

EFEKTYWNOŚĆ OZONOWANIA W ELIMINOWANIU GRZYBÓW  
TOKSYNOTWÓRCZYCH ORAZ ICH METABOLITÓW – AFLATOKSYN  
W WILGOTNYM ZIARNIE KUKURYDZY

*Dariusz Danilkiewicz<sup>1</sup>, Monika Sachadyn-Król<sup>2</sup>, Izabella Jackowska<sup>2</sup>,  
Łukasz Wlazło<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Katedra Herbologii i Techniki Uprawy Roślin, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie  
ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin  
e-mail: d\_danilkiewicz@interia.pl

<sup>2</sup>Katedra Chemii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie  
ul. Akademicka 15, 20-950 Lublin

<sup>3</sup>Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie  
ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin

**Streszczenie.** Kukurydza jest jedną z najważniejszych roślin uprawnych świata, a jednocześnie idealnym siedliskiem dla rozwoju grzybów toksynotwórczych. Ich rozwój na powierzchni i wewnątrz ziarna warunkuje jego wilgotność oraz czas przechowywania. W przeprowadzonych badaniach podjęto próbę określenia czasu niezbędnego do efektywnego usuwania zanieczyszczenia aflatoksynami oraz skażenia grzybami pleśniowymi ziarna kukurydzy o podwyższonej wilgotności – 24%. Proces ozonowania prowadzono przy zastosowaniu ozonu w stężeniu  $2 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  przez 15, 30, 60, 120 i 180 minut. Oznaczenie ilościowe grzybów przeprowadzono zgodnie z PN-R-64791. Zawartość sumy aflatoksyn zbadano metodą immunoenzymatyczną – ELISA. Przeprowadzone badania wykazały, że zastosowanie gazowego ozonu powoduje blisko stu procentowe zmniejszenie ogólnej liczby grzybów pleśniowych i produkowanych przez nie aflatoksyn w wilgotnym ziarnie kukurydzy. 38% redukcję zanieczyszczenia grzybami i 42% obniżenie poziomu aflatoksyn obserwowano już po 15 minutach prowadzenia procesu ozonowania. Wydłużenie czasu działania ozonu do 180 minut spowodowało odpowiednio 99% i 92% redukcję grzybów pleśniowych i aflatoksyn. Przeprowadzone badania wykazały, że ozonowanie jest efektywnym sposobem zmniejszania zanieczyszczenia mikrobiologicznego surowca i należy do obiecujących, stosunkowo tanich metod zabezpieczenia ziarna kukurydzy przed dalszymi procesami biodegradacji.

**Słowa kluczowe:** ozon, kukurydza, aflatoksyny, grzyby pleśniowe

## WSTĘP

Kukurydza należy do podstawowych roślin uprawnych świata, także w Polsce jej udział w strukturze zasiewów jest znaczący i w 2013 roku wyniósł ponad 613 tys. ha, a zbiory ziarna stanowiły ponad 4 mln t (FAO 2015). Ziarno kukurydzy przeznaczone do przechowywania powinno charakteryzować się zawartością wody poniżej 15% i temperaturą poniżej 10°C. Ziarno kukurydzy zbierane w warunkach Polski zawiera zwykle około 25-30% wody. Tak duża wilgotność ziarna zmusza do natychmiastowej jego konserwacji, najczęściej przez suszenie (Gawrysiak-Witulska i in. 2006). Duża wilgotność oraz zawartość licznych składników pokarmowych w ziarnie stanowi idealne siedlisko do rozwoju mikroorganizmów, w tym patogenów grzybowych. Roślina ta we wszystkich fazach rozwojowych jest podatna na infekcję, szczególnie grzybami z rodzaju *Fusarium*. Porażenie patogenami z tej grupy może prowadzić do wystąpienia toksycznych metabolitów wtórnych, takich jak: deoksynivalenol, zearalenon, fumonizyny oraz toksyny T-2 i HT-2 (Blandino 2009, Szulc 2012, Kotowicz i in. 2014). Oprócz mykotoksyn fuzaryjnych w ziarnie kukurydzy bardzo często identyfikowane są aflatoksyny – metabolity wtórne grzybów z rodzaju *Aspergillus*, głównie *A. flavus* (Chelkowski 2010). Mykotoksyny działają kancerogennie oraz teratogennie i są bezpośrednią przyczyną powstawania nowotworów np. wątroby czy nerek. Szczególnie niebezpieczną wydaje się być aflatoksyna B<sub>1</sub>, która znalazła się w wykazie substancji rakotwórczych Międzynarodowej Agencji Badań nad Rakiem w grupie 1 (Williams i in. 2004, Dilkin i in. 2010, Sachadyn-Król i in. 2013).

Poszukiwanie nowych, innowacyjnych rozwiązań, które pozwolą na ograniczenie negatywnych skutków obecności aflatoksyn w żywności, jest bardzo istotne. Jedną z niekonwencjonalnych metod eliminacji zanieczyszczeń mikrobiologicznych stanowi zastosowanie gazowego ozonu. Został on dopuszczony do stosowania w przetwórstwie żywności w Stanach Zjednoczonych, uzyskując status GRAS (Generally Recognised As Safe) (Alencar i in. 2011). Dzięki silnym właściwościom utleniającym skutecznie niszczy on komórki bakterii, grzybów oraz wirusów, a także spor grzybów. Ponadto umożliwia eliminację mykotoksyn i pozostałości pestycydów w wielu produktach roślinnych (Freitas-Silva i in. 2010, Adamicki 2008). Abdel-Wahhab i in. (2011) zanotowali spadek zawartości aflatoksyn w orzeszkach ziemnych dzięki zastosowaniu gazowego ozonu o stężeniu 2 mg·dm<sup>-3</sup> przez 10 minut. Redukcję aflatoksyn w orzeszkach ziemnych na poziomie 60% przy zastosowaniu 6 mg O<sub>3</sub>·dm<sup>-3</sup> i czasie ekspozycji 10 minut zaobserwował także Chen i in. (2014). Wydłużenie czasu ekspozycji do 30 minut spowodowało spadek zawartości aflatoksyn o kolejne 10%. Dwugodzinny czas ekspozycji nie skutkowało dalszą redukcją poziomu mykotoksyn z tej grupy. Badacze nie stwierdzili istotnych różnic w zawartości polifenoli i resweratrolu oraz jakości oleju w badanych próbkach.

Celem niniejszej pracy była optymalizacja procesu eliminacji grzybów pleśniowych z rodzaju *Aspergillus* oraz produkowanych przez nie aflatoksyn z wykorzystaniem gazowego ozonu przy uwzględnieniu różnego czasu kontaktu w wilgotnym ziarnie kukurydzy. Ponadto podjęto próbę opracowania praktycznych wskazówek do prowadzenia procesu ozonowania w warunkach przemysłowych.

#### MATERIAŁ I METODY

Materiał badań stanowiło ziarno kukurydzy odmiany DKC2787 pozyskanej z gospodarstwa rolnego Wiesława Gryna (Rogów, Lubelskie, Polska) o wilgotności 24%. W celu zwiększenia zawartości grzybów z rodzaju *Aspergillus flavus* oraz zawartości mykotoksyn, ziarno kukurydzy zostało skażone. W tym celu 1000 g ziarna kukurydzy zaszczerpiono zawieszoną przygotowaną ze 100 cm<sup>3</sup> wody destylowanej i zarodników *A. flavus* o gęstości optycznej 1. Próbki były inkubowane w temperaturze 37°C przez 7 dni, a następnie w temperaturze 25°C przez kolejne 7 dni.

Inkubowane ziarno poddano procesowi ozonowania. Ozon wytwarzano generatorem ozonu ZY-H103 (Zhong-Yi) w ilości 600 mg O<sub>3</sub>·h<sup>-1</sup> oraz przepływie powietrza 5 dm<sup>3</sup>·min<sup>-1</sup>. Próbki kukurydzy (80 g) umieszczono w gazoszczelnym cylindrze i poddano działaniu ozonu o stężeniu 2 mg·dm<sup>-3</sup> przez 15, 30, 60, 120 i 180 minut. Proces ozonowania prowadzono w temperaturze 21°C i wilgotności powietrza 65-70% z zachowaniem wszelkich środków bezpieczeństwa.

Ocenę liczebności grzybów przeprowadzono zgodnie z PN-R-64791 (1994), inkubując płytki w temperaturze 27°C przez 7 dni. Oznaczenie ilościowe przeprowadzono w trzech powtórzeniach, a wynik podano jako średnią liczbę jednostek tworzących kolonie wyrażoną w CFU na 1 g badanego materiału (CFU·g<sup>-1</sup>). Oznaczenie gatunkowe przeprowadzono w oparciu o klucz Watanabe (2010).

Zawartość sumy aflatoksyn ogółem przeprowadzono, stosując test immunoenzymatyczny (ELISA) – AgraQuant® Total Aflatoxin Assay (Romer Labs®). Ekstrahowano 20 g rozdrobnionego wcześniej ziarna kukurydzy roztworem metanolu w wodzie w stosunku 70/30 (v/v), zgodnie z instrukcją załączoną przez producenta testu. Wynik analizy odczytano spektrofotometrycznie przy długości fali  $\lambda = 450$  nm, przy użyciu automatycznego czytnika mikropłytek ELx808 (BIOKOM) oraz oprogramowania Gen5.

Wszystkie wyniki dotyczące liczebności grzybów pleśniowych i koncentracji sumy aflatoksyn poddano jednoczynnikowej analizie wariancji oraz porównano je wielokrotnym testem Tukeya przy poziomie istotności  $p = 0,05$  z wykorzystaniem oprogramowania SAS 5.1 1 (SAS Institute, Inc.). Obliczono także współczynnik korelacji między liczebnością grzybów pleśniowych a koncentracją sumy aflatoksyn.

## WYNIKI I DYSKUSJA

Analiza statystyczna wykazała istotny wpływ zastosowanego czasu ozonowania na ogólną liczebność grzybów (tab. 1). Przebywanie ziarna kukurydzy w atmosferze ozonu o stężeniu  $2 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  w przedziale czasowym od 15 do 120 minut istotnie zmniejszyło liczbę grzybów. Już 15 minut prowadzenia procesu wystarczyło do zmniejszenia liczebności grzybów o połowę. Najniższą liczbę jednostek tworzących kolonie odnotowano w ziarnie ozonowanym przez 180 minut, zaś najwyższą w próbce kontrolnej, nie poddanej procesowi ozonowania. Po maksymalnym badanym czasie kontaktu osiągnięto niemal 99% redukcję liczby jednostek tworzących kolonie. Należy zwrócić uwagę na niewielką zmienność (CV%) w obrębie poszczególnych czasów ozonowania wynoszącą od 6,2 do 8,0%.

**Tabela 1.** Średnia liczba grzybów ( $\text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ ) w ziarnie kukurydzy

**Table 1.** Average number of fungi ( $\text{CFU g}^{-1}$ ) in maize grain

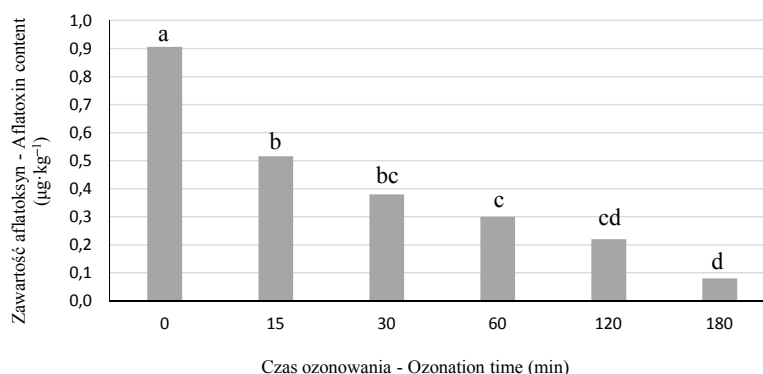
Czas ozonowania Ozonation time (min)	Liczba grzybów Fungi content ( $\text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ )	CV%
0	757 528 a	6,2
15	466 969 b	7,3
30	257 575 c	8,0
60	98 181 d	6,6
120	38 432 e	5,9
180	9 030 e	6,9
Średnia – Mean	271 294,5	–

CV% – Współczynnik zmienności – CV% Coefficient of variation

Wartości średnie oznaczone tymi samymi literami nie są istotne statystycznie przy  $p = 0,05$

Values with the same letter are not significantly different at  $p = 0.05$

Analogicznie do liczby grzybów pleśniowych kształtowała się zawartość sumy aflatoksyn w badanym ziarnie kukurydzy. Zastosowanie ozonu przez 15 minut spowodowało obniżenie zawartości mykotoksyn o 42% w porównaniu z obiektem kontrolnym. Wydłużenie czasu ozonowania spowodowało dalsze obniżenie zawartości aflatoksyn, osiągając poziom  $0,08 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  po 180 minutach ozonowania, co stanowiło 91% redukcję (rys. 1).



**Rys. 1.** Zawartość sumy aflatoksyn ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) w ziarnie kukurydzy w zależności od czasu ozonowania. Średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie na poziomie  $p = 0,05$

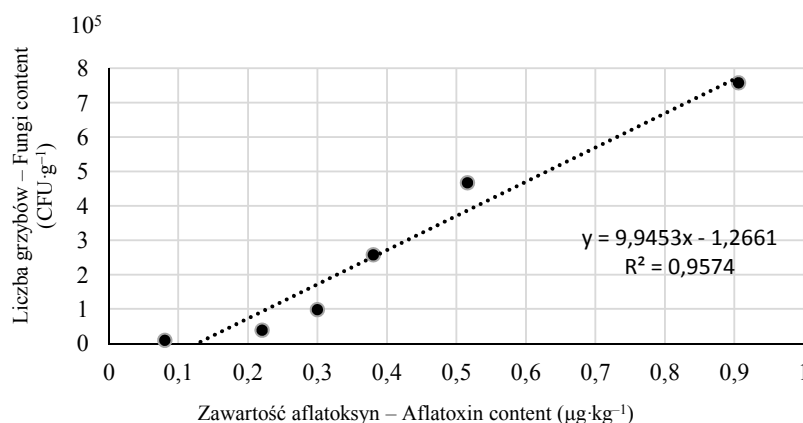
**Fig. 1.** Aflatoxin content ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) in maize grain, depending on ozonation time. Values with the same letter are not significantly different at  $p = 0.05$

W badaniach wykazano silny liniowy związek pomiędzy liczbą grzybów toksynotwórczych a zawartością sumy aflatoksyn w ziarnie. W 95% przypadków ilość sumy aflatoksyn zależała od całkowitej liczby grzybów. Skuteczność ozonu w poprawie właściwości mikrobiologicznych również wykazują inni autorzy. McDonough i in. (2011) wykazali obniżenie liczebności grzybów z ponad 10 600 do 68 CFU·g<sup>-1</sup> przy zastosowaniu ozonu o stężeniu 2280 mg·dm<sup>-3</sup>. El-Desouky i in. (2012) również wskazali wyraźną zależność pomiędzy czasem ozonowania i jego stężeniem a redukcją poziomu aflatoksyny B<sub>1</sub>. Z badań tych autorów wynika, iż traktowanie ziaren pszenicy gazowym ozonem o stężeniu 2 mg·dm<sup>-3</sup> przez 20 minut jest skuteczną metodą degradacji aflatoksyny B<sub>1</sub>.

Spadek ogólnej liczby grzybów pleśniowych, w tym grzybów z rodzaju *Aspergillus* i produkowanych przez nie aflatoksyn, stwierdził również Rodrigues de Alencar i inni (2011). Autorzy ci obserwowali 50% spadek ogólnej liczby grzybów oraz 45% spadek *A.flavus* i *A.parasiticus*. Ponadto redukcji uległa ogólna zawartość aflatoksyn i aflatoksyny B<sub>1</sub> odpowiednio o 30 i 25%. Redukcję grzybów, bakterii i mykotoksyn w figach w wyniku procesu ozonowania obserwowali Zorlugenc i in. (2008), a także Inan i in. (2008) w czerwonej papryce, oraz Prudente i King (2002) w kukurydzy.

Wilgotność powietrza i materiału roślinnego jest ważnym czynnikiem wpływającym na wydajność procesu ozonowania. Zastosowanie suchego ozonu czy ozonowanie suchego ziarna jest mniej efektywne niż ozonowanie w warunkach o zwiększonej wilgotności. Luo i in. (2014) po ozonowaniu 100 g kukurydzy przez 40 min przy stężeniu ozonu 40, 65 i 90 mg·l<sup>-1</sup> obserwowali 41, 56 i 88%

redukcję poziomu aflatoksyny B<sub>1</sub> przy wilgotności ziarna 13,5%, zaś 37, 50 i 72% dla ziarna wilgotnego (20,4%). McKenzie i in. (1998) potrzebowali 92 godziny ozonowania o stężeniu  $5,4 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ , aby uzyskać ponad 95% redukcję poziomu aflatoksyny B<sub>1</sub>. Kells i in. (2001) obserwowali natomiast 63% redukcję liczebności grzybów *Aspergillus parasiticus* w ziarnie kukurydzy po zastosowania ozonu w stężeniu  $2,4 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  przez 3 dni.



**Rys. 2.** Równanie regresji pomiędzy zawartością grzybów a zawartością aflatoksyn  
**Fig. 2.** Regression equation between the content of fungi and the content of aflatoxin

Niewłaściwy sposób zastosowania gazowego ozonu negatywnie wpływa na jakość surowców roślinnych i zwierzęcych. Jak donosi Kim i in. (1999) Zastosowanie zbyt wysokich dawek ozonu prowadzi do utleniania powierzchni, surowca co skutkuje powstaniem przebarwień, zmianom tekstury oraz pogorszeniem smaku. Badania prezentowane przez Alena i in. (2003) dowodzą że wydłużenie czasu ozonowania ponad 30 min w stężeniu  $0,98 \text{ mg O}_3 \cdot \text{g}$  jęczmienia prowadzi do spadku zdolności kiełkowania o 20% w porównaniu do obiektu kontrolnego.

Na podstawie wyników przeprowadzonego eksperymentu oraz po analizie dostępnej literatury można stwierdzić, że w celu skutecznej eliminacji aflatoksyn i ograniczenia skażenia grzybami toksynotwórczymi zbędne są wysokie stężenia ozonu ( $> 2 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ ), czy też bardzo długi czas kontaktu (do 180 min) ozonu z ziarnem kukurydzy. Przyczyni się to do obniżenia kosztów instalacji i samego procesu ozonowania. Z punktu widzenia technologii istotny wydaje się być poziom wilgotności ziarna kukurydzy oraz zapewnienie możliwie maksymalnego kontaktu ziarna z ozonem, na przykład poprzez ozonowanie stosunkowo niewielkich partii materiału.

## WNIOSKI

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że:

1. zastosowanie gazowego ozonu w stężeniu  $2 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  przez 180 minut pozwala na niemal całkowitą redukcję (99%) ogólnej liczby grzybów pleśniowych, w tym toksynotwórczych;
2. poddanie wilgotnej kukurydzy działaniu ozonu o stężeniu  $2 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  przez 15 minut redukuje zawartość aflatoksyn o 42%, zaś przez 180 minut – niemal o 100%;
3. użycie ozonu jest bardzo skuteczną metodą eliminacji aflatoksyn obecnych w ziarnie kukurydzy, zwiększającą bezpieczeństwo mikrobiologiczne przechowywanego wilgotnego surowca do produkcji pasz i żywności.

## PIŚMIENNICTWO

- Abdel-Wahhab M.A., Sehab A.F., Hassanien F.R., El-Nemr Sh.E., Amra H.A., Abdel-Alim H.A., 2011. Efficacy of Ozone to Reduce Fungal Spoilage and Aflatoxin Contamination in Peanuts. *Int. J. Nuts & Related Sci.*, 2(4), 01-14.
- Adamicki F., 2008. Postęp w rozwoju nowych technologii w przechowywalnictwie warzyw. *Zesz. Probl. Post. N. Roln.*, zesz. 527, 15-27.
- Allen B., Wu J.N., Doan H., 2003. Inactivation of fungi associated with barley grain by gaseous ozone. *J. of Environm. Sci. and Health Part B-Pesticides Food Cont. and Agricult. Wastes*, 38(5), 617-630.
- Alencar E.R.D., Faroni L.R.D., Martins M.A., Costa A.R.D., Cecon P.R., 2011. Decomposition kinetics of gaseous ozone in peanut. *Engenh. Agric. Jabotic.*, 31(5), 930-939.
- Chelkowski J., 2010. Mikotoksyny, grzyby toksynotwórcze, mikotoksynozy ([www.cropnet.pl](http://www.cropnet.pl)).
- Chen R., Ma F., Li P.W., Hang W., Ding X.X., Zhang Q., Li M., Wang Y.R., Xu B.C., 2014. Effect of ozone on aflatoxins detoxification and nutritional quality of peanuts. *Food Chem.*, 146, 284-288.
- El-Desouky T.A., Sharoba A.M.A., El-Mansy H.A., Naguib K., 2012. Effect of Ozone Gas on Degradation of Aflatoxin B<sub>1</sub> and *Aspergillus flavus* Fungal. *J. Environ. Analytic Toxicol.*, 2, 128-134.
- Freitas-Silva O., Venâncio A., 2010. Ozone applications to prevent and degrade mycotoxins: a review. *Drug Metabol. Rev.*, 42(4), 612-620.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations, Statistics Division, 2015. <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>.
- Gawrysiak-Witulska M., Ryniecki A., Wawrzyniak J., Mocek M., 2006. Korelacja między wybranymi parametrami powietrza i ziarna kukurydzy suszonego metodą niskotemperaturową. *Inż. Roln.*, 7(82), 163-171.
- Inan F., Pala M., Doymaz I., 2007. Use of ozone in detoxification of aflatoxin B<sub>1</sub> in red pepper. *J. Stored Prod. Res.*, 43, 425-429.
- Kells S.A., Mason L.J., Maier D.E., Woloshuk C.P., 2001. Efficacy and fumigation characteristics of ozone in stored maize. *J. Stored Prod. Res.*, 37, 371-382.
- Kim, J.G.; Yousef, A.E.; Dave, S., 1999. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. *J Food Prot.*, 62(9), 1071-1087
- Kotowicz N., Frąc M., Lipiec J., 2014. The importance of *Fusarium* fungi in wheat cultivation – pathogenicity and mycotoxins production: a review. *J. Animal & Plant Sci.*, 21, 3326-3343.

- Luo X., Wang R., Wang L., Li Y., Bian Y., Chen Z., 2014. Effect of ozone treatment on aflatoxin B<sub>1</sub> and safety evaluation of ozonized corn. *Food Control*, 37, 171-176.
- McDonough M.X., Campabadal C.A., Mason L.J., Maier D.E., Denvir A., Woloshuk C., 2011. Ozone application in a modified screw conveyor to treat grain for insect pests, fungal contaminants, and mycotoxin. *J. Stored Prod. Res.*, 47, 249-254.
- McKenzie K.S., Sarr A.B., Mayura K., Bailey R.H., Miller D.R., Rogers T.D., Norred W.P., Voss K.A., Plattner R.D., Kubena L.F., Phillips T.D., 1997. Oxidative degradation and detoxification of mycotoxins using a novel source of ozone. *Food & Chem. Toxicol.*, 35(8), 807-820.
- Prudente A.D., King J.M., 2002. Efficacy and safety evaluation of ozonation to degrade aflatoxin in corn. *J. Food Sci.*, 67, 2866-2872.
- Rodrigues de Alencar E., D'Antonino Faroni L.R., Ferreira Soares N., da Silva W.A., da Silva Carvalho M.C., 2012. Efficacy of ozone as a fungicidal and detoxifying agent of aflatoxins in peanuts. *J. Sci. Food & Agric.*, 92, 899-905.
- Zorlugenc B., Zorlugenc F.K., Oztekin S. and Evliya I.B., 2008. The influence of gaseous ozone and ozonated water on microbial flora and degradation of aflatoxin B<sub>1</sub> in dried figs. *Food Chem. Toxicol.*, 46, 3593-3597.

## EFFICIENCY OF OZONE IN ELIMINATING FUNGI AND THEIR METABOLITES – AFLATOXINS IN DAMP GRAIN CORN

*Dariusz Danilkiewicz<sup>1</sup>, Monika Sachadyn-Król<sup>2</sup>, Izabella Jackowska<sup>2</sup>,  
Łukasz Wlazło<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Department of Herbology and Plant Cultivation Techniques, University of Life Sciences in Lublin  
ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin, Poland  
e-mail: d\_danilkiewicz@interia.pl

<sup>2</sup>Department of Chemistry, University of Life Sciences in Lublin  
ul. Akademicka 15, 20-950 Lublin, Poland

<sup>3</sup>Department of Animal Hygiene and Environment, University of Life Sciences in Lublin  
ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin, Poland

**Abstract.** Corn is one of the most important crop in the world and also the ideal habitat for the growth of fungi. Their growth on the surface and inside the grain depends on the moisture content and determines its shelf life. The present study attempted to determine the time required for the efficient removal of fungi and aflatoxin contamination of corn grain with 24% humidity. The ozonation process was carried out using the ozone concentration of 2 mg dm<sup>-3</sup> for 15, 30, 60, 120 and 180 minutes. Quantification of fungi was carried out in accordance with PN-R-64791. The total aflatoxin content was tested using the immunoassay – ELISA. The study showed that the use of ozone gas causes nearly one hundred percent reduction in the total number of fungi and aflatoxins produced by them in a damp grain corn. 38% reduction of fungi contamination and 42% in aflatoxin level was observed after 15 minutes of operation. Extension of the contact time for 180 minutes resulted in 99% and 92% reduction respectively. Ozone treatment is effective tool in reducing the microbial load of raw material and is a promising, relatively inexpensive way to protect the raw material before any further processing.

**Keywords:** ozone, corn, aflatoxins