

A. HUMAN AND NUTRITIONAL ASPECTS

A. MENSLIKE- EN VOEDINGSASPEKTE

GIFTIGE SKIMMELMETABOLIETE

K. J. VAN DER MERWE, DR. RER NAT. GÖTTINGEN, *Nasionale Chemiese Navorsingslaboratorium, Pretoria*

Alhoewel dit reeds vir meer as 70 jaar bekend is dat skimmels tot die vorming van giftige metaboliete in staat is, was die verband tussen hierdie gifstowwe en sekere siekteverskynsels, met die enkele uitsondering van ergotisme, in die algemeen nie erken nie. Dit is vandag moeilik om te verklaar dat, nieteenstaande die ontdekking van 'n groot aantal antibiotika uit skimmels, geen sistematiese ondersoek na die effek van skimmelmetaboliete op die gesondheid van hoër organismes uitgevoer is nie.

Die onlangse ontdekking van die aflatoksienprobleem en die besef dat daar in alle waarskynlikheid ander giftige skimmelmetaboliete van vergelykbare belangrikheid mag bestaan, het nie alleen wêreldwye belangstelling vir die probleem van mikotoksikose uitgelok nie, maar het tot 'n grootskaalse soektog na nuwe giftige skimmelmetaboliete gelei. Voor 'n bespreking van werk wat in hierdie verband aan die Nasionale Chemiese Navorsingslaboratorium gedoen word, is dit wenslik om enkele chemiese aspekte van mikotoksikoses, wat by 'n sodanige ondersoek van belang is, aan te dui.

Chemiese Strukture

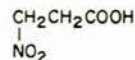
Die chemiese strukture van 'n aantal bekende mikotoksien word in Afb. 1 weergegee. Dit wissel van relatief eenvoudige stowwe soos die oksalaat-ioon (volgens literatuur, o.a. vir die giftigheid van *Aspergillus niger* verantwoordelik) en β -nitropropioonsuur ('n kankerverwekkende gifstof wat deur verskillende skimmels gevorm word) tot ingewikkelde molekule soos byssochlamieensuur en die peptied-agtige islanditoksien. Byssochlamieensuur, wat 'n relatief ongewone negelid ring en twee anhidried groeperings bevat, word deur die skimmel *Paecilomyces varioti* gevorm en staan in verband met sg. haemorrhagiese siekte by kuikens. Islanditoksien is 'n kankerverwekkende stof

wat deur die skimmel *Penicillium islandicum* gevorm word en hoofsaaklik vir die giftigheid van sg. Islandia geel rys in Japan verantwoordelik is. Drie van die boustone in hierdie molekule is van 'n baie buitengewone aard. Behandeling met 'n baie verdunde ammoniak oplossing verwyder die chloor atome en onttreem die stof sy giftigheid.

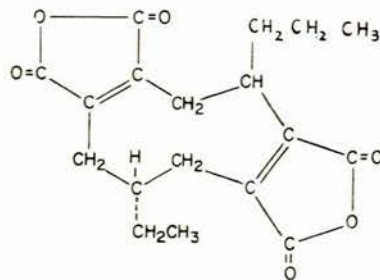
Verdere voorbeelde word in Afb. 2 uitgebeeld. Sporidemin, 'n ingewikkelde organiese molekule wat beide chloor en swavel bevat, is 'n hepatotoksiese metaboliet wat deur



Oksalaat
(*Aspergillus niger*)



β -nitro-propioonsuur



Byssochlamieensuur

L-seriel-L-seriel-L-dichloropropiel- β -feniel- β -aminopropioniel-L- α -aminobottersuur anhidried.

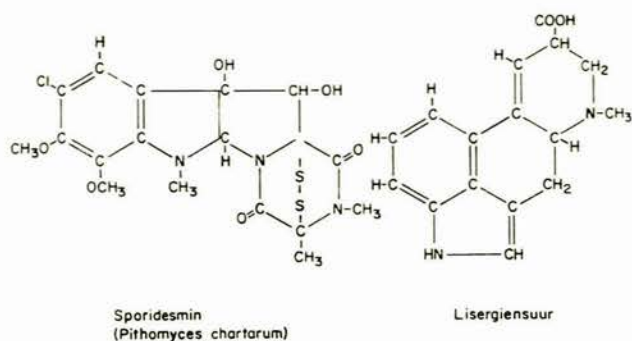
Islanditoksien
(*Penicillium islandicum*)

Afb. 1

die skimmel *Pithomyces chartarum* gevorm word en vir die voorkoms van sg. 'facial eczema' onder skape in Nieu-Seeland verantwoordelik is. Een van die beter bekende voorbeelde van mikotoksikoses onder mense is ergotisme,

gevind dat geen van hierdie gifstowwe by gewone kamer-temperatuur gevorm word nie, maar wel wanneer die skimmel by lae temperature, veral rondom 0°C groei. Van dié gifstowwe is so stabiel dat dit na 6 jaar nog in opgebergde graan voorkom en ook nie tydens die bak van brood vernietig word nie.

Nog 'n voorbeeld word in Afb. 4 aangetoon. Dikumarien



Afb. 2

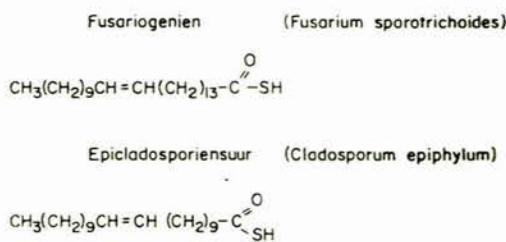
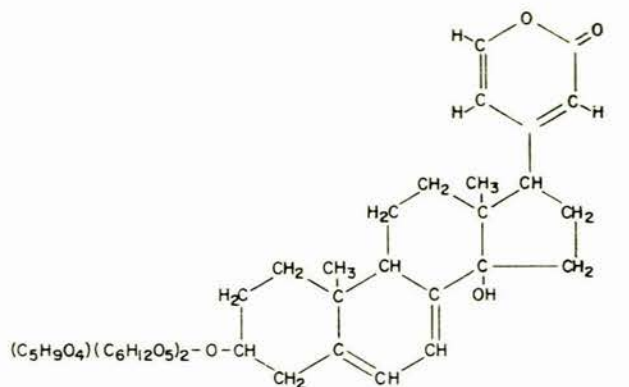
'n toestand wat sporadies in Sentraal en Noord-Europa aangetref is en nog so onlangs as 1953 as 'n epidemie in Frankryk gerapporteer is. Dit volg op die gebruik van brood berei uit rog waarop die skimmel *Claviceps purpurea* voorkom. Die aktiewe komponente is alkaliede wat afgelei kan word van die basiese skelet lisergiensuur.

Hierdie voorbeelde toon dat mikotoksene nie tot enige bepaalde klas van organiese verbindings behoort nie, maar chemies grootliks van mekaar kan verskil. Dit verklaar nie alleen gedeeltelik die uiteenlopende aard van siekteverksynsels wat hul veroorsaak nie, maar maak dit onmoontlik om in die geval van 'n onbekende mikotoksien vooraf die geskikste isolasieprosedure te bepaal. Sodanige metode kan slegs uit 'n sistematiese ondersoek, waarin elke stap van skeiding met behulp van giftigheidsproewe gevolg word, verkry word.

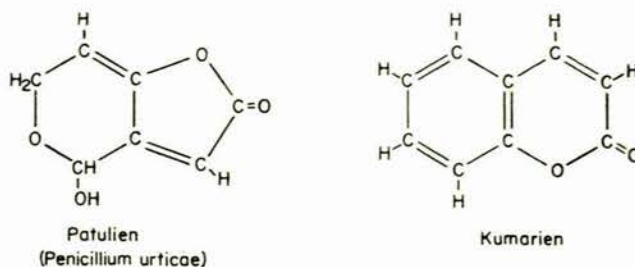
Die konsentrasie waarin mikotoksene op skimmelbesmette voedsel aangetref word, is gewoonlik in die orde van een deel per miljoen en laer. Alhoewel dit vandag met behulp van moderne chromatografiese skeidingsmetodes moontlik is om die gifstof selfs by hierdie groot verdunning te isoleer, is die opbrengs uit hierdie bron gewoonlik ontoereikend vir 'n uitgebreide chemiese en toksikologiese ondersoek. Daar word dus in die reël gepoog om reeds op 'n vroeë stadium van die ondersoek verskimmelde materiaal van 'n hoër giftigheid met behulp van suiwer skimmelkulture in die laboratorium te berei. By sodanige stap moet egter in gedagte gehou word dat die veranderde toestande, waaronder die skimmel in die laboratorium gekweek word, gifstofproduksie in sommige gevalle sterk kan beïnvloed.

Omgewingsfaktore

Die invloed van omgewingsfaktore op gifstofproduksie word duidelik in geval van die sg. 'alimentary toxic aleukia' geïllustreer. Hierdie siekte, wat veral tussen 1942 en 1947 onder mense in Rusland voorgekom het, het sy toppunt in 1944 bereik toe dit in sekere dele van die Orenburg distrik vir sterfte van meer as 10% van die bevolking verantwoordelik was. Dit volg op die gebruik van brood berei uit graan wat geruime tyd deur sneeu bedek was en deur die skimmels *Fusarium sporotrichoides*, *Cladosporum epiphyllum* en *Cladosporum fagi* besmet is. Die gifstowwe wat dié siekte veroorsaak, word in Afb. 3 aangetoon. Dit is



Afb. 3



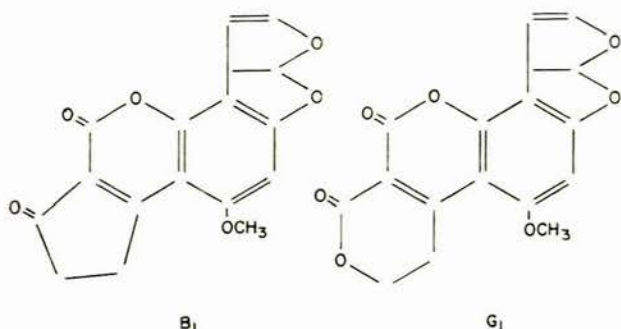
Afb. 4

is die mikotoksien wat vir die sg. haemorrhagiese soetklawer vergiftiging onder beeste verantwoordelik is. Dit word deur 'n *Aspergillus* uit kumarien gevorm, 'n stof wat in die klawer self voorkom. Daar die skimmel self geen

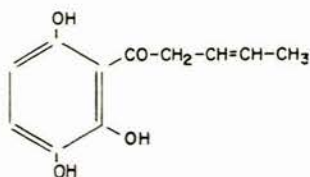
kumarien kan sintetiseer nie, is mikotoksienproduksie streng van die teenwoordigheid van kumarien in die voedingsmedium afhanklik.

Die giftigheid van mikotoksiene is nie noodwendig altyd tot mens en dier beperk nie, maar affekteer soms ook die

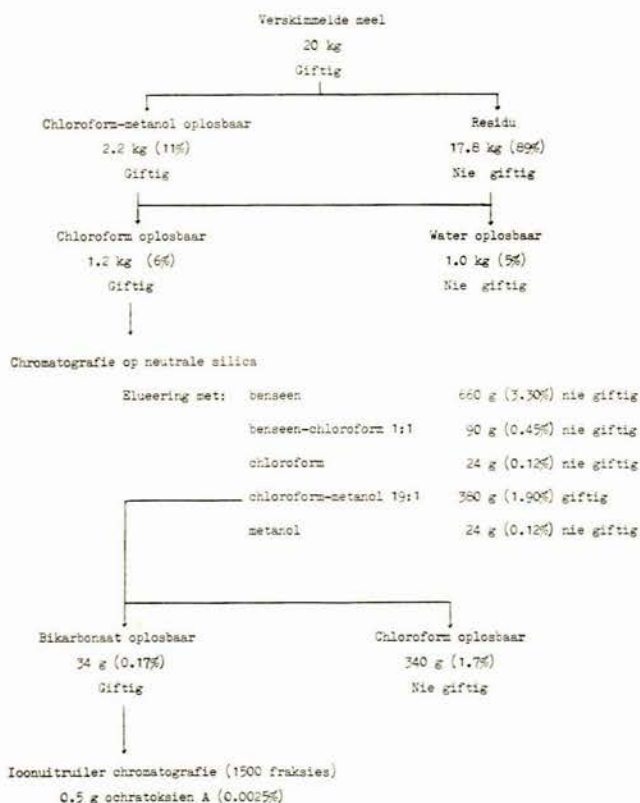
Die Aflatoksieni



Aspergilliensuur
Flavisien
Oksaalsuur
Kojiensuur

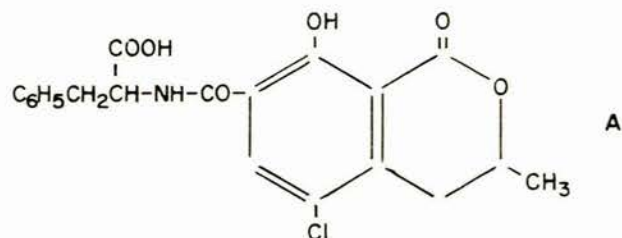


Maltoryzien
(*Aspergillus oryzae* var. *microsporus*)
Afb. 5

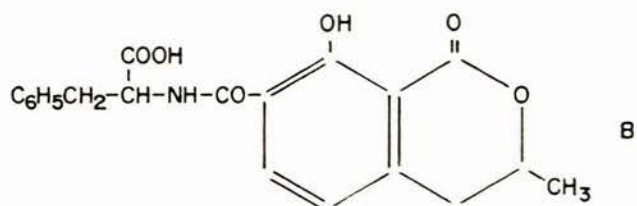


Afb. 6

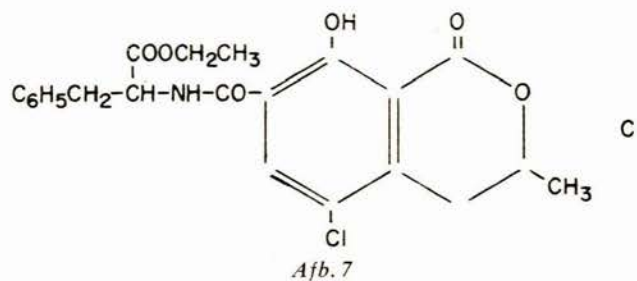
Die Ochratoksieni



A



B



C

Afb. 7

groei van mikroorganismes of plante. Dit word weerspieël in die feit dat sekere antibioties-aktiewe stowwe, wat gedurende die soektog na antibiotika gevind en as te giftig bewys is, vandag van ons bekende mikotoksieni is. 'n Enkele voorbeeld hiervan is patulien (Afb. 4), 'n bekende antibioties-aktiewe metaboliet uit *Penicillium urticae* wat verantwoordelik is vir moutvoervergiftiging by beeste.

Daar moet egter onthou word dat 'giftige' antibioties-aktiewe metaboliete en 'giftige' phytotoksieni in 'n ander verband geïsoleer is en dus nie noodwendig altyd met betrekking tot mikotoksikose van groot belang hoef te wees nie. Sekere skimmels is naamlik in staat om meer as een gifstof te sintetiseer, soos duidelik in die geval van *Aspergillus flavus* geïllustreer kan word (Afb. 5). Die belangrikheid, wat elkeen van hierdie stowwe met betrekking tot mikotoksikose besit, hang van die relatiewe hoeveelhede waarin hul voorkom en hul relatiewe giftigheid af.

Aspergillus ochraceus is 'n skimmel wat wyd versprei in die natuur voorkom en waarvan die giftigheid onlangs deur die Mikrobiologiese Navorsingsgroep van die WNNR aangetoon is. *Aspergillus ochraceus* maak 'n deel uit van

die mikroflora van 'katsuo bushi' en ander gefermenteerde vispreparate wat in die Verre Ooste gebruik word, terwyl sy vermoë om 'n gewenste geurverandering tydens die fermentering van koffie te bewerkstellig, deur 'n patent gedek word. Daar is aan die einde van 1963 aan die Nasionale Chemiese Navorsingslaboratorium van die WNNR met 'n chemiese ondersoek na giftige skimmel-metaboliete uit hierdie skimmel begin.

'n Giftige stam van die skimmel is op groot skaal in die laboratorium op gesteriliseerde meliemeel gekweek, en die ekstraksieprosedure en fraksioneringsmetodes wat aangevend is om die gifstof suiwer te isoleer, word in Afb. 6 opgesom. Giftigheidsproewe, wat beide kwalitatief en semi-kwantitatief van aard is, is na elke stap gebruik om die suiwing van die gifstof te volg en seker te maak dat die aktiewe komponent nie gedurende hierdie behandeling ontbind nie. Dit kon uiteindelik aangetoon word dat slegs een metaboliet, waaraan die naam ochratoksien A toegeken is, vir die giftigheid van hierdie skimmel verantwoordelik is.

In Afb. 7 word die chemiese strukture van ochratoksien A en twee nuwe-komponente, ochratoksiene B en C, aangegee, wat onlangs veral met behulp van fisiese-chemiese metodes soos massaspektrometrie, kernmagnetiese resonans, infrarooi- en ultravioletspektroskopie alhier opgeklaar is. Slegs ochratoksien A is giftig en sy toksikologiese aspekte is reeds deur dr. Theron behandel. Die strukture van ochratoksiene B en C toon dat die verwydering van chloor of die verestering van die karboksielgroep ochratoksien A sy giftigheid ontnem.

SUMMARY

Certain chemical aspects connected with the problem of mycotoxicosis are discussed. As a result of the discovery of the aflatoxins, a group of carcinogenic hepatotoxins produced by the fungus *Aspergillus flavus*, several research groups are now carrying out an extensive search for new toxic fungal metabolites. A short summary is given of the toxic fungal metabolites which are known today and of work being carried out in this connection at the National Chemical Research Laboratory of the CSIR.