g), and the control the highest (0.17 g/100 g). T0, T1 and T2 maintained slightly acidic pH (5.2–5.5), T3 and T4 exceeded pH 7.0. T3 achieved the greatest microbial reduction in mesophilic aerobes (1.37 \log_{10} CFU/g), and total coliforms (2.60 \log_{10} CFU/g), differing significantly from the control. Sensorially, T3 obtained the highest scores in all attributes until day 21. It is concluded that the joint application of ozone and AEO, especially in T3, represents a viable and effective technological alternative to preserve the physicochemical, microbiological and sensory quality of cooked beans.

Keywords: oregano essential oil, ozonization, sensory quality, cooked beans.

INTRODUCCIÓN

Prolongar el tiempo de vida útil de un alimento procesado es importante para garantizar el abastecimiento de productos de calidad, la reducción de residuos, el aporte a la seguridad alimentaria, la mejora la eficiencia de la cadena de suministro y el mejoramiento de la viabilidad económica al abrir nuevos segmentos de consumo [1] La vida útil de los alimentos procesados se ve influenciada por una combinación de factores, entre los que destacan las condiciones de almacenamiento, los materiales de envase, el proceso y la naturaleza bioquímica del alimento [2]. Es importante considerar que el deterioro de las características sensoriales inicia desde la cosecha y continúa durante el procesamiento y almacenamiento; esto se debe a los cambios químicos y físicos que ocurren a lo largo del tiempo [3]

El fréjol cocido (*Phaseolus vulgaris* L.), es un producto alimenticio que ha ganado popularidad en Ecuador y constituye un elemento fundamental en la alimentación, destacado por sus beneficios nutricionales y para la salud, debido a que posee propiedades antioxidantes, anticancerígenas y antiinflamatorias gracias a su contenido en fitoquímicos [4]. Se caracterizan por su riqueza en proteínas, fibra, vitaminas y minerales, y además es una fuente sobresaliente de carbohidratos y micronutrientes esenciales como hierro y zinc [5], lo que los convierte en un ingrediente esencial en las cocinas del mundo. La forma de cocción tiene una influencia significativa en su perfil nutricional, digestibilidad y composición fitoquímica. El proceso de cocción implica cambios bioquímicos complejos, incluyendo modificaciones de la pared celular y absorción de agua, que son cruciales para conseguir la textura deseada [4]. El tiempo de cocción varía significativamente en función de varios factores: como el genotipo o las condiciones de almacenamiento [6].

Dado que la cocción del fréjol influye directamente en su calidad nutricional, es fundamental considerar estrategias que permitan conservar estas propiedades durante el almacenamiento. Los aceites esenciales, como el de orégano, destacan por sus propiedades bioactivas, que podrían ser utilizados como conservantes naturales, protegiendo al fréjol cocido de la degradación microbiológica y oxidativa. De igual manera, los aceites esenciales constituyen mezclas complejas de compuestos orgánicos



volátiles derivados del metabolismo secundario de las plantas [7], que pueden extraerse de diversas estructuras vegetales como flores, semillas, hojas, ramas, corteza y raíces [8], empleando diferentes métodos como la destilación por arrastre de vapor, la hidrodestilación o la extracción con solventes orgánicos [9]. Su composición química, caracterizada principalmente por terpenoides, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos, le confiere aromas distintivos y propiedades bioactivas significativas [10], mientras que su rendimiento, composición y concentración de metabolitos secundarios están influenciados por múltiples factores, incluyendo aspectos genéticos, geográficos y climáticos como el fotoperíodo, la altitud, la época de cosecha, la etapa de desarrollo, la temperatura, el estrés hídrico y la composición del suelo [11], así como por el origen, método de extracción y parte específica de la planta utilizada [12].

El aceite esencial de orégano contiene principalmente terpenos como; el timol y carvacrol [13], lo que le concede un potente espectro bactericida y una destacada acción antimicrobiana contra hongos y levaduras, [14]. Estos aceites han demostrado propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antivirales [15], y ofrecen ventajas como: ausencia de residuos perjudiciales, baja probabilidad de desarrollo de resistencia, reducida fitotoxicidad y un perfil de seguridad favorable para organismos mamíferos [16]. Han sido reconocidos como seguros por los departamentos de seguridad alimentaria de distintos países, como es el caso de la Administración de Alimentos y Medicamentos de los EE. UU. (FDA) [17]. Sin embargo, su implementación práctica puede verse limitada por su intenso aroma y la necesidad de desarrollar sistemas de liberación controlada efectivos para mantener su actividad durante períodos prolongados [18].

El ozono (O_3) es una técnica de conservación de alimentos no térmica, considerada una alternativa segura y respetuosa con el medio ambiente. Se caracteriza por ser un potente desinfectante, pero sin los efectos residuales o daños asociados al uso de desinfectantes químicos convencionales y es capaz de responder a la aceptación de los consumidores, las expectativas de la industria alimentaria y los requisitos de las agencias reguladoras.

En junio de 2001, la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) aprobó su uso tanto en fase gaseosa y acuosa como aditivo antimicrobiano para el contacto directo con alimentos, especialmente para frutas y hortalizas [19]. Su aplicación no afecta la calidad de los alimentos, aunque reacciona con algunos compuestos orgánicos. Los subproductos resultantes (aldehídos, cetonas o ácidos carboxílicos), son seguros para la salud humana. Además, su acción es rápida y no genera residuos perjudiciales en los alimentos, debido a su capacidad de autodescomposición, ya que se convierte de manera natural en oxígeno [20]. Por esta razón, el ozono no puede ser almacenado ni transportado; su generación debe realizarse en el lugar de uso [21].

La vida media del ozono es corta, normalmente entre 30 a 40 minutos en agua y 2 a 3 horas en aire, aunque estos parámetros pueden variar dependiendo de la temperatura y los valores de pH [22]. El ozono puede aplicarse tanto en fase gaseosa como acuosa, de forma continua o intermitente, adaptándose al tipo de producto y método de aplicación [23]. Aunque es relativamente estable en estado gaseoso, su inestabilidad en solución acuosa exige un control preciso durante su uso [24]. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto combinado de ozono y aceite esencial de orégano sobre la calidad sensorial y microbiológica del fréjol cocido (*Phaseolus vulgaris* L.).

MATERIALES Y MÉTODOS

Los fréjoles utilizados en el estudio pertenecen a la variedad "bolón rojo", provenientes de los productores de Santa Teresa de Simiatug, Ecuador. La hidratación se realizó mediante remojo en agua a temperatura ambiente, en una proporción de 3:1 (agua: grano), durante 12 horas. La cocción se llevó a cabo conforme a lo establecido en la norma NTE INEN 1558:2013 (Ecuador), utilizando la misma proporción de 3:1 y manteniendo el grano en ebullición durante 90 minutos. Al finalizar, los fréjoles se enfriaron hasta alcanzar una temperatura de 20 °C.

La ozonización se realizó con un generador de ozono marca Tecnoisrael, en dosificaciones de 0.25 ppm y 0.5 ppm aplicadas en el agua del último enfriamiento hasta que la temperatura del producto alcanzara nuevamente los 20 °C. Posteriormente, se aplicó un revestimiento superficial con una solución compuesta por 0.5 % de Tween 80, aceite esencial de orégano en concentraciones de 0.30 % y 0.50 % y agua destilada [25].

Después de un oreado de 5 minutos para reducir el contenido de humedad superficial, se envasaron 300 g de producto en fundas de poliamida y polietileno de baja densidad, con un espesor de 90 micras. Las muestras fueron almacenadas en refrigeración a 4 °C, debidamente identificadas con su fecha de elaboración, para su evaluación posterior en intervalos de 7 días.

Las evaluaciones se realizaron mediante el método de análisis AOAC 982.12 para la medición de pH, tomando como referencia el pH de 5.5 a 5.7 de fréjol cocido. Para la realización del análisis microbiológico, se utilizaron placas de Petri films de aerobios, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.*, Coliformes totales, *Escherichia coli*. Los análisis microbiológicos se realizaron siguiendo la Norma NTE INEN – Ecuador 1529-2 para control microbiológico de alimentos. La preparación de muestras implicó pesar 10 g de fréjol triturado, homogeneizado en 90 ml de agua peptonada estéril para obtener una dilución 1:10, realizando posteriormente diluciones seriadas para cada siembra. Se utilizaron métodos oficiales AOAC para diferentes microorganismos: método AOAC 990.12 para recuento de aerobios mesófilos, AOAC 991.14 para *Escherichia coli*/coliformes y AOAC 2003.07 para *Staphylococcus aureus*.

La técnica de Petrifilm® se aplicó en todas las determinaciones, sembrando 1 ml de muestra por placa, incubando bajo condiciones específicas: aerobios mesófilos a 35 °C ± 1 °C por 48 ± 3 horas, coliformes a 35 °C ± 1 °C por 24 horas, *Escherichia coli* a 35 °C ± 1 °C por 48 horas y *Staphylococcus aureus* a 37 °C ± 1 °C por 24 horas. La identificación de colonias se realizó según los criterios de cada microorganismo: colonias rojas y azules con gas para coliformes totales, colonias azules con gas para *Escherichia coli* y colonias rojo violeta para *Staphylococcus aureus*. El análisis de *Salmonella spp.* se realizó mediante el método SEM-SS (AOAC 967.25 / 967.26 / 967.27). Para la interpretación de los resultados microbiológicos obtenidos, se tomó como referencia la Norma Técnica Sanitaria NTS No. 071 MINSA/DIGESA-V.01, la cual establece los criterios de calidad e inocuidad para alimentos preparados con tratamiento térmico. Esta normativa permitió evaluar la conformidad de las muestras con respecto a los límites microbiológicos aceptables en productos destinados al consumo humano.



La evaluación sensorial se realizó siguiendo la norma NTP ISO 8587:2008. Las pruebas se llevaron a cabo entre las 9:30 y 10:30 am con un panel semi-entrenado. A cada panelista se le asignó aleatoriamente un número de muestra y se le proporcionó un vaso de agua. Los panelistas evaluaron las muestras utilizando una escala hedónica de 5 puntos para los atributos de apariencia, color, olor, textura y sabor. La escala fue de 1 (malo), a 5 (excelente). Los resultados de las evaluaciones fueron recopilados para su posterior análisis.

Se aplicó un diseño factorial 2x2 para evaluar los efectos del nivel de ozono (0.25 ppm y 0.50 ppm), y la concentración de aceite esencial de orégano AEO (0.30% y 0.50%). Al combinar estos factores se generaron cuatro tratamientos experimentales: T1: 0.30 % AEO + 0.25 ppm ozono, T2: 0.30 % AEO +0.50 ppm ozono, T3: 0.50 % AEO +0.25 ppm ozono, T4: 0.50 % AEO +0.50 ppm ozono, y el tratamiento control (T0), sin tratar. Cada tratamiento se replicó tres veces (5 tratamientosx3 réplicas), lo que dio como resultado 60 unidades experimentales que fueron evaluadas en cuatro tiempos de almacenamiento (0,7,14 y 21 días).

Investigaciones previas han confirmado la actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) frente a diversos microorganismos. Estos estudios, analizados mediante ANOVA con un nivel de significancia de $p < 0.05$, reportaron un efecto inhibitorio sobre *Staphylococcus* en carne de pollo [26], así como su acción frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* [27], y su influencia en la supervivencia de *Staphylococcus aureus* y especies de *Salmonella spp.* en carne de cerdo [28]. En función de estos antecedentes, en el presente estudio se empleó la misma metodología estadística utilizando el software Statgraphics Centurion, versión 19.

RESULTADOS

En productos cocidos, la acidez tiende a incrementarse durante el almacenamiento como resultado de la producción de ácidos orgánicos por la actividad microbiana como se observa en la Figura 1.

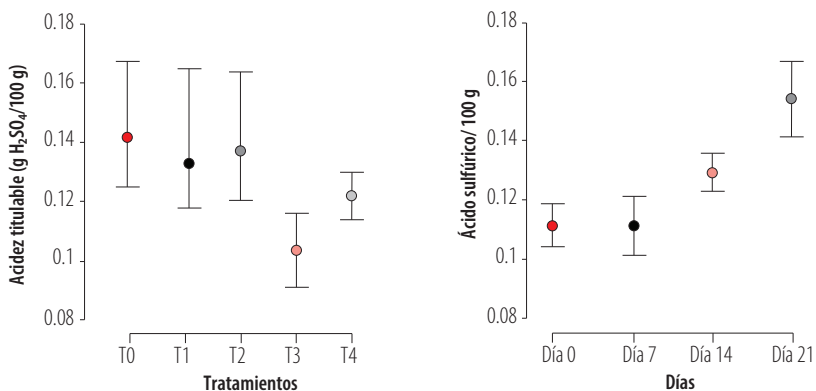


FIGURA 1. Acidez titulable del fréjol cocido (g H₂SO₄/100 g): (a) por tratamiento; (b) por tiempo de almacenamiento (días 0/1, 7, 14 y 21).

El análisis de varianza (ANOVA) demostró que la acidez tuvo un aumento progresivo y estadísticamente significativo a lo largo del tiempo de almacenamiento ($p < 0.001$). Al comparar los tratamientos individualmente, la prueba post-hoc de Tukey reveló que el Tratamiento T3 mostró una reducción significativa de la acidez en comparación con el tratamiento testigo (T0), ($p < 0.001$), como se observa en la Figura 1. Este hallazgo confirma que T3 fue el más efectivo en el control de este atributo, ya que mantuvo niveles de acidez significativamente menores ($p < 0.05$) durante todo el periodo de 21 días de almacenamiento.

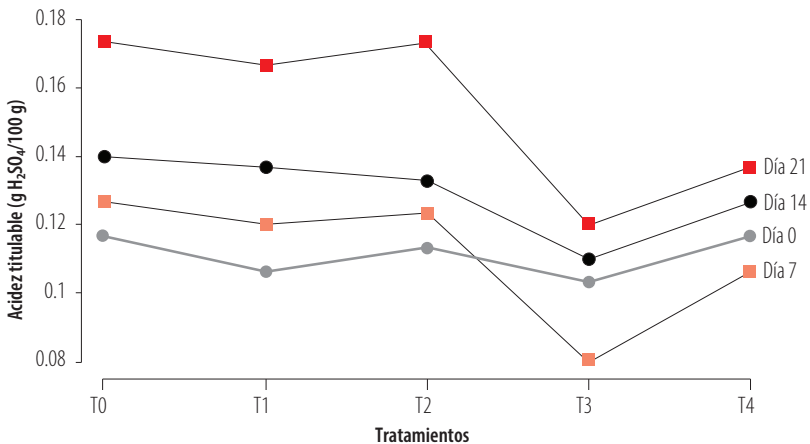


FIGURA 2. Interacción entre concentración de AEO (%) y ozono (ppm) sobre la acidez titulable (g H₂SO₄/100 g) del fréjol cocido.

Como muestra la Figura 2, los resultados demostraron que la acidez aumentó de manera progresiva. Este incremento refleja la tendencia esperada de deterioro del producto. No obstante, al comparar los tratamientos, la prueba post-hoc de Tukey indicó que el tratamiento T3 mostró una reducción significativa de la acidez en contraste con el tratamiento testigo (T0), lo que sugiere que la combinación específica de ozono y aceite esencial de orégano optimiza la conservación del producto al mantener un control sobre la acidez durante los 21 días.

El pH es un parámetro clave en la estabilidad nutricional y microbiológica de productos cocidos como el fréjol.

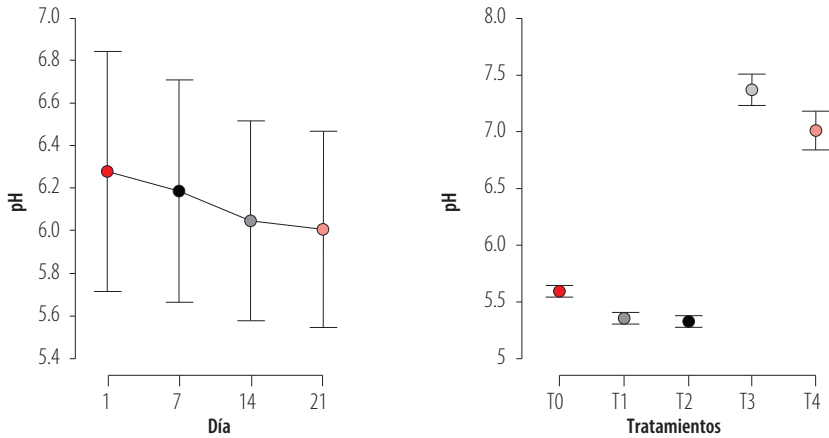


FIGURA 3. pH del fréjol cocido durante el almacenamiento: (a) pH medio por día; (b) pH medio por tratamiento.

De acuerdo a la Figura 3, los valores de pH registrados en los diferentes tratamientos y días de almacenamiento mostraron diferencias altamente significativas ($p < 0.001$), según el análisis de varianza (ANOVA), destacándose tanto el efecto del tratamiento ($F = 32.41$), como el del tiempo de almacenamiento ($F = 1548.16$), así como su interacción ($F = 5.49$), evidenciando la influencia de los factores sobre la variable pH. La Figura 3 muestra a T2, y la disminución significativa del pH entre el día 0 (5.49 ± 0.07) y el día 21 (5.25 ± 0.01), reforzando la actividad conservante. Este comportamiento fue similar en T1, aunque con variaciones menos marcadas. Por su parte, T0 (testigo) mostró un pH relativamente constante durante los 21 días, con valores ligeramente superiores entre 5.51 ± 0.02 y 5.57 ± 0.03 , sin variaciones estadísticamente significativas entre días, lo cual es consistente con el comportamiento natural del producto sin aditivos.

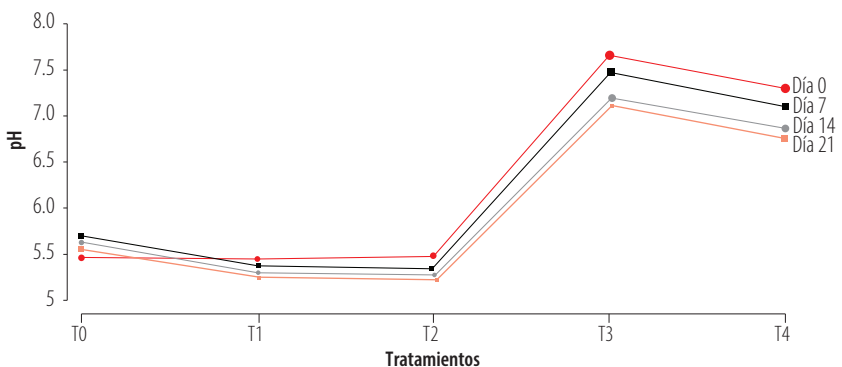


FIGURA 4. Variación del pH por tratamiento a lo largo del almacenamiento (días 0, 7, 14 y 21).

El análisis de varianza mostró diferencias altamente significativas ($p < 0.001$). El tratamiento T2 (0.50 ppm de ozono + 0.30 % de aceite esencial de orégano), mantuvo los valores de pH más estables y ligeramente ácidos, fluctuando entre 5.49 ± 0.07 (día 0) y $5.25 \pm$



0.01 (día 21), diferencia significativa ($p < 0.001$), según la prueba de Tukey. En la Figura 4, se observa que, T1 (0.25 ppm de ozono + 0.30 % de orégano), mostró estabilidad, con valores entre 5.57 ± 0.01 y 5.29 ± 0.02 . Los tratamientos T3 y T4, con 0.50 % de aceite esencial de orégano, registraron un incremento abrupto del pH al inicio del almacenamiento, alcanzando valores alcalinos de hasta 7.63 ± 0.01 en T3 (día 0) y 7.37 ± 0.03 en T4 (día 0), con una disminución paulatina hasta 7.01 ± 0.03 (T3, día 21) y 6.85 ± 0.02 (T4, día 21).

El recuento de aerobios mesófilos en el fréjol cocido mostró diferencias estadísticamente significativas tanto entre los tratamientos ($p < 0.001$), como a lo largo del tiempo de almacenamiento ($p < 0.001$), y la interacción significativa tratamiento \times día ($p = 0.047$), según el análisis de varianza (ANOVA). Según la prueba de Fisher LSD al 95 % de confianza, los tratamientos con aceite esencial de orégano y ozono (T1, T2, T3 y T4) presentaron reducciones significativas en comparación con el control (T0). Estos resultados evidencian la reducción de la carga microbiológica a lo largo de los 21 días de evaluación.

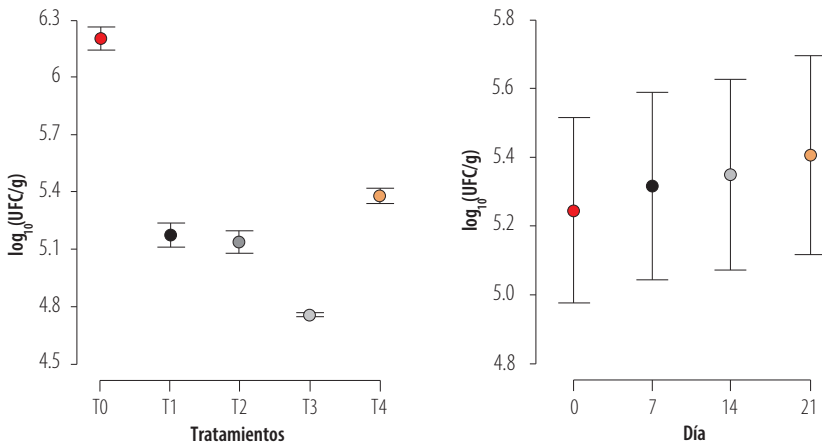


FIGURA 5. Recuento de aerobios mesófilos (\log_{10} UFC/g) del fréjol cocido: (a) por tratamiento; (b) por tiempo de almacenamiento.

La carga microbiológica reportada fue de entre 5.2 y 5.3 \log_{10} UFC/g con una ascendencia que indica que las diferencias entre días, aunque estadísticamente significativas ($p < 0.001$), no fueron marcadas ampliamente. Se observó en la Figura 5, que todos los tratamientos lograron reducir significativamente la carga microbiana en comparación con el tratamiento control (T0), 6.10 \log_{10} UFC/g. T1 (0.25 ppm ozono + 0.30 % AEO): 5.07 \log_{10} UFC/g, mostró una reducción de 1.03 unidades log. T2 (0.50 ppm ozono + 0.30 % AEO): 4.99 \log_{10} UFC/g, reducción de 1.11 unidades log. T3 (0.25 ppm ozono + 0.50 % AEO): 4.73 \log_{10} UFC/g, reducción de 1.37 unidades logarítmicas. T4 (0.50 ppm ozono + 0.50 % AEO): 5.31 \log_{10} UFC/g, reducción de 0.79 unidades log.

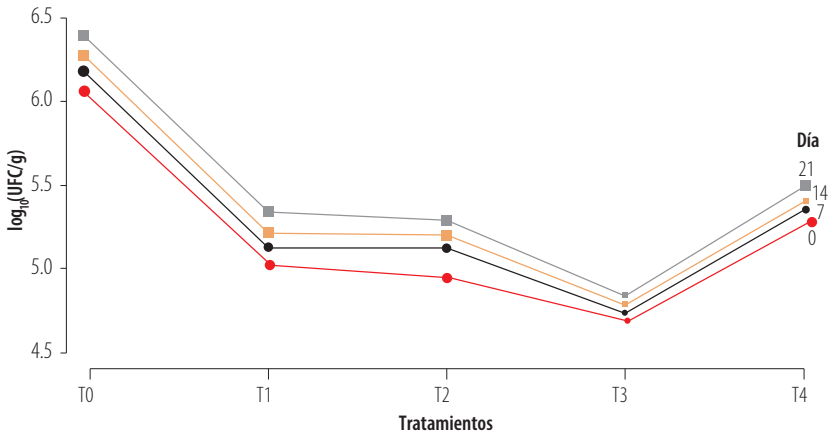


FIGURA 6. Recuento de aerobios mesófilos (\log_{10} UFC/g) por tratamiento a lo largo del almacenamiento (días 0/1, 7, 14 y 21)

La carga microbiológica (aerobios), como se observa en la Figura 6, el fréjol cocido mostró una reducción consistente en todos los tratamientos experimentales (T1–T4), en comparación con el control (T0). Este hallazgo valida la eficacia antimicrobiana de la combinación del ozono y el aceite esencial de orégano. Específicamente, el tratamiento T3 se destacó por presentar la mayor reducción inicial en el recuento de aerobios mesófilos y también demostró una estabilidad microbiológica a lo largo de los 21 días de almacenamiento. La combinación de factores en el T3 optimizó el efecto de conservación del producto de forma prolongada.

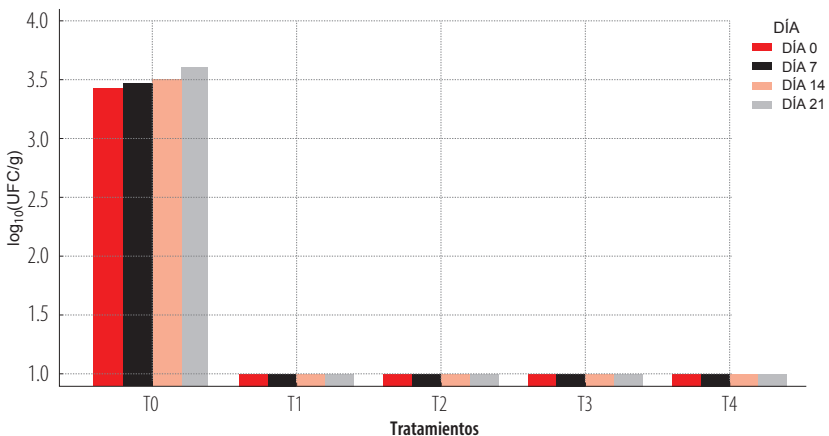


FIGURA 7. Coliformes totales (\log_{10} UFC/g) por tratamiento durante el almacenamiento (días 0/1, 7, 14 y 21)

La Figura 7 muestra que el tratamiento control (T0) presentó una carga microbiana inicial de 3.5 \log_{10} UFC/g en coliformes totales. Tras la aplicación de ozono y aceite esencial de orégano, los tratamientos experimentales (T1 a T4) registraron una reducción de hasta



2.60 log₁₀ UFC/g en coliformes totales, evidenciando diferencias altamente significativas ($p < 0.001$), respecto al tratamiento control. Esto demuestra que incluso la dosis más baja evaluada (T1: 0.25 ppm de ozono +0.30% de AEO), fue suficiente para la reducción de coliformes totales, lo que confirma la efectividad de los tratamientos aplicados (ozono y aceite esencial de orégano) contra la población de coliformes totales en el fréjol cocido.

Los resultados del análisis microbiológico para *Escherichia coli* en fréjol cocido tratado con ozono y aceite esencial de orégano mostraron una respuesta consistente a través de los diferentes tratamientos y períodos de evaluación. Los tratamientos, incluyendo el control (T0), mantuvieron niveles de *Escherichia coli* por debajo del límite de detección (<3 UFC), comportamiento que se mantuvo constante durante los diferentes períodos de evaluación (días 1, 7, 14 y 21), manteniendo niveles microbiológicamente aceptables durante el período de almacenamiento estudiado.

Los resultados obtenidos para *Staphylococcus aureus* fueron favorables, ya que se reportó (<10 UFC/g). Este hallazgo indica que la combinación del proceso de cocción del fréjol con los tratamientos aplicados (ozono y aceite esencial de orégano) fue eficaz.

La ausencia de *Salmonella spp.* en todas las muestras evaluadas es atribuible a las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) practicadas en el campo, el almacenamiento de materia prima y el procesamiento asociado a Buenas Prácticas de Manufactura (BPM). Tanto BPA como BPM contribuyeron significativamente a minimizar la contaminación cruzada, reduciendo así el riesgo de presencia de este patógeno.

Al inicio del almacenamiento (día 0), todos los tratamientos mostraron puntuaciones elevadas de aceptabilidad (4.6 ± 0.3), las cuales se mantuvieron relativamente constantes hasta el día 7 (4.4 ± 0.4). En el día 14 se observó una ligera disminución en las puntuaciones (3.8 ± 0.5), tendencia que continuó hasta el día 21 (3.5 ± 0.6). Sin embargo, estas variaciones no fueron estadísticamente significativas entre los tratamientos. Los análisis post hoc mediante la prueba de Tukey confirmaron la ausencia de diferencias significativas entre pares de tratamientos ($p > 0.05$), aunque se observó una tendencia favorable en la preservación de atributos sensoriales en los tratamientos con aceite esencial y ozono (T3 y T4) hacia el final del período de almacenamiento, manteniendo puntuaciones de aceptabilidad ligeramente superiores (3.7 ± 0.4) en comparación con el control (3.3 ± 0.5). El coeficiente de variación (CV) se mantuvo por debajo del 15 % en todas las evaluaciones, lo que indica una buena consistencia en las valoraciones del panel sensorial.

DISCUSIÓN

La acidez debe controlarse en alimentos cocidos, ya que los microorganismos generan ácidos orgánicos alterando la acidez de la matriz alimentaria. Los niveles superiores a 0.5 % son desfavorables para bacterias patógenas [29], por lo que la acidez es un factor clave para evaluar la calidad y la estabilidad de los productos alimenticios.

El aceite esencial de orégano es un agente antimicrobiano eficaz debido a la alta concentración de carvacrol y timol. Estos fenoles incrementan la permeabilidad de la membrana celular, y este mecanismo de acción resulta en la inhibición del desarrollo y en la



reducción de la viabilidad bacteriana, previendo la acidificación del medio [30]. Lo anterior coincide con los niveles de acidez reportados, lo que demuestra la eficacia del control de la acidez en fréjol cocido al aplicar los tratamientos, particularmente durante los primeros siete días de almacenamiento, a causa de la aplicación de ozono, que posee un efecto oxidante sobre los microorganismos y es efectivo para reducir la carga microbiológica inicial.

El ozono ha sido reconocido por su capacidad para modular el pH [20]. Posee un efecto oxidante sobre los microorganismos y es efectivo para reducir la carga microbiológica inicial [31]. Los tratamientos aplicados mantuvieron el pH del fréjol cocido en un rango de 5.5-6.5, lo que contribuye para la fermentación de oligosacáridos, favorece la digestibilidad y reduce la producción de gases y la acidez estomacal, aunque su impacto requiere mayor investigación [32]. Además, actúa como agente multifuncional, facilitando la eliminación de contaminantes químicos y mejorando las propiedades nutricionales, organolépticas y funcionales de los alimentos [33].

Para mantener el valor nutricional y la calidad microbiológica del fréjol cocido, es esencial controlar el pH, pues este interactúa con sus componentes estructurales principales: lípidos, proteínas y carbohidratos [34]. Los tratamientos T1 y T2, que mantuvieron un pH \approx 5.3-5.4, ligeramente ácido, inhibieron el crecimiento microbiano y mejoraron la estabilidad del producto [35]. En medios ácidos, la hidrofobicidad del aceite esencial de orégano aumenta, lo cual permite potenciar su actividad antimicrobiana [36]. El aceite esencial de orégano ejerce su acción antimicrobiana al alterar la permeabilidad de la membrana celular [37], provocando la pérdida de metabolitos intracelulares y, en consecuencia, la muerte celular [38]. En estudios de recubrimiento de fréjol precocido [39], se observaron rangos de pH de 6.8 a 7.2. De igual manera, en sopas instantáneas de fréjol [40], se reportaron valores de pH 6.42.

El ozono elimina de forma efectiva bacterias grampositivas y gramnegativas dañando sus ácidos nucleicos [41]. En este estudio, la aplicación de aceite esencial de orégano al 0.50 %, y ozono a 0.25 ppm fue la combinación más efectiva en la inhibición del crecimiento microbiano. Estos resultados sugieren que, a mayor concentración de aceite esencial, el entorno se alcaliniza neutralizando los ácidos orgánicos presentes. El tratamiento T3 reportó una carga final de 4.76 log UFC/g, reporte que fue ratificado en estudios de aceite esencial de orégano en tilapias donde se consiguió una concentración final de 5.30 log UFC/g con la aplicación del bioactivo [42]. De igual manera, en la conservación de chorizo mexicano se reportó un desarrollo más controlado de aerobios con un promedio de 6 log UFC/g, entre los días 1 y 14 [43].

En la conservación de hamburguesas de res se reportaron valores estables hasta el quinto día, de $2,8 \times 10^5$ UFC/g con 0,4 % de aceite esencial. Este tratamiento fue el único en prolongar esta constancia hasta el día 15 [44]. Al aplicar el aceite esencial de orégano en filetes de tilapia, se observó una disminución de 1 unidad logarítmica en el recuento microbiano [45]. La aplicación de ozono en leche cruda permitió una reducción de entre 0.7 y 2.5 unidades logarítmicas en aerobios [46]. Finalmente, la aplicación de ozono a 0.024 g/L sobre jitomate permitió eliminar el 99.5 % de bacterias mesofílicas aerobias [47].

La aplicación conjunta de aceite esencial de orégano y ozono en fréjol cocido mostró una respuesta consistente a través de los diferentes tratamientos y períodos de



evaluación. La mayoría de las muestras, incluyendo el control (T0), y los tratamientos (T1-T4), mantuvieron niveles de *Escherichia coli* por debajo del límite de detección (<3 UFC).

La dosis más baja (T1: 0.25 ppm ozono + 0.30 % AEO) fue suficiente para lograr un control completo de coliformes totales, en contraste con estudios de aplicación de ozono en leche cruda [46], donde se reportó la reducción de coliformes totales entre 0.63 y 3.70 unidades logarítmicas. Estos resultados concuerdan con la reducción de 2.60 log₁₀ UFC/g obtenida en el presente estudio. De manera similar, la aplicación de ozono en granos de quinua [48] permitió disminuir los niveles de coliformes totales en un rango de 0.38 a 1.14 log₁₀ UFC/g, reafirmando el potencial del ozono como agente antimicrobiano en matrices vegetales.

En cuanto a *Staphylococcus aureus*, los tratamientos presentaron valores <10 UFC, lo que indica que todos los tratamientos, junto con el proceso de cocción fueron eficaces para reducir la carga microbiana. En estudios realizados en albóndigas de res [49], se obtuvieron reducciones <2 Log UFC/g de *Staphylococcus aureus* con concentraciones de 0.5-2 % de AEO. Asimismo, al aplicar AEO en concentraciones de 0.25 y 0.125 % sobre superficies de acero inoxidable, se lograron reducciones de 1-2 log UFC en *Staphylococcus aureus* [50].

Estudios *in vitro* han confirmado la capacidad del aceite esencial de orégano para inhibir el desarrollo de *Salmonella spp.* en productos agrícolas. [51] El ozono es un método seguro y eficaz para la desinfección de alimentos, ya que elimina patógenos sin dejar residuos y, garantiza la inocuidad del producto [52].

Análisis sensorial del fréjol cocido

Los tratamientos aplicados no generaron cambios sensoriales negativos en el fréjol cocido. Investigaciones centradas en el uso de ozono demuestran que existe un equilibrio entre la acidez y el sabor, lo cual es crucial para la aceptación del consumidor. La exposición al ozono reduce la actividad de las enzimas catalasa y peroxidasa, responsables de la oxidación de fenoles que generan colores pardos u oscurecimiento en vegetales [19].

La concentración de los compuestos activos influye directamente en la aceptabilidad sensorial de los alimentos. El uso de coberturas o películas protectoras contribuye a disminuir el impacto sensorial directo en el alimento [53]. El uso de AEO en niveles bajos, como el 0.3 % evaluado en matrices vegetales, es clave para optimizar la preferencia del consumidor. Por el contrario, concentraciones elevadas de estos agentes se asocian con la aparición de sabores o aromas intensos, lo que impacta negativamente la calidad percibida y reduce la intención de consumo [54].

Vegetales, frutas, hortalizas y legumbres frescas tratadas con ozono han mostrado efectos positivos en la textura, firmeza, color y apariencia [55]. La aceptabilidad sensorial del fréjol cocido con los tratamientos es comparable a la del control (T0). Esta equivalencia confirma la viabilidad de implementar esta estrategia de conservación, dado que el producto final mantiene las cualidades organolépticas necesarias para ser aceptado por el consumidor.



CONCLUSIONES

La aplicación combinada de aceite esencial de orégano y ozono en fréjol cocido demostró un impacto significativo en el control de la acidez y la reducción de la carga microbiana. El ozono, como agente oxidante, mostró una capacidad notable para inactivar microorganismos y degradar enzimas responsables del deterioro, mientras que el aceite de orégano, rico en compuestos fenólicos como el timol y el carvacrol, aportó propiedades antimicrobianas y antioxidantes que complementaron y potenciaron el efecto conservante.

Los tratamientos que mantuvieron un pH ligeramente ácido (entre 5.3 y 5.4), inhibieron el crecimiento microbiano. Esta intervención no térmica se presenta como una alternativa viable para extender la vida útil de productos vegetales cocidos, sin comprometer los atributos sensoriales ni la integridad nutricional.

Se determinó que todos los tratamientos activos (T1 a T4) lograron una reducción significativa de la carga microbiana tanto en aerobios mesófilos como en coliformes totales. El tratamiento T3 (0.25 ppm ozono +0.50 % AEO) demostró ser el más eficaz al conseguir la mayor reducción en aerobios mesófilos ($1.37 \log_{10}$ UFC/g), y una importante disminución de coliformes totales ($2.60 \log_{10}$ UFC/g). Estos resultados evidencian una alta eficacia antimicrobiana y un efecto sinérgico de la combinación de ozono y aceite esencial de orégano, lo que garantiza el control microbiano en el producto durante 21 días de almacenamiento.

Durante el período de almacenamiento (21 días), la evaluación sensorial confirmó que los tratamientos aplicados conservaron la apariencia, el color, el olor, la textura y el sabor, lo cual es deseable en estrategias de conservación que buscan mantener la calidad sensorial original del alimento. La combinación de ozono y aceite esencial de orégano no solo garantiza la seguridad microbiológica y la estabilidad del producto, sino que también preserva sus propiedades organolépticas. Esto sugiere que la combinación de aceite esencial de orégano y ozono constituye una alternativa eficaz para prolongar la vida útil del producto, sin afectar su aceptabilidad.

CONTRIBUCIONES DE LOS AUTORES

Los autores contribuyeron en todas las etapas de elaboración del presente artículo.

DECLARACIÓN SOBRE EL USO DE TECNOLOGÍAS DE IA GENERATIVA Y ASISTIDA EN LA REDACCIÓN

Durante la preparación de este trabajo, los autores utilizaron herramientas de asistencia de lenguaje natural (Large Language Models, LLMs), con el propósito de optimizar la redacción y formato de los metadatos de la publicación del conjunto de datos en el repositorio de acceso abierto. Posteriormente, los autores revisaron y editaron el contenido según consideraron necesario, asumiendo la plena responsabilidad por la versión final del texto y su contenido publicado.



DECLARACIÓN DE DISPONIBILIDAD DE DATOS

Los datos que respaldan las conclusiones de este estudio están disponibles en el repositorio de acceso abierto Zenodo. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.17694308>

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran no tener conflictos de interés relacionados con los contenidos de esta investigación.

REFERENCIAS

- [1] Lohita, B., & Srijaya, M. (2024). Novel technologies for shelf-life extension of food products as a competitive advantage: A review. En *Advances in Science, Technology & Innovation Food Production, Diversity, and Safety Under Climate Change* (pp. 285–306). Springer Nature Switzerland. https://doi.org/10.1007/978-3-031-51647-4_24
- [2] Haouet, M. N., Tommasino, M., Mercuri, M. L., Benedetti, F., Di Bella, S., Framboas, M., Pelli, S. & Altissimi, M. S. (2019). Experimental accelerated shelf life determination of a ready-to-eat processed food. *Italian Journal of Food Safety*, 7(4). <https://doi.org/10.4081/ijfs.2018.6919>
- [3] Begum, A., Rizwana, S., & Makroo, H. A. (2022). Modeling of the Shelf Life of Foods. En *Shelf Life and Food Safety* (pp. 61-76). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781003091677-4>
- [4] Bai, Q., Li, M., Zhou, J., Imran, A., de Souza, T. S. P., Barrow, C., Dunshea, F., & Suleria, H. A. R. (2024). Influence of processing methods on phytochemical composition of different varieties of beans (*Phaseolus vulgaris*). *Food Reviews International*, 40(7). <https://doi.org/10.1080/87559129.2023.2245026>
- [5] Bernardi, C., Macri, G., Biagi, M., Miraldi, E., Finetti, F., & Trabalzini, L. (2023). *In vitro* digestion of *Phaseolus vulgaris* L. cooked beans induces autophagy in colon cancer cells. *Foods*, 12(4), 839. <https://doi.org/10.3390/foods12040839>
- [6] Wahome, S. W., Githiri, M. S., Kinyanjui, P. K., Toili, M. E. M., & Angenon, G. (2023). Genome-wide association study of variation in cooking time among common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), accessions using Diversity Arrays Technology markers. *Legume Science*, 5(4), e184. <https://doi.org/10.1002/leg3.184>
- [7] Jan, S., Rashid, M., Abd_Allah, E. F., & Ahmad, P. (2020). Biological efficacy of essential oils and plant extracts of cultivated and wild ecotypes of *Origanum vulgare* L. *BioMed Research International*, 2020(1). <https://doi.org/10.1155/2020/8751718>
- [8] Shanaida, M., & Golembiowska, O. (2018). Identification and component analysis of triterpenoids in *Monarda fistulosa* L. and *Ocimum americanum* L. (Lamiaceae), aerial parts. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*, 3(13), 26–31. <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2018.135767>
- [9] Castilho, P. C., Savluchinske-Feio, S., Weinhold, T. S., & Gouveia, S. C. (2012). Evaluation of the antimicrobial and antioxidant activities of essential oils, extracts and their main components from oregano from Madeira Island, Portugal. *Food Control*, 23(2), 552–558. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.08.031>
- [10] Ventura, S. P. M., E Silva, F. A., Qumental, M. V., Mondal, D., Freire, M. G., & Coutinho, J. A. P. (2017). Ionic-liquid-mediated extraction and separation processes for bioactive compounds: past, present, and future trends. *Chemical Reviews*, 117(10), 6984–7052. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00550>
- [11] Granata, G., Stracquandano, S., Leonardi, M., Napoli, E., Malandrino, G., Cafiso, V., Stefani, S., & Geraci, C. (2021). Oregano and thyme essential oils encapsulated in chitosan nanoparticles as effective antimicrobial agents against foodborne pathogens. *Molecules*, 26(13). <https://doi.org/10.3390/molecules26134055>
- [12] Baycheva, S. K., & Dobrova, K. Z. (2021). Chemical composition of Bulgarian white oregano (*Origanum heracleoticum* L.), essential oils. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 1031(1). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/1031/1/012107>
- [13] Leyva-López, N., Gutiérrez-Grijalva, E., Vázquez-Olivo, G., & Heredia, J. (2017). Essential oils of oregano: Biological activity beyond their antimicrobial properties. *Molecules*, 22(6), 989. <https://doi.org/10.3390/molecules22060989>
- [14] Bautista-Hernández, I., Aguilar, C. N., Martínez-Ávila, G. C. G., Torres-León, C., Iliina, A., Flores-Gallegos, A. C., Kumar Verma, D., & Chávez-González, M. L. (2021). Mexican oregano (*Lippia graveolens* Kunth), as source of bioactive compounds: A review. *Molecules*, 26(17), 5156. <https://doi.org/10.3390/molecules26175156>
- [15] Muriel-Galet, V., Cran, M. J., Bigger, S. W., Hernández-Muñoz, P., & Gavara, R. (2015). Antioxidant and antimicrobial properties of ethylene vinyl alcohol copolymer films based on the release of oregano essential oil and green tea extract components. *Journal of Food Engineering*, 149, 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.10.007>
- [16] Elshafie, H., Armentano, M., Carmosino, M., Bufo, S., De Feo, V., & Camele, I. (2017). Cytotoxic activity of *Origanum vulgare* L. on hepatocellular carcinoma cell line HepG2 and evaluation of its biological activity. *Molecules*, 22(9), 1435. <https://doi.org/10.3390/molecules22091435>

- [17] Manso, S., Becerril, R., Nerin, C., & Gómez-Lus, R. (2015). Influence of pH and temperature variations on vapor phase action of an antifungal food packaging against five mold strains. *Food Control*, 47, 20–26. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.06.014>
- [18] Efrati, R., Natan, M., Pelah, A., Haberer, A., Banin, E., Dotan, A., & Ophir, A. (2014). The combined effect of additives and processing on the thermal stability and controlled release of essential oils in antimicrobial films. *Journal of Applied Polymer Science*, 131(15). <https://doi.org/10.1002/app.40564>
- [19] Sarron, E., Gadonna-Widehem, P., & Aussenac, T. (2021). Ozone treatments for preserving fresh vegetables quality: A critical review. *Foods*, 10(3), 605. <https://doi.org/10.3390/foods10030605>
- [20] Pandiselvam, R., Subhashini, S., Banuu Priya, E. P., Kothakota, A., Ramesh, S. V., & Shahir, S. (2019b). Ozone based food preservation: A promising green technology for enhanced food safety. *Ozone: Science & Engineering*, 41(1), 17–34. <https://doi.org/10.1080/01919512.2018.1490636>
- [21] Guzel-Seydim, Z. B., Greene, A. K., & Seydim, A. C. (2004). Use of ozone in the food industry. *LWT – Food Science and Technology*, 37(4), 453–460. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2003.10.014>
- [22] Cosemar Ozono. (2024). *El uso del ozono en la conservación de frutas y hortalizas: Propiedades y beneficios*. Poscosecha. <https://www.poscosecha.com/cosemar-ozono/el-uso-del-ozono-en-la-conservacion-de-frutas-y-hortalizas-propiedades-y-beneficios>
- [23] Miller, F. A., Silva, C. L. M., & Brandão, T. R. S. (2013). A review on ozone-based treatments for fruit and vegetables preservation. *Food Engineering Reviews*, 5(2), 77–106. <https://doi.org/10.1007/s12393-013-9064-5>
- [24] Cullen, P. J., Valdramidis, V. P., Tiwari, B. K., Patil, S., Bourke, P., & O'Donnell, C. P. (2010). Ozone processing for food preservation: An overview on fruit juice treatments. *Ozone: Science & Engineering*, 32(3), 166–179. <https://doi.org/10.1080/01919511003785361>
- [25] Pontigo, A., Trejo, M., & Lira, A. (2015). Desarrollo de un recubrimiento con efecto antifúngico y antibacterial a base de aceite esencial de orégano para conservación de papaya maradol. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 16(1), 58–63. <https://www.redalyc.org/pdf/813/81339864008.pdf>
- [26] Grande V., L., González V., R., Lucas L., J., Carhuallanqui P., A., Guevara F., J., & Ramos D., D. (2023). Efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*), frente a *Staphylococcus aureus* en carne de pollo. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 34(1). <https://doi.org/10.15381/rivep.v34i1.24598>
- [27] Medrano Sucari, E. J., & Medrano Sucari, D. J. (2021). *Actividad antimicrobiana y efecto desinfectante del aceite esencial de Origanum vulgare frente a Staphylococcus aureus y Escherichia coli* [Tesis de licenciatura, Universidad María Auxiliadora]. Repositorio UMA. <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/375>
- [28] Vásquez Valles, M., Alvarado Salinas, P., Rodríguez Haro, I., Saldaña Sevilla, W., Reyes Lázaro, W., & Vargas Huamán, A. (2015). Efecto del aceite esencial de *Origanum vulgare* sobre la supervivencia de *Staphylococcus aureus* y especies de *Salmonella* spp. en carne de cerdo. *Revista de investigación científica (REBIOL)*, 34(1), 65–72. <https://revistas.unitr.edu.pe/index.php/faccbiol/article/view/589>
- [29] Jay, J. M., Loessner, M. J., & Golden, D. A. (2005). Food protection with chemicals, and by biocontrol. En *Modern food microbiology* (7th ed., pp. 301–350). Springer. https://doi.org/10.1007/0-387-23413-6_13
- [30] Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods, a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>
- [31] Seminario, L., Acuña, J., & Williams, S. (2010). *El ozono y su aplicación en la conservación de alimentos*. Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Universidad de Concepción. Concepción, Chile, 1-7. https://www.researchgate.net/publication/228391008_El_Ozono_y_su_Aplicacion_en_la_Conservacion_de_Alimentos
- [32] Temizkan, I., Kamalak, A., & Canbolat, O. (2011). Effect of oregano oil on in vitro gas production, digestibility and metabolizable energy of some feedstuffs. *Journal of Applied Animal Research*, 39(2), 132–135. <https://doi.org/10.1080/09712119.2011.565550>
- [33] Siteo, E. D. P. E., De Alencar, E. R., Faroni, L. R. D., Fontes, E. A. F., Silva, M. V. D. A., Machado, F. J., Pandiselvam, R., & Magalhães, C. G. (2024). Application of ozone at low-pressure: Control of egg and larval phases of *Zabrotes subfasciatus*, inactivation of *Aspergillus flavus* and qualitative changes in bean grains. *Food Control*, 158, 110238. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.110238>



- [34] Zhao, S., Li, Y., Liu, Q., Xia, X., Chen, Q., Liu, H., & Kong, B. (2024). Characterization, release profile, and antibacterial properties of oregano essential oil nanoemulsions stabilized by soy protein isolate/tea saponin nanoparticles. *Food Hydrocolloids*, 151, 109856. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.109856>
- [35] Galdeano, M. C., Wilhelm, A. E., Goulart, I. B., Tonon, R. V., Freitas-Silva, O., Germani, R., & Chávez, D. W. H. (2018). Effect of water temperature and pH on the concentration and time of ozone saturation. *Brazilian Journal of Food Technology*, 21. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.15617>
- [36] Navarro-Cruz, A. R., Ochoa-Velasco, C. E., Caballero-Alvarez, F. J., Lazzcano-Hernández, M. A., Vera-López, O., López-Malo, A., & Avila-Sosa, R. (2018). Effect of pH and Mexican oregano (*Lippia berlandieri* Schauer), essential oil added to carboxymethyl cellulose and starch edible films on *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Food Quality*, 2018(1). <https://doi.org/10.1155/2018/1659394>
- [37] Albado Plaus, E., Sáez Flores, G., & Grabiél Ataucursi, S. (2001). Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano). *Revista Médica Herediana*, 12(1), 16–19. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1018-130X2001000100004&script=sci_arttext&tlng=en
- [38] Rodríguez-García, I., Silva-Espinoza, B., Ortega-Ramírez, L., Leyva, J., Siddiqui, M., Cruz-Valenzuela, González-Aguilar, G., & Ayala-Zavala, J. F. (2015). Oregano Essential Oil as an Antimicrobial and Antioxidant Additive in Food Products. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition*, 56(10), 1717–1727. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.800832>
- [39] Cristóbal de la Cruz, E. P. (2022). *Obtención de frijol (Phaseolus vulgaris L.) precocido y preservado con recubrimiento de aceite esencial de orégano (Origanum vulgare)* [Tesis de maestría, Universidad Nacional Agraria La Molina]. Repositorio Institucional de la Universidad Nacional Agraria La Molina. <https://repositorio.lamolina.edu.pe/items/685281e2-cc68-4d6a-a1ae-f2d9a32fa0bf>
- [40] López Echeverría, M. Á., & Sánchez Silva, H. E. (2011). *Elaboración de sopa instantánea a partir de harina de fréjol* [Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica del Litoral]. Repositorio Institucional ESPOL. <https://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/20012>
- [41] Pandiselvam, R., Singh, A., Agriopoulou, S., Sachadyn-Król, M., Aslam, R., Gonçalves Lima, C. M., Khanashyam, A. C., Kothakota, A., Atakan, O., Kumar, M., Mathanghi, S. K., & Mousavi Khaenegah, A. (2022). A comprehensive review of impacts of ozone treatment on textural properties in different food products. *Trends in Food Science & Technology*, 127, 74–86. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.06.008>
- [42] Aguilar Paquirachín, E., Guamuro Fonseca, A. M., Minchán-Velayarce, H. H., Pasapera-Campos, S. E., & Ticona Yujra, J. A. (2024). Análisis microbiológico y sensorial de filetes de tilapia (*Oreochromis niloticus*) con recubrimiento bioactivo incorporando aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*). *Revista Científica Pakamuros*, 12(1), 27–38. <https://doi.org/10.37787/tteydv76>
- [43] Castellanos-Santos, O. R., Méndez-Zamora, G., Rivera De Alba, J. A., & Flores Girón, E. (2025). Aplicación de aceite esencial de orégano (*Lippia berlandieri* Schauer) en la conservación de chorizo mexicano. *TECNOCIENCIA Chihuahua*, 19. <https://doi.org/10.54167/tch.v19i2.1859>
- [44] Tapia Barrios, J. A., & Quintana Pintado, K. M. (2022). *Conservación de hamburguesa de res con aceite esencial de orégano (Origanum vulgare)* [Tesis de ingeniería, Universidad Nacional de Jaén]. Repositorio Institucional UNJ. <http://repositorio.unj.edu.pe/handle/UNJ/434>
- [45] Mera Mendoza, C. R. (2015). *Efecto del aceite esencial de orégano (Origanum vulgare L.), como agente antimicrobiano en la conservación de la carne de dos especies de tilapia: negra (Oreochromis mossambicus), y roja (Oreochromis niloticus)*, [Tesis de grado, Universidad Técnica Estatal de Quevedo]. Repositorio institucional UTEQ. <https://repositorio.uteq.edu.ec/items/f3fafaeb-c3b6-429d-b99f-7d75eb168ebe>
- [46] Soque Díaz, A. (2019). *Evaluación bacteriológica de leche cruda, sometida a tres concentraciones de ozono, mediante su comprobación microbiológica en placas petrifilm* [Tesis de grado, Universidad Central del Ecuador]. Repositorio Institucional UCE. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/18587>
- [47] Rodríguez Barboza, K. G., Abraham Juárez, M. D. R., & Rivera Caballero, D. (2016). Eliminación de microorganismos mediante la aplicación de ozono. *Jóvenes en la ciencia*, 2(1), 1932–1935. <https://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/view/1325>



- [48] Baygorrea Perez, S. (2019). *Evaluación del proceso de ozonificación para la reducción de los microorganismos indicadores de inocuidad en quinoa Chenopodium quinoa Willd. para exportación* [Tesis de grado, Universidad Ricardo Palma]. Repositorio Institucional URP. <https://repositorio.urp.edu.pe/entities/publication/a39fb65d-7e8f-4da9-ade7-03872f572e8c>
- [49] Pesavento, G., Calónico, C., Bilia, A., Barnabei, M., Calesini, F., Addona, R., Mencarelli, L., Carmagnini, L., Di Martino, M., & Lo Nostro, A. (2015). Antibacterial activity of Oregano, Rosmarinus and Thymus essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in beef meatballs. *Food Control*, 54, 188-199. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.01.045>
- [50] Dos Santos Rodrigues, J. B., de Carvalho, R. J., de Souza, N. T., de Sousa Oliveira, K., Franco, O. L., Schaffner, D., de Souza, E. L., & Magnani, M. (2017). Effects of oregano essential oil and carvacrol on biofilms of *Staphylococcus aureus* from food-contact surfaces. *Food Control*, 73, 1237–1246. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.10.043>
- [51] Hulánková, R., & Bořilová, G. (2012). In vitro combined effect of oregano essential oil and caprylic acid against *Salmonella* serovars, *Escherichia coli* O157: H7, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Acta Veterinaria Brno*, 80(4), 343-348. <https://doi.org/10.2754/avb201180040343>
- [52] Hassenberg, K., Idler, C., Molloy, E., Geyer, M., Plöchl, M., & Barnes, J. (2007). Use of ozone in a lettuce-washing process: an industrial trial. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(5), 914–919. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2815>
- [53] Costa, A. G., & Ferreira, L. C. (2021). *Potencial antimicrobiano do óleo essencial de orégano (Origanum vulgare L.) e sua aplicação em alimentos* [Trabalho de conclusão de curso, Fatec Estudante Rafael Almeida Camarinha]. <https://doi.org/10.53934/9786585062039-18>
- [54] Cattelan, M. G., Castilhos, M. B. M. D., Niz da Silva, D. C. M., Conti-Silva, A. C., & Hoffmann, F. L. (2015). Oregano essential oil: Effect on sensory acceptability. *Nutrition & Food Science*, 45(4), 574-582. <https://doi.org/10.1108/NFS-02-2015-0014>
- [55] García-Bañuelos, M. L., Gardea-Béjar, A. A., Vázquez-Moreno, L., García Hernández, J., Ávila-Quezada, G., Pérez-Tello, M. G., & Guzmán-Partid, A. M. (2023). El papel del ozono en la calidad e inocuidad alimentaria. *Revista Fitotecnica Mexicana*, 46(3). <https://doi.org/10.35196/rfm.2023.3.309>