

黃麴毒素對雞隻營養分吸收代謝之影響

鄭永祥

一.前言：

台灣每年自美國進口大批穀物，其數量高達 818萬公噸；穀物自收穫、船運、裝卸至製成飼料，往往耗時數月，期間之倉貯條件影物之品質；且本省地處熱帶與亞熱帶，常年高溫多雨，極利於黴菌之繁衍。因此黴菌毒素污染也成為台灣養雞業及飼料製造業者所高度關注。黃麴毒素 (Aflatoxin) 是由 *Aspergillus flavus* 及 *Aspergillus parasiticus* 所產生的黴菌毒素代謝產物，被認為具有潛在性的肝毒害 (Hepatxoin) 及致癌物 (Carcinogen)。典型之黃麴毒素中毒症狀有嗜眠、垂翼、體溫上升和神經症狀。造成雞隻生長性能及飼料利用效率降低，胰臟消化酵素活性減低免疫能力減弱，血液凝固延遲，肝臟腫大及脂肪移動 (Mobilized) 失調等諸多毒害作用；對畜禽業者造成莫大的經濟損失。

二.黃麴毒素之生合成：

黃麴毒素為一族相似，自然存在之 喃氧雜奈鄰酮類 (Furanocoumarins)，這些化合物可在食物中黃綠色黴菌 *Aspergillus flavus* 及 *Aspergillus parasiticus* 之生長而發現，所有之黃麴毒素化合物均具螢光性；可用長波長紫外線加以觀察。

黃麴毒素之生合成；已藉由利用 1-C¹⁴ 或 2-C¹⁴；之 acetate 及 methyl-C¹⁴ methionine 之同位素追蹤方法研究其合成途徑；並加以證實。

圖 1 即為 Aflatoxin B₁ 之生合成徑路。利用能阻止 AFB₁ 形成之產黃麴毒素變異株及形成其他一般代謝性之非產黃麴毒素菌種已可證明此生合成徑路中之各中間產物。例如，使用 *A. parasiticus* 變異株，得知 averantin 為 AFB₁ 之前驅物質，其位於 averufin 之前而在 norsolorine 之後。而 versiconal acetate 為 AFB₁ 之生合成主要中間物，Versiconal acetate 經

National Chung Hsing University

酵素作用變成Verscolorin A。Sterigmatocystin為最後中間產物。

AFB1及AFG1之構造由Asao於1970年應用x-ray證實其為 dihydrofuran環加以融合成順式(cis)構形。AFB1之合成有不同之方式。AFB2及AFG2可由AFB1及AFG1之 dihydrofuran環端還原而成。

Lee等發現在黃麴菌之基礎培養基中若有鋅之存在時；其生長與產毒量均顯著增加。Gupta與Venkitasubramanian利用放射性元素研究黃麴毒素之合成。發現硫酸鋅濃度在10mM時產毒量最高。而植酸(Phytic acid)則有抑制作用。此乃為何大豆污染黃麴毒素情形並不嚴重的原因；因大豆內含有植酸，鋅與植酸結合而失去作用所致。Gupta亦指出在鋅存在時，hexokinase, G-6-P dehydrogenase, aldolase, Pyruvate kinase及Glycer-aldehyde-3-phosphate dehydrogenase等醣解酵素活性增高；合成黃麴毒素之前驅物因而增加。

Maggon, 1977指出黃麴菌開始生長時，初級代謝即開始進行，此時僅有少量之黃麴毒素，後因磷、氮等初級代謝中所需之養分用罄；生長逐漸受阻；初級代謝物於是累積，如Pyruvate, Malonate, actate和各種胺基酸代謝物；引發次級代謝所需之酵素活性，次級代謝作用於焉開始，此時polyketide生合成代謝路徑(Polyketide biosynthetic pathway)超過脂肪酸的生合成代謝；促進Aflatoxin的生合成。

三.黃麴毒素之生體內代謝：

黃麴毒素在體內之分解代謝路徑可分為徑路一和徑路二。徑路一主要為齧齒類動物(Rodents)體內之代謝，如圖2所示。

黃麴毒素 B1經由飼料進入體內，到達肝臟之微粒體(Microsome)在NADPH₂及O₂存在下氧化為B1-2,3 oxide，此化合物具有高度之親核性(nucleophilic)會攻擊RNA，與RNA中之一O-或二N-group形成RNA bound B1之產物，再經由酸性水解(Acid hydrolysis)過程轉變成毒性較低之2,3-diol B1。

徑路二：主要發生於哺乳類動物；如圖3。Aflatoxin B1經由哺乳動物攝入後；通過細胞膜進入細胞內，在細胞質還原酶(Cytoplasmic reductase)作用下及NADPH₂輔助還原為Aflatoxicol (Ro)再與蛋白質結合。或進入核仁與DNA鍵結，繼而抑制RNA的合成。或經過細胞質中的內質網在微粒體酶作用下及NADPH₂存在下生成生毒性較弱之AFM1及無毒性AFP1及毒性較強之AFQ1和最具毒性的Aflatoxin epoxide，此一衍生物可與核

酸及蛋白質結合。或epoxide經再代謝成AFB₂以石碳酸鹽形式與蛋白質以非特異性的結合。

黃麴毒素的影響；對細胞不同層次的作用不一，它對蛋白質形成顯然具有抑制作用，因為它與DNA結合阻礙RNA的合成甚至對所有蛋白質的合成，從轉錄(Transcription)、轉譯(Translation)、直到加長(Elongation)各步驟都會發生影響。不過當動物吸收多量及長期暴露在黃麴毒素情形下；影響最鉅的是轉錄過程受抑制，碳水化合物及脂質的代謝以及粒線體呼吸作用的改變。且黃麴毒素與大分子(核酸與蛋白質等)與細胞微器官(粒腺體與核糖體)之間又有交互作用。並干擾酵素及其他細胞調節物質(Cellular regulators)。

四.黃麴毒素對營養分吸收代謝之影響：

黃麴毒素最主要之標的器官為肝臟；肝臟將之代謝為2,3.-oxide, 此一代謝物具強烈之肝毒性。因肝臟壞死及及干擾肝臟正常功能，膽汁產生減少及胰臟酵素分泌減少，致對營養分的吸收不良。此外；本節也將討論飼料中Monensin與單寧對Aflatoxin的交互作用。

Monensin為一種Streptomyces cinnamonesis所產生的代謝物,用於控制球蟲病的發生；雞隻被球蟲攻擊後，日糧中Monensin與黃麴毒素同時存在所導致的盲腸病變(Cecal lesion)異於單純球蟲感染者，造成田間診斷雞隻病變上的困擾。日糧中單寧含量一般之許可限量為2%以下，但此一濃度下之單寧與黃麴毒素存在具有加成性的毒性產生。

一.Aflatoxin與單寧、monensin的交互作用

Dale, 1980連續使用兩個試驗來探討單寧與黃麴毒素的關係。試驗一使用試藥級單寧來源,試驗二則以BR-64品種之高梁來供應單寧，結果如日糧中含0.5%及1.0%單寧和2.5 PPM黃麴毒素時；體重顯著下降，飼料換肉率(FCR)亦變差，顯示單寧與黃麴毒素有加成性毒害作用。

Tamir 及 Alumot, 1970 指出單寧與蛋白質在胃腸內形成不溶物，且Osborne等 1976年發現Aflatoxin造成胰臟之lipase, amylase, trypsin活性下降，推斷可能由此兩種原因加成所致。

Wyatt et al, 1975 探討日糧中黃麴毒素及monensin時；再以球蟲(E.tenella) 卵囊接種後；計算6日內之雞隻死亡率，日糧含monensin組死亡率為10%；當添加Aflatoxin時提高至30%；此時若無monensin添加則死

亡率高達60%。故黃麴毒素與球蟲症具有協同增加雞隻死亡率之作用。此外，病理學判定時，兩者同時存在時其病變記分 (Lesion score)較單獨以球蟲感染之病變記分為低，病變記分是以盲腸中凝血塊及盲腸擴張程度而定。Doerr, 1974 指出Aflatoxin干擾血凝，特別是外源性和一般血凝途徑，可能因此造成凝血慢且盲腸較不呈擴張的外觀。此一特殊病變，在田間常被誤判為非球蟲感染引起之死亡。

二. Aflatoxin對Cholecalciferol、碳水化合物代謝及鐵吸收的影響。

Bird, 1978年指出Aflatoxin含阻礙VitD3在體內之代謝；是因肝臟破壞後；所產生之25-hydroxylase減少所致，同時脛骨中灰分量減少，資料經複迴歸方程式 (Multiple regression equation) 導出一公式：

$$\hat{Y} = 40.44962 - 0.27464X_1 + 0.0197X_2$$

X₁ : 為 AFB₁的 PPM

X₂ : 為 VitD₃ ICU

計算知日糧中含1PPm AFB₁時，須額外增加8.84 ICU VitD₃方可使骨中灰分維持不變，如圖4所示。

體內之碳水化合物代謝亦受黃麴毒素影響。Raj, 1974 的研究發現；黃麴毒素會造成雞隻肝醣生成量減少，肝臟無法迅速將葡萄糖轉為肝醣，故其葡萄糖耐性減低。另外在碳水化合物代謝過程中相當重要的醣解作用 (Glycolysis)，醣解作用主在雞肝臟及肌肉中進行以產生高能化合物 (ATP)供能量所需。黃麴毒素降低醣解過程中幾個重要之key enzyme。如hexokinase, phosphoglucoisomerase, fructosediphosphate aldolase, pyruvate kinase 等酵素活性；可見黃麴毒素症爆發時；雞隻無法藉由醣解來產生能量；但糖質新生 (Gluconeogenesis)過程中重要之key enzyme, pyruvate carboxylase及PEP carboxykinase活性顯著地升高。可知雞隻對能量來源轉而由胺基酸代謝供應，如表1,表2所示。

由黃麴毒素中毒所造成之貧血，先前之研究認為是形成不全性貧血 (Aplastic)。Tung, 1975 及 Smith, 1970均指出隨aflatoxin劑量之提高血球容積比 (PCV)隨之下降。Tung等認為是溶血性貧血 (hemolysis)。Lanza, 1979用同位素⁵⁹Fe餵與白肉雞探討 Aflatoxin對PCV的影響；結果0~3wks齡時黃麴毒素處理組之PCV顯著較低；3-6wks齡時卻無此現象出現；與Lanza, 1978發現隨週齡增加；Aflatoxin所造成之貧血反應較不敏感。試

驗中也發現 Fe 的主動運輸減少；主動運輸需要 transferrin 的媒介；transferrin由肝臟所製造；肝臟壞死情形下鐵運輸即因 transferrin之減少而下降，因而有PCV低及貧血現象產生。

五.黃麴毒素引起發白鳥症之機制：

Aflatoxin毒性試驗中發現會降低血中的胡蘿蔔血症 (Hypocarotenoidemia)，引起白鳥症 (Pale bird syndrome)。白鳥症之雞隻可視粘膜如眼瞼、冠、瞬膜、皮膚、腳脛之色素褪除 (Depletion)；顯現出蒼白外觀。然除黃麴毒素會引起外，其他如赭黃毒素 (Ochratoxin)、球蟲感染、里奧病毒 (Reovirus) 和日糧不平衡均會發生。本節乃討論黃麴毒素誘發白鳥症之機轉。

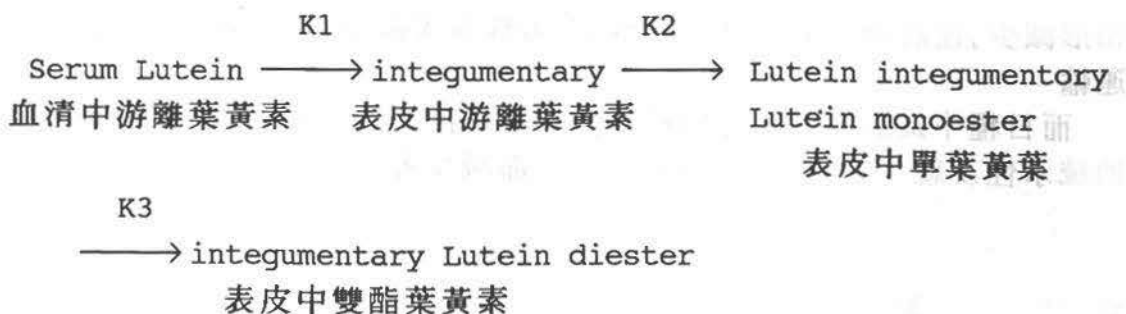
Osborne, 1982以各種黴菌毒素 (T2-toxin, Aflatoxin, Ochratoxin) 餵予白肉雞發現有低胡蘿蔔血症；因此認為 aflatoxin 可能導致白鳥症之發生。因對 Carotenoids 的吸收及沉積機構瞭解甚少，一般咸認為其伴隨脂肪被消化吸收及代謝。Tyczkowski, 1986試驗指出雞對玉米黃素 (Cryptoxanthin) 吸收差，以其為參考值比較 Zeacarotene/Cryptoxanthin 及 Lutein/Cryptoxanthin 之比，在各段腸道消失之位置。結果得知 Zeacarotene 和葉黃素 (Lutein) 吸收部位不同，前者主在十二指腸及空腸，後者則為迴腸中後段，如圖 5 所示。

Tyczkowski 在探討葉黃素於體內運輸、代謝及沉積型式指出 Lutein diester 進入雞體內後，於腸中進行去醯基化 (Deacylation) 後以 Lutein 及單酯 (Lutein monoester) 形式進入血中，肝臟所堆積之型式為游離葉黃素 (Free lutein) 佔 88%，腳蹠部份主要為 Lutein diester 及 monoester。

Tyczkowski, 1987證實 Aflatoxin 使 Lutein diester 收大為減少，且影響各部位中 Lutein 之型式，遂有白鳥症之產生。Schaeffer, 1988即利用藥物動力學方法 (Pharmacokinetic method)，探究表皮中 Lutein 酯化沉積的速率。以 K_1, K_2, K_3 代表速率常數：

國立中興大學

National Chung Hsing University



結果顯示經黃麴毒素處理後 K2, K3值降低，顯示表皮之醯化 (Acylation) 對黃麴毒素相當敏感，但是K1不被影響。由於肝臟中主要為游離態之葉黃素；但黃麴毒素致使肝臟中主要為酯化型態使得運送到表皮的Lutein無法進行。

以上所知均為對Lutein蓄積的抑制；是否黃麴毒素亦會加速色素在體內之褪除；Schaeffer 研究顯示黃麴毒素對空腸中、血清中及腳蹠中色素褪除均無影響。藥物動力學研究亦顯示，Aflatoxin對K1, K2及K3值之模式型態 (K1最慢，K2次之，K3最快) 與對照組相同。Day與Williams, 1958指出日糧中添加5%牛油可增加色素沉積, Health及 Shaffner, 1972 於日糧中添加大豆油時可刺激oxycarotenoid在背部皮膚之蓄積。Han et al, 1987餵予玉米變異種，含高量油可刺激腳脛和血漿色素沉著。

Schaeffer, (1990)指出日糧中脂肪含量增加，血清中Lutein及Lutein代謝物 3'-oxolutein 均增加且於 6%脂肪添加時達到最高。日糧中含有Aflatoxin時亦有相同之結果。顯示脂肪增加可促進Lutein溶於脂肪及乳糜微粒 (micelle) 之形成。

脂肪來源中富含飽和短鏈脂酸 (如Capric acid C10:0; Lauric acid C12:0) 對於因黃麴毒素而造成 Lutein 吸收下降具有拮抗效果；而長鏈不飽和脂酸效果較飽和短鏈者為差。Aflatoxin 因降低雞隻對脂肪消化過程中形成乳糜微粒之能力，乃膽鹽減少，胰臟lipase活性下降所致。所以脂肪被分解游離脂酸和單酸甘油酯量減少，是以 micelles 形成減少。故有osborne和Hamilton, (1981a)所觀察到之脂肪痢現象產生。

脂肪水準提高時，Lutein吸收增加，反應出Oxycarotenoids吸收須脂肪來溶解，並形成micelles再將 oxycarotenoids 運入腸細胞 aflatoxin 劇烈的降低血清中脂質含量，故亦可能降低內源性脂肪和單酸甘油酯在膽汁中形成的量。在日糧脂肪缺乏時，內源性的疏水性及親水性脂質之形成

相形減少,僅能提供有限度的micelle形成及有限的日糧oxycarotenoid的運輸。

而日糧中提高脂肪對黃麴毒素的毒害有抵抗的效果,乃增加本來就有限的疏水性及親水性脂質(受aflatoxin而減少者)。

六.結 論:

- 1.黃麴毒素為Aspergillus flavus與Aspergillus parasiticus利用醋酸鹽作為基質,經 Polyketide 生合成代謝路徑所合成之次級代謝產物;在合成過程中鋅離子與產毒素量具有密切之關係;可能為其中間代謝酵素之輔因子;黃麴毒素較重要的有 B1,B2,G1,G2;其中以黃麴毒素B1之毒性最強;危害亦最大。
- 2.黃麴毒素進入動物體內有兩種不同之代謝徑路。分別為發生於齧齒類動物及哺乳類動物之肝臟;黃麴毒素 B1 經代謝為毒性極強之 aflatoxin epoxide再與核酸和蛋白質結合,並干擾 DNA的轉錄、轉譯過程。故其可導致突變、致畸胎與致癌性。
- 3.黃麴毒素造成肝壞死、肝細胞退化、膽小管上皮細胞增生,膽汁產生減少及胰臟酵素分泌變小故影響到動物體對營養分之吸收和代謝。如阻礙維生素D3在體內之代謝;葡萄糖耐性減弱;鐵吸收減少等。
- 4.白鳥症的發生乃因黃麴毒素影響葉黃素(Lutein)在腸管之運輸和鹽基化使之與正常之代謝過程不同;使得Lutein diester和monoester均沉積於肝臟中無法去鹽基化成free Lutein運輸至表皮和腳脛中沉積,但對於色素之褪除;黃麴毒素則無影響。藉由日糧中提供含飽和短鏈脂酸和不飽和長鏈脂酸時;可提高葉黃素之吸收;對黃麴毒素之阻礙吸收作用有節約效果(Sparing effect)。

國立中興大學



National Chung Hsing University

Table 1. 黃麴毒素 B1 對雞隻肝臟中醣解酵素活性之影響。

(Raj et al, 1974)

Enzyme activity	Control	Treated	P value
<i>Hexokinase</i>			
Units/g liver	2.30 ± 0.16	0.56 ± 0.04	0.001
Specific activity	19.22 ± 1.41	6.09 ± 0.52	0.01
<i>Phosphoglucosomerase</i>			
Units/g liver	145.90 ± 4.77	69.40 ± 1.53	0.05
Specific activity	810.0 ± 20.30	680.0 ± 19.5	0.05
<i>Fructosediphosphate aldolase</i>			
Units/g liver	5.97 ± 0.19	3.27 ± 0.05	0.001
Specific activity	52.33 ± 1.75	34.77 ± 1.77	0.001
<i>Pyruvate kinase</i>			
Units/g liver	6.88 ± 1.33	61.00 ± 2.16	0.001
Specific activity	2.67 ± 0.40	24.20 ± 0.82	0.001
<i>Lactate dehydrogenase</i>			
Units/g liver	188.4 ± 20.0	1,570 ± 200	N.S.
Units/g protein	141.7 ± 31.0	1,540 ± 190	N.S.

Specific activity is expressed as units/g protein. Each value is the mean ± S.E. for 6 birds. $P \leq 0.05$ is considered significant.

N.S. means not significant.

Table 2. 黃麴毒素 B1 對雞隻肝臟中 fructose-1,6-diphosphatase, pyruvate carboxylase 和 phosphoenol pyruvate carboxykinase 之影響。

(Raj et al, 1974)

Enzyme assayed	Control	Treated	P value
<i>Fructosediphosphatase</i>			
Units/g liver	11.15 ± 0.46	12.35 ± 2.50	N.S.
Specific activity	92.42 ± 3.18	93.31 ± 3.61	N.S.
<i>Pyruvate carboxylase</i>			
Units/g liver	275.0 ± 56.83	688.0 ± 21.67	0.001
Specific activity	5,220 ± 240	31,730 ± 1,380	0.001
<i>PEP carboxykinase</i>			
Units/g liver	2.4×10^5	4.4×10^5	0.001
Specific activity	21×10^5	47×10^5	0.001

Specific activity is expressed as units/mg protein. Values expressed are mean ± S.E. for 6 chicks. $P \leq 0.05$ is considered significant.

N.S. means not significant.

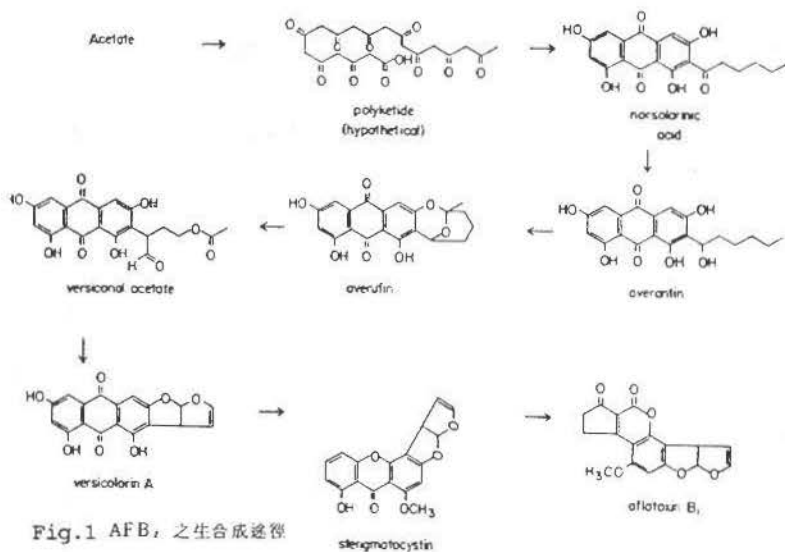


Fig.1 AFB₁ 之生成途徑

(顏, 1987)

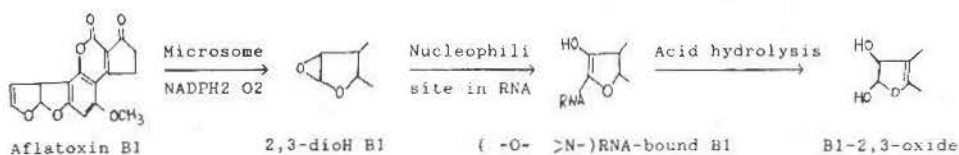


Fig.2 黃麴毒素 B₁ 在齧齒類動物 (Rodents) 體內之代謝

(Swenson et al, 1973)

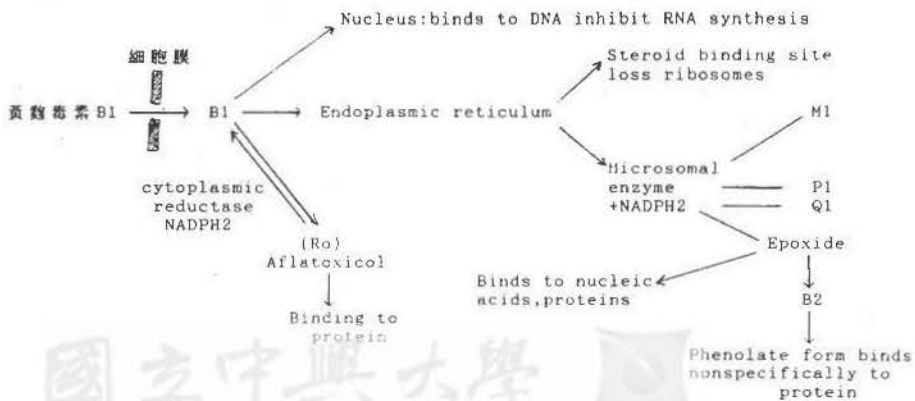


Fig.3 黃麴毒素 B₁ 在哺乳動物體內之代謝

(Swenson et al, 1974)

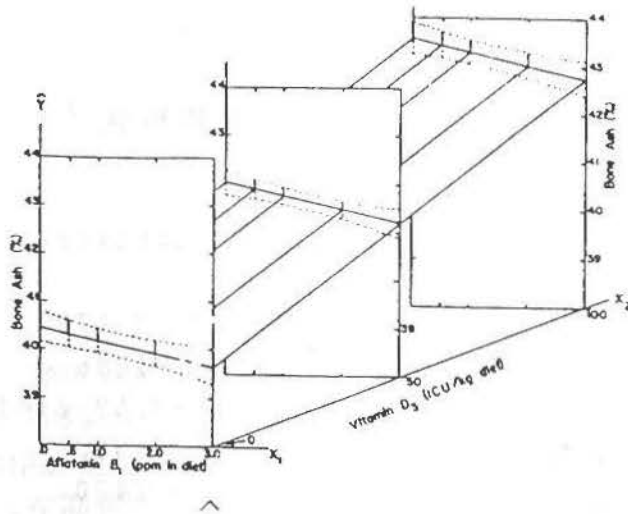


Fig.4 骨灰百分比(Y)對黃麴毒素濃度ppm(X1)與日糧維生素D3水準ICU(X2)經多次迴歸之平面圖,虛線(----)表示在不同維生素D3水準之迴歸方程式5%信賴區間。

(Bird et al, 1978)

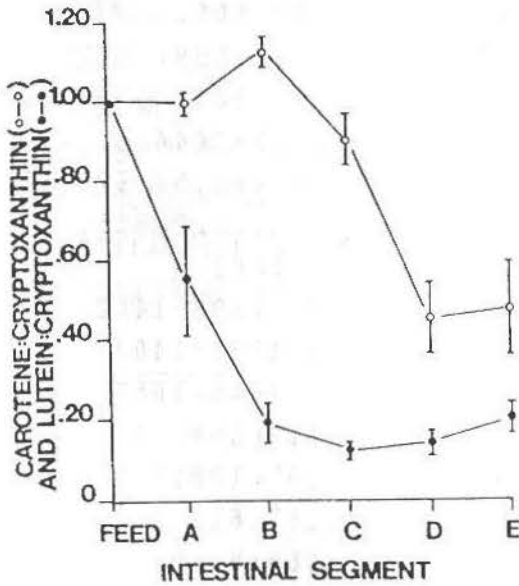


Fig.5 Zeacarotene及Lutein在腸管吸收之位置,腸管分為5段, A段十二指腸端到E段洩殖腔,每段均分析Zeacarotene與Lutein的含量。

(Tyzkowski et al, 1986)

參 考 文 獻:

1. 雜糧與畜產月刊. 12月. 1990.
2. 世界玉米黃麴毒素研究專輯. 1990. 台灣區雜糧發展基金會
3. 林茂勇. 1991. 黴菌毒素學. 淑馨出版社
4. 顏國欽. 1980. 食品安全學. 藝軒出版社
5. Mycotoxins in human and animal health: Aflatoxin p8-98. 1977. Pathotox publisher. inc.
6. Aso, T. et al. 1970. J. Am. Chem. Soc., 85: 1706-1707.
7. Bird, F. S. et al. 1978. Poult. Sci., 57: 1293-1296.
8. Campbell, M. L. et al. 1983. Poult. Sci., 62: 2138-2144.
9. Chang, C. F. et al. 1979. Poult. Sci., 58: 562-566.
10. Dale, N. M. et al. 1980. Poult. Sci., 69: 2417-2420.
11. Day, E. J. et al. 1958. Poult. Sci., 37: 1373-1381.
12. Doerr, J. A. et al. 1974. Poult. Sci., 53: 1728-1734.
13. Forgacs, J. et al. 1962. Adv. Vet. Sci., 7: 273-382.
14. Gupta, S. K. et al. 1976. Appl. Environ. Microbiol., 32: 324.
15. Han, Y. C. M. et al. 1987. Poult. Sci., 66: 103-111.
16. Heath, J. L. et al. 1972. Poult. Sci., 51: 502-506.
17. Huff, W. E. et al. 1986. Poult. Sci., 65: 1891-1899.
18. Lanza, G. M. et al. 1978. Poult. Sci., 59: 282-288.
19. Lanza, G. M. et al. 1979. Poult. Sci., 59: 1439-1444.
20. Lee, L. S. et al. 1974. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 57: 626-631.
21. Maggon, K. K. et al. 1977. Bacteriol. Rev., 41: 822-855.
22. Osborne, D. J. et al. 1976. Poult. Sci., 54: 1802.
23. Osborne, D. J. et al. 1981a. Poult. Sci., 60: 1398-1402.
24. Osborne, D. J. et al. 1981. Poult. Sci., 60: 1398-1402.
25. Osborne, D. J. et al. 1982. Poult. Sci., 61: 1646-1652.
26. Raj, H. G. et al. 1974. Environ. Physiol. Biochem., 4: 181-187.
27. Schaeffer, J. L. et al. 1988. Poult. Sci., 67: 1080-1088.
28. Schaeffer, J. L. et al. 1988. Poult. Sci., 67: 619-625.
29. Schaeffer, J. L. et al. 1990. Poult. Sci., 69: 53-59.
30. Smith, J. W. et al. 1970. Poult. Sci., 49: 207-215.
31. Swenson, D. H. et al. 1973. Biochem. Biophys. Res. Commun., 53: 1260-1267.
32. Swenson, D. H. et al. 1974. Biochem. Biophys. Res. Commun., 60: 1036-1043.
33. Tamir, M. et al. 1970. J. Nutr., 100: 573-580.
34. Tung, H. T. et al. 1972. Appl. Pharmacol., 22: 97-104.
35. Tung, H. T. et al. 1975. Poult. Sci., 54: 1962-1969.
36. Wyatt, R. D. et al. 1975. Avian Disease, 4: 730-739.