

## Processo de Ozonização Gasosa em Milho e seu Efeito na Redução da Micobiota e na Degradação de Aflatoxinas



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Agroindústria de Alimentos  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

**BOLETIM DE PESQUISA  
E DESENVOLVIMENTO  
31**

**Processo de Ozonização Gasosa em Milho  
e seu Efeito na Redução da Micobiota  
e na Degradação de Aflatoxinas**

*Otniel Freitas-Silva  
Izabela Miranda de Castro  
Felipe Machado Trombete  
José Luis Ramirez Ascheri  
Glória Maria Direito  
Yuri Duarte Porto*

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Agroindústria de Alimentos**

Avenida das Americas numero 29501 Guaratiba - CEP

23020-470, Rio de Janeiro , RJ

Fone: +55 (21) 3622-9600

Fax: +55 (21) 3622-9713

[www.embrapa.br/agroindustria-de-alimentos](http://www.embrapa.br/agroindustria-de-alimentos)

[embrapa.br/fale-conosco/sac](http://embrapa.br/fale-conosco/sac)

Comitê Local de Publicações  
da Unidade Responsável

Presidente

*Virginia Martins da Matta*

Membros

*André Luis do Nascimento Gomes, Celma  
Rivanda Machado de Araujo, Daniela De  
Grandi Castro Freitas de Sá, Elizabete Alves  
de Almeida Soares, Janine Passos Lima da  
Silva, Leda Maria Fortes Gottschalk, Marcos de  
Oliveira Moulin, Otniel Freitas Silva e Rogério  
Germani*

Supervisão editorial

*Virginia Martins da Matta*

Revisão de texto

*Renata Valeriano Tonon*

Normalização bibliográfica

*Elizabete Alves de Almeida Soares*

Tratamento das ilustrações

*Marcos de Oliveira Moulin*

Projeto gráfico da coleção

*Carlos Eduardo Felice Barbeiro*

Editoração eletrônica

*Marcos de Oliveira Moulin*

Fotos da capa

*Otniel Freitas Silva*

**1ª edição**

Publicação digitalizada (2019)

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,  
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Embrapa Agroindústria de Alimentos

---

Processo de Ozonização Gasosa em Milho e seu Efeito na Redução da  
Micobiota e na Degradação de Aflatoxinas. / Otniel Freitas-Silva... [et al.]. – Rio de  
Janeiro : Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2019.

18 p. – (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa  
Agroindústria de Alimentos, ISSN 0101-630X).

1. Descontaminação de micotoxinas. 2. Ozônio. 3. Zea mays. I. Freitas-Silva,  
Otniel. II. Castro, Izabela Miranda de. III. Trombete, Felipe Machado. IV. Ascheri,  
José Luis Ramirez. 5. Direito, Glória Maria. 6. Porto, Yuri Duarte. VI. Série.

---

CDD 665.89 (23. ed.)

© Embrapa, 2019

## Sumário

---

Resumo .....	05
Abstract .....	06
Introdução.....	07
Material e Métodos .....	09
Resultados e Discussão .....	13
Conclusão.....	15
Agradecimentos.....	16
Referências Bibliográficas.....	16



# Processo de Ozonização Gasosa em Milho e seu Efeito na Redução da Micobiota e na Degradação de Aflatoxinas

Otniel Freitas-Silva<sup>1</sup>

Izabela Miranda de Castro<sup>2</sup>

Felipe Machado Trombete<sup>3</sup>

José Luis Ramirez Ascheri<sup>4</sup>

Glória Maria Direito<sup>5</sup>

Yuri Duarte Porto<sup>6</sup>

**Resumo** – O presente trabalho estudou o efeito da aplicação de ozônio gasoso sobre a degradação das aflatoxinas AFB1, AFB2, AFG1 e AFG2 em milho, em três diferentes condições experimentais, de modo a se avaliar a viabilidade de um sistema-protótipo proposto para ozonização. A ozonização gasosa mostrou-se uma tecnologia não térmica eficaz para reduzir a contaminação por aflatoxinas em milho triturado. Os tratamentos com ozonização mais drásticos, ou seja, aqueles com maior concentração de ozônio, maior tempo de exposição e menor massa de grãos, apresentaram melhores resultados na redução da contaminação por aflatoxinas totais, alcançando valores próximos a 45%. Portanto, o sistema de ozonização proposto mostrou-se eficaz nas condições estudadas, podendo servir de modelo para utilização em silos de armazenamento de milho e de outros tipos de alimentos.

**Termos para indexação:** descontaminação de micotoxinas, ozônio, *Zea mays*

---

<sup>1</sup> Engenheiro Agrônomo, doutor em Engenharia Química e Biológica, pesquisador da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ

<sup>2</sup> Química, doutora em Geoquímica Orgânica Molecular, pesquisadora da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ

<sup>3</sup> Tecnólogo de Alimentos, doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos, professor adjunto do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de São João del-Rei, Sete Lagoas, MG

<sup>4</sup> Engenheiro de Alimentos, doutor em Tecnologia de Alimentos, pesquisador da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ

<sup>5</sup> Médica-veterinária, doutora em Ciências Biológicas, professora do Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ

<sup>6</sup> Médico-veterinário, bolsista CAPES, mestrando da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ

## Process of Gaseous Ozonization in Corn and its Effect on Mycobiota Reduction and Aflatoxin Degradation

**Abstract** – The present work studied the effects of the application of gaseous ozone on the degradation of aflatoxins AFB1, AFB2, AFG1 and AFG2 in corn, in three different experimental conditions, in order to evaluate the viability of a proposed prototype system for ozonization. Gaseous ozonation has proved to be an effective non-thermal technology to reduce aflatoxin contamination in ground corn. The more drastic ozonation treatments, i.e., those with higher ozone concentration, longer exposure time and lower grain mass, showed better results in the reduction of contamination by total aflatoxins, reaching values near to 45%. Therefore, the proposed ozonation system proved to be effective under the studied conditions and could serve as a model for use in storage silos of corn and other types of food.

**Index terms:** aflatoxin decontamination, ozone, *Zea mays*

## Introdução

---

O Brasil é um dos maiores produtores de milho do mundo, ficando atrás apenas dos Estados Unidos e China. Na região Centro-Sul do país encontram-se os estados que mais contribuem com a produção nacional: Mato Grosso, Paraná e Minas Gerais (ABIMILHO, 2019). A estimativa de oferta de milho para o ano de 2019 é de cerca de 109 milhões de toneladas e para os estoques finais da safra estão previstos cerca de 12 milhões de toneladas (ABIMILHO, 2019).

Os grãos de milho são extensivamente utilizados como alimento humano e animal, devido às suas qualidades nutricionais, como seu alto teor de amido, proteínas, ácidos graxos, vitaminas e minerais (Nuss; Tanumihardjo, 2011; FAO, 1992). Apesar do reconhecido valor nutricional, mundialmente o segmento de alimentação animal é o principal destino dado ao milho. Este consumo é representado pela avicultura, bovinocultura, aquicultura e suinocultura, sendo o milho um dos principais ingredientes nas rações (ABIMILHO, 2019).

Por ser um país predominantemente de clima tropical, o armazenamento de grãos no Brasil pode favorecer o crescimento de fungos toxigênicos nos grãos de milho e seus derivados, quando não realizado de forma correta. A presença desses fungos pode resultar em perdas econômicas, por tornar o grão impróprio para consumo, afetando sua qualidade, além dos danos que as micotoxinas produzidas por algumas espécies de fungo podem causar à saúde humana e animal, configurando um problema de saúde pública. Para contornar este tipo de problema e evitar a contaminação dos grãos por fungos potencialmente toxigênicos, é necessário realizar os procedimentos de Boas Práticas Agrícolas, como a de manuseio adequado durante as fases de colheita, pós-colheita, armazenamento, transporte, distribuição, comercialização e consumo, pois em qualquer dessas etapas pode haver contaminação microbiológica (Freitas-Silva et al., 2013).

As micotoxinas são metabólitos secundários e as encontradas com maior incidência no milho são biossintetizadas principalmente por fungos dos gêneros *Fusarium*, *Aspergillus* e *Penicillium* (Kawashima; Soares, 2006). As espécies de *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* e *A. nominus* são as principais produtoras das aflatoxinas AFB1, AFB2, AFG1 e AFG2, consideradas como as



micotoxinas que mais causam danos à saúde por apresentarem propriedades carcinogênicas, mutagênicas, teratogênicas e imunossupressoras (Arana et al., 2011).

A contaminação por micotoxinas nos grãos de milho pode ocorrer em qualquer fase da cadeia produtiva, desde o cultivo do grão no campo até o armazenamento do produto. A forma de contaminação pode ser direta, quando o fungo cresce, sintetiza a micotoxina e ambos permanecem no produto, ou indireta, quando o fungo é eliminado no processamento, porém a micotoxina previamente sintetizada permanece no alimento (Freire et al., 2007).

Diversas pesquisas têm sido realizadas na busca de métodos alternativos de descontaminação de alimentos, que sejam capazes de remover, destruir ou reduzir as toxinas a níveis considerados aceitáveis para consumo, sem que os efeitos do tratamento alterem as características químicas e a qualidade do alimento. A ozonização é um método alternativo que vem sendo pesquisado e utilizado para redução de micotoxinas e para eliminação de microrganismos em alimentos, apresentando resultados promissores. O ozônio (O<sub>3</sub>) possui alto poder de oxidação, pode ser aplicado na forma gasosa ou dissolvido em água (solução aquosa) e é de fácil obtenção pelo baixo custo de produção. Seu produto de deterioração é o oxigênio (O<sub>2</sub>), não deixando resíduos tóxicos após sua utilização. Quando utilizado em alimentos, promove poucas alterações em suas características químicas e sensoriais, constituindo uma alternativa vantajosa na sua utilização pela indústria de alimentos. Este gás está sendo utilizado na agropecuária, tanto na manipulação e processamento de frutas, carnes, lavagem e esterilização de vegetais, assim como em depósitos e silos, para proteger e preservar frutas, hortaliças, carnes e cereais (Santos et al., 2016; Sanchez et al., 2016; Rodrigues et al., 2015; Chiatone et al., 2008; Rozado et al., 2008; Guzel-Seydim et al., 2004).

Riscos de contaminação por aflatoxinas em produtos derivados do milho, como a canjiquinha e canjica, são de bastante importância, pois são alimentos de fácil obtenção pelo preço acessível, apreciados na culinária brasileira, além de serem componentes básicos na dieta das camadas mais carentes da população (IBGE, 2011). No ano de 2011 foi estabelecido o limite máximo tolerado de 20 µg kg<sup>-1</sup> para aflatoxinas totais (AFB<sub>1</sub> + AFB<sub>2</sub> + AFG<sub>1</sub> + AFG<sub>2</sub>) em qualquer produto derivado do milho no país (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2011). Ainda assim, pesquisas continuam

a mostrar contaminações por aflatoxinas, principalmente no milho e, por vezes, em seus produtos derivados. Mesmo dentro dos limites aceitáveis, esta contaminação constitui ampla exposição de riscos não somente à saúde humana como também à dos animais, causando efeitos negativos na produção e na economia (Ferreira et al., 2013; Bento et al., 2012; Oliveira et al., 2010; Mattos et al., 2009; Ramos et al., 2008; Amaral et al., 2006; Kawashima; Soares, 2006).

Assim, há a necessidade de novos estudos visando o aprimoramento de técnicas já existentes ou o desenvolvimento de novas tecnologias que auxiliem na melhoria da qualidade dos alimentos, prevenindo a contaminação microbiológica e a formação de seus metabólitos tóxicos. O presente trabalho estudou os efeitos da aplicação de ozônio gasoso sobre a canjiquinha de milho contaminada artificialmente com as aflatoxinas AFB1, AFB2, AFG1 e AFG2, considerando três diferentes condições experimentais de descontaminação, a fim de se estabelecer a viabilidade de um sistema-protótipo para ozonização.

## Material e Métodos

---

### AMOSTRAS DE MILHO

150 kg de milho triturado (*gritz*) foram adquiridos de uma indústria de alimentos no Estado do Rio de Janeiro, condicionados e distribuídos em diferentes sacos de polipropileno de 25 kg. À medida que se necessitava de material para os ensaios, o produto ensacado era transferido para um cilindro plástico de 10 L, mantido à temperatura ambiente. Para análise dos efeitos do processo de ozonização sobre as aflatoxinas, foram preparados dois pacotes de 25 g de milho triturado embalados em tecido de organza (100% poliamida), para cada ensaio. As amostras fortificadas foram produzidas pela adição das soluções padrão certificadas das quatro aflatoxinas (AFB1, AFB2, AFG1 e AFG2) a cada pacote de 25 g de milho triturado. Estas amostras fortificadas apresentavam concentração final de 50 µg kg<sup>-1</sup> para cada uma das aflatoxinas e foram armazenadas a -20 °C até a realização dos ensaios de ozonização.

### PROCESSO DE OZONIZAÇÃO

Foi construído um protótipo composto por três cilindros de PVC (60 × 15 cm, altura × diâmetro), representando três silos, com tampas removíveis,

dispostos lado a lado e conectados paralelamente entre si por mangueiras de silicone. No interior dos cilindros foi instalada uma grade de arame galvanizado com tecido de organza (100% poliamida), localizada 10 cm acima da base, com a função de suportar toda a massa de milho triturado. Para cada ensaio, executado em um cilindro, dois pacotes com 25 g das amostras fortificadas foram posicionados abaixo dos 450 g finais da massa total dos grãos triturados a serem ozonizados.

O ozonizador (O&L 3.0 RM, Ozone & Life, Brasil) e o cilindro de oxigênio de alto grau de pureza (99,99%) foram ligados ao sistema, bem como a uma sequência de três frascos lavadores de gás, preenchidos com iodeto de potássio 2%. O ozônio formado pelo gerador foi aplicado pela parte inferior de cada um dos cilindros. Após este segmento, como sistema de segurança, foram colocados três frascos lavadores, cada um deles contendo 400 mL de iodeto de potássio 2%.

Foram posicionados conectores e válvulas de gás estrategicamente ao longo do protótipo, o que permitiu a possibilidade do gás ozônio passar em cada silo individualmente. No presente estudo, para cada ensaio foi utilizado um silo por vez. Todavia, todos os cilindros podem ser utilizados simultaneamente neste processo, o que permite a ozonização de diferentes amostras e o aumento da capacidade do sistema.

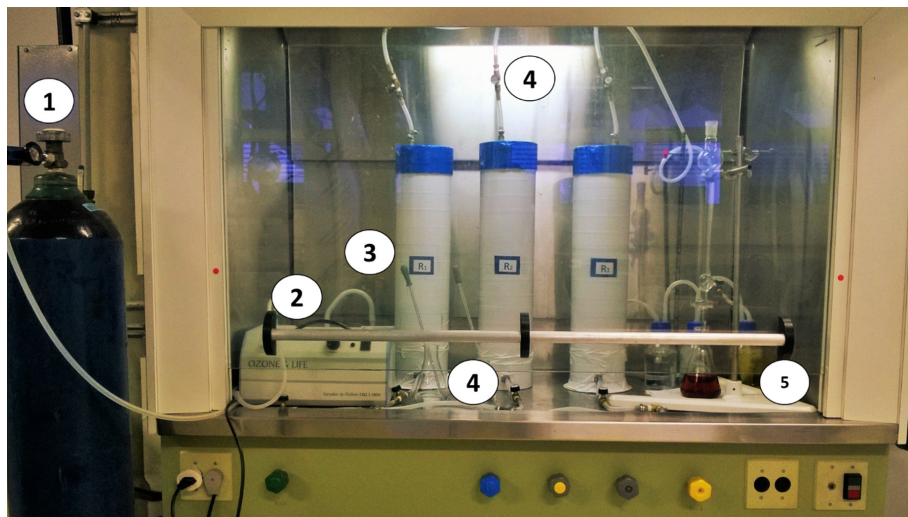
O processo de ozonização se iniciou fazendo passar, primeiramente, um fluxo de oxigênio, e, logo a seguir, o gerador de ozônio foi ligado para iniciar o processo de ozonização.

Após cada ensaio de ozonização, o fluxo de  $O_3$  foi interrompido, as válvulas de gás posicionadas na entrada e saída do silo utilizado foram fechadas e o mesmo foi mantido fechado por mais uma hora antes de ser aberto. Então, os pacotes de amostras fortificadas foram recolhidos e acondicionados até o momento da análise. Em seguida, outro silo foi utilizado para outro ensaio. Todo o processo de ozonização está representado na Figura 1.

## **PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL**

As ozonizações foram realizadas utilizando os três silos experimentais preenchidos com o milho triturado apoiado pelo disco feito de tecido de poliamida. Os pacotes contendo as amostras contaminadas com aflatoxinas foram colocados abaixo dos últimos 450 g da massa total de milho triturado,

Foto: O. Freitas Silva



**Figura 1.** Protótipo-sistema de ozonização instalado dentro de uma capela de laboratório. 1- Cilindro de O<sub>2</sub> com válvula de controle de fluxo. 2- Ozonizador. 3- Cilindros de PVC contendo milho triturado. 4- Válvulas de cobre. 5 - Frascos com solução de iodeto de potássio.

adicionados para cobrir completamente os pacotes. O gás ozônio foi passado através dos grãos de milho em três condições diferentes: C1: 20 mg L<sup>-1</sup> de O<sub>3</sub>, 120 min de exposição, 5 kg de grãos de milho (baixa exposição), C2: 40 mg L<sup>-1</sup> de O<sub>3</sub>, 300 min de exposição, 3 kg de grãos de milho (exposição média) e C3: 60 mg L<sup>-1</sup> de O<sub>3</sub>, 480 min de exposição, 1 kg de grãos de milho (alta exposição). Estas condições foram selecionadas com base em alguns estudos que investigaram os efeitos do O<sub>3</sub> na qualidade dos grãos de cereais. Para cada condição, duas repetições foram realizadas. Para cada réplica, apenas um cilindro foi utilizado, enquanto os outros dois permaneceram fechados. Para alcançar tais níveis de produção de O<sub>3</sub>, o fluxo de oxigênio do cilindro foi mantido em 0,5 L min<sup>-1</sup> e o ozonizador teve a posição do dosador fixada nos números 2, 4 e 8, respectivamente. Essas concentrações foram determinadas por meio de testes preliminares de curva de calibração utilizando o método iodométrico para quantificação da produção de O<sub>3</sub> (APHA, 1998). Para as amostras controle, apenas O<sub>2</sub> foi passado através dos grãos na mesma taxa de fluxo que nas condições experimentais (0,5 L min<sup>-1</sup>). Todos os procedimentos experimentais de ozonização foram conduzidos no laboratório, à temperatura ambiente de 25 °C, dentro de uma capela de exaustão (Figura 1).

## ANÁLISE DAS AFLATOXINAS

Para avaliação dos níveis de degradação das aflatoxinas foi adotada a metodologia de extração de acordo com Instituto Adolfo Lutz (2008) e Trombete et al. (2014), com adaptações descritas a seguir. Amostras de 25 g de grãos de milho (moído e homogeneizado) fortificado foram extraídas com 67,5 mL de metanol e 7,5 mL de cloreto de potássio 4% (m/v). Em seguida procedeu-se a adição de 75 mL de sulfato de cobre 10% (m/v) e 7,5 g de celite para purificação. Após filtração desta solução em papel de filtro, 75 mL foram recolhidos e, em seguida, submetidos a extração líquido-líquido com metanol-água-hexano (75: 75: 50, v/v/v), seguida por metanol-água-clorofórmio (75: 75: 50, v/v/v), recolhendo-se a fase em clorofórmio, que foi levada a secura sob fluxo de  $N_2$ . A derivatização pré-coluna desta solução foi efetuada de acordo com a Association Of Official Analytical Chemists (2005), utilizando solução de água - ácido trifluoroacético - acetonitrila (7: 2: 1, v/v/v) a 65 °C por 9 min. A quantificação das aflatoxinas foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por fluorescência (CLAE-DFL), usando padronização externa. Os ensaios de recuperação das quatro aflatoxinas na matriz estudada - milho triturado, para os níveis de concentração de 5, 20 e 50  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , mostraram valores compreendidos entre 90% e 110% para cada uma das aflatoxinas. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) do método para as quatro aflatoxinas determinados experimentalmente mostraram resultados na faixa de 0,8 a 3,6  $\mu\text{g kg}^{-1}$ .

O sistema de CLAE-DFL (Agilent 1100 Series, Waldbronn, Alemanha) usou a detecção por fluorescência com excitação em 365 nm e emissão em 450 nm, injetor Rheodyne (20  $\mu\text{L}$ ), coluna C18 (Ace, 250 mm X 4,6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) e fase móvel constituída de água ultra-pura, metanol e acetonitrila (70: 20: 10, v/v/v), com fluxo de 1,0  $\text{mL min}^{-1}$  em modo isocrático.

## TEOR DE UMIDADE E ATIVIDADE DE ÁGUA ( $A_w$ )

O teor de umidade foi determinado de acordo com American Association of Cereal Chemists (1981), utilizando 20 g de amostra previamente moída e seca a 130 °C por 1 h. A  $A_w$  foi verificada utilizando um analisador Aqualab CX-2T (Decagon Devices Inc., EUA).

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para verificar a diferença significativa entre as três condições de ozonização aplicadas, foi realizada a ANOVA seguida do teste de Tukey, utilizando o software Sisvar® 5.0. Análises estatísticas descritivas também foram realizadas usando este software.

## Resultados e Discussão

---

O processo de ozonização de grãos de milho triturado proposto neste experimento se mostrou seguro quanto ao risco de exposição do gás ozônio fora do ambiente controlado de trabalho e eficiente quanto à redução dos níveis de contaminação por aflatoxinas. Todo material utilizado para condução do gás ozônio sobre os grãos de milho - cilindros de PVC, mangueiras de silicone, conexões e válvulas em cobre, suporte e invólucro em poliamida (organza) dos pacotes de amostra fortificada com aflatoxinas - demonstraram resistência e durabilidade frente às características químicas agressivas do gás ozônio, durante e após todos os ensaios do processo de ozonização.

O sistema de segurança montado com a solução de iodeto de potássio nos frascos de lavadores de gás ao final do processo de ozonização conseguiu impedir que o excesso de ozônio fosse liberado no meio ambiente, demonstrando sua eficácia para uso em escala de bancada.

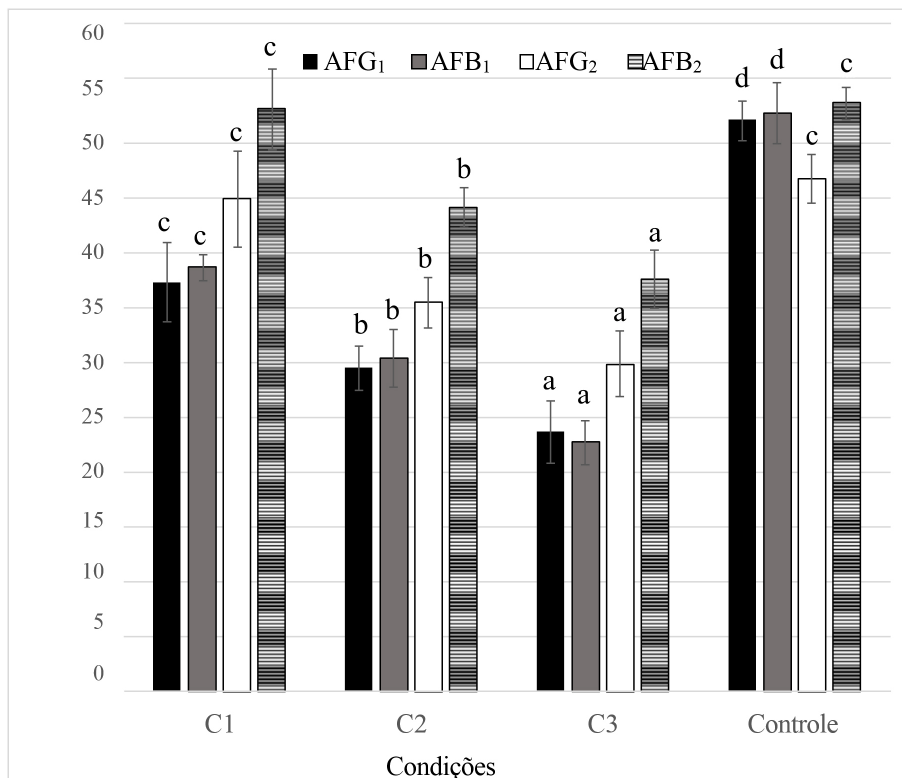
O experimento permitiu avaliar diferentes condições do processo de ozonização sobre níveis de aflatoxinas que naturalmente podem estar presentes em alimentos contendo milho. A análise por CLAE-DFL das aflatoxinas mostrou ser uma ferramenta adequada para se avaliar o nível de eficácia de todo processo de descontaminação pelo gás ozônio.

As amostras de milho triturado mostraram diferentes valores de redução dos níveis de aflatoxinas nos diferentes ensaios realizados.

Os pacotes contendo as amostras de milho fortificado foram posicionados, estrategicamente, na posição mais ao topo da massa de grãos no silo. Isto permitiu que o milho destes pacotes pudesse sofrer a ação do O<sub>3</sub> ao longo do processo, servindo assim como um “sensor” capaz de medir a degradação das aflatoxinas.

O controle consistiu em realizar exatamente o mesmo experimento, com o ozonizador desligado, ou seja, não havia geração de  $O_3$ , apenas oxigênio percorrendo por todo sistema.

Na Figura 2 estão apresentados os diferentes níveis de aflatoxinas  $AFB_{1,}$   $AFB_{2,}$   $AFG_1$  e  $AFG_2$  encontradas nas amostras controle submetidas somente ao fluxo de  $O_2$ , e nas amostras submetidas ao processo de ozonização. As maiores reduções foram encontradas no ensaio C3, onde foram utilizadas as concentrações mais elevadas de  $O_3$  ( $60 \text{ mg L}^{-1}$ ), maior tempo de exposição (480 min) e menor quantidade de massa de grãos de milho (1 kg). Os



**Figura 2.** Efeitos da ozonização gasosa aplicada a grãos de milho triturado sobre os níveis de aflatoxina.  $AFB_{1,}$   $AFB_{2,}$   $AFG_1$ , e  $AFG_2$  - tipos de aflatoxinas; C1:  $20 \text{ mg L}^{-1}$  de  $O_3$ , 120 min de exposição, 5 kg de grãos de milho; C2:  $40 \text{ mg L}^{-1}$  de  $O_3$ , 300 min de exposição, 3 kg de grãos de milho; C<sub>3</sub>:  $60 \text{ mg L}^{-1}$  de  $O_3$ , 480 min de exposição, 1 kg de grãos de milho; Controle: sem aplicação de Ozônio. Letras diferentes em condições diferentes para a mesma diferença estatística média de aflatoxina ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

maiores valores de redução alcançados para as AFB<sub>1</sub>, AFG<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, e AFG<sub>2</sub> corresponderam a 57,0%, 54,5%, 30,0% e 36,1%, respectivamente, obtidos no ensaio C3. Portanto, a AFB<sub>2</sub> foi a que menos reduziu seus níveis perante ação do ozônio em todos os ensaios. Os resultados obtidos no tratamento C1, que utilizou a menor concentração de O<sub>3</sub> (20 mg L<sup>-1</sup>), menor tempo de exposição (120 min) e maior massa de grãos de milho (5 kg), não diferiu ( $p > 0,05$ ) das amostras controle em relação aos níveis de AFB<sub>2</sub>, e AFG<sub>2</sub>.

As variáveis que mais influenciaram na degradação das aflatoxinas foram a concentração do ozônio e o tempo de exposição ao processo. Outros pesquisadores também relataram que a ação do ozônio sobre as aflatoxinas em alimentos tornava-se mais evidente conforme o aumento da concentração de ozônio e o tempo de exposição utilizados nos ensaios (Trombete et al., 2017; Luo et al., 2014a; Chen et al., 2014; Luo et al., 2014b; Mendez et al., 2003). Trombete et al. (2017) relataram que a massa de grãos influenciou negativamente na redução de aflatoxinas no tratamento com ozônio, enquanto Steponavicius et al. (2012), ao investigar sobre a penetração do ozônio entre os grãos, relataram que a concentração de ozônio diminuiu quando massas maiores foram tratadas.

## Conclusão

---

A ozonização gasosa mostrou-se uma tecnologia não térmica eficaz para reduzir a contaminação por aflatoxinas em milho triturado. Foi verificado que os tratamentos de ozonização mais drásticos estudados alcançaram melhores resultados na redução da contaminação por aflatoxinas totais, alcançando cerca de 45% quando se empregou maior concentração de ozônio, maior tempo de exposição e menor massa de grãos para interação com o ozônio. Portanto, o sistema de ozonização proposto, nas condições experimentais avaliadas, mostrou-se eficaz, podendo servir de modelo para estudos de ozonização gasosa em outros tipos de grãos ou alimentos.

## Agradecimentos

---

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código



de Financiamento 00, através da concessão da bolsa de mestrado ao aluno Yuri Duarte Porto, do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

## Referências

---

ABIMILHO. Associação Brasileira das Indústrias do Milho. Disponível em: <<http://www.ABIMILHO.com.br/estatisticas>>. Acesso em: 22 fev. 2019.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução - RDC nº 7, de 18 de fevereiro de 2011. Limites máximos tolerados para micotoxinas em alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 de fev. 2011. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/>>. Acesso em 25 de Outubro de 2013>. Acesso em: 01 ago. 2018

AMARAL, K. A. S.; NASCIMENTO, G. B.; SEKIYAMA, L.; JANEIRO, V.; MACHINSKI JR., M. Aflatoxinas em produtos a base de milho comercializados no Brasil e riscos para a saúde humana. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, p. 336-342, 2006.

AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. Approved methods of the American Association of Cereal Chemists. Method 44-15A. St. Paul: AACCC International, 1981.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis. Method 994.08 – Derivatization of standards for aflatoxins, chapter 49. 18. ed. Gaithersburg, Maryland: AOAC International, 2005.

APHA. American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20th ed. Washington: APHA, 1998.

ARANA, S.; DAGLI, M. L. Z.; SABINO, M. Evaluation of the efficacy of hydrated sodium aluminosilicate in the prevention of aflatoxin-induced hepatic cancer in rainbow trout. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 9, p. 751-755, 2011 .

BENTO, L. F.; CANEPPELE, M. A. B.; ALBUQUERQUE, M. C. F.; KOBAYASTI, L.; CANEPPELE, C.; ANDRADE, P. J. de. Ocorrência de fungos e aflatoxinas em grãos de milho. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 1, p. 44-49, 2012.

CHEN, R.; MA, F.; LI, P. W.; ZHANG, W.; DING, X. X.; ZHANG, Q.; LI, M.; WANG, Y. R.; XU, B. C. Effect of ozone on aflatoxins detoxification and nutritional quality of peanuts. **Food Chemistry**, v. 146, p. 284-288, 2014.

CHIATONE, P. V.; TORRES, L. M.; ZAMBIAZI, R. C. Application of ozone in industry of food. **Alimentos e Nutrição**, v. 19, p. 341-349, 2008.

EL-DESOUKY, T. A.; SHAROBA, A. M. A.; EL-DESOUKY, A. I.; EL-MANSY, H. A.; NAGUIB, K. Effect of Ozone Gas on Degradation of Aflatoxin B1 and Aspergillus flavus Fungal. **Journal of Environmental & Analytical Toxicology**, v. 2, p. 1-6, 2012.

FAO. Maize in human nutrition. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1992. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/T0395E/T0395E00.htm> >. Acesso em: 02 ago. 2018.

FERREIRA P.; QUEIROZ, V. A. V.; CONCEIÇÃO, R. R. P.; MIGUEL, R. A. Incidência de aflatoxinas e fumonisinas em produtos de milho consumidos no Estado de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 12, n. 1, p. 54-60, 2013.

FREIRE, F. das C. O.; VIEIRA, I. G. P.; GUEDES, M. I. F.; MENDES, F. N. P. **Micotoxinas: importância na alimentação e na saúde humana e animal**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007. 48 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 110)

FREITAS-SILVA, O.; SOUZA, A. M.; OLIVEIRA, E. M. M. Potencial da ozonização no controle de fitopatógenos em pós-colheita. In: LUZ, W. C. da. (Org.). **Revisão anual de patologia de plantas**. Passo Fundo: Gráfica e Editora Padre Berthier dos Missionários da Sagrada Família, v. 21, p. 96-130, 2013.

FREITAS-SILVA, O.; VENÂNCIO, A. Ozone applications to prevent and degrade mycotoxins: a review. **Drug Metabolism Reviews**, v. 42, n. 4, p. 612-620. 2010.

GUZEL-SEYDIM, Z. B.; GREENE, A. K.; SEYDIM, A. C. Use of ozone in food industry. **LWT - Food Science and Technology**, v. 37, n. 4, p. 453-460, 2004.

IBGE. **Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) 2008 – 2009**: Análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE 2011. 150 p.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. cap. CCIV. p. 759-801.

KAWASHIMA, L. M.; SOARES, L. M. V. Incidência de fumonisina B1, aflatoxinas B1, B2, G1 e G2, ocratoxina A e zearalenona em produtos de milho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 35, p. 516- 521, 2006.

LUO, X.; WANG, R.; WANG, L.; LI, Y.; BIAN, Y.; CHEN, Z. Effect of ozone treatment on aflatoxin B1 and safety evaluation of ozonized corn. **Food Control**, v. 37, p. 171-76, 2014 a.

LUO, X.; WANG, R.; WANG, L.; LI, Y.; WANG, Y.; CHEN, Z. Detoxification of Aflatoxin in Corn Flour by Ozone. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 11, p. 2253-8. 2014 b.

MATTOS, D. A.; ARAÚJO, E. S.; ARAGÃO, S. F.; FOOK, S. M. L.; VIEIRA, K. V. M.; MEIRA, C. M. B. S.; SANTIAGO, A. M. Qualidade dos grãos de milho utilizados em uma indústria alimentícia de Campina Grande – PB, no período de 2004-2005. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v. 22, n. 1-2, p. 34-41, 2009.

MCKENZIE K. S.; SARR, A.; MAYURA, K.; BAILEY, R. H.; MILLER, D. R.; ROGERS, T. D.; NORRED, W. P.; VOSS, K. A.; PLATTNER, R. D.; PHILLIPS, T. D. Chemical degradation of diverse mycotoxins using a novel method of ozone production. **Food Chemistry Toxicology**, v. 35, p. 807–820, 1997.

MENDEZ, F.; MAIER, D. E.; MASON, L. J.; WOLOSHUK, C. P. Penetration of ozone into columns of stored grains and effects on chemical composition and processing performance. **Journal of Stored Products Research**, v. 39, n. 1, p. 33-44, 2003.

NUSS, E. T.; TANUMIHARDJO, S. A. Quality protein maize for Africa: closing the protein inadequacy gap in vulnerable populations. **Advances in Nutrition: An International Review Journal**, v. 2, n. 3, p. 217-224, 2011.

OLIVEIRA, T. R.; BARANA, A. C.; JACCOUD-FILHO, D. S.; NETO, F. F. Avaliação da contaminação por aflatoxinas totais e zearalenona em variedades de milho crioulo (*Zea mays* L.) através do método imunoenzimático ELISA. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 4, n. 2, p. 179-185, 2010.

PRUDENTE JR., A. D.; KING, J. M. Efficacy and Safety Evaluation of Ozonation to Degrade Aflatoxin in Corn. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 8, p. 2866–2872, 2002.

RAMOS, C. R. B. A.; BRASIL, E. M.; GERALDINE, R. M. Avaliação de métodos de extração, limpeza e purificação de aflatoxinas para análise em cromatografia líquida de alta eficiência. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 38, n. 2, p. 103-108, 2008.

RODRIGUES, V. O.; COSTA, F. R.; NERY, M. C.; CRUZ, S. M.; MELO, S. G. F. de; CARVALHO, M. L. M. de. Treating sunflower seeds subjected to ozonization. **Journal of Seed Science**, v. 37, p. 202-210, 2015.

ROZADO A. F.; FARONI L. R. A.; URRUCHI W. M. I.; GUEDES R. N.; PAES J. L. Aplicação de ozônio contra *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* em milho armazenado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 12, p. 282-285, 2008.

SANCHEZ, B. A. O.; ALENCAR, E. R. de; PINELI, L. de L. de O.; FERREIRA, W. F. de S.; ROBERTO, M. de A. Tracing interactions among column height, exposure time and gas concentration to dimension peanut antifungal ozonation. **Food Science and Technology**, v. 65, p. 668-675, 2016.

SANTOS, R. R.; FARONI, L. R. D.; CECON, P. R.; FERREIRA, A. P. S.; PEREIRA, O. L. Ozone as fungicide in rice grains. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 20, p. 230-235, 2016.

STEPONAVIČIUS, D.; STEPONAVIČIENE, A.; RAILA A.; ZVICEVIČIUS, E.; KEMZURAITĖ, A. Investigation on ozone penetration along grain mound height. **Journal of Food, Agriculture and Environment**, v. 10, n. 1, p. 742-747, 2012.

TROMBETE, F. M.; SANTOS, T. B.; DIREITO, G. M.; FRAGA, M. E.; SALDANHA, T. In-house validation of a method for determining aflatoxins B1, B2, G1 and G2 in wheat and wheat by-products. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 44, n. 3, p. 255-262, 2014.

TROMBETE, F. M.; PORTO, Y. D.; FREITAS-SILVA, O.; PEREIRA, R. V.; DIREITO, G. M.; SALDANHA, T.; FRAGA, M. E. Efficacy of ozone treatment on mycotoxins and fungal reduction in artificially contaminated soft wheat grains. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, e12927, 2017.



---

*Agroindústria de Alimentos*



MINISTÉRIO DA  
AGRICULTURA, PECUÁRIA  
E ABASTECIMENTO

