

## Eliminazione dei residui tossici dall'acqua utilizzando ozono nell'industria di trasformazione alimentare

G.Fortini<sup>1</sup>, C.C.Cardoso<sup>1</sup>, M. Bandini<sup>1</sup>, R.Dall'Aglio<sup>2</sup>, N.<sup>3</sup>Dalla Casa.

Stazione Sperimentale per l'Industria delle Conserve Alimentari, V.le Tanara, 31/A – 43100 Parma (Italia)

### Riassunto

*L'industria alimentare utilizza grandi quantità di acqua nelle fasi di prelavaggio, lavaggio e risciacquo. Riutilizzare l'acqua e garantire la sua sicurezza microbiologica è fondamentale per motivi sia economici che sanitari. Il lavaggio delle verdure (principalmente verdure fresche) mira a rimuovere la terra, la contaminazione da residui di prodotti chimici utilizzati nella produzione. Il consumo di insalate "pronte all'uso" è in continuo aumento in Europa. Uno dei problemi principali in questo settore è la riduzione del consumo di acqua e di conseguenza dei reflui. L'ozonizzazione, oltre ad essere utilizzata come tecnica di sanificazione, sembra dare promettenti risultati per la rimozione di residui di pesticidi in frutta e verdura. Questo studio ha valutato gli effetti dell'utilizzo di 2 mg/l di ozono per 30 minuti nella rimozione di sostanze tossiche dall'acqua (contaminazione 5 volte il massimo residuo tollerato in acqua potabile secondo la normativa italiana (Decreto Legislativo 2 del 2 febbraio, n. 31)). I risultati hanno mostrato una forte riduzione di sostanze tossiche in tutti i casi (rimozione minima 90%) ad eccezione del metalaxil, fungicida che ha subito una riduzione di circa il 70%.*

### Parola chiave:

*Ozono, rimozione pesticidi, ozonizzazione acqua, industrie alimentari, acque di scarico*

## INTRODUZIONE

*L'Ozono (O<sub>3</sub>) è una forma allotropica dell'ossigeno che ha un odore pungente. Può essere ottenuto artificialmente da scariche elettriche che colpiscono l'ossigeno o da irradiazione ultravioletta utilizzando generatori speciali. È un potente ossidante in grado di realizzare disinfezione con meno tempo di contatto e a più basse concentrazioni di tutti i disinfettanti più deboli, come il cloro, il diossido di cloro e mono clorammina (Demers e Renner, 1992, Kim, 1999). L'ozono è utilizzato per la sterilizzazione, inattivazione di virus, deodorizzazione, decolorazione, decomposizione di materia organica, degrado delle micotossine etc (Karaka et al., 2010). Tuttavia l'ozono è un gas instabile e dopo un certo intervallo di tempo scompare (auto decomposizione), tornando alla sua forma molecolare (Guzel, 2004), oppure producendo diversi radicali liberi tra cui il più importante è il radicale ossidrilico (OH) (Han, 1998).*

*In genere, l'emivita dell'ozono in acqua non è più di 30 minuti (Torres et al., 1996) e ciò dipende dal contenuto di sostanza organica (Wysok e Gomotka-Pawlicka, 2006).*

*Nel trattamento delle acque se è necessario, devono essere aggiunti (per motivi di sicurezza e per garantire un effetto disinfettante duraturo) dei disinfettanti chimici. Nell'industria alimentare è molto interessante e conveniente, poter sanificare l'acqua utilizzando un disinfettante che non lasci nessun residuo chimico. Così, l'ozono è un agente antimicrobico ecologico e sicuro per l'uso nell'industria alimentare (Kim et al, 1999). L'ozono aumenta la durata e la qualità del cibo senza alterare le caratteristiche organolettiche (Chiattono 2008).*

*L'Ozono ossida i pesticidi (Daidai, 2007; Karaca, 2010, Gabler, 2010) e neutralizza i gas ammoniacali ed etilene prodotti durante la maturazione e la decomposizione. In alcuni studi i pesticidi metilparathion, parathion, diazinone e cipermetrina sono stati completamente rimossi dall' ozono (1, 4ppm/5 minuti). (Wu, 2007).*

*Residui di captan e mancozeb sulle mele sono stati degradati dai trattamenti di acqua ozonizzata (Ong et al., 1996; Hwang et al., 2001). L'ozonizzazione altera la struttura molecolare dei composti organici refrattari presenti nel percolato, trasformandoli in composti che sono facilmente assimilabili biologicamente (Imai, 1998, Bevilacqua, 1999). Ciò è dovuto principalmente all'aumento della biodegradabilità dei composti organici ad alto peso molecolare che non possono essere rimossi mediante trattamento biologico semplice.*

*Heleno et al.(2014) hanno dimostrato la rimozione di difenoconazolo, addizionato alle fragole esposte a diverse concentrazioni di ozono; inoltre il trattamento con questo gas ha aiutato a preservare il contenuto originale di acido ascorbico nei frutti. È ormai noto che l'ozono è influenzato dalla presenza di: materia organica, pH, temperatura, turbolenza, CxT e presenza di altri residui (Cardoso, 2000). Alcuni autori ritengono che la domanda di ozono debba essere sufficientemente elevata per ossidare sia materiale organico e microrganismi (effetto totale o nessun effetto) (Gurley, 1985). Katzenelson et al (1974) e Kim et al (1980) suppongono che esista una relazione dose-risposta. Gli effetti dell'ozono sono specifici per ogni applicazione studiata e non possono essere estrapolati automaticamente per altre applicazioni.*

*L'ozono può essere una buona alternativa nel settore alimentare, ma è necessario evitare la sua inalazione perché tossico all'epitelio polmonare. La concentrazione nell'ambiente lavorativo secondo lo standard OSHA, è 0, 2mg/m<sup>3</sup> (0,1ppm/v) per 8 ore o 0, 6 mg/m<sup>3</sup> (0,3ppm/V) per 10 minuti. L'obiettivo di questo studio preliminare è stato di valutare gli effetti dell'applicazione di ozono nella rimozione di residui tossici di sostanze chimiche dall'acqua.*

## MATERIALI E METODI

### ***Procedura sperimentale***

*In questo studio si è voluto verificare l'azione dell'ozono nei confronti di alcuni pesticidi.*

*Le prove sono state condotte utilizzando un impianto pilota da laboratorio e un impianto di trattamento acque industriale.*

### ***Generatore di ozono e impianto diffusore da laboratorio***

*L'ozono utilizzato per le prove in laboratorio è stato prodotto tramite un generatore della ditta Ozono Sistem S.r.l. modello OZSY-H10 (Fig. 1) costituito da quattro reattori per la produzione di ozono direttamente dall'aria purificata, con un voltaggio di 220 V/50Hz.*

*La produzione dell'ozono dal generatore viene variata tramite la regolazione del flusso, attraverso un regolatore/misuratore di portata. L'ozono è stato fatto gorgogliare all'interno di un reattore in vetro, dotato di frittta di vetro, posto sul fondo del contenitore nel quale è presente l'acqua da trattare, il quale potrebbe essere utilizzato in futuro per il lavaggio dei vegetali. (Fig.2)*

*La concentrazione di ozono disciolto in acqua a seguito del gorgogliamento in reattore è stata calcolata con il metodo "Standard Methods 4500-O3 B Indigo Colorimetric" (Bader e Hoignè, 1981; APHA, 1989). La concentrazione media di ozono in acqua nel sistema di laboratorio è stata di 2,27 mg/l.*



Fig. 1 - Generatore di ozono.



Fig. 2 - Diffusore a bolle.

### **Impianto industriale**

*L'impianto industriale (Fig.3) utilizzato per le prove è stato fabbricato da O3-Tecnology.*

*L'impianto completo era composto di un generatore di ozono e due gruppi tra loro integrati: colonna di contatto e polmone di accumulo.*

*La colonna di contatto provvede al trattamento primario dell'acqua.*

*L'acqua, prelevata dalla cisterna con pompa sommersa, veniva filtrata e caricata nel reattore. La portata di acqua in ingresso al reattore veniva automaticamente modulata sulla base dei parametri di funzionamento stabiliti e dei dati registrati dalle sonde di monitoraggio del processo. La quale veniva sottoposta a trattamento con ozono, generato per scarica corona partendo da aria ambiente trattata e disciolta per mezzo di eiettori. L'acqua trattata veniva trasferita nel polmone di accumulo, pronta per il prelievo e il consumo.*

*Il polmone di accumulo era provvisto di sonda di controllo per l'ozono residuo disciolto e di un sistema di ricircolo dell'acqua stoccata. Il ricircolo dava la possibilità di effettuare un trattamento di ricondizionamento con ulteriore iniezione di ozono oppure la rimozione dell'ozono in eccesso tramite gorgogliamento d'aria. Il sistema di controllo a logica programmabile, consentiva il funzionamento automatico dell'intero impianto. Sensori di livello e strumenti di monitoraggio delle condizioni fisico-chimiche dell'acqua nella colonna di contatto e nel polmone assicuravano la rispondenza del trattamento alle necessità operative.*

*La concentrazione media di ozono nell'acqua nell'impianto industriale era mediamente di 2,07 mg/l.*

*L'impianto industriale (fig.3) produceva 30g/m<sup>3</sup> di ozono e una potenzialità di trattamento acque di 9m<sup>3</sup>/h.*

*Le prove sono state eseguite inoculando e trattando 1m<sup>3</sup> di acqua.*



### ***Analisi dei residui di pesticidi***

*Le analisi dei residui sono state effettuate prima e dopo il trattamento con ozono utilizzando il metodo analitico sviluppato e validate all'interno nel nostro Istituto (Bolzoni e Bandini). Il metodo si basa sull'estrazione con solventi non alogenati e sulla determinazione strumentale mediante gas cromatografia-spettrometria di massa e la cromatografia liquida. E' stato utilizzato il gascromatografo Varian450-GC accoppiato con uno spettrometro di massa a triplo quadrupolo Vaian 300 MS*

con autocampionatore CombiPAL Liquid chromatograph Agilent 1100 series  
accoppiato con uno spettrometro di massa API 2000 (PE Sciex) .

### **Analisi dell'ozono disciolto in acqua**

Metodo colorimetrico con indigo

La concentrazione dell'ozono disciolto in acqua è stata calcolata utilizzando il metodo "Standard Methods 4500-O3 B Indigo Colorimetric" (Bader and Hoignè, 1981; APHA, 1989).

### **RISULTATI**

In entrambi gli esperimenti, sono state addizionate nell'acqua potabile le stesse quantità di pesticidi (5 volte la massima concentrazione tollerata di residui di fungicidi, insetticidi e erbicidi). E' stata ottenuta un'elevata riduzione della concentrazione per tutti i principi attivi aggiunti (minima del 90%) fatta eccezione per il fungicida metalaxil, che ha mostrato, nelle condizioni dell'impianto industriale, una riduzione di circa il 70%. Le tabelle seguenti mostrano i risultati dei test di laboratorio eseguiti utilizzando un reattore pilota (tabella 1) e un impianto industriale (tabella2).

Tab.1 *Trattamento acqua con ozono mediante impianto pilota*

Principio attivo	rinforzo ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Residuo (%)	
		10 minuti trattamento (concentrazione media =2,3 mg/l)	30 minuti trattamento (concentrazione media =2,24 mg/l)
<i>Metalaxil</i>	0,5	40	11
<i>Piraclostrobina</i>	0,5	0,2	0
<i>Clorprofam</i>	0,5	3	0
<i>Propizamide</i>	0,5	1	0
<i>Tolclofos metile</i>	0,5	11	1
<i>Fluazifop butile</i>	0,5	11	1
<i>Deltametrina</i>	0,5	1	0

**Tab.2** *Trattamento acqua con ozono mediante impianto industriale*

Principio attivo	rinforzo (µg/kg)	Residuo (%)	
		5 minuti trattamento (concentrazione media =2,07 mg/l)	30 minuti trattamento (concentrazione media =2,07mg/l)
<i>Metalaxil</i>	0,5	58	27
<i>Dimetomorf</i>	0,5	0	0
<i>Clorprofam</i>	0,5	10	1
<i>Propizamide</i>	0,5	0	0
<i>Tolclofos metile</i>	0,5	9	3
<i>Fluazifop butile</i>	0,5	35	10
<i>Deltametrina</i>	0,5	6	1

### DISCUSSIONI E CONCLUSIONI

*I residui di pesticidi nell'acqua possono essere degradati con differenti procedure, tra questi, l'ossidazione elettrochimica, il trattamento catalitico con TiO<sub>2</sub> e fotolisi UV. Tuttavia, tutte queste tecniche presentano degli svantaggi, ad esempio, la produzione di inquinanti secondari come nel caso del trattamento catalitico. Per questo motivo, il trattamento con ozono è un'interessante alternativa dal momento che è uno dei più potenti ossidanti conosciuti e lascia un minimo residuo dopo l'applicazione.*

*Di conseguenza, l'O<sub>3</sub> è considerato il metodo più adatto per la rimozione dei residui di pesticidi da frutta e verdura e per il controllo dei microbi nell'ambito della sicurezza alimentare (Selma et al., 2008; Gabler et al., 2010). Inoltre, uno studio da Caulfield et al (1999) ha dimostrato che la mutagenicità di vari agenti cancerogeni potrebbe essere inattivata dal trattamento con ozono.*

*In questo lavoro preliminare, l'ozono ha dimostrato di essere efficace nella rimozione di residui tossici di sostanze chimiche nelle acque di processo. Questi risultati possono aiutare gli organi di regolamentazione del settore agroalimentare a conoscere le potenzialità dell'ozono in questo settore e suggerire le condizioni ideali per il suo utilizzo.*

**BIBLIOGRAFIA**

- DEMERS, L.D. and R.C. RENNER. 1992. Alternative Disinfection Technologies for Small Drinking Water Systems. AWWARF and AWWA, Denver, CO.
- KIM, J.G; YOUSEF, A.E.; DAVE, S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. *J. Food Prot.*, v. 62, n. 9, p. 1071-1087, 1999.
- TORRES, E. A. F. S; REGÉ FERREIRA, A. F; RÍMOLI, C. D. 1996. Estudo das propriedades desinfetantes do ozônio em alimentos. *Higiene Alimentar*, 10 (42) 18 –23.
- GUZEL-SEYDIM, Z. B.; GREENE, A. K.; SEYDIM, A. C. Use of ozone in food industry. *Lebensm.-Wiss.U.-Technol*, v. 37, p. 453-460, 2004.
- CHIATTONI, P.V.Ç TORRES, L.M. and Zambiasi, R.C..Aplicação do ozônio na indústria de alimentos. *Alim. Nutri.* V.19, n.3, p 341-349., jul-set 2008.
- WU, J. et. al. Removal of residual pesticides on vegetable using ozonated water. *Food Control*, v. 18 n. 5, p. 466-472, 2007.
- YUK, H. et al. Effect of combined ozone and organic acid treatment for control of Escherichia coli O157:H7 and Listeria monocytogenes on enoki mushroom. *Food Control*, v.18, n.5, p.548-553, 2007.
- SINGH, N.; SINGH, R. K.; BHUNIA, A. K. Sequential disinfection of Escherichia coli O157:H7 inoculated alfalfa seeds before and during sprouting using aqueous chlorine dioxide, ozonated water, and thyme essential oil. *Lebensm.-Wiss.u.-Technol*, v. 36, p. 235-243, 2003.
- CARDOSO C.C. et al.. Avaliação de um processo de sanitização de latões de leite com ozônio. *Revista do ILCT*, 310 (54): 13-21, 2000.
- GURLEY, B., Ozone: pharmaceutical sterilant of the future? *Journal of parenteral science and technology*, 39(6): 256-261, 1985.
- KATZENELSON, E.. B. KLETTER, AND H. I. SHUVAL. 1974. Inactivation kinetics of viruses and bacteria in water by use of ozone. *J. Am. Water Works Assoc.* 66: 725-729.
- KIM, C. K., D. M. GENTILE, AND O. J. SPROUL. 1980. Mechanism of ozone inactivation of bacteriophage f2. *Appl. Environ. Microbiol.* 39: 210-218.
- IMAI A., ONUMA K., INAMORI Y., SUDO R.. Effects of Pre-Ozonization in Refractory Leachate Treatment by the Biological Activated Carbon Fluidized Bed Process *Environ. Technol.* 19 (1998) 213–221.
- HAN S.K., ICHIKAWA K., UTSUMI H.. Quantitative analysis for the enhancement of hydroxyl radical generation by phenols during ozonization of water, *Water Res.* (32) (1998) 3261–3266.
- CRAIG DA, COZZENS RA, BYUNG JK. Effects of ozonization on the biodegradability of substituted phenols. *Water Res* 1997;31:2655–63.
- GABLER, F. M.; SMILANICK, J. L. MANSOUR, M. F. & KARACA, H. (2010). Influence of fumigation with high concentrations of ozone gas on postharvest gray mold and fungicide residues on table grapes, *Postharvest Biology and Technology*, Vol.55, No.2, (February 2010), pp. 85-90, ISSN 0925-5214
- CAUFIELD M. J., BURLESON G.R., and POLLARD M.. Ozonization of Mutagenic and Carcinogenic Alkylating Agents, Pesticides, Aflatoxin B1, and Benzidine in *Water Cancer Res.*, Jun 1979; 39: 2155 – 2159
- DAIDAI, M.; KOBAYASHI, F.; MITSUI, G. & NAKAMURA, Y. (2007). Degradation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) by ozonization and TiO2/UV treatment, *Journal Chemical Engineering Japan*, Vol.40, No.9, (September 2008), pp. 378-384, ISSN 1001-0742.
- KARACA, H.; VELIOGLU, Y. S. & NAS, S. (2010). Mycotoxins: contamination of dried fruits and degradation by ozone, *Toxin Reviews*, Vol.29, No.2, (May 2010), pp. 51-59, ISSN 1556-9543.
- ONG, K.C., CASH, J.N., ZABIK, M.J., SIDDIQ, M., Jones, A.L., 1996. Chlorine and ozone washes for pesticide removal from apples and processed apple sauce. *Food Chem.* 55, 153–160.
- HWANG, E.S., CASH, J.N., ZABIK, M.J., 2001. Postharvest treatments for the reduction of mancozeb in fresh apples. *J. Agric. Food Chem.* 49, 3127–3132.
- SELMA, M.V, IBANEZ A.M. and ALLENDE, A. Effect of gaseous ozone and hot water on microbial and sensory quality of cantaloupe and potential transference of Escherichia coli O157:H7 during cutting *Food Microbiology* 25 (2008) 162–168.



- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA), American Water Works Association (AWWA) and Water Pollution Control Federation (WPCF), 1989. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 17th ed.,
- BADER, H., HOIGNE, J., 1981. Determination of ozone in water by the indigo method. Water Res. 15, 449-456.
- HELENO, F.; QUEIROZ, M. E.; NEVES, L. R et al.. Journal of Environmental Science & Health, Part B -- Pesticides, Food Contaminants, & Agricultural Wastes. Feb 2014, Vol. 49 Issue 2, p94-101.
- WYSOK, B., URADZINSKI and GOMOLKA-PAWLICKA, M.. Ozone as an alternative disinfectant - a review. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences; Vol. 15/56 (1), 2006, 3-8.
- WU, J.G.; LUAN, T.G.; LAN, C.Y.; LO, W.H.; CHAN, G.Y.S. Efficacy evaluation of low-concentration of ozonated water in removal of residual diazinon, parathion, methyl-parathion and cypermethrin on vegetable. J. Food Eng. 2007, 79, 803-809.
- VEIGA, S. M. O. M. Sanificação de carcaças de frango: processos alternativos. Lavras, 2003. 291 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras.
- OLIVEIRA, N. M. S. Ação sanificante do dicloroisocianurato de sódio, ozônio e ultra-ozônio em filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*). Lavras, 2005. 156 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras.