곰팡이 독소

1. 아프라톡신 (Aflatoxins)

건국대학교 축산대학교수 윤 화 중

Aflatoxins

아프라톡신군 중에서 특히 Aflatoxin B_1은 곰팡이독소학의 발달에 있어서 가장 많은 영향을 끼쳐왔다. 1960년 그들의 발견은 "turkey X" 질병의 원인과 다른 곰팡이 중독증의 계속적인 관련물로서 다른 곰팡이 독소 문제에 대한 흥미와 이해를 자극하는 효과를 가져 왔다.

자연적으로 생산되는 4가지의 Aflatoxin B_1, B_2, G_1 및 G_2는 Aspergillus flavus와 A. Parasiticus라는 곰팡이에 의하여 생산되는 급성 독성대사 산물이며, 또한 암을 유발시키는 대사산물들이다. 아푸라톡신군의 다른 독소들은 이러한 4가지 독소가 미생물이나 동물들에게 투여되어 대사산물로 유도된 것이다 (M_1, M_2, P_1 Q_1 및 Afatoxicol) 또는 화학적인 반응으로 생산된 것들이다 (B_{2a}, G_{2a} 및 D_1).

Aflatoxion들은 심한 형광성물질이며, 심한산화성물질이다. Aflatoxin중 Aflatoxin B_1은 자연적으로 가장 널리 분포되어 있으며, 독성이 급성적이고 발암물질의 하나이다.

Aflatoxin들에 의한 중독은 동물의 종류와 연령, 성 및 영양 등에 의하여 변화가 다양하지만 영향을 받는 주요장기는 肝臟이다. 육안적인 임상증후는 사료섭취의 감소와 그 영향으로 인한 成長障碍와 体重減少이며 후에 죽기 전 몇일동안 裏急 後重症勢가 나타나는 것이다. 死後剖檢所見으로는 肝의 脂肪浸潤, 肝의 繊維化, 腹水 內臟浮腫, 膽管增殖 및 肝癌 等이 동물의 종류에 따라 여러가지로 나타난다. 간암을 일으킬 수 있는 Aflatoxin B_1의 능력도 동물의 종류에 따라 대단히 다르다. 송어와 오리병아리는 대단히 민감하나, 대부분의 동물종류들은 Aflatoxin으로 인한 간암발생경향이 훨씬 적은 것으로 생각된다.

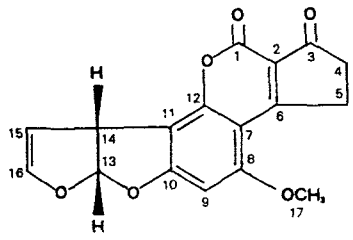
Aflatoxin섭취의 더 미묘한 영향은 면역반응의 방해와 여러가지 비타민에 대한 길항작용이나 상승작용이다. 동물과 사람의 곰팡이독소중독에서 Aflatoxin의 중요성은 너무 강조해도 안되겠으나 과소평가 되어서도 안되겠다.

Aflatoxins의 피해예방책으로는 먼저 독소를 생산하는 곰팡이 발육성장을 억제하여야 하는데, 그 방법으로는 첫째 보관상의 조건으로 곰팡이 포자가 발아성장되지 않도록 고온다습한 환경이 이루어지지 않도록 사료창고의 건조와 냉각 및 환풍시설이 완비되어야 하겠다. 특히

옥외의 저장과 노천적재는 절대로 피해야 할 것이며, 외국으로 부터 수입할 때나 국내유통의 운반시에도 곰팡이가 자랄 수 없는 완벽한 시설을 갖추어야 할 것이다. 둘째 외국으로 부터 사료의 원료를 도입할 경우에는 철저한 검역을 실시하여 양질의 원료만을 수입할 것이며, 국내에서 유통하는 사료도 공공기관인 검사소의 철저한 검사를 거쳐 좋은 물품만이 가축의 사료로 이용되도록 하여야 하겠다. 셋째 이상의 조건이 완벽하지 못한 우리의 현실로는 고온다습한 하절기를 맞아 항곰팡이제제로 효과가 탁월한 Mold-X와 같은 화학제를 사료에 혼합하여 곰팡이 성장의 억제와 예방으로 사용하면 더욱 유리한 효과를 걷을 것이 분명하다.

Aflatoxin group	Molecular weight	Molecular-formula
Aflatoxin P_1	298.0477	$C_{16}H_{10}O_6$
Aflatoxin D_1	286.0841	$C_{16}H_{14}O_3$
Parasiticol(aflatoxin B_1)	302.0790	$C_{16}H_{14}O_6$
Aflatoxin B_1	312.0633	$C_{17}H_{12}O_6$
Aflatoxin Q_1	328.0582	$C_{17}H_{12}O_7$
Aflatoxin G_1	328.0582	$C_{17}H_{12}O_7$
Aflatoxin M_1	328.0582	$C_{17}H_{12}O_7$
Aflatoxin B_2	314.0790	$C_{17}H_{14}O_6$
Aflatoxicol A	314.0790	$C_{17}H_{14}O_6$
Aflatoxicol B	314.0790	$C_{17}H_{14}O_6$
Aflatoxin G_2	330.0739	$C_{17}H_{14}O_7$
Aflatoxin M_2	330.0739	$C_{17}H_{14}O_7$
Aflatoxin B_{2a}	330.0739	$C_{17}H_{14}O_7$
Aflatoxin G_{2a}	346.0688	$C_{17}H_{14}O_8$
Aflatoxicol O-ethyl etherA	342.1103	$C_{19}H_{18}O_6$
Aflatoxicol O-ethyl etherB	342.1103	$C_{19}H_{18}O_6$

Aflatoxin B_1



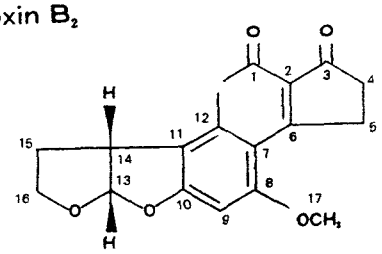
Common name : Aflatoxin B_1
Molecular weight : 312.0633
Molecular formula : $C_{17}H_{12}O_6$
General characteristics : Crystals from chloroform, mp 268° – 269℃ (dec) mp 268° – 269℃ (dec.) $[\alpha]_D$ – 480° (C=0.1 in dimethylformamide)
UVdata : λ_{max}^{EtOH} nm(ε) : 223(25, 600), 265 (13, 400 and 362(21, 800) Fluorescence emission, 425nm
Fungal source : Aspergillus flavus Link A. parasiticus Speare

〔毒性〕: Aflatoxin B_1의 피해는 동물의 종류, 연령, 性 및 영양상태 등에 의하여 다양하게 나타난다. 피해가 큰 주된 장기는 肝이며 다른장기들에도 약간의 변화를 나타낸다. Aflatoxin B_1에 의하여 발생되는 간의 病変들로는 간암과 담관증식으로서 몇몇 종류의 동물에서 나타나고 있다. 송어, 오리병아리 및 돼지와 같은 동물들은 Aflafoxin중독에 대단히 민감한데 반하여 면양이나 소와 같은 동물들은 저항력이 강하다. 쥐와 송어에서 Aflatoxin B_1은 가장 강력한 간암 발생물로 알려졌다.

1일령의 쥐에 대한 LD_{50}의 경구투여 량은 0.56mg/kg이었고, 離乳期의 쥐에서는 5.5mg/kg (숫놈)과 7.4mg/kg(암놈)이었으며 100gm의 숫쥐에서는 7.2mg/kg이었고, 150gm의 암쥐에서는 17.9mg/kg이었다. 원숭이의 LD_{50} 경구투여 량은 7.8mg/kg이었다.

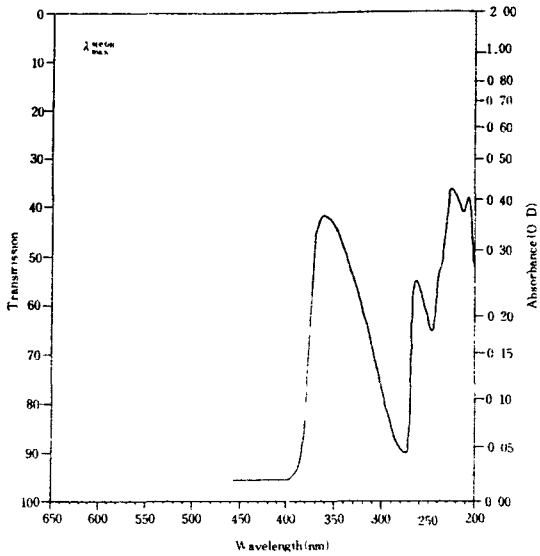
TLC data
Adsorbent : silica gel G-HR
Solvent : chloroform-acetone, 93 : 7 v/v
Rf : 0.33
Detection : bright blue fluorescence under UV *light*

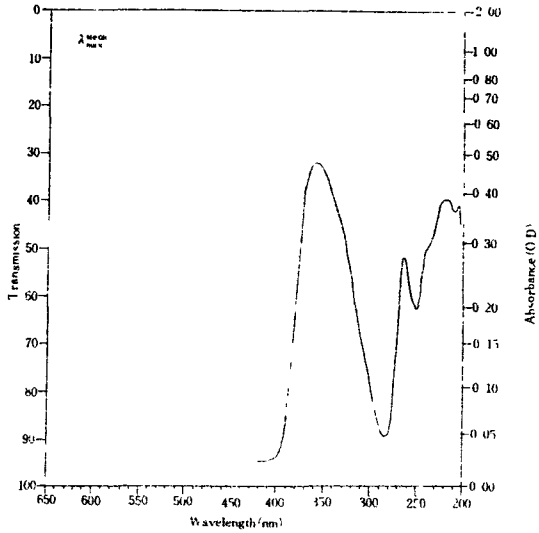
Aflatoxin B_2



Detection : bright blue fluorescence under UV *light*

0.70





Common name Aflatoxin B_2

Molecular weight : 314.0790

Molecular formula : $C_{17}H_{14}O_6$

General characteristics : Crystals from chloroform-pentane, mp 287° – 289℃ (dec.)
$[\alpha]_D$ – 430° (C = 1 in chloroform)
Crystals from chloroform, mp 305℃ (dec.)
$[\alpha]_D$ – 490° (C = 1.0 in chloroform)

UV bata : λ_{max} nm (ε) : 220 (20, 500), 265 (12, 700), and 363 (24, 000)
Fluorescence emission, 425nm

Fungal Source : Aspergillus flavus Link
Aspergillus Parasiticus Speare

〔毒性〕: Aflatoxin B_2의 독성은 Aflatoxin B_1의 독성과 비슷하나, 그 強力이 Aflatoxin B_1에 비하여 훨씬 약하다. 오리병아리에 대한 50μg Aflatoxin B_2도 3.9μg Aflatoxin B_1에 의하여발생된 담관증식의 정도와 똑 같은 병변을 나타냈다.

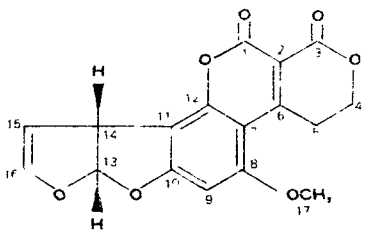
TLC data

Adsorbent : silica gel G-HR

Solvent : chloroform – acetone, 93 : 7 v/v

R_f : 0.31

Aflatoxin G_1



Common name : Aflatoxin G_1

Molecular weight : 328.0582

Molecular formula : $C_{17}H_{12}O_7$

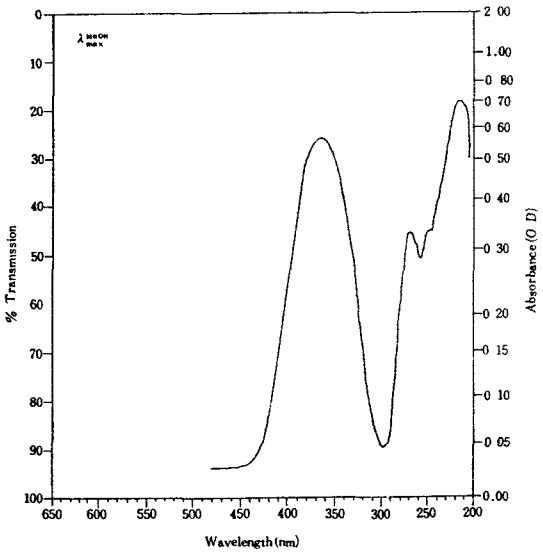
General characteristics : Crystals from chloroform–methanol, mp 244° – 246℃ (dec.)
Crystals from acetone, mp 257° – 259℃
$[\alpha]_D$ – 556° (C = 1 in chloroform)

UV data : λ_{max}^{EtOH} nm (ε) : 243 (11, 500), 257 (9, 900), 264 (10, 000), and 362 (16, 100)
Fluorescence emission, 450nm

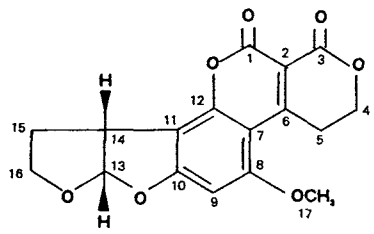
Fungal source : Aspergillus flavus Link
A. parasiticus Speare

〔毒性〕: Aflatoxin G_1의 독성은 Aflatoxin B_1의 독성과 비슷하다. 즉 급성적인 독성은 B_1보다 약하나 B_2보다는 강하다. 오리병아리에 대한 LD_{50}은 39.2μg과 45.7μg으로 0.785mg/kg에 해당하며 희석액에 따라 다르게 나타났다. 쥐에 대한 LD_{50}은 Aflatoxin B_1의 양보다 두배가 필요했다. Aflatoxin G_1에 의하여 나타낸 병변은 Aflatoxin B_1에 의하여 나타낸 소견과 똑 같았고, 쥐에서는 병변간소엽내의 부위가 B_1에 의하여 발생된 부위와 똑같았으나 그 특유한 양상은 결여되었다.

TLCdata
Adsorbent : *silica* gel G-HR
Solvent : chloroform-acetone, 93 : 7 v/v
R_f : 0.29
Detection : blue-green fluorescencgeunder UV light



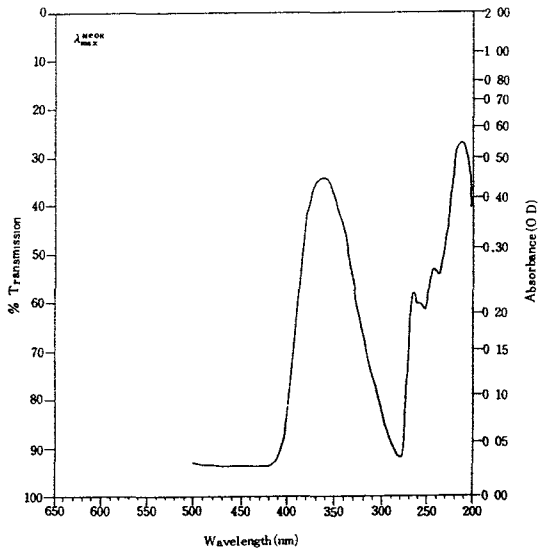
Aflatoxin G_2



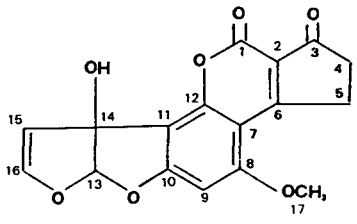
Common name : Aflatoxin G_2
Molecular weight : 330.0739
Molecular formula : $C_{17}H_{14}O_7$
General characteristics : Crystals from ethyl acetate, mp 230°cc [d] D−454°cc 1.0 chloroform)
UVdata : λ_{max}nm (ϵ) : 217 (217 (28, 000), 245 (12, 900), 265 (11, 200), and 365 (19, 300)
Fluorescence emission, 450 nm
Fungal source Aspergillus flavus Link
A. parasiticus Speare

〔毒性〕: Aflatoxin G_2는 자연적으로 생산되는 4가지 Aflatoxin중 급성적인 독성이 제일 약하다. 오리병아리에 대한 LD_{50}은 6일의 시험기간동안에 172.5μg이었다.

TLCdata
Adsorbent : silica gel G-HR
Solvent : chloroform−acetone, 93 : 7v/v
R_f : 0.27
Detection : blue-green fluorescence under UV light



Aflatoxin M_1



Common name : Aflatoxin M_1

Molecular weight : 328.0582

Molecular formula : $C_{17}H_{12}O_7$

General characteristics : Crystals from methanol, mp 299℃ (dec.)
$[\alpha]_D - 280°$ (C=0.1 in dimethylformamide)

UV data : λ_{max}^{EtOH} nm (ε) : 226 (23, 100), 265 (11, 600), and 357 (19, 000)

Fungal source : Aspergillus flavus Link (NRRL3251)
A. parasiticus Speare

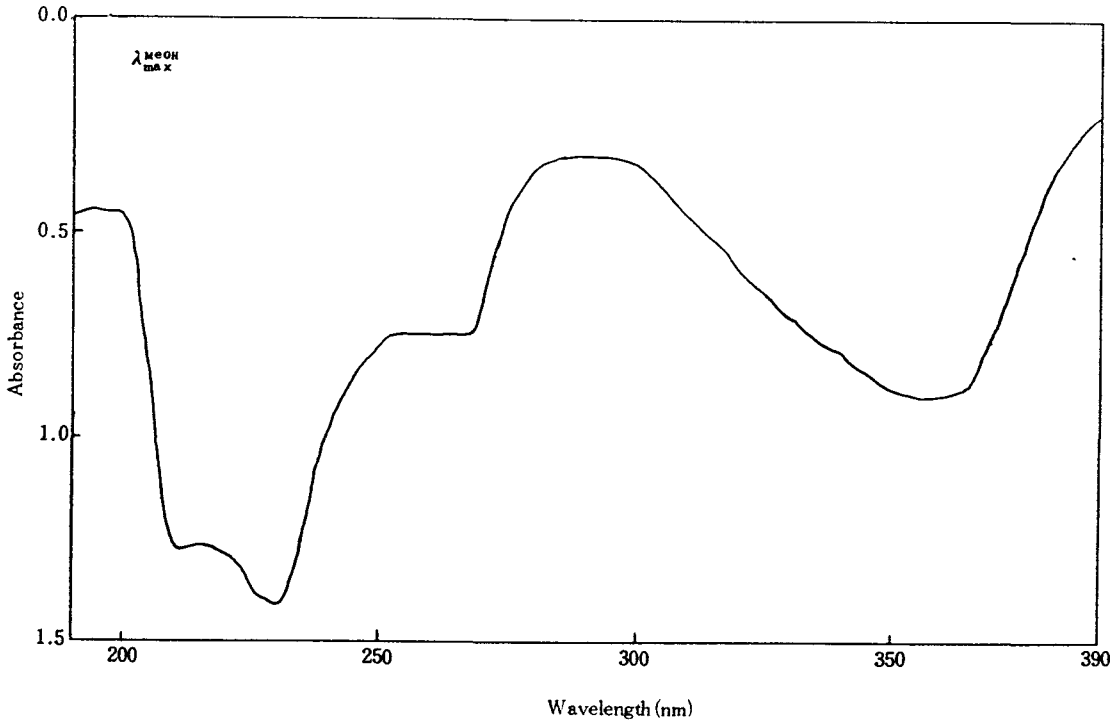
Other Source : Aflatoxin M_1은 Aflatoxin B_1을 섭취한 동물들의 우유가 오줌에 배설된다. Aflatoxin B_1이 M_1으로 전환되는 장기는 분명히 肝이다.

〔毒性〕 1일령의 오리병아리에 대한 Aflatoxin M_1의 LD_{50}은 16.6μg으로 Aflatoxin B_1의 12μg과 큰 차이가 없다.

Aflatoxin M_1을 투여한 오리병아리들은 Aflatoxin B_1에 의하여 발생된 병변들과 구별되지 않는 간의 병변을 나타냈다. 그러나 Aflatoxin M_1은 B_1이 나타내지않는 신장의 細尿管壞死를 나타냈다.

송어와 쥐에서 Aflatoxin M_1은 간암을 일으키는데 B_1보다 훨씬 약하였다.

TLC data A
Adsorbent : Kieselgel G
Solvent : chloroform – methanol, 97.3v/v
R_f : 0.34
Detection : blue fluorescence under long wave UV light



TLC date B

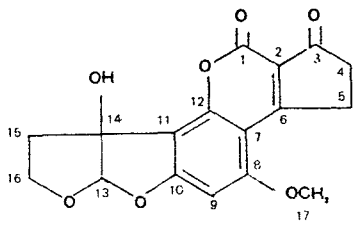
Adsorbent :Adsorbosil-1

Solvent : isopropyl alcohol-acetone-chloroform, 5 : 10 : 85 v/v/v

R_f : 0.46

Detection : blue fluorescence under long wave UV light

Aflatoxin M_2



Common name	: Aflatoxin M_2
Molecular weight	: 330.0739
Molecular formula	: $C_{17}H_{14}O_7$
General charcteristics	: Crystals from methanol -chloroform, mp 293℃ (dec.)
UVdata	: λ_{max}^{EtOH} nm(ε) : 221(20, 000), 264(10, 900), and 357(21, 000)
IR data	: $\lambda_{max}^{CHCl_3}$ cm^{-1} : 3350, 1760, and 1690
Fungal source	: Aspergillus flavus Link A. Parasiticus Speare

Other Source : Aflatoxin M_2는 Aflatoxins를 혼합한 사료를 섭취한 동물의 우유와 오줌에서 배설되었다.

〔毒性〕: 1일령의 오리병아리에 대한 Aflatoxin M_2의 LD_{50}은 62μg으로 Aflatoxin B_1의 12μg에 비하여 상당한 차이가 나타나며 약하다.

TLCdata

Adsorbent : Adsorbosil-1 silica gel

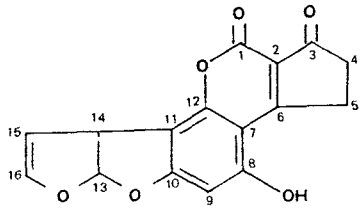
Solvent : isopropyl alcohol-acetone-chloroform. 5 : 10 : 85 v/v/v

R_f : 0.42

Detection : blue fluorescence under UV light

NOTE : For detailed discussion of TLC of aflatoxin M_1 and M_2, see Asao et al.

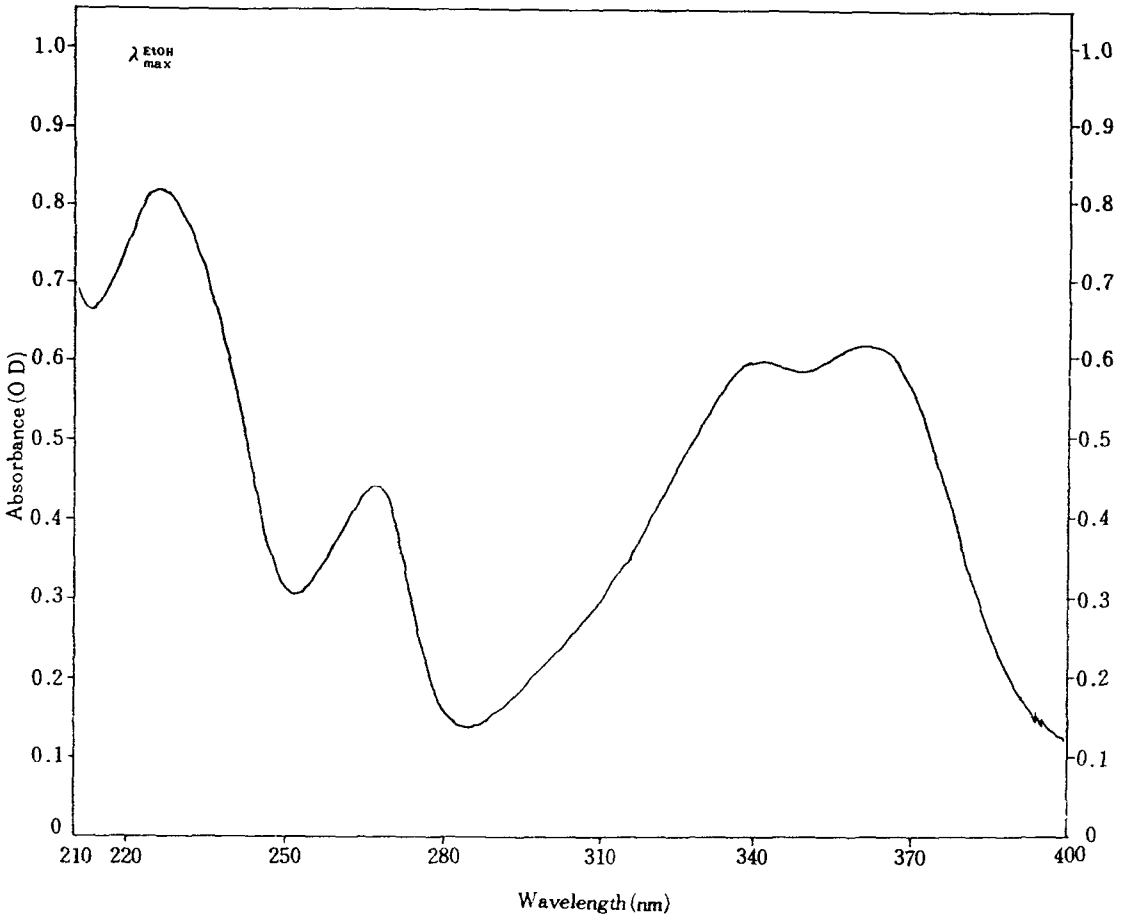
Aflatoxin P_1



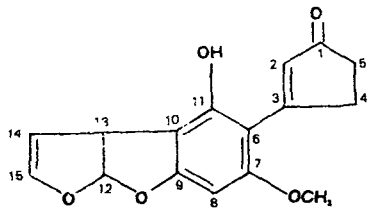
Common name	: Aflatoxin P_1
Molecular weight	: 298.0477
Molecular formula	: $C_{16}H_{10}O_6$
General characteristics	: Pale yellow needles from methanol-benzene-hexane, mp >320℃ $[\alpha]_D^{20} - 574°$ (C=0.08 in methanol)
UVdata	: λ_{max}^{EtOH} nm(ε) : 226(20, 400), 267(11, 200), 342(14, 900), 362(15, 400), and 425(2,500)

〔発生〕: Aflatoxin P_1은 북인도산 원숭이인 rhesus monky에서 나타나는 Aflatoxin B_1에 의한 비뇨기의 주요한 대사산물로서 오줌내에 단독으로서(3%), Sulfate 형태로서(10%), 그리고 glucuronide(50%) 형태로 나타난다.

〔毒性〕: 마우스에 생물학적 정량을 복강내로 주입한 결과 Aflatoxin P_1은 Aflatoxin B_1보다는 비교적 적은 독성을 나타낸다. 100mg/kg의 투여량에서 사망수는 전혀 없었고 150mg/kg의 투여량에서는 15마리 중에서 중에서 2마리가 사망했으나 200mg/kg의 투여량에서는 전혀 사망수가 없었다. 동일한 방법에 의한 Aflatoxin B_1의 LD_{50}은 9.5mg/kg이었다.



Aflatoxin D_1



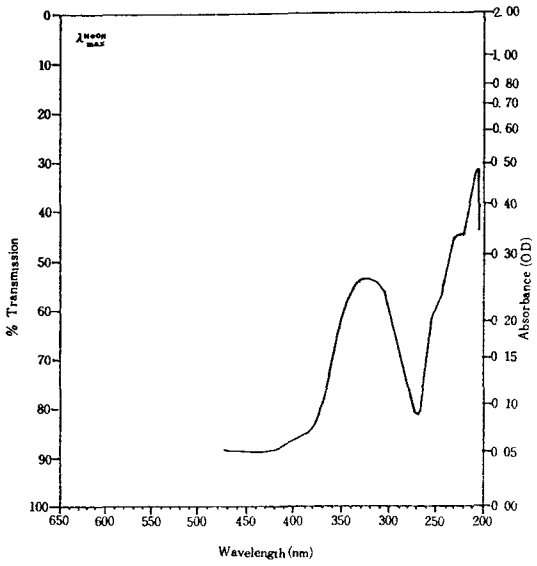
Common name : Aflatoxin D_1
Molecular weight : 286.0841
Molecular formula : $C_{16}H_{14}O_5$

General characteristics : Sublimed without melting at 220° – 290℃ ; *in* sealed tube crystals decomposed without melting at 255° – 258℃.
Forms acetate derivative, mp 155° – 157℃

UVdata : λ_{max}^{MeOH} nm (ε) : 227 (20, 792) and 324 (17, 074) [corrected from 227 (15, 920) and 324 (12, 440)]

〔発生〕: 加圧, 100℃인 상태하에서 Aflatoxin B_1이 ammonium hydroxide와 반응할 때 생성되는 중요산물이다.

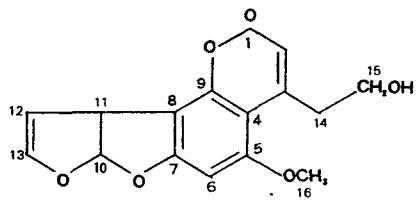
〔毒性〕: 특별한 독성은 알려져 있지 않으나 알칼리성용액에서 생성되는 비형광성물질은 강한 독성을 지니고 있는 것으로 알려져 있다.



TLCdata

Adsorbent : silica gel
Solvent : chloroform-acetone, 95 : 5v/v
R_f : 0.31
Detection : turns gray-brown after spraying with 10% $FeCl_3$; orange-yellow with 2,4- dinitrophenylhydrazine
Acetate R_f : 0.78

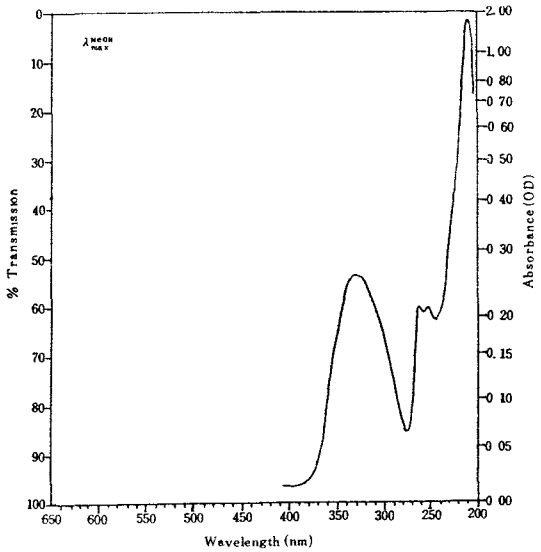
Parasiticol (Aflatoxin B_3)



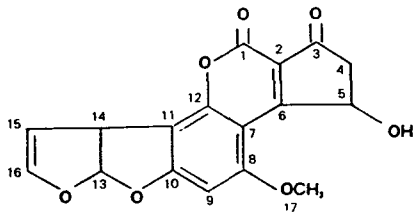
Common name : Parasticol (Aflatoxin B_3)
Molecular weight : 302.0790
Molecular formula: $C_{16}H_{14}O_6$ *weight*
General Characteristics : Crystals from chloroform. mp 217℃
UV bata : λ_{max}^{MeOH} nm (ε): 229 (sh) (10.000), 253 (7.300) 262 (7.550) and 326 (9.350)
λ_{max}^{MeOH} nm (ε): 225 (sh) (12.600), 253 (6.800) 262 (7.400) and 325 (9,700)
Fungal source : Aspergillus flavus Link
A. parasiticus Speare

parasiticol은 A. flavus와 A. parasiticus를 오랫동안 배양하였을 때 훨씬 두드러지게 나타난다. 이는 Aflatoxin G_1의 생물학적퇴화의 첫단계로 생각되며 Rhizopus種에 의해서 Aflatoxin G_1이 생물학적 퇴화를 할 때에 발생하는 중간생성물인 것으로 보고되어진 바 있다.

〔毒性〕: parasiticol은 오리병아리에서 Aflatoxin B_1과 같은 정도의 급성독성을 가지나 담관증식을 유발하는 일은 거의 없다. parasiticol은 鷄胎児内 연구에서 B_1의 1/100 정도의 독성을 가지고 있는 것으로 밝혀졌다.



Aflatoxin Q_1



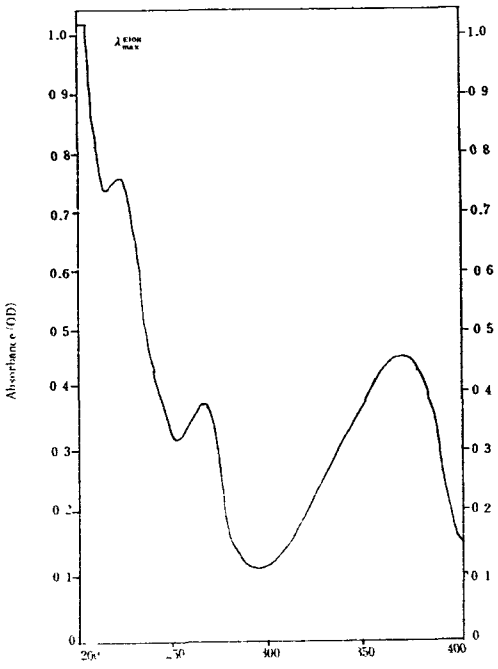
Common name : Aflatoxin Q_1
Molecular weight : 328.0582
Molecula formula : $C_{17}H_{12}O_7$
General characteristics : Colorless needles from methanol – chloroform or hot acetonitrile, mp 295℃ (dec.)
Crystals from chloroform – hexane, mp 266℃ (dec.)
UV data : λ_{max}^{MeOH} nm (ε) : 366 (17.500), 267 (11.450), and 223 (19,030)
λ_{max}^{MeOH} nm (ε) : 365 (18,800), 266 (11,700), 242 (sh) (10,000) and 224 (20,500)

〔発生〕: Aflatoxin Q_1은 원숭이와 쥐 그리고 사람의 간에서 Aflatoxin B_1의 대사작용에 의해서 생기는 주요한 대사산물이다. (시험관내 시험)

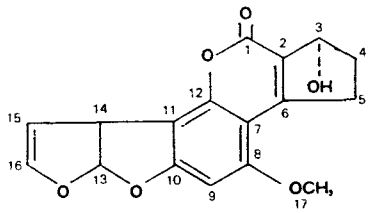
〔毒性〕: Aflatoxin Q_1은 기공내접종에 의한 鷄胎児内 시험에서 Aflatoxin B_1보다는 18배 정도 독성이 약하다. 好染性이거나 好染性이 아닌 Salmonella Typhimuium TA1538을 사용한 세균특이성 검사에서 별다른 특이 반응은 없었다.

TLCdata A
Adsorbent : Adsorbosil-1 silica gel
Solvent : chloroform-acetone-n-hexane. 88 : 15 : 20v/v/v
R_f : 0.23
Detection : intense yellow-green fluorescence under UV light

TLC data B
Adsorbent : silica gel
Solvent : chloroform-methanol, 20 : 1v/v
R_f : 0.25
Detection : yellow fluorescence in 350 nm UV light



Aflatoxin B



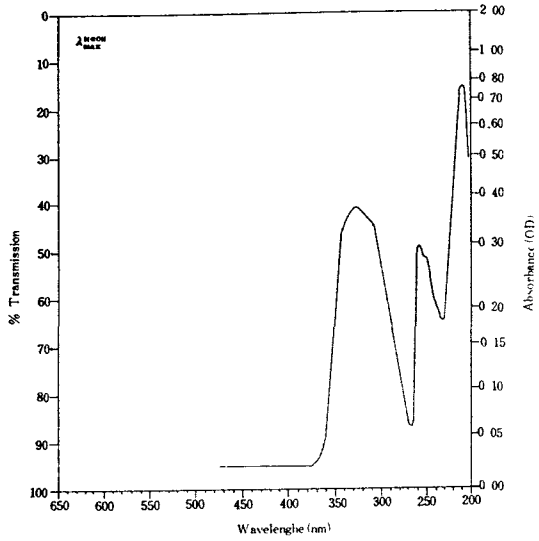
Common name : Aflatoxicol B
Molecular weight : 314.0790
Molecular formula : $C_{17}H_{14}O_6$
General characteristics : Crystals from benzene-n-hexane, decomposed over broad range, starting at 233℃
UVdata : λ_{max}^{EtOH} nm (ε) : 325 (14,100), 261 (10,800), and 254 (6,790)

〔発生〕: Aflatoxicol B는 Rhizopus種과, Dactylium dendroides, tetrahymena pyriformis, 와 다른 미생물들에 의하여 Aflatoxin B_1이 생물학적인 환원을 일으킬 때 얻어진다.

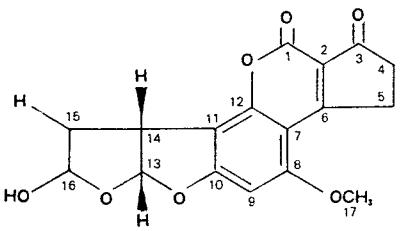
〔毒性〕: 생물학적 활성은 알려져 있지 않다.

TLCdata

Adsorbent : silica gel G-HR
Solvent : chloroform- acetone, 93 : 7v/v
R_f : 0.26
Detection : blue fluorescence under UV light



Aflatoxin B_{2a}



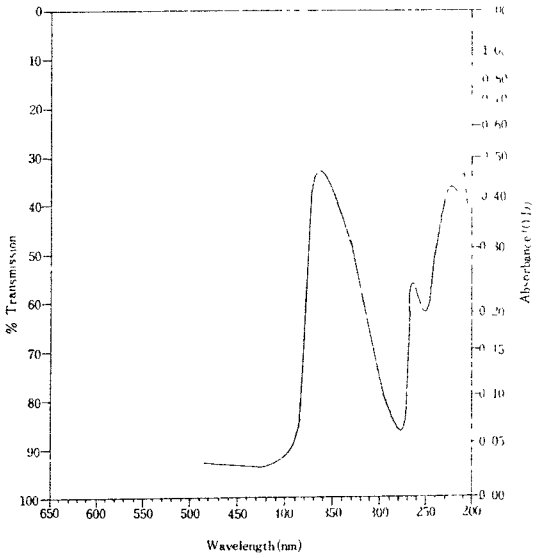
Common name : Aflatoxin B_{2a}
Molecular weight : 330.0739
Molecular formula : $C_{17}H_{14}O_7$
General characteristics : mp240℃ (dec.)
NOTE : For isolation and characteristics of aflatoxin M_{2a} and GM_{2a}, see Holzapfel *et al.*[31]
UVdata : λ_{max}^{MeOH} nm (ε) : 228 (17, 600), 256 (10, 300), and 363 (20, 400)

Fungal source : *Aspergillus flavus* Link
A. parasiticus Speare

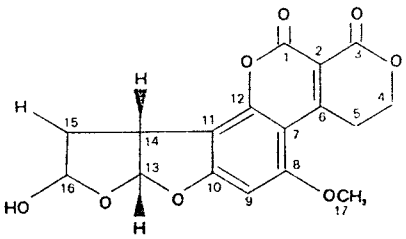
Other Source : 몇몇 동물들에서 해독작용기전 중에 간장에 의한 Aflatoxin B_1의 생물학적전환산물이기도 하다.

〔毒性〕 : 실험용 오리병아리에 있어서 담관증식의 초기에 측정한 것에 의하면 Aflatoxin B_{2a}는 Aflatoxin B_1보다는 200배이상 독성이 약하다. 1 일령의 Khaki Camball 오리병아리들에게 오리병아리마리당 1,200μg수준까지 투여했을 경우에도 급성독성은 발견되지 않았다.

TLCdata
Adsorbent : Kieselgel G
Solvent : chloroform-methanol, 98 : 2v/v
R_f : 0.13
Detection : blue fluorescence under UV light



Aflatoxin G_{2a}



Common name : Aflatoxin G_{2a}
Molecular weight : 346.0688
Molecular formula : $C_{17}H_{14}O_8$
General characteristics : mp 190℃ (dec)

UVdata : λ_{max}^{MeOH} nm (ε) : 223 (18, 600), 242 (10, 000), 262 (8,700), and 365 (18, 000)

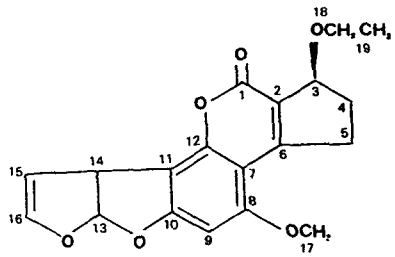
Fungal source : *Aspergillus flavus* Link
A. parasiticus Speare

Other Source : 해독작용기전중에 Aflatoxin G_1을 섭취한 어떤 동물의 간장에서 생성되는 것으로 생각된다.

〔毒性〕: 오리병아리 마리당 1,600μg을 투여한 1일령의 Khaki Camball오리병아리에게 있어서 성장의 특별한 변화도 없었고 간장에도 특이한 병변이 보이지 않았다. (동일한 방법의 분석에서 Aflatoxin B_1의 LD_{50}은 오리병아리 마리당 18.2μg이었다)

TLC data
Adsorbent : Kieselgel G
Solvent : chloroform-methanol, 98 : 2v/v
R_f : 0.10
Detection : blue fluorescence under UV light

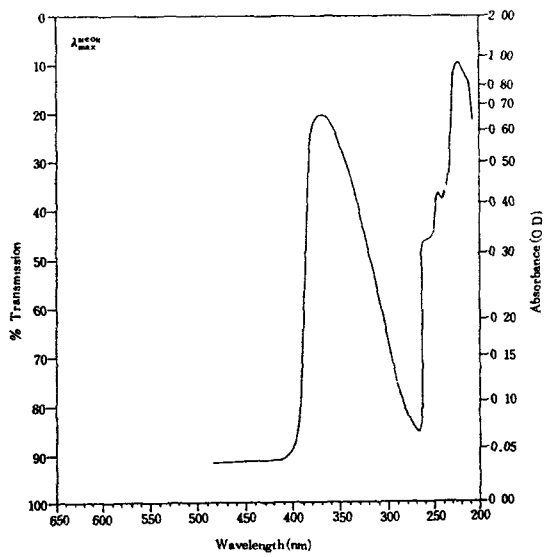
Aflatoxicol O-ethyl ether A

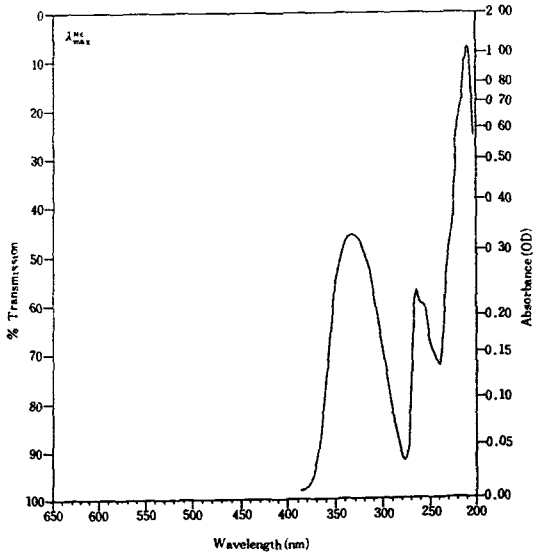


Common name : Aflatoxicol O-ethyl ether A
Molecular weight : 342.1103
Molecular formula : $C_{19}H_{18}O_6$
General characteistics : Colorless crystals from ethanol solution, mp 198° – 200℃
UVdata : λ_{max}^{EtOH} nm (ε) : 332 (14, 200), 261 (9, 660), and 255 (8, 830)

〔発生〕: Silica gel column Chromatography에서 추출용매로서 chloroform (ethanol에 보존)을 사용하는 동안 Aflatoxicol A에서 자연적으로 생성된다.

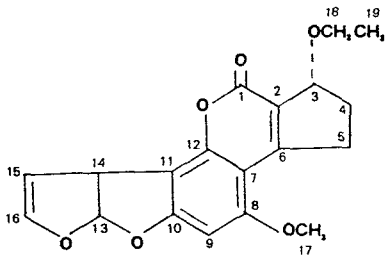
〔毒性〕: 독성은 알려져 있지 않다.





TLCdata
Adsorbent : silica gel G-HR
Solvent : chloroform-acetone, 93 : 7v/v
R_f : 0.81
Detection : blue fluorescence under UV light

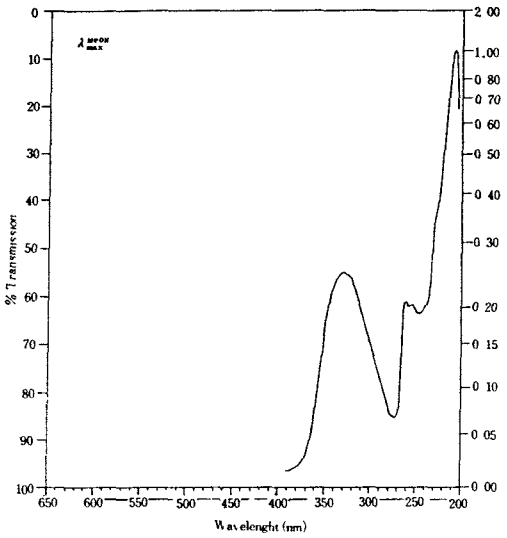
Aflatoxicol O-ethyl ether B



Common name : Aflatoxicol O-ethyl ether B
Molecular weight : 342.1103
Molecular formula : $C_{19}H_{18}O_6$
General characteristics : Colorless crystals from ethanol solution, mp 194° – 196℃
UVdata : λ_{max}^{EtOH} nm (ε) : 331 (15, 750), 261 (12, 280), and 255 (11, 170)

〔発性〕: Silica gel column chromatograph 에서 추출용매로서 chloroform (ethanol에 보존)을 사용하는 동안 Aflatoxicol A에서 자연적으로 생성된다.

〔毒性〕: 독성은 알려져 있지 않다.



TLC data
Adsorbent : silica gel G-HR
Solvent : chloroform-acetone, 93 : 7v/v
R_f : 0.73
Detection . blue fluorescence under UV light