

# INOVAÇÃO NA DESCONTAMINAÇÃO DE MILHO: CONTROLE DE MICOTOXINAS POR TECNOLOGIA DE OZONIZAÇÃO

*Brenda Dannenberg Kaster<sup>1</sup>; Celina José Júlio Mardade<sup>2</sup>; Silvia Leticia Rivero Meza<sup>1</sup>; Lázaro da Costa Corrêa Cañizares<sup>1</sup>; Leandro José Dallagnol<sup>3</sup>; Eberson Diedrich Eicholz<sup>4</sup>, Mauricio de Oliveira<sup>1</sup>*

---

## RESUMO

O grão de milho (*Zea mays L.*) é rico em compostos benéficos a saúde humana e animal. Contudo, sua composição possibilita que o grão seja altamente suscetível a ação de micotoxinas produzidas por fungos filamentosos, e quando presentes nos alimentos causam danos significativos a saúde. As micotoxinas produzidas por fungos *Penicillium sp.*, *Fusarium graminearum* e *Fusarium meridionale* são resistentes aos processos de industrialização, sendo fundamental a utilização de métodos de conservação. Dessa forma, este estudo tem por objetivo avaliar a eficiência do gás ozônio frente a degradação fúngica e micotoxicológica, seus efeitos nas propriedades tecnológicas e nutricionais da farinha de milho branco farináceo. Utilizado tratamento de ozônio em diferentes tempos de exposição (0, 45, 90 e 135 min) com vazões de 1 L/min e 5 L/min. No presente trabalho concluiu-se que o ozônio reduziu significativamente as micotoxinas Desoxinivalenol, Fumonisina B1 e B2 e Desoxinivalenol. Além disso o tratamento com ozônio não afetou a qualidade tecnológica e nutricional da farinha, sendo um método interessante frente a descontaminação de grãos.

**Palavras-chave:** *Zea mays* (L.); Micotoxinas; Descontaminação de grãos; Farinha de milho; Ozônio

---

<sup>1</sup>Laboratório de Pós-Colheita, Industrialização e Qualidade de Grãos (LABGRÃOS), Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Brasil

<sup>2</sup>Departamento de Produção e Proteção de Plantas, Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade de Lurio, Niassa, Moçambique.

<sup>3</sup>Laboratório de Interação Planta Patógeno, Departamento de Fitossanidade, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

<sup>4</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Unidade Embrapa Clima Temperado, Pelotas, Brasil.

## INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor de milho (*Zea mays L.*) no cenário mundial, com produção anual estimada de 125,7 milhões de toneladas (CONAB, 2023). O grão de milho possui alto valor energético devido a sua composição de carboidratos, proteínas, lipídeos, fibras e minerais. Além disso, o milho é rico em compostos bioativos que possuem capacidade antioxidante e benefícios a saúde humana, como flavonoides, compostos fenólicos, carotenoides, tocoferóis, tocotrienóis e ácidos graxos essenciais. Porém o milho também é fonte de desenvolvimento microbiológico se for armazenado de forma inadequada (TIMM et al., 2020). Sendo o milho um grão que possui alta suscetibilidade de contaminação por fungos que produzem micotoxinas afetando a qualidade física, as características nutritivas, tecnológicas e sensoriais dos grãos de milho, afetando não apenas a saúde humana como também a animal. Em razão disso, é possível evitar o desenvolvimento microbiano e reduzir as perdas na pós-colheita, utilizando a tecnologia de aplicação de ozônio, que age na superfície dos microrganismos destruindo sua parede celular. O ozônio não modifica a qualidade dos grãos e de seus subprodutos, apresentando características anti-residual, penetrabilidade e alta reatividade, sendo uma tecnologia viável para a descontaminação dos grãos de milho (SANTIS et al., 2021; PANDISELVAM et al., 2019). Com isso, o objetivo do estudo foi avaliar os níveis de contaminação por micotoxinas, a influência do ozônio nas características físico-químicas, nas propriedades fito-químicas e antioxidantes presentes na farinha de milho branco farináceo com diferentes concentrações de ozônio em diferentes tempos de aplicação.

## MATERIAL E MÉTODOS

### **Amostras e contaminação**

No estudo foi utilizado a cultivar de milho BRS 015 Farináceo Branco, safra de 2021, fornecido pela Embrapa Terras Baixas (Capão do Leão – RS). Os fungos *Penicillium spp.*, *Fusarium graminearum* e *Fusarium meridionale* foram transferidos para o meio de cultura BDA (Ágar-Batata-Dextrose) e incubados em câmara de crescimento por 21 dias a 25°C, com 12h de luz e 12h de escuridão. A quantidade média de diluição dos esporos e micélios coletados foi de  $9 \times 10^4$  UFC/mL,  $16 \times 10^4$  UFC/mL e  $8 \times 10^6$  UFC/mL para *Fusarium meridionale*, *Fusarium graminearum* e *Penicillium ssp.*, respectivamente. A inoculação foi feita em 150g de amostra para cada espécie de fungo, *Penicillium spp.* (3,5mL/150g), *Fusarium graminearum* (4,6mL/150g) e *Fusarium meridionale* (5ml/150g).

### **Tratamento com ozônio**

As concentrações utilizadas de ozônio (O<sub>3</sub>) foram de 1 e 5L/min, ambas doses variando nos tempos de aplicação de 0, 45, 90 e 135 minutos. O processo de ozonização foi realizado em duplicata, com 100g de farinha de milho farináceo branco, utilizando um gerador de ozônio para o tratamento de água (TRATAOZ) com oxigênio industrial com 99,5% de pureza.

### **Determinação de micotoxinas**

As micotoxinas avaliadas foram Desoxinivalenol (DON), Fumonisina B1 (FB1), Fumonisina B2 (FB2) e Zearalenona (ZEA). A determinação foi feita de acordo com o método descrito por Malachova (2014), utilizando cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas sequencial (CL-EM/EM ou LC-MS/MS).

### **Análises físico-químicas**

O teor de proteína bruta foi realizado de acordo com AACC (1995). O perfil colorimétrico foi obtido por meio de um colorímetro (Minolta CR-400, Osaka, Japão), os parâmetros obtidos foram valor a\*(positivo=vermelho e negativo=verde), valor b\*(positivo=amarelo e negativo=azul) e valor L\*(100=branco e 0=preto).

A determinação da umidade foi realizada a partir do método convencional, extraindo a água em forma de calor por meio da aplicação de calor controlado.

A quantidade de absorção de água foi verificada pela diferença de peso da amostra seca e da amostra úmida imersa por 30 min.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados do efeito do ozônio na descontaminação das micotoxinas na farinha de milho branco farináceo estão apresentados na tabela 1. O ozônio mostrou-se eficiente com reduções das quantidades de níveis de contaminação para Desoxinivalenol (363,5µg/Kg), Fumonisina B1 (465,5µg/Kg), Fumonisina B2 (1276,8µg/Kg) e Zearalenona (216,3µg/Kg), até a baixo do limite de quantificação de micotoxinas, quando submetidos a um tratamento de ozônio nos tempos de 45, 90 e 135 minutos nas vazões de 1 e 5 L/min. A redução da umidade obtida aos 45 min com 1 L/min, é explicada por (PANDISELVAM et al., 2019), em que a redução da umidade residual se deve a influência que o ozônio tem na oxidação química da farinha, devido sua reação com o grão mesmo em temperatura ambiente.

**Tabela 1.** Níveis de contaminação por micotoxinas na farinha de milho branco farináceo de grãos tratados com vazões de 0 e 1 L/min de ozônio em diferentes tempos de aplicação

Tempo (min)	Vazão de ozônio (L/min)	Micotoxinas (µg/Kg)			
		Desoxinivalenol (DON)	Fumonisina B1	Fumonisina B2	Zearalenona (ZEA)
0	0	363,5	465,5	1276,8	216,3
45	1	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
90	1	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
135	1	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
45	5	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
90	5	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
135	5	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística pelo teste de Tukey (P<0,05)

<LQ: menor que o limite de quantificação

Os resultados das análises físico-químicas da farinha de milho branco farináceo estão apresentados na tabela 2. O maior grau de umidade da farinha de milho se deu nos maiores tempos de tratamento (135 min). A umidade teve uma redução significativa do tratamento de 45 min com vazão de ozônio de 1 L/min (9,24%) em relação a amostra sem tratamento, de 0 minutos com 0 L/min, (15,21%). Os tratamentos de 90 min com 1 L/min, 45 min com 5 L/min e 90 min com 5 L/min não apresentaram diferenças significativas ( $P < 0,05$ ).

Para o conteúdo proteico, a análise de variância mostrou efeito significativo ( $P < 0,05$ ) com aumento de proteína bruta no tratamento de 45 min com 1 L/min (7,96%) quando comparado a amostra sem tratamento de 0 min com 0 L/min (6,72%). Os demais tratamentos (90min/1L/min, 135min/1L/min, 45min/5L/min, 90min/5L/min e 135min/5L/min) o ozônio não afetou significativamente o conteúdo de proteína bruta.

Para a capacidade de absorção de água (CAA) da farinha de milho branco farináceo, o tratamento de 135 min com 1 L/min (367,80%), apresentou o maior índice de absorção de água. O menor índice de absorção de água foi verificado para o tratamento de 90 min com 1 L/min (198,30%). O aumento da CAA em cereais de acordo com (DUBOIS et al., 2006), pode ser atribuído ao aumento dos açúcares simples (glicose, maltose e frutose) que possuem maior afinidade pela água. Também pode estar relacionado às ações oxidativas e hidrolíticas causadas pelo ozônio (OBADI et al., 2018).

Para o perfil colorimétrico observou-se a variação dos valores de  $a^*$  de 0,53 a 0,89, para os tratamentos 0 min-0 L/min e 135 min-1 L/min, respectivamente. Para os valores de  $b^*$  verificou-se um aumento nos tratamentos de 45/90 min com 1 L/min (11,26-11,39). Para os valores de L se tem um aumento nos tratamentos com maior tempo de exposição, e variam de 88,69 (45 min-1 L/min) a 90,33 (135 min-1 L/min). A oxidação de corantes (polifenóis e carotenoides) do grão pelo ozônio, explica a redução dos valores de  $a^*$  e aumento de  $b^*$  (MARSTON et al., 2015). Sendo o ozônio um tratamento favorável para melhorar a qualidade da cor sem afetar a qualidade nutricional da farinha.

Os resultados das propriedades fito-químicas avaliadas da farinha de milho branco farináceo estão apresentados na tabela 3.

**Tabela 2.** Avaliação do grau de umidade, proteína bruta, capacidade de absorção de água e perfil colorimétrico da farinha de milho branco farináceo de grãos tratados com vazões de ozônio de 1 e 5 L/min em diferentes tempos de aplicação

Tempo (min)	Vazão de ozônio (L/min)	Grau de umidade (%)	Proteína bruta (%)	CAA (%)	Perfil colorimétrico		
					L	a*	b*
0	0	15,21±0,46ab	6,72±0,56b	287,58±3,93bc	89,70±1,92a	0,53±0,04a	9,65±0,73b
45	1	9,24±0,25e	7,96±0,30a	334,80±16,00ab	88,69±1,52a	0,71±0,07b	11,26±0,51a
90	1	14,01±0,75bcd	7,36±0,70ab	198,30±18,80e	89,78±1,44a	0,87±0,09cd	11,39±0,63a
135	1	15,78±1,10a	7,11±0,65ab	367,80±18,70a	90,33±1,28a	0,89±0,06d	10,16±0,90b
45	5	13,31±0,93cd	7,72±0,33ab	327,22±8,81ab	89,98±1,29a	0,87±0,08cd	10,50±0,85ab
90	5	12,81±0,52d	7,48±0,20ab	236,63±8,57de	89,91±1,40a	0,79±0,04bc	10,48±1,19ab
135	5	14,77±0,61abc	7,04±0,25ab	253,30±0,13cd	90,36±1,17a	0,74±0,03b	9,74±0,40b

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística pelo teste de Tukey (P<0,05)

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS, 22/2551-0001051-2), Unidade EMBRAPA InovaAgro-UFPel e a Indústria Riograndense de Óleos Vegetais (IRGOVEL).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACC. 1995. Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, American Association of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, MN. AGUERRE, R.; SUAREZ, C.; VIOLLAZ, P. E. Drying kinetic of rough rice grain.

AOAC. Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists. 2005. método 970.64

ARNOSO, B. J.M.; COSTA, G. F. Da-.; SCHMIDT, B.; Bioavailability and classification of phenolic compounds, (2018).

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB), Acompanhamento da safra brasileira de milho. Disponível em: &lt; <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>&gt; Acesso em: 2023.

DUBOIS, M.; COSTE, A.G. DESPRES, T. EFSTATHIOU, C. NIO, E. DUMONT, D. Parent-massin, Safety of Oxygreen®, an ozone treatment on wheat grains. Part 2. Is there a substantial equivalence between Oxygreen-treated wheat grains and untreated wheat grains? Food Additives Contam., 23 (1) (2006).

MALACHOVA, A.; SULYOK, M.; BELTR'AN, E.; BERTHILLER, F.; KRŠKA, R.; Optimization and validation of quantitative liquid chromatography tandem mass spectrometric method covering 295 bacterial and fungal metabolites including all regulated mycotoxins in four model food matrices, Journal of Chromatography A. (2014).

MASSARETTO, I.L. Estudo comparativo de macronutrientes, compostos bioativos e capacidade antioxidante de arroz preto, vermelho e selvagem. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

Zhou, H.-M., Effects of ozone treatment on the physicochemical and functional properties of whole grain flour, Journal of Cereal Science, 81 (2018), pp. 127-132

PAES, M. C. D. Manipulação da composição química do milho: impacto na indústria e na saúde humana. 2008.

PANDISELVAM, R.; MANIKANTAN, M. R.; DIVYA, V.; ASHOKKUMAR, C., KAAVYA, R.;

KOTHAKOTA, A. & RAMESH, S. V. (2019). Ozone: An advanced oxidation technology for starch modification. *Ozone: Science & Engineering*, 41(6), 491–507

PORTO, Y. D.; TROMBETE, F. M.; FREITAS-SILVA. O.; DE CASTRO, I. M.; DIREITO, G. M. & ASCHERI, J. L. R. (2019). Gaseous ozonation to reduce aflatoxins levels and microbial contamination in corn grits. *Microorganisms*, 7(8), 220.

RIBEIRO, D. F., Ozônio como agente fungicida e de degradação de micotoxinas em híbridos de milho, Ed. do Autor, 47p. Viçosa Minas Gerais – Brasil, 2016.

SANTIS, D. D.; GARZOLI, S.; VETTRAINO, A. M. Effect of gaseous ozone treatment on the aroma and clove rot by *Fusarium proliferatum* during garlic postharvest storage, *Science Direct*, v 7, 8p. 2021.

SYNGENTA. Milho: maior cultura agrícola produzida no mundo, Brasil, 2023.

TIMM, N. S.; OLIVEIA, M.; ZAVAREZE, E.R.; EICHOLZ, E. D. Secagem e processamento de genótipos de milho: efeitos sobre as propriedades físico-químicas e tecnológicas do amido e do óleo. *Dissertação*, Pelotas, Ed. do Autor, 91p., 2020.

ZHISHEN, J., MENGCHENG, T. & JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, v.64, p.555-559, 1999.