

# TRETMAN OZONOM U PREHRAMBENOJ INDUSTRIJI

---

**Paić, Antonela**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2020**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Karlovac University of Applied Sciences / Veleučilište u Karlovcu**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:128:825555>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-10-07**



**VELEUČILIŠTE U KARLOVCU**  
Karlovac University of Applied Sciences

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Karlovac University of Applied Sciences - Institutional Repository](#)



zir.nsk.hr



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

**VELEUČILIŠTE U KARLOVCU**  
**STRUČNI STUDIJ PREHRAMBENA TEHNOLOGIJA**  
**PIVARSTVO**

ANTONELA PAIĆ

**TRETMAN OZONOM U PREHRAMBENOJ INDUSTRIJI**

ZAVRŠNI RAD

KARLOVAC, 2020.



**Veleučilište u Karlovcu**  
Stručni studij prehrambena tehnologija  
Pivarstvo

Antonela Paić

**Tretman ozonom u prehrambenoj industriji**

Završni rad

Mentor: doc. dr. sc. Marijana Blažić, prof. v.š.  
Komentor: Elizabeta Zandona, mag.ing.bioproc.  
Broj indeksa studenta: 0314617020

Karlovac, prosinac 2020.

*Zahvaljujem mentorici doc. dr. sc. Marijani Blažić, prof. v. š., te asistentici Elizabeti Zandona, mag.ing.bioproc. koja mi je pomogla u izradi završnog rada svojim znanjem i savjetima.*

*Također, zahvaljujem svim profesorima na Veleučilištu na prenesenom znanju tijekom ove 3 godine studiranja.*

## IZJAVA O AUTENTIČNOSTI ZAVRŠNOG RADA

Ja, **Antonela Paić**, ovime izjavljujem da je moj završni rad pod naslovom **Tretman ozonom u prehrambenoj industriji** rezultat vlastitog rada i istraživanja te se oslanja se na izvore i radove navedene u bilješkama i popisu literature. Ni jedan dio ovoga rada nije napisan na nedopušten način, odnosno nije prepisan iz necitiranih radova i ne krši autorska prava.

Sadržaj ovoga rada u potpunosti odgovara sadržaju obranjenoga i nakon obrane uređenoga rada.

Karlovac, 22. prosinca 2020.

Antonela Paić

---

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

---

Veleučilište u Karlovcu  
Odjel prehrambene tehnologije  
Stručni studij prehrambena tehnologija

Završni rad

Znanstveno područje: **Biotehničke znanosti**  
Znanstveno polje: **Prehrambena tehnologija**

### TRETMAN OZONOM U PREHRAMBENOJ INDUSTRIJI

*Antonela Paić*

**Rad je izrađen na Veleučilištu u Karlovcu**

**Mentor:** doc. dr. sc. *Marijana Blažić*, prof. v.š.

**Komentor:** *Elizabeta Kralj*, mag.ing.bioproc.

**Sažetak:**

U posljednje vrijeme prehrambena industrija teži implementaciji alternativnih „zelenih“ tehnologija u svoje proizvodne procese kako bi spriječili pojavu mikrobioloških onečišćenja i kvarenja hrane, a pri tome očuvali senzorska i nutritivna svojstva svojih proizvoda bez dodatka aditiva. Antimikrobno djelovanje ozona (O<sub>3</sub>) istaknulo se kao jedna od mogućih alternativa primjeni konvencionalnih tehnologija za očuvanje hrane. Budući da se ozon smatra sigurnim za primjenu u prehrambenoj industriji (GRAS) kao antimikrobni dodatak za izravan kontakt sa svim vrstama hrane, u posljednje vrijeme su provedena brojna istraživanja vezana uz učinke tretmana ozonom na trajnost proizvoda i njihove senzorske i nutritivne vrijednosti.

U ovom radu prikazane su neke mogućnosti primjene ozona u prehrambenoj industriji kao sredstva za kontrolu i uklanjanje mikroorganizama uzročnika kvarenja hrane duž proizvodnog lanca. Pregled obuhvaća opće karakteristike ozona, antimikrobno djelovanje na uzročnike kvarenja hrane te mogućnosti primjene ozona kao dezinfekcijskog sredstva u određenim sektorima prehrambene industrije.

**Broj stranica:** 40

**Broj slika:** 2

**Broj tablica:** 5

**Broj literaturnih navoda:** 106

**Broj priloga:** -

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Ključne riječi:** antimikrobni učinak, ozon, prehrambena industrija, sigurnost hrane

**Datum obrane:** 22. prosinca 2020.

**Stručno povjerenstvo za obranu:**

1. dr. sc. *Ines Cindrić*, prof.v.š.
2. dr. sc. *Jasna Halambek*, v.pred.
3. dr.sc. *Marijana Blažić*, prof.v.š.
4. dr. sc. *Bojan Matijević*, prof.v.š. (zamjena)

**Rad je pohranjen u knjižnici Veleučilišta u Karlovcu, I. Meštrovića 10, 4700 Karlovac, Hrvatska.**

## **BASIC DOCUMENTATION CARD**

---

**Karlovac University of Applied Sciences  
Department of Food Technology  
Professional Study of Food Technology**

**Final paper**

**Scientific Area: Biotechnical Sciences  
Scientific Field: Food Technology**

### **OZONE TREATMENT IN THE FOOD INDUSTRY**

*Antonela Paić*

**Final paper performed at Karlovac University of Applied Sciences**

**Supervisor:** Ph.D. *Marijana Blažić*, college prof.

**Co-supervisor:** Elizabeta Zandona, mag.ing.bioproc.

#### **Abstract**

Recently, the food industry strives to implement alternative "green" technologies in its production processes to prevent the emergence of microbiological contamination and spoilage of food, while preserving the sensory and nutritional properties of its products without the addition of additives. The antimicrobial activity of ozone (O<sub>3</sub>) has emerged as one of the possible alternatives to the application of conventional food preservation technologies. Because ozone is generally recognized as safe (GRAS status) antimicrobial additive for direct contact with all foods, a number of studies have recently been conducted regarding the effects of ozone treatment on product shelf life and their sensorial and nutritional quality.

This paper presents some possibilities of using ozone in the food industry as a means of controlling and removing microorganisms that cause food spoilage along the production chain. The review includes the general characteristics of ozone, its antimicrobial activity on food spoilage microorganisms and the possibility of using ozone as a disinfectant in certain sectors of the food industry.

**Number of pages:** 40

**Number of figures:** 2

**Number of tables:** 5

**Number of references:** 106

**Original in:** Croatian

**Key words:** antimicrobial effect, food industry, food safety, ozone

**Date of the final paper defense:** 22 December 2020

#### **Reviewers:**

1. Ph.D. *Ines Cindrić*, collage prof.
2. Ph.D. *Jasna Halambek*, sen.lecturer
3. Ph.D. *Marijana Blažić*, collage prof.
4. Ph.D. *Bojan Matijević*, collage prof. (substitute)

**Final paper deposited in:** Library of Karlovac University of Applied Sciences, I. Meštrovića 10, Karlovac, Croatia.



## Sadržaj

<b>Sadržaj</b> .....	<b>1</b>
<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	<b>3</b>
2.1. Ozon .....	3
2.1.1. Fizikalno-kemijska svojstva ozona .....	3
2.1.2. Ozon u tekućoj fazi .....	4
2.1.3. Ozon u plinovitoj fazi .....	5
2.1.4. Prednosti i nedostaci primjene ozona kao dezinficijensa .....	5
2.1.5. Generiranje ozona .....	6
2.2. Antimikrobna aktivnost ozona .....	9
2.2.1. Mehanizam antimikrobne aktivnosti ozona .....	9
2.2.2. Baktericidno djelovanje ozona .....	10
2.2.3. Fungicidno djelovanje ozona .....	10
2.2.4. Virucidno djelovanje ozona .....	11
2.2.5. Protozoicidno djelovanje ozona .....	11
2.3. Primjena ozona u prehrambenoj industriji .....	12
2.3.1. Primjena ozona u tehnologiji vode .....	12
2.3.2. Primjena ozona u tehnologiji voća i povrća .....	13
2.3.3. Primjena ozona u tehnologiji mesa i ribe .....	16
2.3.4. Primjena ozona u tehnologiji mlijeka i mliječnih proizvoda .....	19
2.3.5. Primjena ozona u tehnologiji bezalkoholnih pića .....	20
<b>3. ZAKLJUČCI</b> .....	<b>23</b>
<b>4. LITERATURA</b> .....	<b>24</b>

## 1. UVOD

U posljednje vrijeme svijest potrošača sve je više usmjerena na ekološki aspekt proizvodnje hrane pri čemu se od prehrambene industrije zahtjeva proizvodnja sigurnije, zdravije, kvalitetnije hrane koja ima bolji okus i produženi rok trajanja bez primjene aditiva i konzervansa. U razvijenim zemljama takav zaokret u svijesti potrošača doveo je do prekomjernog stvaranja otpada nastalog kvarenjem hrane duž cijelog opskrbnog lanca zbog čega prehrambena industrija teži implementaciji alternativnih „zelenih“ tehnologija u svoje proizvodne procese kako bi spriječili pojavu mikrobioloških onečišćenja i kvarenja hrane, a pri tome očuvali senzorska i nutritivna svojstva svojih proizvoda. Predloženo je nekoliko tehnologija za produljenje roka trajnosti proizvoda poput hlađenja, smanjenja aktivnosti vode, smrzavanja, pasterizacije, sterilizacije, zakiseljavanja, sušenja, dehidracije, antimikrobnih sredstava i fermentacije, ali negativan utjecaj na nutritivna i senzorska svojstva hrane i dalje je bio velik (Pandiselvam i sur., 2019).

Antimikrobno djelovanje ozona istaknulo se kao jedna od mogućih alternativa primjeni konvencionalnih tehnologija za očuvanje hrane, zbog čega ozon postaje predmetom istraživanja u pogledu „zelenih“ dezinficijensa. Ozon ( $O_3$ ) je plin blijedo plave boje i karakterističnog jakog mirisa koji u prirodi uglavnom nastaje u stratosferi djelovanjem ultraljubičastog zračenja (UV) na dvoatomni kisik ( $O_2$ ), ali se može i sintetizirati izlaganjem molekule kisika ( $O_2$ ) UV zračenju ili visokom naboju električne struje (Marino i sur., 2018). Osim svoje antimikrobne učinkovitosti, kako u vodenoj tako i u plinovitoj fazi, ozon je adekvatan i zbog svoje izrazite nestabilnosti uslijed koje se brzo raspada na bezopasni molekularni kisik ( $O_2$ ). Smatra se sigurnim za primjenu u prehrambenoj industriji što je potvrdila i Američka agencija za hranu i lijekove (*eng. Food and Drug Administration; FDA*) dodijelivši mu GRAS status (*eng. Generally Recognized as Safe*) kao kemikaliji koja se može koristiti kao antimikrobni dodatak za izravan kontakt sa svim vrstama hrane (FDA, 2001).

Ovaj rad predstavlja teorijski prikaz mogućnosti primjene ozona u prehrambenoj industriji kao sredstva za kontrolu i uklanjanje mikroorganizama prisutnih u hrani te za produljenje roka trajanja hrane, a obuhvaća opće karakteristike ozona, njegovo stvaranje i razgradnju,

učinkovitost primjene za inaktivaciju mikroorganizama uzročnika kvarenja hrane i utjecaj na kvalitetu prehrambenih proizvoda.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. Ozon

Ozon (*grč. ozein* – mirisati) je alotropska modifikacija kisika, a sastoji se od tri atoma kisika u molekuli ( $O_3$ ). Prvi ga je otkrio Christian Friedrich Schönbein 1840. godine. Ozon nastaje reakcijom slobodnih kisikovih radikala sa kisikom, kemijsku formula ( $O_3$ ) odredio je Jacques-Louis Soret 1867. godine. U prirodi ga možemo naći u stratosferi gdje nastaje djelovanjem sunčevog UV zračenja na kisik, te u troposferi gdje nastaje u manjim količinama kao nusprodukt fotokemijskih reakcija između ugljikovodika, kisika i dušika koji su dio ispušnih plinova automobila, industrija i vulkana. Proizvedeni plin je jako nestabilan i brzo se raspada. U industriji postoji nekoliko metoda za stvaranje ozona: ultraljubičasto zračenje, termalno zračenje, kemijska, elektrolitička i kemijsko nuklearna metoda. 1982. godine Američka agencija za hranu i lijekove (FDA) objavila je u Kodeksu saveznih propisa (*eng. Code of Federal Regulations*) formalnu FDA uredbu koja potvrđuje GRAS status korištenja ozona (FDA, 2001), što je ozon učinilo prikladnim za primjenu u prehrambenoj industriji za razliku od drugih sredstava koja moraju biti navedena pod aditivima, a kasnije je izdano i odobrenje za upotrebu ozona kao sanitacijskog sredstva za linije za pročišćavanje flaširane vode. Također, 2001. godine FDA je izdala i službeno odobrenje za upotrebu ozona kao antimikrobnog sredstva za tretman, skladištenje i preradu hrane u plinovitim i vodenim fazama (FDA, 2001).

#### 2.1.1. Fizikalno-kemijska svojstva ozona

Ozon je plin blijedo plave boje te karakterističnog jakog mirisa koji podsjeća na svježi zrak nakon oluje. Drugi je najjači oksidans, odmah nakon fluora (Guzel-Seydim i sur. 2004). Izrazito je reaktivan i ima visok oksidacijski potencijal  $-2.07$  V (Laszlo Varga 2016). Na sobnoj temperaturi, ozon je gotovo bezbojan plina i lako ga je otkriti na razini od 0,01 do 0,05 ppm, nestabilan je i brzo se raspada. Međutim, ima relativno dobar poluživot u plinovitom stanju. Stopa raspada je pozitivno povezana sa temperaturom, a negativno sa čistoćom vode pa je raspadanje brže na višoj temperaturi i u nečistoj vodi (Pandiselvam i sur., 2019). Fizikalno-kemijska svojstava ozona prikazana su u tablici 1. Ozon je topljiviji u hladnoj vodi nego u vrućoj vodi, a stopa topljivosti je 13 puta veća od kisika (pri 0–30 °C). Pri atmosferskom tlaku i temperaturi od 0 °C gustoća ozona ( $2,14 \text{ kgm}^{-3}$ ) je nešto veća od gustoće zraka ( $1,28 \text{ kgm}^{-3}$ )

(Rice, 1986). Pri temperaturi  $-112\text{ }^{\circ}\text{C}$  ozon se kondenzira u tamnoplavu tekućinu. Ako se pojavi više od 20% smjese ozona i kisika, može doći do detonacije tekućeg ozona. Kod nagle promjene temperature ili tlaka također može doći do eksplozije ozona sa električnim iskrama.

**Tablica 1.** Fizikalno-kemijske svojstava ozona (Beltran, 2004).

Svojstvo	Vrijednost
Molekularna masa, $\text{g mol}^{-1}$	48
Talište, $^{\circ}\text{C}$	-251
Vrelište, $^{\circ}\text{C}$	-112 $^{\circ}\text{C}$
Kritični tlak, atm	54,62
Kritična temperatura, $^{\circ}\text{C}$	-12,1
Kritična gustoća, $\text{kg m}^{-3}$	436
Gustoća pri $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ , $\text{kg m}^{-3}$	2.144
Specifična gustoća pri $-183\text{ }^{\circ}\text{C}$ , $\text{kg m}^{-3}$	1,71
Topljivost pri $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ , $\text{kg m}^{-3}$	1,05
Oksidacijski potencijal pri $\text{pH}=0$ , V	-2.07

### 2.1.2. Ozon u tekućoj fazi

Pri visokom tlaku i niskoj temperaturi ozon iz plinovite faze prelazi u tekuću fazu. Ozon otopljen u vodi se raspada puno brže nego otopljen na kisiku ili zraku. Djelovanje ozona u vodenoj fazi je kraće pri višem pH, pri većoj koncentraciji organske tvari i većoj prisutnosti karbonata. Na topljivost ozona utječu kvaliteta i čistoća vode, temperatura (što je niža to je topljivost bolja), alkalitet te sadržaj organske tvari (Guzel Seydim, 2004). Pri pH nižem od 7 ozon se otapa u vodi, ali ne reagira s njom nego se javlja u obliku molekule. Povećanje pH uzrokuje spontano raspadanje što vodi do stvaranja reaktivnih slobodnih radikala (hidroksidni, hidroperoksidni i superoksid) (Brodowska, 2017). Ozon se razgrađuje za 50 % u roku od 20 min na  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  u destiliranoj vodi i vodi iz slavine, a samo 10 % za 85 min na  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  u dvostruko destiliranoj vodi (Hill i Rice, 1982). U prehrambenoj industriji vodena otopina ozona koristi se uglavnom za smanjenje broja bakterija kod voća i povrća, mesnih proizvoda te mliječnih proizvoda, a važna je i u dezinfekciji i pročišćavanju vode.

### 2.1.3. Ozon u plinovitoj fazi

Za razliku od tekućeg oblika, plinoviti ozon je relativno siguran i kinetički stabilan ispod tlaka od nekoliko kPa na sobnoj temperaturi. Teorijsko raspadanje ozona određeno iz učestalosti sudara pod tlakom od 101,3 kPa pri 298 K iznosi samo 0.2% godišnje. Treba istaknuti da svaka kontaminacija kao i površinske reakcije mogu dovesti do lanca reakcije što pod visokim tlakom ozon čini opasnom tvari (Miller, 2005; Toby, 1984). Zbog visokog rizika upotrebe čistog ozona, ozon se uglavnom generira na mjestu upotrebe neposredno prije primjene ili se koriste sigurne mješavine. Sigurnim mješavinama se smatraju one koje sadrže više od 9-16 mola ozona. Neovisno o količini ozona, brzim promjenama tlaka i temperature kao i mehaničkim šokovima treba izbjegavati udarce i nečiste aparate kako bi se postigla sigurnost na radu (Miller, 2005). U usporedbi sa ozonom u vodenoj fazi, ozon u plinovitoj fazi ima dulji vijek trajanja (Rice, 1986). U prehrambenoj industriji koristi se za produljenje roka trajanja hrane.

### 2.1.4. Prednosti i nedostaci primjene ozona kao dezinficijensa

U prehrambenoj industriji, osim što se ozon koristi za očuvanje hrane i produljenje roka trajanja, može se koristiti i kao dezinfekcijsko sredstvo. Primjenjuje se za dezinfekciju radnih površina, raznih uređaja, sterilizaciju opreme. Američka agencija za hranu i lijekove 2001. godine proglasila je ozon antimikrobnim sredstvom sigurnim za primjenu u prehrambenoj industriji. Istraživanja su nakon toga primarno usmjerena na primjenu ozona kao antimikrobnog sredstva u direktnom kontaktu sa hranom. Ozon snažno te izravno oksidira citoplazmatsku membranu i staničnu stjenku bakterija, također, smanjuje broj mikroflora i patogena čime se produljuje rok trajanja.

Primarna prednost primjene ozona je što ne ostavlja kemijske ostatke na hrani ili površinama u dodiru sa hranom za razliku od primjene nekih kemijskih sredstava (formaldehid, klor). Dosadašnja konvencionalna sredstva koja su se primjenjivala za sprječavanje kvarenja hrane imala su negativan utjecaj na ljudsko zdravlje. Stoga se ozon pokazao dobrom alternativom takvim sredstvima jer brzo reagira i raspada se na molekulu kisika pri čemu ne ostavlja opasne spojeve u hrani. Korištenje ozona smatra se ekološki prihvatljivom metodom obrade hrane. Bitna prednost je i to što se ozon može proizvesti direktno na mjestu upotrebe i ima veliku sanitacijsku moć već u malim količinama. Može se koristiti za sve vrste hrane, bilo

smrznute ili svježee, od voća, povrća, začina, mesa, morskih plodova pa čak i napitaka (Brodowska i sur., 2017). Jedna od bitnih karakteristika je što nema nepovoljan utjecaj na izgled, teksturu namirnice i kvalitetu proizvoda. Na njegovu učinkovitost utječe niz faktora poput temperature, pH, relativne vlažnosti, te količine spojeva s kojima stupa u reakciju. Također, navedeni faktori utječu i na topljivost ozona te na njegovu reaktivnost i stabilnost (Khadre i sur., 2001). Porastom temperature ozon postaje manje stabilan i manje topiv, ali i reaktivniji, zbog čega treba pažljivo kontrolirati temperaturu kako bi se održala njegova ravnoteža. Na višem pH ozon se automatski raspada, a stvoreni radikali doprinose njegovoj antimikrobnoj učinkovitosti (Kim i sur., 1999; Khadre i sur., 2001; Cullen i Norton, 2012). Stopa uništavanja mikroba je veća kad se ozon nalazi u atmosferi koja ima viši udio relativne vlage (Ewell, 1946; Kim i sur., 1999).

Razlike u osjetljivosti određenih vrsta mikroorganizama prema ozonu jedan su od glavnih problema prilikom primjene ozoniziranja. Na antimikrobno djelovanje ozona prilikom tretmana određenih proizvoda međuostalom utječu i vrsta proizvoda, fiziološko stanje mikroorganizma i razina kontaminacije, fizičko stanje ozona, vrsta organskog materijala. Dozu primijenjenog ozona potrebno je dobro optimizirati prema svim navedenim čimbenicima kako bi učinkovitost tretmana bila što veća uz očuvanje kvalitete tretiranog proizvoda. Primjena većih koncentracija ozona od potrebnih može negativno utjecati na kvalitetu prehrambenog proizvoda, jer može doći do značajnih fizikalno-kemijskih i organoleptičkih promjena proizvoda, poput smanjenja udjela vitamina, polifenola te promjene boje i gubitka vode (Miller i sur., 2013). Većina ovih promjena može se dogoditi i tijekom konzerviranja hrane (kiseljenjem, kuhanjem, smrzavanjem, sušenjem). Osim toga, jedan od nedostataka predstavljaju i sporedne reakcije ozona budući da u proizvodu mogu biti prisutne organske tvari koje reagiraju sa ozonom umjesto mikroorganizama. Pesticidi i klorirana otapala otporni su na djelovanje ozona. Kao bitan nedostatak ističu se i veliki investicijski troškovi primjene ozona, budući da je tretman ozonom tri puta skuplji od tretmana klorom. Također, ima i veliku sposobnost korozije u usporedbi sa ostalim dezinfekcijskim sredstvima.

#### 2.1.5. Generiranje ozona

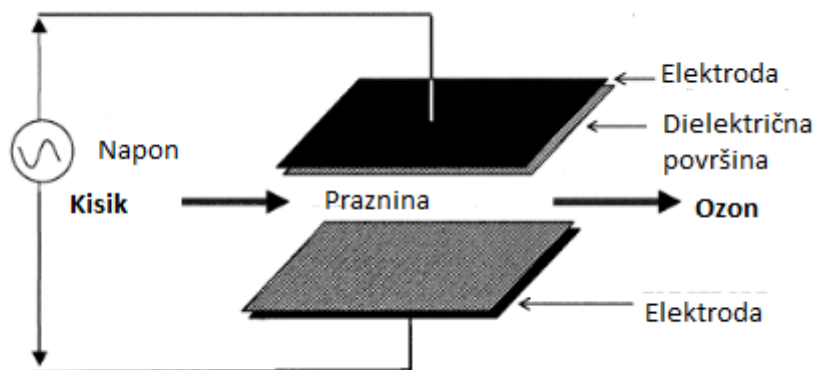
Ozon u prirodi nastaje u stratosferi i troposferi. U stratosferi reakcijom sunčevih zraka sa kisikom, a u troposferi u manjim količinama kao nusprodukt fotokemijskih reakcija između

ugljikovodika, kisika i dušika koji su dio ispušnih plinova automobila, industrija i vulkana. Također, može se i sintetizirati, za to postoji nekoliko različitih načina generiranja kao što je propuštanje zraka ili mješavine plinova koji sadrže kisik kao izvor energije. Ozon se proizvodi na mjestu upotrebe jer se jako brzo razlaže na kisik. Druge metode generiranja ozona uključuju elektrolizu, reakciju sa elementarnim fosforom i ultraljubičastu tehnologiju. Zbog ekonomske isplativosti, nisu sve metode generacije ozona pronašle svoju primjenu u prehrambenoj industriji, stoga se samo dvije koriste u praksi: ultraljubičasto (UV) zračenje i koronarno pražnjenje (*eng. corona discharge*, CD). Neke primjene u prehrambenoj industriji uključuju i UV i CD, ali ne istovremeno.

#### 2.1.5.1. Metoda električnog (koronarnog) pražnjenja (CD)

Električno pražnjenje je najpouzdaniji pristup stvaranju ozona u laboratoriju i u industriji zbog praktičnosti i učinkovitosti u različitim koncentracijama (Salam i sur., 2013). Glavni princip električnog pražnjenja je propuštanje osušenog zraka bez prašine i bez ulja ili mješavine plinova koji sadrže kisik ili sam kisik kroz prostor visoko energetskog električnog polja. Taj prostor se sastoji od dvije elektrode razdvojene dielektričnim materijalom, staklom, pri čemu je jedna elektroda uzemljena, a druga dielektrična (slika 1.). Prolazeći kroz električno polje visokog napona (5000 V) dolazi do pucanja O-O veza pri čemu se formiraju slobodni kisikovi radikali. Zatim nastali slobodni radikali reagiraju sa molekulama kisika i stvaraju ozon (Brodowska i sur., 2017). Prilikom proizvodnje ozona koronarnim pražnjenjem bitno je kontrolirati temperaturu prerađenog plina kako ne bi došlo do spontane razgradnje ozona u ione kisika. Smjesa ozona i plina koji se ispuštaju iz ovakvog generatora ozona sadrži oko 1 - 3% ozona ako se kao dovodni plin koristi suhi zrak, odnosno 3 - 6% ozona kada se koristi kisik visoke čistoće. Ako se elektrode zagriju iznad dopuštene temperature, energija se pretvara u toplinu, stoga su CD generatori ozona opremljeni sa sustavom za hlađenje elektroda. Također, uz temperaturu bitna je i kontrola vlažnosti, preporuča se upotreba čistog kisika na suhom zraku zbog maksimalnog prinosa ozona, te smanjenja korozije metalnih površina.



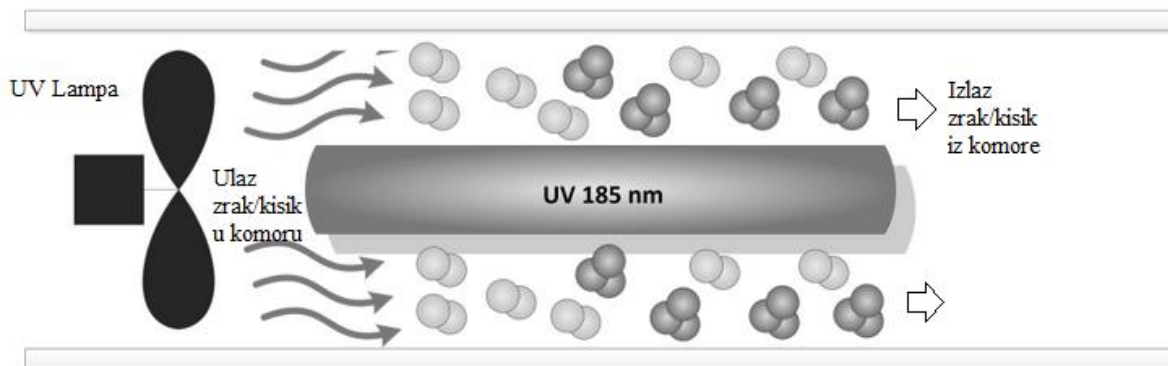


**Slika 1.** Shematski prikaz generacije ozona električnim (koronarnim) pražnjenjem (Kim et al., 1999)

#### 2.1.5.2. Metoda s ultraljubičastim (UV) zračenjem

Ultraljubičasta tehnologija koristi svjetlo valne duljine od 100 do 240 nm za stvaranje ozona. Atomi slobodnih radikala kisika vežu se za molekule kisika i reagiraju sa drugim atomom kisika stvarajući ozon (Voronov, 2008). Za proizvodnju ozona kao i za tretman zraka koriste se živine svjetiljke sa niskim tlakom. Za ovu svrhu može se koristiti kratkovalna, niskotlačna UV svjetiljka. Takve svjetiljke proizvode UV svjetlost sa dva pika u svjetlosnom području, jedan na 245 nm i drugi na 185 nm. Svjetlost valne duljine 185 nm predstavlja svjetiljku za „proizvodnju ozona“ dok se svjetlost valne duljine 254 nm odnosi na „germicidnu“ svjetiljku. Valna duljina od 185 nm bitna je za stvaranje ozona jer kroz nju zrak prolazi u plinovitoj formi. UV svjetiljka se obično postavlja u komoru gdje plin može proći kraj svjetiljke direktno ili indirektno sa kvarcnom cijevi koja štiti svjetiljku. Zrak ili kisik koji prolazi pokraj UV svjetiljke bit će podvrgnut fotolizi molekule kisika kako bi se stvorio ozon (slika 2.) (Brodowska i sur., 2017). Zbog relativno male električne učinkovitosti svjetiljke i učinkovitosti fotolize kisika do ozona, nema značajnog poboljšanja učinkovitosti proizvodnje ozona kad se koristi kisik u odnosu na zrak. Stoga se zrak gotovo uvijek koristi kada se ozon proizvodi iz UV svjetla. Ova metoda ima ograničenu upotrebu zbog lošeg prinosa. Ako se ozon na ovaj način proizvodi u prehrambenoj industriji, proizvodi se iz zraka u malim koncentracijama (maksimalna koncentracija ozona

proizvedena primjenom niskotlačne UV svjetiljke je 0,5% kada se primjenjuje zrak, a 1% ako se primjenjuje čisti kisik) (Muthukumar i sur., 2000; Pirani, 2010).



**Slika 2.** Shematski prikaz komercijalne proizvodnje ozona primjenom UV zračenja.

## 2.2. Antimikrobna aktivnost ozona

### 2.2.1. Mehanizam antimikrobne aktivnosti ozona

Zbog svoje reaktivnosti i oksidacijske sposobnosti slobodnih radikala, ozon ima širok spektar antimikrobne aktivnosti. Usprkos nestabilnosti u vodenoj i plinovitoj fazi, ozon se razgrađuje na hidrosilne, hidroperoksidne i superoksidne radikale (Manousaridis i sur., 2005). Ozon ima razarajuće djelovanje na bakterije što uključuje oštećenje membrana stanice, citoplazmatske membrane i na kraju DNA, a to rezultira nesposobnosti da se odupru ozonskom napadu. Postoje dva mehanizma inaktivacije. Prvi je oksidacija sulfhidrilnih skupina i aminokiselinskih enzima, peptida i proteina kako bi se stvorili manji peptidi. Drugi mehanizam uključuje oksidaciju polinezasićenih masnih kiselina do peroksida. Zbog destruktivnog djelovanja bakterije nemaju sposobnost da se odupiru napadu ozona. Tijekom faze inicijacije zbog aktivnosti ozona, molekula vodika se ljušti od ostatka molekule nezasićene masne kiseline. Zatim, slobodni alkalni radikali sa nesparenim elektronom u atomu ugljika ostaju bez vodika. Sljedeća faza uključuje preuređenje dvostrukih veza što rezultira stvaranjem konjugiranih veza. Nakon faze inicijacije, praćene nizom kemijskih reakcija, lipidi su potpuno peroksidirani. Produkti peroksidacije mijenjaju fizička svojstva staničnih membrana izazivajući njihovu depolarizaciju i inhibiranje aktivnosti enzima i transportnih proteina. Reakcija sa jakim

oksidacijskim sredstvom kao što je ozon može dovesti do oksidacije aminokiselina, proteina kao i nukleinske kiseline (Green i sur., 2012). Vjeruje se da je uništavanje stanične membrane glavni faktor koji dovodi do sekundarnog oštećenja DNA i na kraju smrti stanice (Antoszewski i Madej, 1997; Antoszewski i sur., 2004; Margalit i sur., 2001).

### 2.2.2. Baktericidno djelovanje ozona

Brojna istraživanja potvrdila su baktericidno djelovanje ozona na različite mikroorganizme uključujući i gram negativne i gram pozitivne bakterije (Brodowska i sur., 2014). Učinkovitost antimikrobnih sredstava ovisi o eksperimentalnim uvjetima. Finch i sur. (1988) istraživali su utjecaj ozona na rast *Escherichia coli* i zaključili su da nakon primjene ozona od 4.4 - 800µg/L tijekom 30 – 120 s dolazi do inaktivacije u rasponu od 0.5 – 6.6 log. Dave i sur. (1998) utvrdili su da je inaktivacija baterija povezana sa okolišem. Gram pozitivne bakterije (*Salmonelle enteritidis*, *Listerie monocytogenes*) osjetljivije su na djelovanje ozona u vodenoj fazi za razliku od gram negativnih, zbog toga što gram negativne bakterije imaju veći sadržaj peptidoglikana u staničnim stjenkama. U usporedbi bakterijskih spora i vegetativnih stanica na osjetljivost ozona, spore su znatno otpornije. Zato se obrada ozonom kombinira i sa drugim sredstvima koji pojačavaju inaktivaciju bakterijskih spora. Istraživanjem koje je provodio Naitoh (1992), utvrđeno je da tretman ozonom u kombinaciji sa askorbinskom ili izoaskorbinskom kiselinom smanjuje broj spora *B. subtilis*. Spore *Bacillusa* tretirane ozonom su inaktivirane kao rezultat degradacije vanjske komponente spore. Glavni razlog inaktivacije spora je gubitak sposobnosti klijanja, a ne oštećenje DNA. Green i sur. (2012) naveli su da su spore *Bacillusa* tretirane ozonom rezultat degradacije vanjskih komponenata spora. To su slojevi spora koji predstavljaju gotovo 50% volumena, te se tako sprječava izlaganje korteksa i jezgre ozonu.

### 2.2.3. Fungicidno djelovanje ozona

Kvasci i plijesni predstavljaju veliki problem jer uzrokuju kvarenje hrane. Razvoj mikotoksina ima toksično pa čak i kancerogeno djelovanje na zdravlje potrošača stoga ih je bitno ukloniti iz hrane. Ozon, također, ima i fungicidno djelovanje pri čemu je mehanizam inaktivacije povezan sa oštećenjem membrane slično kao i kod bakteriocidnog djelovanja (Feritas-Silva i Venacio, 2010). Različite vrste plijesni imaju različitu osjetljivost na ozon. Paulo i sur. (2001) usporedili su utjecaj plinovitog ozona na *Penicillium italicum* i *Penicilium digitatum*, a rezultati

su pokazali da je na *P. italicum* utjecao ozon dok na *P. digitatum* nije. Zorlugenc i sur. (2008) istražili su učinkovitost ozona u plinovitoj i vodenoj fazi tijekom inaktiviranja rasta plijesni i uklanjanju aflatoksina B1 iz suhe smokve. Kvasci su osjetljiviji na ozon od plijesni. Broj *Candida albicans* i *Zygosaccharomyces bacilli* se više smanjio pomoću ozona u vodenoj fazi u usporedbi sa sporama *Aspergillus niger* (Restanio i sur., 1995).

#### 2.2.4. Virucidno djelovanje ozona

Viruse često nalazimo na raznim radnim površinama, a mogu biti patogeni za čovjeka i životinje. Zbog sve češćih virusnih infekcija provedena su istraživanja o djelovanju ozona na inaktivaciju virusa. Ozon se pokazao kao učinkovito sredstvo jer virusi mogu reagirati direktno sa ozonom ili indirektnog sa radikalima nakon raspada ozona. Ozon reagira sa aminokiselinama, proteinima, nukleinskom kiselinom što uzrokuje inaktivaciju virusa. Dovoljna je niska koncentracija ozona (1 mg/L) tijekom 1 min da se smanji broj virusa. Inaktiviranje virusa u otpadnim vodama zahtjeva dulje vrijeme kontakta i veću koncentraciju ozona. Za obradu otpadnih voda može se koristiti u kombinaciji sa drugim sredstvima kao npr. klorom (Katzenelson i sur., 1974). Virusi koji su povezani sa stanicama su otporniji na djelovanje ozona nego slobodni virusi. Emerson i sur. (1982) provodili su testiranja dezinfekcije ljudskog epitela. Povezane stanice preživjele su dozu ozona od 4.06 i 4.68 mg/L tijekom 30 s, a nepovezani su bili inaktivirani već na koncentraciji od 0.081 mg/L tijekom 10 s.

#### 2.2.5. Protozoicidno djelovanje ozona

Protozoe su jednostanični eukariotski organizmi (jezgra i stanične organele nalaze se u citoplazmi). Neke protozoe su bezopasne dok neke vode do bolesti (paraziti). U ljudski organizam mogu doći konzumacijom hrane ili vode te uzrokovati različite tegobe i bolesti zato ih je bitno ukloniti. *Cryptosporidium parvum* uzrokuje gastrointestinalne bolesti, a djelovanjem ozona može se uništiti više od 90% parazita u hrani (Korich i sur., 1990). Ozon ne ubija direktno protozoe nego ih čini nesposobnim za reprodukciju i razmnožavanje pa tako ne mogu izazvati štetu u organizmu čovjeka.

### 2.3. Primjena ozona u prehrambenoj industriji

U posljednje vrijeme prehrambena industrija teži primjeni alternativnih, ekonomski i ekološki efikasnijih metoda. Ozon se pokazao kao dobar kandidat za smanjenje primjene štetnih dezinfekcijskih sredstava poput klora ili formaldehida. Za razliku od njih, ozon ne ostavlja štetne kemijske ostatke u hrani i što je najvažnije smatra se da nema štetan utjecaj na ljudsko zdravlje. U okviru prehrambene industrije, ozon ima široku primjenu jer se može koristiti kao dezinfekcijsko sredstvo za različite površine u prehrambenim industrijama koje dolaze u kontakt za hranom, ali i direktno za uklanjanje štetnih mikroorganizama bilo sa smrznute ili svježe hrane. Kod prehrambenih proizvoda, uz kontrolu mikroorganizama, također, bitno je i produžiti rok trajanja. Uklanjanje mikrobnog kvarenja jedan je od glavnih razloga korištenja ozona za očuvanje kvalitete vode, voća i povrća, mesa i ribe, mliječnih proizvoda te napitaka. Da bi se procijenila točna učinkovitost ozona, provedena su brojna istraživanja za pojedine proizvode i/ili mikroorganizme (Miller i sur., 2013).

#### 2.3.1. Primjena ozona u tehnologiji vode

Voda je glavni sastojak obrade hrane u prehrambenoj industriji. Neophodna je za većinu procesa kao što su blanširanje, zagrijavanje, hlađenje, smrzavanje, pasterizaciju, ispiranje itd. Kod primjene vode u prehrambenoj industriji bitna je ekonomska, ekološka i tehnološka učinkovitost. Osim toga, važna je kvaliteta i sigurnost gotovih proizvoda nakon obrade vode (Kirby, Bartram i Carr, 2003). Koristi se nekoliko postupaka za obradu vode, no u posljednje vrijeme prednost se daje primjeni membranske tehnologije (membranski bioreaktori, mikro-, ultra- i nanofiltracija, reverzna osmoza, i sl.). Navedeni tretmani iznimno su važni za smanjenje biološke potrošnje kisika (BPK), kemijske potrošnje kisika (KPK) te smanjenje mikrobiološkog opterećenja vode za piće. Uvažena praksa je dezinfekcija vode sa klorom, ali ozon, za razliku od klora, ne ostavlja kemijske ostatke nakon primjene. Antimikrobna aktivnost ozona je do 3000 puta veća od aktivnosti klora, također se brzo raspada u vodi (Miguel i sur., 2016). Ozon izravno reagira sa vodom pri niskom pH, te je dobar izbor za razgradnju nečistoća u otpadnim vodama. Voda tretirana ozonom je učinkovito sredstvo za uklanjanje *Enterococcus faecalis*, *E. coli* te drugih patogena koji se prenose hranom kao *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* i *Yersinia enterocolitica* (Khadre, Yousef i

Kim, 2001). Postupci dezinficiranja poput naprednih tehnologija oksidacije, mikrobnog tretmana UV zrakama redovito se koriste u kombinaciji sa ozonom za postizanje učinkovite dezinfekcije. Na taj način izbjegavaju se nedostaci vezani uz primjenu klora za dezinfekciju vode (Fawell, 2000; Suslow, 2001). Potrošnja ozona povećava se sa povećanjem suspendiranih tvari i pH stoga je za efikasnu primjenu ozona u obradi vode potrebno prethodno ukloniti krute suspendirane tvari i smanji mikrobiološko opterećenje primjenom metoda filtracije. Time će se poboljšati otapanje ozona u vodi i njegov dezinfekcijski učinak.

### 2.3.2. Primjena ozona u tehnologiji voća i povrća

Voće i povrće su izrazito osjetljive namirnice podložne kvarenju uzrokovano mikroorganizmima. Primjena tretmana ozonom pokazala se kao održiva „zelena“ alternativa u očuvanju kvalitete i produženju roka trajnosti raznih proizvoda pa i svježeg voća i povrća (Pandiselvam i sur., 2018). Jedna od bitnih prednosti je što njegovom primjenom na proizvodu ne zaostaju sporedni kemijski spojevi, kao kod primjene drugih sredstava za očuvanje kakvoće i produženje roka trajnosti proizvoda, stoga se može primjenjivati za izravni tretman namirnica uz minimalni ili nikakav utjecaj na nutritivna i senzorska svojstva hrane. Ozon se koristi kod prerade voća i povrća radi inaktivacije patogenih mikroorganizama koji uzrokuju kvarenje hrane, najčešće su to plijesni (*Botrytis cinerea*) i kvasci. Plijesni i kvasci su prisutni na površini svježe ubranog voća i povrća (kupinama, jagodama, grožđu, breskvama, šljivama, mrkvi i dr.) (Barth i sur., 1995). Primjena ozona započinje odmah nakon berbe, tj. tretmanom svježih plodova s ciljem smanjenja mikrobioloških onečišćenja i produljenja roka trajnosti. Dva su načina primjene ozona u tehnologiji voća i povrća: tretman ozonom u plinovitoj i tretman ozonom u vodenoj fazi. Ozon u vodenoj fazi primjenju je se na svježe ubranom povrću kako bi se smanjio broj mikroba, te produljio rok trajanja, dok je primjena ozona u plinovitoj fazi pokazala različite razine uspjeha ovisno o proizvodu i postupku. Propadanje uroda, te kvarenje voća i povrća smanjeno je korštenjem ozona. De Souza i sur. (2018) procijenili su djelovanje plinovitog (0 – 5 mg/L) i vodenog (0 – 10 mg/L) ozona na mrkvu, kvaliteta se nije promijenila (čvrstoća, težina, boja), ali tretman vodenim ozonom je utjecaj na pH mrkve. Zaključili su da ozon smanjuje nagli porast topivih krutina tijekom skladištenja povećavajući time rok trajanja.

Barth i sur. (1995) tretirali su svježe ubrane kupine plinovitim ozonom (0.1 – 0.3 ppm), te su zaključili da nakon 12 dana skladištenja, 20% bobica je pokazalo smanjenje plijesni *Botrytis cinerea*, a rok trajanja je produžen. Druge promjene na kupinama nisu uočene, a kvaliteta je ostala ista. Perez i sur. (1999) utvrdili su nešto drugačiju pojavu na jagodama, pri čemu je ozon imao negativan utjecaj na aromu, količina plijesni se nije smanjila, ali se smanjio sadržaj vitamina C nakon 3 dana skladištenja. Na mrkvama su često prisutne dvije vrste patogenih plijesni: *Botrytis cinerea* i *Sclerotinia sclerotiorum*. Primjenom ozona broj patogena smanjen je za 50%, no smanjio se i intezitet boje (Liew i Prange, 1994). Tijekom kontakta ozona i organske tvari iz grožđa, uočen je brzi pad koncentracije ozona, a broj mikrobnih kontaminanata, uključujući kvasce, bakterije i gljivice bio je smanjen nakon 20 min (Sarig i sur., 1996). Kying i Ali (2016) proučavali su utjecaj ozona na zadržavanje čvrstoće u kiviju, papaji, rajčici i jagodi, te su zaključili da je bolje zadržavanje čvrstoće nakon primjene ozona. Zambre i sur. (2010) primijetili su usporeni razvoj crvene boje tijekom skladištenja rajčice tretirane plinoviti ozonom pri 38 do 95 µg/L tijekom 10 minuta. Slične rezultate iznijeli su Ali i sur. (2014), koji su primijetili da je na promjenu boje ljuske ploda papaje utjecala izloženost plinovitom ozonu pri 4,5 µg/L tijekom 96 h. Shezi i sur. (2020) zaključili su da je tretman ozonom usporio brzinu disanja i stvaranje etilena na hotrikulturnim usjevima nakon berbe tj. smanjio je aktivnost enzima, također, ozon održava razinu antioksidansa koji imaju glavnu ulogu obrambenog mehanizma u hortikulturnim usjevima. Selcuk i Erkan (2015) istraživali su promjenu boje kore nara i primjetili su da nakon skladištenja zbog gubitka vode kora posvijetli. Alwi NA i Ali A. (2015) istraživali su utjecaj ozona na fizikalna svojstva paprike babure i došli su do zaključka da doza ozona od 3 µmol/mol tijekom 72 h pozitivno utječe na svježe ubrane paprike babure, ali korištenjem veće doze ozona posebno 7 i 9 µmol/mol znatno je smanjeno skladištenje.

**Tablica 2.** Neki primjeri primjene ozona u tehnologiji voća i povrća

Vrsta voća/povrća	Uvjeti tretmana	Rezultat	Izvor
Jabuka	Ozon u vodenoj fazi u koncentraciji od 24 – 25 mg/L tijekom 1, 3 ili 5min	Inhibicija rasta <i>E. coli</i>	Achen i Yousef (2001)

Kupina	Plinoviti ozon tijekom 12 dana skladištenja na 2°C, u dozi od 0.0, 0.1 i 0.3 ppm	Inhibicija plijesni <i>Botrytis cinerea</i>	Barth i sur. (1995)
Celer	Ozon u vodenoj fazi, 0.03, 0.08 i 0.18 ppm tijekom 5min	Inhibicija bakterija i produljenje roka trajanja	Zhang i sur. (2005)
Zelena salata	Ozon u vodenoj fazi, 1.6 i 2.2 ppm tijekom 1 min	Inhibicija bakterija ( <i>Shigella sonneri</i> )	Gil i sur. (2006)
Rajčica	Ozon u plinovitoj fazi, skladištenje na 13 °C, 95 % RH, u dozi od 0.005 – 1.0 µmol/mol	Produljenje roka trajanja	Tzortzakis i sur. (2007)
Mrkva	Ozon u plinovitoj fazi, skladištenje 6 mjeseci na 0.5 °C i > 95 % RH, ozon u dozi od 50±10 nl/L	Inhibicija plijesni ( <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> and <i>Botrytis cinerea</i> )	Hildebrand i sur. (2008)

Što se tiče uskladištenog voća i povrća (brokule, krastavci, jabuke, kruške i gljive) Skog i Chu (2001) zaključili su da je ozon pogodan za produljenje roka trajanja bez utjecaja na kvalitetu. Također, ozon je bio učinkovit u smanjenju etilena u atmosferi u kojoj su bile uskladištene jabuke i kruške. Predložene koncentracije bile su dovoljne za antimikrobno djelovanje. Zhang i sur. (2005) potvrdili su da ozon otopljen u vodi inaktivira rast mikrobne populacije na celeru tijekom 9 dana skladištenja održavajući kvalitetu. U istraživanju u kojem su cvjetovi brokule tretirani ozonom otopljenim u vodi tijekom 10 i 50 min, nije bilo značajnih promjena u odnosu na uzorke koji nisu bili tretirani ozonom. Nakon 22 h je uočeno smanjenje etilena (Zhung i sur., 1996). Beltran i sur (2005) procijenili su utjecaj ozona na posmeđivanje svježeg rezanog krumpira koji je bio zapakiran u vakuum ili u modificiranoj atmosferi. Korištenjem ozona otopljenog u



vodi nije se pokazalo smanjenje mikroba ali nije došlo ni do posmeđivanja u vakuum pakiranju i modificiranoj atmosferi tijekom 5 dana skladištenja. Voće tretirano ozonom u kombinaciji sa oksalnom i limunskom kiselinom karakterizirano je manje smeđe boje i reduciranje polifenola oksidaze.

### 2.3.3. Primjena ozona u tehnologiji mesa i ribe

Glavni problem povezan sa konzumacijom mesa su bolesti koje nastaju zbog kontaminacije mesa sa vrstama *Campylobacter*, *E.coli*, *Listeria* i *Salmonella*. Zbog toga mesna industrija teži razvoju novih tehnologija za borbu protiv patogena. Ozon se tu našao kao potencijalna metoda jer je učinkovit u smanjenju patogena, a ne utječe na kvalitetu mesa. Provedena su mnoga istraživanja na mesu i ribi koja ukazuju na pozitivan učinak ozona na inhibiciju neželjenih mikroorganizama.. Utvrđeno je da je ozon prikladan za sprječavanje rasta bakterija na govedini (Reagan i sur., 1996; Gorman i sur., 1997), pri čemu je djelovanje ozona otopljenog u vodi na smanjenje aerofilnih mikroorganizama bilo jače od vodikovog peroksida (Reagan i sur., 1996). Castillo i sur. (2003) proučavali su djelovanje ozona (95 mg/L) na govedinu u vodenoj fazi i ispiranja vodom na *E.coli*, *Salmonelle typhimurium* pri čemu su zaključili da je ozon neprikladan za sprječavanje rasta patogena, budući da su bolji rezultati postignuti samo ispiranjem vodom. Također, kod govedine su proučavali različita sredstva za dekontaminaciju kao 5% hidrogen peroksid, 0.5% ozonirana voda, 12% trinatrij fosfat, 2% octena kiselina, te voda na temperaturi između 16 i 74 °C pri čemu je najbolji rezultat dobiven primjenom ozona u vodenoj fazi i vodikovog peroksida prije ispiranja običnom vodom (Gorman i sur., 1995). Cardenas i sur. (2011) proučavali su utjecaj plinovitog ozona (72 ppm) na kvalitetu govedine i zaključili su da je došlo do smanjenja populacije *E. Coli* (0.6 do 1.0 log), ali nije došlo do promijene boje površine nakon 3 ili 24 h na 0 °C i 4 °C. Primijetili su da je temperatura važan faktor za preživljavanje mikroorganizama tj. da je kod niže temperature veće smanjenje mikroorganizama. Gram negativne bakterije su osjetljivije od gram pozitivnih, a bakterije su osjetljivije od kvasaca. Lyu i sur. (2016) proučavali su utjecaj predobrade sa ugljičnim monoksidom (CO) i ozonom na kvalitetu vakuum pakiranja goveđeg mesa. Ugljični monoksid i ozon su korišteni u različitim omjerima. Goveđe meso je prethodno obrađeno u modificiranoj atmosferi 1.5 h, zatim pakirano u vakuum i ocijenjeno nakon 45 dana skladištenja na 0 °C. Senzorska analiza procijene boje pokazala je veće vrijednosti za prethodno obrađene uzorke.

Fizikalna analiza, uključujući mjerenje ukupnog broja održivih mikroba, metmioglobina, reaktivnih tvari tiobarbiturne kiseline, ukupnog dušika i pH, pokazala je niže rezultate nakon kombinirane preobrade. U konačnici su zaključili da primjena preobrade u kombinaciji O<sub>3</sub> i CO može pomoći u održavanju kvalitete goveđeg mesa pakiranog u vakuumu. Kod svinjskog mesa, obrada ozonom bila je dovoljna za smanjenje mikrobne kontaminacije (Jaksch i sur., 2004). Kod sirove piletine, Muthukumar i Muthuchamy (2012), proučavali su inaktivaciju *Listere monocytogenes* plinovitim ozonom, ali nisu primijetili rast bakterija. Cantalejo i sur. (2016) proučavali su utjecaj kombinacije ozona i liofilizacije na rok trajanja pilećeg mesa te zaključili da kombinirano korištenje ozona i liofilizacija poboljšavaju mikrobnu kvalitetu mesa istovremeno čuvajući visoke osjetilne vrijednosti i produžujući rok trajanja sirovog pilećeg mesa oko 8 mjeseci.

Morski plodovi su jedni od važnih izvora proteina i zato je očuvanje morskih plodova prioritet istraživanja u prehrambenoj industriji. Zamrzavanje je trenutno široko prihvaćena metoda za očuvanje njihove kvalitete, no također se teži i pronalasku alternativnih metoda poput tretmana ozonom. Najveći broj mikroorganizama kod morskih plodova nalazi se u crijevima, škrgama i sluzi (Powell i sur., 1979). Blogoslawki i sur. (1993) istraživali su djelovanje ozona na uklanjanje bakterije *Vibrio* iz morskih plodova. Mala doza ozona primijenjena u trajanju od 5 – 7 min bila je dovoljna da inhibira rast bakterije *Vibrio* kod škampi. Ozonirana morska voda rezultirala je porastom stope preživljavanja larve škampi i smanjenju upotrebe antibiotika. Namakanjem očišćenih kozica u ozoniranoj vodi pokazalo se učinkovitijim od prskanja ozona, a veće doze i dulje vrijeme kontakta bili su dovoljni za smanjenje bakterijskih kontaminanata. Chawle i sur. (2007) zaključili su da ozon otopljen u vodi nije utjecao na otapanje lipida u škampima. Gelman i sur. (2005) proveli su istraživanje na svježoj ribi primjenom ozona od 6 ppm na 0 i 5 °C, te su došli do zaključka da je produžen njihov rok trajanja za 12 dana, također, poboljšala se i kvaliteta nakon skladištenja mjesec dana. Tretman ozonom u kombinaciji sa skladištenjem na 0 °C čini se obećavajuća metoda za produljenje roka trajanja ribe (Nash, 2002; Gelman i sur., 2005). Unatoč ovim pozitivnim rezultatima, nisu provedena istraživanja koja bi procijenila prooksidacijsko djelovanje ozona na sastojke ribe. Za razliku od klora, ozon ne djeluje selektivno oksidirajući određene enzimske sustave već kao opće oksidacijsko sredstvo. Neki istraživači su dokazali da riba obrađena ozonom ne sadrži plijesni i ne trune, a primjena

ozona u koncentraciji između 2.5 i 3 ppm prepoznate kao najviše preporučene na 1 – 3 °C s relativnom vlagom od 90 % za sprječavanje oksidacije masti i smanjenje neželjenih mirisa (Goncalves, 2009; Rice i sur., 1982; Trapp i Sophar, 2002). Životni vijek ribe povećao se za 20 do 60% primjenom ozona svaka 2 dana. Ribu treba tretirati ozonom samo kad je svježa.

**Tablica 3.** Neki primjeri primjene ozona u tehnologiji mesa i ribe

Vrsta mesa/ribe	Uvjeti tretmana	Rezultat	Izvor
Govedina	Ozonirana voda, 95 mg/L	Inhibivija bakterija ( <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>E.coli</i> )	Castillo i sur. (2003)
Svinjetina	Tretman plinovitim ozonom od 100 ppm i 1000 pm tijekom 10 min	Inaktivacija bakterija i produljenje roka trajanja	Jaksch i sur. (2004)
Piletina	Tretman ozonom u plinovitoj fazi 6 – 8 mg/L	Inaktivacija bakterija	EPRI (1999)
Škampi	Ozonirana morska voda, 0.07 mg/L ozona tijekom 5 – 7 min	Inaktivacija bakterija ( <i>Vibrio bacteria</i> )	Blogoslawski i sur. (1993)
Dagnje	Ozonirana morska voda sa kontinuiranim tokom, 96h	Inaktivacija ljudskih patogenih entero virusa	Abad i sur. (1995)

Tilapia	Ozonirana voda, 6 ppm na 0 i 5°C tijekom 30 dana skladištenja	Produljenje roka trajanja	Gelman i sur. (2005)
---------	---	---------------------------	----------------------

#### 2.3.4. Primjena ozona u tehnologiji mlijeka i mliječnih proizvoda

Kod prerade mlijeka i proizvodnje mliječnih proizvoda, također se pažnja pridodaje povećanju kvalitete, produljenju roka trajanja i sprječavanju mikrobnog onečišćenja. Zbog sve veće ekološke osviještenosti potrošača i sama prerađivačka industrija se okrenula razvoju alternativnih, ekološki prihvatljivijih, „zelenih“ procesnih tehnologija. U mljekarstvu se također teži uvođenju takvih tehnologija ne samo zbog ekološke osviještenosti već i zbog očuvanja parametara kvalitete mlijeka i mliječnih proizvoda. Do sada se sirovo mlijeko tretiralo grijanjem što može negativno utjecati na njegova hranjiva i senzorska svojstva, no Sander (1985) je predložio alternativnu metodu za obradu sirovog mlijeka primjenom blagih doza ozona koja bi trebala ukloniti navedene nedostatke. Kasnija istraživanja pokazala su znatno smanjenje (do 99%) broja psihotropnih bakterija u obranom mlijeka (Rojek i sur., 1995). Osim toga, pokazalo se da ozon osigurava potpunu inaktivaciju *Listere monocytogenes* i u sirovom i u već obrađenom mlijeku (Sheelamary i Muthukumar, 2011). Ozonska obrada sirovog mlijeka je kombinirana sa tehnologijom bubrenja što je rezultiralo smanjenjem bakterija i gljivica, dok sam ozon nije bio učinkovit za uklanjanje mikrobne kontaminacije (Cavalcante i sur., 2013). Tvornica mliječnih proizvoda u Švedskoj, koristila je ozon na prvom koraku predobrade tekućeg mlijeka nakon čega je uslijedila pasterizacija. Time je osigurano produženje roka trajnosti mlijeka i održavanje sadržaja lipida i proteina (Varga i Szigeti, 2016). Plinoviti ozon pokazao se učinkovitim za inaktivaciju *Cronobacter sakazakii* (smanjenje za 3 i 1.4 log) u mlijeku u prahu (obrano i punomasno mlijeko u prahu) (Torlak i Sert, 2013) pri čemu je opažen negativan, ali neznan utjecaj na sadržaj masti u mlijeku nakon dvosatnog tretmana (Torlak i Sert, 2013). Morandi i sur. (2009) proveli su istraživanja na tri vrste talijanskog sira (*Ricotta*, *Taleggio* i *Gorgonzola*) u različitim fazama dozrijevanja, te su potvrdili da plinoviti ozon ima utjecaj na inaktivaciju *Listere monocytogenes*. Proučavano je i djelovanje ozona otopljenog u vodi kako bi se poboljšala

mikrobna kvaliteta sira. Predobrada vode ozonom od 2 mg/L rezultirala je da se smanjio broj aerobnih mezofila, bakterija mliječne kiseline, kvasaca i plijesni i produljenje roka trajanja konačnog proizvoda (Seget i sur., 2014). Unatoč tome, ozon je omogućio očuvanje početnih fizikalno – kemijskih svojstava sira (Cavalcante i sur., 2013). Shiler i sur. (1978) svojim istraživanjem u sirani došli su do zaključka da su se spore plijesni inaktivirale od 80 – 90 tj. 99% bez utjecaja na kvalitetu sireva. Gabriel'yants' i sur. (1980), čuvali su sireve na 2 – 48 °C, 85 – 90% relativne vlage s nastajanjem ozona u atmosferi skladišta. Utvrdili se da periodično ioniziranje za najmanje 44 h u intervalima od 2 – 3 dana s ozonom u zraku sprječava rast plijesni na sirevima i ambalažnom materijalu. Korištenjem ozona u malim koncentracijama tijekom vrenja, uvjeti skladištenja su se povećali za 11 tjedana (Horvath i sur., 1985).

**Tablica 4.** Neki primjeri primjene ozona u tehnologiji mliječnih proizvoda

Vrsta proizvoda	Uvjeti tretmana	Rezultat	Izvor
Obrano mlijeko	Plinoviti ozon u dozi od 5 – 35 mg/L tijekom 5 – 25min	Smanjenje broja mikroorganizama	Rojek i sur. (1995)
Sirovo mlijeko	Tretman plinovitim ozonom, 0.2 g/h tijekom 15min	Inaktivacija bakterija ( <i>Listeria monocytogenes</i> )	Sheelamary i Muthukumar (2011)
Obrano i punomasno mlijeko u prahu	Tretman plinovitim ozonom, 2.8 mg/L ili 5.3 mg/L tijekom 0.5 – 2h	Inaktivacija bakterija ( <i>Cronobacter sakazakii</i> ATCC 51329)	Torlak i Sert (2013)
Sir	Ozon u vodenoj fazi, 2 mg/L tijekom 1- 2 min, 30 dana skladištenja	Smanjenje broja mikroorganizama	Cavalcante i sur. (2013)

### 2.3.5. Primjena ozona u tehnologiji bezalkoholnih pića

Potrošnja prirodnih voćnih sokova povećala se širom svijeta i postala jednim od temelja zdravog načina života (Jaramillo – Sanchez i sur., 2017). Prirodni voćni sokovi su bogat izvor vitamina, antocijana, fenolnih spojeva i karatenoida (Abeysinghe i sur., 2017). Pasterizirani sokovi podložni su negativnim promjenama u funkcionalnim spojevima, aromama i bojama (Rivas i sur., 2006), zbog toga prehrambeni tehnolozi i prerađivačka industrija traže alternativu termičkoj pasterizaciji. Jedna od opcija je primjena kratkovalnog ultraljubičastog zračenja ozonom jer inaktivira mikroorganizme, a pri tome ne utječe na senzorska i hranjiva svojstva napitka. Primjena ozona kod napitaka usmjerena je na kontrolu njihove kvalitete. Ozoniranje utječe na smanjenje štetnih patogena kao što su *E.coli*, *Listeria monocytogenes* i *Salmonella*. Brojna mikrobna ispitivanja pokazala su da se kvarenje i potencijalno patogene vrste koje se javljaju u sokovima od voća i povrća mogu smanjiti za 5 log nakon obrade ozonom (Tiwai i Muthukumaroppan, 2012). Odobrena količina ozona u sokovima iz boce je  $0.4 \text{ mgL}^{-1}$ . Učinkovitost ozoniranja za inaktivaciju mikroorganizama u voćnom soku ovisi o pH, aditivima (površinski aktivnim tvarima i šećerima), temperaturi, koncentraciji, brzini protoka ozona, sadržaju organskih tvari i sadržaju krutih tvari (Choi i sur., 2012). Djelovanje ozona na kvalitetu voćnog soka ne ovisi samo o koncentraciji i izloženosti ozonu nego i o kemijskom sastavu voćnog soka. Kod jabukovače (Choi i Nielsen 2005), soka od naranče (Tiwari i sur., 2008) i jagode (Tiwari i sur., 2009), došlo je do modifikacije boje tijekom primjene ozona. Kako se ozon raspada na hidroksilne radikale u vodi to dovodi do oksidacije aldehida, organskih kiselina i ketona. Razvoj smeđe boje u sokovima može biti povezan sa enzimskim djelovanjem i neenzimskim reakcijama koje se mogu potaknuti oksidacijom fenolnog spoja ozonom (McEvily, Iyengar i Otwell, 1992). Obrada ozonom nema utjecaj na pH, °Brix i titracijsku kiselost. Zuma i sur. (2009) istraživali su utjecaj pH na inaktivaciju *E. coli* u soku od jabuke i zaključili sa da je inaktivacija bolje pri nižem pH (3,0). Ferrario, Alzamora i Guerrero (2014) proučavali su rast bakterija na soku od marelice tijekom skladištenja na niskim temperaturama nakon primjene ozona. Rezultati su pokazali da nije došlo do kontaminacije, a ako je i bilo neke kontaminacije bila je mala za razliku od neobrađenog soka. Tenney (1973) je predložio primjenu ozona u pivarskoj industriji za pranje kvasca, selektivno ukljanjanje bakterijskih onečišćenja i završno ispiranje boca, limenki, cijevovoda i spremnika.

**Tablica 5.** Neki primjeri primjene ozona u tehnologiji bezalkoholnih pića

Vrsta proizvoda	Uvjeti tretmana	Rezultat	Izvor
Sok od jabuke	Ozon u plinovitoj fazi, 33 - 40 ppm tijekom 8min na 15 – 18°C i 30 dana skladištenja na 4, 8, 12 i 16°C	Smanjenje kvasaca ( <i>Saccharomyces Cerevisiae</i> ATCC 9763) i produljenje roka trajanja	Patil i sur. (2011)
	Ozon u plinovitoj fazi, 0.4 ppm tijekom 10min na 20°C	Inaktivacija bakterija ( <i>E.coli</i> )	Patil i sur. (2010)
Sok od grejpa	Plinoviti ozon od 0 – 7.8% tijekom 10min na 20°C	Produljenje roka trajanja	Tiwari i sur. (2009)
Sok od rajčice	Plinoviti ozon, 1.6 – 7.8% tijekom 10min na 20°C	Produljenje roka trajanja	Tiwari i sur. (2009)

### 3. ZAKLJUČCI

Na temelju dosad objavljenih publikacija u području primjene ozona u prehrambenoj industriji i tretmana ozonom u određenim sektorima prehrambene industrije može se zaključiti sljedeće:

1. Prema principima zaštite okoliša i održivog razvoja, ozon se istaknuo kao obećavajuće alternativno „zeleno“ rješenje za očuvanje kvalitete prehrambenih proizvoda i produljenje njihova roka trajnosti.
2. Tretman ozonom je siguran za primjenu u prehrambenoj industriji (GRAS status), ne ostavlja kemijske ostatke na hrani ili na površinama u dodiru sa hranom te ima izrazito antimikrobno djelovanje na bakterije, kvasce, plijesni, viruse i protozoe.
3. U usporedbi sa drugim antimikrobnim sredstvima, učinkovitiji je u manjim koncentracijama i pri kraćem vremenu kontakta, uspješno inaktivira uzročnike kvarenja prehrambenih proizvoda i znatno utječe na produljenje njihova roka trajnosti uz minimalni utjecaj na senzorska i nutritivna svojstva.
4. Ozoniziranje se široko primjenjuje u sanitaciji proizvodnih pogona te u obrade vode za piće, a pokazalo se da je uspješna i njegova primjena u očuvanju kvalitete i produljenju roka trajnosti svježeg i konzerviranog voća i povrća, mesa, ribe i morskih plodova, mlijeka i mliječnih proizvoda te bezalkoholnih pića.
5. Iako instalacija generatora ozona može uključivati visoke kapitalne troškove za male tvrtke, za razliku od konvencionalnih antimikrobnih sredstava, no implementacija *in situ* proizvodnje ozona dugoročno je isplativa.
6. Unatoč dokazanim prednostima ozona u dobivanju visokokvalitetnih i sigurnih namirnica, još uvijek nema široku industrijsku primjenu, stoga je potrebno precizno optimirati i standardizirati tretmane ozonom za svaki prehrambeni proizvod te uzeti u obzir sve potencijalne zdravstvene rizike.



#### 4. LITERATURA

Abad, F. X., Pintó, R. M., Gajardo, R., Bosch, A. (1997): Viruses in mussels: public health implications and depuration. *J Food Protect.* **60**(6): 677-681.

Abeysinghe, D.C., Li, X., Sun, W.S., Zhang, C.H., Zhou, K.S., Chen. (2007): “Bioactive Compounds and Antioxidant Capacities in Different Edible Tissues of Citrus Fruit of Four Species.” *Food Chemistry.* **104**:1338–44.

Achen, M., Yousef, A.E. (2001): Efficacy of ozone against *Escherichia coli* O157:H7 on apples. *J Food Sci.* **66**(9): 1380–1384.

Ali, A., Ong, M.K., Forney, C.F. (2014): Effect of ozone pre-conditioning on quality and antioxidant capacity of papaya fruit during ambient storage. *Food Chemistry.* **142**,19-26.

Alwi, N.A., Ali, A. (2015): Dose-dependent effect of ozone fumigation on physiological characteristics, ascorbic acid content and disease development on bell pepper (*Capsicum annuum* L.) during storage. *Food Bioprocess Technol.* **8**:558–566.

Antoszewski, Z., Skalski, J.H., Skalska, A. (2004): Tlen, niektóre inne gazy oddechowe i wolne rodniki tlenowe w medycynie. *Wyd. Nauk. Śląsk, Katowice.*

Antoszewski, Z., Madej, P. (1997): Ozonoterapia i jej zastosowanie w medycynie. *Wyd. Alfa Medica Press, Bielsko-Biała.*

Barth, M.M., Zhou, C., Mercier, J., Payne, F.A. (1995): “Ozone Storage Effects on Anthocyanin Content and Fungal Growth in Blackberries.” *Journal of Food Science.* **60** (6), 1286–88.

Beltran, F.J. (2004): “Ozone Reaction Kinetics for Water and Wastewater System”. *UK: CRC Press.* 31–44.

Blogoslawski, W. J., Perez, C., Hitchens, P. (1993): Ozone treatment of seawater to control *Vibriosis* in mariculture of penaeid shrimp, *Penaeus vannameii*. In proceedings of the international symposium on ozone-oxidation methods for water and wastewater treatment. pp. I.5.1 - I.5.11.

- Brodowska, A. J., Śmigielski, K., Nowak, A., Brodowska, K., Catthoor, R., Czyżowska, A. (2014): The impact of ozone treatment on changes in biologically active substances of cardamom seeds. *Journal of Food Sci.* **79** (9): C1649-1655.
- Brodowska, A. J., Śmigielski, K., Nowak, A., Czyżowska, A., Otlewska, A. (2015): The impact of ozone treatment in dynamic bed parameters on changes in biologically active substances of juniper berries. *PLoS ONE.* **10**(12).
- Brodowska, A. J., Nowak, A., Śmigielski, K. (2017): Ozone in the Food Industry: Principles of Ozone Treatment, Mechanisms of Action, and Applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.*
- Cantalejo, M.J., Zouaghi, F., Perez-Arnedo, I. (2016): Combined effects of ozone and freeze-drying on the shelf-life of *Broiler* chicken meat. *LWT- Food Sci Technol.* **68**: 400-407.
- Cárdenas, F.C., Andrés, S., Giannuzzi, L., Zaritzky, N. (2011): Antimicrobial action and effects on beef quality attributes of a gaseous ozone treatment at refrigeration temperatures. *Food Control.* **22**: 1442-1447.
- Castillo, A., McKenzie, K.S., Lucia, L.M., Acuff, G.R. (2003): "Ozone Treatment for Reduction of Escherichia Coli O157: H7 and Salmonella Serotype Typhimurium on Beef Carcass Surfaces." *Journal Food Protection.* **66**(5), 775–79.
- Cavalcante, M.A., Leite Junior, B.R.C., Tribst, A.A.L., Cristianini, M. (2013a): Improvement of the raw milk microbiological quality by ozone treatment. *International Food Research Journal* **20**, 2017–2021.
- Choi, M., Liu, Q., Lee, S., Jin, J., Ryu, S., Kang, D. (2012): "Inactivation of Escherichia Coli O157: H7, Salmonella Typhimurium and Listeria Monocytogenes in Apple Juice with Gaseous Ozone." *Food Microbiology.* **32**, 191–95.
- Choi, L.H., Nielsen, S.S. (2005): The effects of thermal and nonthermal processing methods on apple cider quality and consumer acceptability. *J Food Qual.* **28**(1): 13–29.
- Cullen, P.J., i Norton, T. (2012): Ozone Sanitisation in the Food Industry. *Food Science and Technology.*

- Dave, S., Kim, J.G., Lou, Y., Yousef, A.E. (1998): Kinetics of inactivation of *Salmonella enteritidis* by ozone. *Inst Food Technol Annual Meet. Book of abstracts*. pp. 15
- De Souza, L. P., Lê Faroni, Rita, D., Antonino, F.F., Heleno, P.R., Cecon, T.D.C., Gonçalves, G.J., Da Silva, i L. H. F., Prates. (2018): “Effects of Ozone Treatment on Post Harvest Carrot Quality.” *LWT - Food Science and Technology*.
- DuRon, B. (1982): Ozone generation with ultraviolet radiation. *Handbook of Ozone Technology and Applications*.
- Emerson, M. A., Sproul, O.J., Buck, C.E. (1982): Ozone inactivation of cell-associated viruses. *Appl. Environ. Microbiol.* **43**, 603–608.
- EPRI. (1999): Membrane filtration and ozonation of poultry chiller overflow water. Technical progress report TP-114435.
- Ewell, A.W. (1946): Recent ozone investigation. *J. Appl. Physics.* **17**:908–911.
- Fawell, J. (2000): “Risk Assessment Case Study: Chloroform and Related Substances.” *Food Chemistry Toxicology.* **38**, S91–S95.
- FDA, Food and Drug Administration (2001): Hazard analysis and critical control point (HACCP): procedures for the safe and sanitary processing and importing of juice; final rule. *Federal Register.* **66**, 6137–6202.
- FDA, Food and Drug Administration (2001): Secondary Direct Food Additives Permitted in Food for Human Consumption, *Federal Register.* **66**(123), 33829-33830.
- Freitas-Silva, O., Venancio, A. (2010): Ozone applications to prevent and degrade mycotoxins: a review. *Drug Metab Rev.* **42**(4): 612–620.
- Ferrario, M., Alzamora, S.M., Guerrero, S.N. (2014): Apple, orange and strawberry juices treated with pulsed Light. *Effect on some inoculated microorganisms and native flora during refrigerated storage.* 3–6.
- Finch, G.R., Smith, D.W., Stiles, M.E. (1988): Dose-response of *Escherichia coli* in ozone demand-free phosphate buffer. *Water Res.* **22**: 1563–1570.

Franz, J., Gagnaux, A. (1971): Sterilization with ozone under extremely high sterilization requirements. *Wasser Luft Betrieb*. **15**, 393–396.

Gabriel'yants', M.A., Teplova, L.N., Karpova, T.I., Kozlova, R.A., Makarova, G.F. (1980): Storage of hard rennet cheeses in cold stores with ozonization of air. *Kholodil'naya Tekhnika*. **5**, 35–37.

Gelman, A., Sach, O., Khanin, Y., Drabkin, V., Glatman, L. (2005): "Effect of Ozone Pretreatment on Fish Storage Life at Low Temperature." *Journal of Food Protection*. **68**, 778–84.

Gil, M.I., Selmaa, M.V., Beltrán, D., Allendea, A., Verab, E.C. (2006): Elimination by ozone of *Shigella sonnei* in shredded lettuce and water. *Food Microbiol.* **35**, 345–351.

Gonçalves, A.A. (2016): Ozone as a safe and environmentally friendly tool for the seafood industry. *J Aquat Food Product Technol.* **25**(2): 210-229.

Gorman, B.M., Sofos, J.N., Morgan, J.B., Schmidt, G.R., Smith, G.C. (1995): "Evaluation of Hand-Trimming, Various Sanitizing Agents, and Hot Water Spray-Washing as Decontamination Interventions for Beef Brisket Adipose Tissue." *Journal of Food Protection*. **58**, 899–907.

Graham, D.M., Pariza, M.W., Glaze, W.H., Erdman, J.W., Newell, G.W., Borzelleca, J.F. (1997): Use of ozone for food processing. *Food Technol.* **51**(6), 72–76.

Greene, A.K., Güzel-Seydim, Z.B., Seydim, A.C. (2012): Chemical and physical properties of ozone. *Ozone in food processing*. pp. 19-32.

Guzel-Seydim, Z.B., Greene, A.K., Seydim, A.C. (2004a): Use of ozone in the food industry. *LWT - Food Sci Technol.* **37**, 453–460.

Guzel-Seydim, Z.B., Bever Jr, P.I., Greene, A.K. (2004b): Efficacy of ozone to reduce bacterial populations in the presence of food components. *Food Microbiol.* **21**, 475-489.

Hildebrand, P.D., Forney, C.F., Song, J., Fan, L., McRae, K.B. (2008): Effect of a continuous low ozone exposure (50 nL L<sup>-1</sup>) on decay and quality of stored carrots. *Postharvest Biol Technol.* **49**(3), 397–402

- Hill, A.G., Rice, R.G. (1982): Historical background, properties and applications. *Handbook of Ozone Technology and Applications*. Vol. 2198.
- Horvath, M., Bilitzky, L., Huttner, J. (1985): Fields of utilization of ozone. *R. J. H. Clark (ed.), Ozone. Elsevier Science Publishing Co.* p. 257–316.
- Jaksch, D., Margesin, R., Mikoviny, T., Skalny, J.D., Hartungen, E., Schinner, F., Mason, N.J., Mark, T.D. (2004): The effect of ozone treatment on the microbial contamination of pork meat measured by detecting the emissions using PTR-MS and by enumeration of microorganisms. *Int J Mass Spectrom.* **239**: 209-214.
- Jaramillo-Sánchez, G.M., Garcia Loredó, A.B., Contigiani, E.V., Gómez, P.L., Alzamora, S.M. (2017): “Inactivation Kinetics of Peroxidase and Polyphenoloxidase in Peach Juice Treated with Gaseous Ozone.” *International Journal of Food Science and Technology.* **53**, 347–55.
- Katzenelson, E.B., Kletter, H. I. (1974): Inactivation kinetics of viruses and bacteria in water by use of ozone. *Water Works Assoc.* **66**, 725–729.
- Khadre, M.A., Yousef, A.E., Kim, J. (2001): “Microbiological Aspects of Ozone Applications in Food: A Review.” *Journal of Food Science* **66**, 1242–52.
- Kim, J.G., Yousef, A.E., Dave, S. (1999): Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. *Journal of food protection.* **62**(9), 1071-1087.
- Kirby, R.M., Bartram, J., Carr, R. (2003): “Water in Food Production and Processing: Quantity and Quality Concerns.” *Food Control* **14**, 283–99.
- Korich, D.G., Mead, J.R., Madore, M.S., Sinclair, N.A., Sterling, C.R. (1990): Effects of ozone, chlorine dioxide, chlorine, and monochloramine on *Cryptosporidium parvum* oocyst viability. *Appl. Environ. Microbiol.* **56**, 1423–1428.
- Kying, O.M., Ali, A. (2016): Effect of ozone exposure on microbial flora and quality attributes of papaya (*Carica papaya* L) fruit. *Journal of Agronomy and Agricultural Aspects.* 104.
- Varga, L., i Szigeti, J. (2016): Use of ozone in the dairy industry. *International Journal of Dairy Technology.*

- Liew, C.L., Prange, R.K. (1994): "Effect of Ozone and Storage-Temperature on Post Harvest Diseases and Physiology of Carrots (*Daucus-Carota L.*)." *Journal American Society Horticultural Science*. **119**, 563–67.
- Lyu, F., Shen, K., Ding, Y., Ma, X. (2016): Effect of pretreatment with carbon monoxide and ozone on the quality of vacuum packaged beef meats. *Meat Sci*. **117**: 137-146.
- Majumdar, S.B., Ceckler, W.H., Sproul, O.J. (1973): Inactivation of poliovirus in water by ozonation. *Drinking Water Health Advisory*. **45**, 2433–2443.
- Manousaridis, G., Nerantzaki, A., Paleologos, E.K., Tsiotsias, A., Savvaidis, I.N., Kontominas, M.G. (2005): Effect of ozone on microbial, chemical and sensory attributes of shucked mussels. *Food Microbiol*. **22**: 1–9.
- Margalit, M., Attias, E., Attias, D., Elstein, D., Zimran, A., Matzner, Y. (2001): Effect of ozone on neutrophil function in vitro. *Clin Lab Haematol*. **23**(4): 243–247.
- Marino, M., Maifreni, M., Baggio, A., Innocente, N. (2018): Inactivation of foodborne bacteria biofilms by aqueous and gaseous ozone. *Frontiers in Microbiology*. **9**, 2024.
- McEvily, A.J., Iyengar, R., Otwell, W.S. (1992): "Inhibition of Enzymatic Browning in Foods and Beverages." *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. **32**, 253–73.
- Miguel, N., Lanao, M., Valero, P., Mosteo, R., Ormad, M.P. (2016): "Enterococcus Sp. Inactivation by Ozonation in Natural Water: Influence of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and TiO<sub>2</sub> and Inactivation Kinetics Modeling." *The Journal of the International Ozone Association* **38**, 443–51.
- Miller, J.S. (2005): Ozon – właściwości, metody oznaczania. *Występowanie i właściwości ozonu. Polska Akademia Nauk Oddział w Łodzi*. pp. 29-61.
- Morandi, S., Brasca, M., Lodi, R., Battelli, G. (2009): Use of ozone to control *Listeria monocytogenes* in various types of cheese. *Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia*. **60**, 211–215.
- Muthukumar, A., Muthuchamy, M. (2013): "Optimization of Ozone in Gaseous Phase to Inactivate *Listeria Monocytogenes* on Raw Chicken Samples." *Food Research International*. **54**(1), 1128–30.

- Naitoh, S. (1992a): Studies on the application of ozone in food preservation: synergistic sporicidal effects of gaseous ozone and ascorbic acid, isoascorbic acid to *Bacillus subtilis* spores. *J Antibact Antifung Ag.* **20**, 565–570.
- Nash, B. (2002): “Ozone Effective in Preserving Seafood Freshness.” *Marine Extension News, North Carolina Sea Grant, Spring Issue.*
- Palou L., Smilanick, J.L., Crisosto, C.H., Mansour, M. (2001): Effect of gaseous ozone exposure on the development of green and blue molds on cold stored citrus fruit. *Plant Dis.* **85**(6): 632–638.
- Pandiselvam, R., Subhashini, S., Banuu Priya, E.P., Kothakota, A., Ramesh, S.V., Shahir, S. (2019): Ozone based food preservation: a promising green technology for enhanced food safety. *Ozone: Science & Engineering.* **41**(1), 17-34.
- Patil, S., Torres, B., Tiwari, B. K., Wijngaard, H. H., Bourke, P., Cullen, P. J., O’Donnell, C. P., Valdramidis, V. P. (2010): Safety and quality assessment during the ozonation of cloudy apple juice. *J Food Sci.* **75**(7): M437–443.
- Patil, S., Valdramidis, V. P., Tiwari, B. K., Cullen, P. J., Bourke, P. (2011): Quantitative assessment of the shelf life of ozonated apple juice. *Eur Food Res Technol.* **232**(3): 469–477.
- Perez, A.G., Sanz, C., Rios, J.J., Olias, R., Olias, J.M. (1999): “Effects of Ozone Treatment on Postharvest Strawberry Quality.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* **47**, 1652–56.
- Pirani, S. (2010): Application of ozone in food industry. *Doctoral Program in Animal Nutrition and Food Safety.*
- Pryor, A., Rice, R.G. (2000): Ozone toxicology and guidelines for safe use in food processing ozonation systems. *Ozone news.* **28**(4), 19-28.
- Reagan, J.O., Acuff, G.R., Buege, D.R., Buyck, M.J., Dickson, J.S., Kastner, C.L., Marsden, J.L., Morgan, J.B., Nickelson, R., Smith, G.C. (1996): “Trimming and Washing of Beef Carcasses as a Method of Improving the Microbiological Quality of Meat.” *Journal of Food Protection.* **59**, 751–56.

Restaino, L., Frampton, E.W., Hemphill, J.B., Palnikar, P. (1995): Efficacy of ozonated water against various food-related microorganisms. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**, 3471–3475.

Rice, R.G. (1986): Application of ozone in water and wastewater treatment. *Analytical Aspects of Ozone Treatment of Water and Wastewater*. pp. 7–26.

Rice, R.G., Graham, D.M. (2012): Recent North American developments in ozone applications in food processing. *OLGEAR*. 1-24.

Rivas, A., Rodrigo, D., Martinez, A., Barbosa-Canovas, G.V., i Rodrigo, M. (2006): “Effect of PEF and Heat Pasteurization on the Physical-Chemical Characteristics of Blended Orange and Carrot Juice.” *LWT-Food Science and Technology*. **39**:1163–70.

Rojek, U., Hill, A.R., Griffiths, M. (1995): Preservation of milk by hyperbaric ozone processing. *Journal of Dairy Science*. 78.

Salam, Z., Facta, M., Amjad, M., Buntat, Z. (2013): Design and implementation of a low cost, high yield dielectric barrier discharge ozone generator based on the single switch resonant converter. *IET Power Electron*. **6**: 1583–1591.

Sander, M. (1985): Mild ozone treatment of liquids, such as fruit juices, milk, liquid dairy products, wine, oils, liquid medicaments, blood and/or similar products. *German Federal Republic patent application*.

Sarig, P., Zahavi, T., Zutkhi, Y., Yannai, S., Lisker, N., Ben Arie, R. (1996): “Ozone for Control of Post-Harvest Decay of Table Grapes Caused by *Rhizopus Stolonifer*.” *Physiological and Molecular Plant Pathology*. **48**, 403–15.

Selcuk, N., i Erkan, M. (2015): “Changes in Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Sour-sweet Pomegranates Cv. ‘Hicaznar’ during Long-term Storage under Modified Atmosphere Packaging.” *Postharvest Biology and Technology* **109**: 30–39.

Sheelamary, M., Muthukumar, M. (2011): Effectiveness of ozone in inactivating *Listeria monocytogenes* from milk samples. *World Journal of Young Researchers*. **1**, 40–44.

Shezi, S., Magwaza, L.S., Mditshwa, A., i Tesfay, S.Z. (2020): “Changes in Biochemistry of Fresh Produce in Response to Ozone Postharvest Treatment.” *Scientia Horticulturae* 269.



- Shiler, G.G., Eliseeva, N.N., Chebotarev, L.N. (1978): Use of ozone and ultra-violet radiation for the inactivation of mould spores. *20th International Dairy Congress*. 616.
- Silva, J., Pereira, M.N., Scussel, V.M. (2018): “Ozone Gas Antifungal Effect on Extruded Dog Food Contaminated with *Aspergillus Flavus*.” *Food Chemistry*. **104**, 1338–44.
- Skog, L., Chu, C.L. (2001): Effect of ozone on qualities of fruits and vegetables in cold storage. *Can J Plant Sci*. **81**: 773–778.
- Suslow, T.V. (2001): “Water Disinfection: A Practical Approach to Calculating Dose Values for Preharvest and Postharvest Applications.” *University of California, Agriculture and Natural Resources*.
- Tapp, C., Rice, R.G. (2012): Generation and control of ozone. *Ozone in Food Processing*. 1st ed., pp. 33–46.
- Tenney, R.I. (1973): Ozone generation and use in the brewery. *Brew. Dig*. **48**, 64–66, 70.
- Tiwari, B. K., O’Donnell, C. P., Patras, A., Brunton, N., Cullen, P. J. (2009): Anthocyanins and color degradation in ozonated grape juice. *Food Chem Toxicol*. **47**(11): 2824–2829.
- Tiwari, B. K., O’Donnell, C. P., Brunton, N. P., Cullen, P. J. (2009): Degradation kinetics of tomato juice quality parameters by ozonation. *Int J Food Sci Technol*. **44**(6): 1199–1205.
- Tiwari, B.K., Rice, R.G. (2012): Regulatory and legislative issues. *Ozone in food processing*. 1st ed., pp. 7–17.
- Toby, S. (1984): Chemiluminescence in the reactions of ozone. *Chem Rev*. **84**: 277-285.
- Torlak, E., Sert, D., Ulca, P. (2013): “Efficacy of Gaseous Ozone against *Salmonella* and Microbial Population on Dried Oregano.” *International Journal of Food Microbiology*. **165**(3), 276–80.
- Torlak, E., Sert, D. (2013): Inactivation of *Cronobacter* by gaseous ozone in milk powders with different fat contents. *International Dairy Journal* **32**, 121–125.

- Tzortzakis, N., Borland, A., Singleton, I., Barnes, J. (2007a): Impact of atmospheric ozone enrichment on quality-related attributes of tomato fruit. *Postharvest Biol Technol.* **45**(3), 317–325.
- Varga, L., Szigeti, J. (2016): Use of ozone in the dairy industry: *Int J Dairy Technol.* **69**(2), 157-168.
- Voronov, A. (2008): New generation of low pressure mercury lamps for producing ozone. *Ozone: Sci Eng.* **30**(6), 395–397.
- Wickramanayake, G.B., Rubin, A.J., Sproul, O.J. (1984): Inactivation of Naegleria and Giardia cysts in water by ozonation. *Drinking Water Health Advisory.* **56**, 983–988.
- Zambre, S.S., Venkatesh, K.V., i Shah, N.G. (2010): Tomato redness for assessing ozone treatment to extend the shelf-life. *Journal of Food Engineering.* **96**, 463-468.
- Zhang, T., Xue, Y., Li, Z., Wang, Y., Yang, W., Xue, C. (2016): “Effects of Ozone on the Removal of Geosmin and the Physicochemical Properties of Fish Meat from Bighead Carp (*Hypophthalmichthys Nobilis*).” *Innovative Food Science & Emerging Technologies.* **34**, 16–23.
- Zorlugenc, B., Zorlugenc, F.K., Oztekin, S., Evliya, I.B. (2008): The influence of gaseous ozone and ozonated water on microbial flora and degradation of aflatoxin B(1) in dried figs. *Food Chem Toxicol.* **46**(12): 3593–3607.
- Zuma, F., Lin, J., Jonnalagadda, S.B. (2009): Ozone-initiated disinfection kinetics of *Escherichia coli* in water. *J. Environ. Sci. Health Part A* **44**. 48e56.