

ABSTRACT

Project Code: MRG5980020

Project Title: Mold growth, aflatoxin production, and cytotoxicity detoxification against aflatoxin after supplementing organic acid in by product corn silages

Investigator:

Asst. Prof. Dr. Wasana Chaisri **Chiang Mai University**

Prof. Dr. Witaya Suriyasathaporn **Chiang Mai University**

Asst. Prof. Dr. Veena Jupia **Chiang Mai University**

E-mail Address: wasana_kosa@hotmail.com

Project Period: 2 years 6 months

The objectives of this study were to determine factors related to mold and AFB1 contamination in by-product corn processing factories as dairy roughage when keeping in small holder farm conditions, evaluate the efficacy of organic acid on reducing the contamination of *Aspergillus flavus* and AFB1 in by product corn silage, and identify the factors associated with these contaminations.

According to the first objective, by-products from corn processing factories including 123 samples of dried corn covers (dried corn), and 108 samples of boiled corn cobs with husks (boiled corn) were collected from small holder dairy farms in Chiang Mai, Thailand. They were collected from 3 areas including surface base position, surface high position, and the center of feed piles. Mold contamination was determined by spread plate technique. Analysis for AFB1 was conducted by a commercial enzyme-linked immunosorbent assay. The differences of AFB1 concentrations among feed pile's positions, mold contaminations and other variables were separately evaluated between the

dried corns and the boiled corns using generalized mixed model. Results show that the AFB1 concentration of boiled corns (14.72 ± 0.71) ng/Kg was significantly higher than dried corns (6.54 ± 2.54 ng/Kg). Only 12.2% ($n=13$) of the dried corns had AFB1 concentrations more than the limitation values (20 ng/Kg feed). Results from statistical analysis showed that the center of feed piles had lower AFB1 concentrations than base and high surface positions. The presences of *Cladosporium* spp. had a lower risk of AFB1 contamination. These results suggest that type of samples, sources and the contamination of *Cladosporium* spp. are factors related to AFB1 contamination.

For evaluate the efficacy of organic acids on reducing the contamination of *Aspergillus flavus* and AFB1 in by product corn silage, three types of organic acid including acetic acid, lactic acid, and propionic acid were tested for their inhibition efficacy against *Aspergillus flavus*. Among these, acetic acid had highest potential for reducing fungus; therefore, it was selected for further studies. By-product corn silages were separated into 3 groups: corn husk, corn cob and mixed. Each group was autoclaved, inoculated with *A. flavus* suspension and added with 1.25% of acetic acid. Corn samples with or without acetic acid were kept in a different conditions (exposed, non-exposed oxygen and light) in room temperature. Fungal count, water activity, pH and AFB1 concentration were measured after adding acetic acid at 12 h, day 7, 14 and 21. The results demonstrated that acetic acid reduced the contamination of *A. flavus*, and exhibited much reduced percentage of increasing AFB1 contamination when compared to that of without. The AFB1 concentration in sample exposed with oxygen higher than without ($p=0.050$). Corn cob had significant lower concentration of AFB1 than corn husk ($p=0.0002$) and mixed corn ($p=0.0001$). It can be concluded that acetic acid had effectiveness in inhibiting fungal growth, and decreasing an accumulation of AFB1. Moreover, storing feed in non-oxygen condition could be useful for reducing AFB1 contamination.

Keywords (3-5 words): Aflatoxin B1, Corn silage, Organic acid, Acetic acid, Detoxification,
Fungal growth

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG5980020

ชื่อโครงการ: การเจริญของเชื้อรา การผลิตอะฟลาท็อกซิน และการลดการปนเปื้อนพิษของอะฟลาท็อกซินในเศษข้าวโพดหมักหลังจากเติมกรดแลคติก

ชื่อนักวิจัย และสถาบัน

ผศ.ดร.วาสนา ไชยศรี	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ศ.วิทยา สุริยาสถาพร	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ผศ.ดร. วิภา จูเปีย	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

อีเมล: wasana_kosa@hotmail.com, Suriyasathaporn@hotmail.com

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี 6 เดือน

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อการปนเปื้อนเชื้อราและ AFB1 เฉพาะเหลือของข้าวโพดจากโรงงานที่ใช้เป็นอาหารหยาบหลักภายในฟาร์มโคนมรายย่อย และศึกษาประสิทธิภาพของกรดอินทรีย์ในการลดการปนเปื้อนเชื้อรา *Aspergillus flavus* และ รวมทั้งปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการปนเปื้อน

จากวัตถุประสงค์แรก ทำการเก็บตัวอย่างเศษเหลือของข้าวโพดจากโรงงาน 231 ตัวอย่าง แบ่งเป็นชนิดแห้ง 123 ตัวอย่าง และชนิดเปียก 108 ตัวอย่าง จากฟาร์มโคนมรายย่อยในจังหวัดเชียงใหม่ โดยเก็บตัวอย่างจากกองอาหาร 3 ตำแหน่ง ได้แก่ บริเวณฐาน พื้นผิวด้านนอก และตรงกลางกองอาหาร หาปริมาณเชื้อราด้วยวิธี spread plate และวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาท็อกซินปีวันโดยใช้เทคนิค ELISA วิเคราะห์ความแตกต่างของปริมาณอะฟลาท็อกซินจากตำแหน่งที่ต่างกันและตัวแปรอื่น ๆ ในข้าวโพดชนิดเปียกแยกจากข้าวโพดแห้งด้วยวิธี generalized mixed model ผลการศึกษาพบว่าตัวอย่างเศษเหลือของข้าวโพดชนิดเปียกมีปริมาณ AFB1 (5.63 ± 0.30 พีพีบี) น้อยกว่าชนิดแห้ง (14.72 ± 0.71 พีพีบี) ($P < 0.05$) โดยร้อยละ 12.2 (15 ตัวอย่าง) ของตัวอย่างทั้งหมดมีปริมาณของ AFB1 มากกว่าค่าที่กำหนด (20 นาโนกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม) ผลจากการทดสอบทางสถิติพบว่าตัวอย่างอาหารที่เก็บจากกลางกองอาหารพบความเข้มข้นของอะฟลาท็อกซินปีวันต่ำกว่าบริเวณพื้นผิว ข้าวโพดที่ปนเปื้อนเชื้อรา *Cladosporium* spp. มีความเข้มข้นของอะฟลาท็อกซินปีวันต่ำกว่าข้าวโพดที่ปนเปื้อนเชื้อราชนิดอื่น ($P < 0.05$) การศึกษานี้สรุปได้ว่าชนิดของตัวอย่างและการปนเปื้อน *Cladosporidium* spp. ส่งผลต่อปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาท็อกซินปีวัน

สำหรับประสิทธิภาพของกรดแลคติกในการลดปริมาณเชื้อราและอะฟลาท็อกซินในเศษเหลือข้าวโพดจากโรงงานที่เป็นอาหารหยาบสำหรับโคนม รวมถึงศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการปนเปื้อนของเชื้อราและสารพิษดังกล่าว ตัวอย่างข้าวโพดโรงงานจะถูกแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ เปลือก

ข้าวโพด ผักข้าวโพด และกลุ่มที่ผสม ข้าวโพดทั้งหมดจะถูกฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำแรงดันสูง ใส่สารละลายสปอร์ของเชื้อแอสเพอร์จิลลัส ฟลาวัส (*Aspergillus flavus*) และกรดแอสติคความเข้มข้น 1.25% ของน้ำหนักแห้ง ตัวอย่างข้าวโพดทั้งที่เติมและไม่เติมกรดแอสติคจะถูกเก็บในสภาวะที่แตกต่างกัน (สัมผัสอากาศ, ไม่สัมผัสอากาศและแสง) ในอุณหภูมิห้อง ทำการวัดปริมาณเชื้อรา ค่าแอกทีวิตีของน้ำ (A_w) ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) และปริมาณอะฟลาท็อกซินในตัวอย่างทั้งหมด หลังการเติมกรดที่ 12 ชั่วโมง 7 14 และ 21 วัน ผลการทดลองพบว่า การใส่กรดแอสติคทำให้ปริมาณเชื้อราลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P=0.0119$) ความเข้มข้นของอะฟลาท็อกซินบิวันมีค่าเพิ่มขึ้นในช่วงระยะเวลาการเก็บรักษาแต่พบว่าตัวอย่างที่ใส่กรดแอสติคมีเปอร์เซ็นต์การเพิ่มขึ้นของอะฟลาท็อกซินบิวันน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ใส่กรด ข้าวโพดในกลุ่มที่สัมผัสอากาศมีปริมาณอะฟลาท็อกซินบิวันสูงกว่ากลุ่มที่ไม่สัมผัสอากาศ ($P=0.0424$) โดยผักข้าวโพดมีความเข้มข้นของอะฟลาท็อกซินบิวันน้อยกว่าเปลือกข้าวโพด ($P=0.0002$) และผสม ($P=0.0001$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่ากรดแอสติคมีประสิทธิภาพต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและช่วยลดการสะสมของอะฟลาท็อกซินบิวัน นอกจากนี้การเก็บอาหารภายใต้สภาวะไม่สัมผัสอากาศจะช่วยลดการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินบิวันได้

คำหลัก : อะฟลาท็อกซินบิวัน, ข้าวโพดหมัก, กรดอินทรีย์, กรดอะซิติก, การลดพิษ, การเจริญของเชื้อรา