

資 料

チョウセンボラ（巻貝）の毒成分の検討

山田 圭一 水田 満里 門田 達尚

Studies on Toxic Component in *Neptunea cumingii*

KEIICHI YAMADA, MARI MIZUTA, TATSUHISA MONDEN

(Received Sept. 29, 1995)

緒 言

主に東北以北の寒海に生息するヒメエゾボラ、エゾボラモドキ、ヒメエゾボラモドキなどエゾバイ科の巻貝の中には、唾液腺にテトラミンが常に局在しており、それを摂食するとしびれ、酩酊感等の中毒症状を起こす。これらの巻貝をよく食べる地域では、唾液腺を取り除いて食べる生活の知恵があり危険はないが、あまり食べる習慣がないところでは、唾液腺を取り除いて食べることを知らず、食中毒事件が発生している。これまでに、広島県ではこれらの巻貝による食中毒事件は発生していなかったが、平成7年4月に初めて巻貝であるチョウセンボラによる食中毒事件が発生した。

チョウセンボラは日本海西部の5-10mの海底に生息するヒメエゾボラに似た種で島根県沖でも捕獲され、この唾液腺にもテトラミンが含まれていることが報告されている。[1]

そこで、今回、チョウセンボラについて、マウス試験、薄層クロマトグラフィーによる定性試験、比色定量試験等で、テトラミンを測定し、併せてチョウセンボラのテトラミン量の個体差、及び唾液腺中のテトラミンの煮沸による減毒効果について調査したので報告する。

事件の概要

平成7年4月19日、因島市内の病院から巻貝を摂食し、手足のしびれを訴えている患者がいるとの報告が三原保健所尾道支所にあった。

患者は因島市内の夫婦で、4月18日鮮魚店でチョウセンボラを10個購入し、家庭で焼いて摂食した。食後約1時間後から手足のしびれ等を訴え、因島市内の病院に入院し、翌日には回復した。

同鮮魚店に販売した三原市内の業者は、島根県内の

卸売業者からチョウセンボラを仕入れ、三原市、因島市などの10店舗に販売していたが、この患者2名以外に有症等の届出はなかった。

材料および方法

1. 材料

材料は島根県で採取され、三原市内の鮮魚店で販売されていたものを使用した。これらはチョウセンボラ *Neptunea cumingii* (CROSSE) と同定された。

1-1. 標準液の調製

標準品は塩化テトラメチルアンモニウム和光純薬工業(株)製特級を用い、1 mg/ml のテトラミン標準液を調製し、必要に応じて希釈して使用した。

1-2. マウス試験と薄層クロマトグラフィーのための試験溶液の作成

5個のチョウセンボラから可食部をはずし、唾液腺と内臓と肉質部とに分け、それぞれ10倍量のメタノールを加えホモジナイズし、No. 5Cのろ紙を用い減圧濾過を行い、ろ液をロータリーエバポレーターで減圧乾固した後、蒸留水を加えて2倍量に復元した。それぞれを唾液腺抽出液、内臓抽出液、肉質部抽出液とした。

1-3. テトラミン量の個体差を調べるための試験溶液の調製

12個のチョウセンボラからそれぞれ唾液腺を取り出した。各々の唾液腺とその他の身及び殻付きの重さを表に示した。唾液腺にそれぞれ30倍量のメタノールを加えブレンダーカップでホモジナイズした後、ろ紙No.5Cで吸引濾過を行った。メタノールによる抽出を2回繰り返した。

それぞれのろ液をロータリーエバポレーターを用いて減圧乾固した後、残留物に蒸留水100mlを加えて溶解した。これを試験溶液A~Lとした。

1-4. 唾液腺の煮沸による減毒を調べるための試

表 チョウセンボラ12個体 (A~L) の唾液腺とその他の身及び殻付き全体量の重さ

検体名	重さ (g)		
	唾液腺	その他の身	殻付き全体量
A	1.11	29.6	66.2
B	1.50	42.2	85.5
C	1.30	38.3	69.0
D	2.00	43.9	118.6
E	1.16	27.6	62.4
F	1.09	25.5	55.1
G	0.91	26.8	56.0
H	0.82	22.0	51.0
I	1.59	41.9	89.5
J	0.92	27.7	61.9
K	0.65	20.2	48.3
L	0.66	16.4	36.1
平均	1.14	30.2	66.6

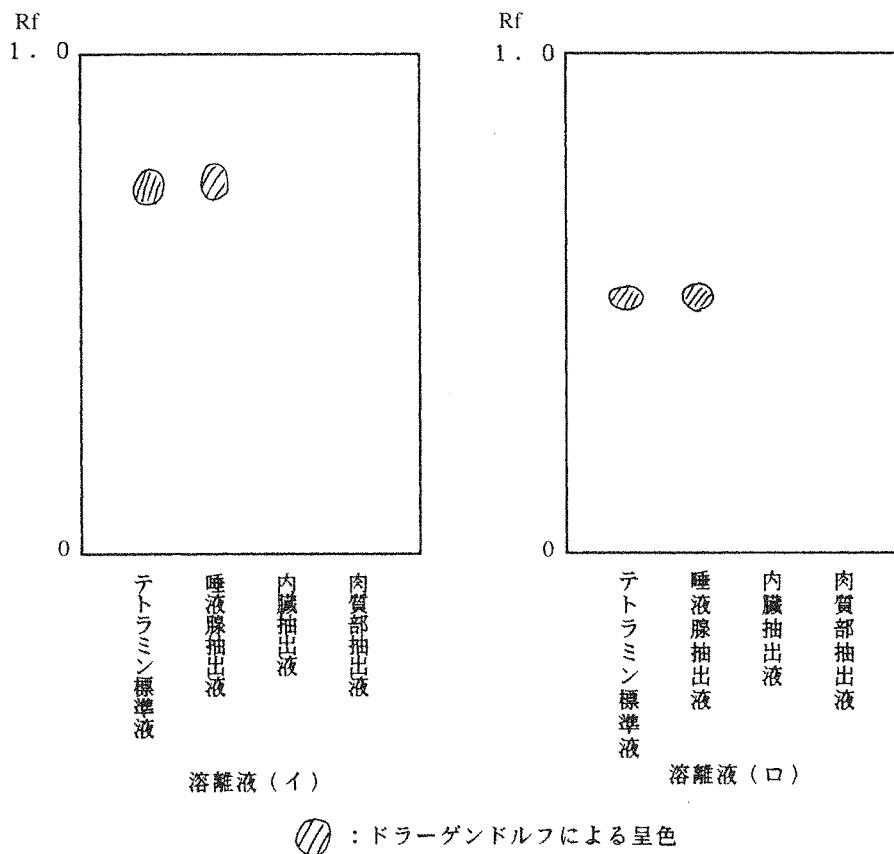


図1 唾液腺, 内蔵, 肉質部の抽出液及びテトラミン標準液の薄層クロマトグラフィー

験溶液の調製

25個のチョウセンボラから唾液腺を取り出し (32g), 30倍量のメタノールで2回抽出した。抽出液を減圧乾固した後, 残留物を2500mlの蒸留水に溶解した。溶解液を5mlづつ入れた試験管を煮沸水中に入れて, 0, 10, 20, 30, 60分後に取り出し, 5mlにメスア

ップしてこれを試験溶液とした。

2. 試験方法

2-1. 薄層クロマトグラフィー (TLC) によるテトラミンの定性試験

薄層板はAvicel-SF (フナコシ) を用いて2種類の溶

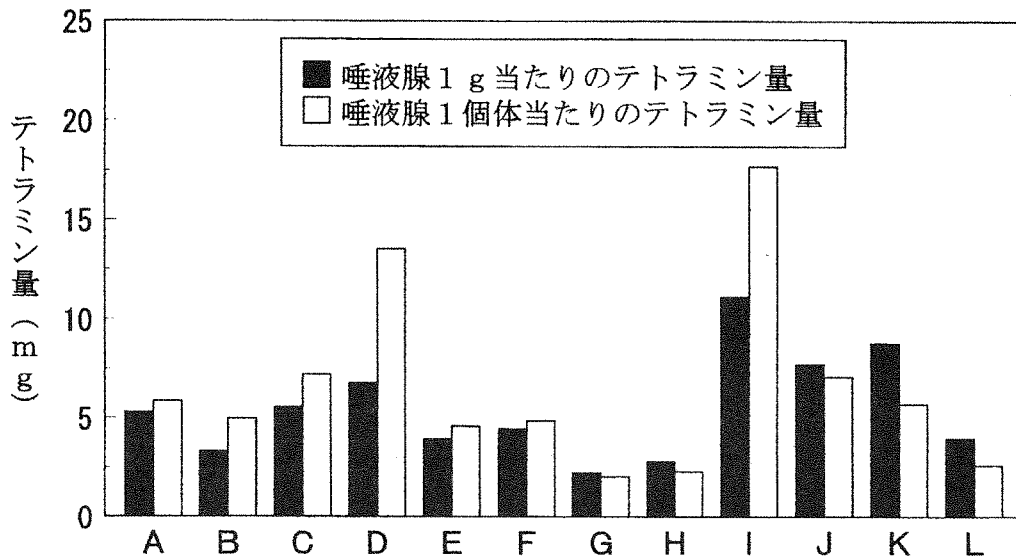


図2 唾液腺1gあたり及び1個当たりのテトラミン量

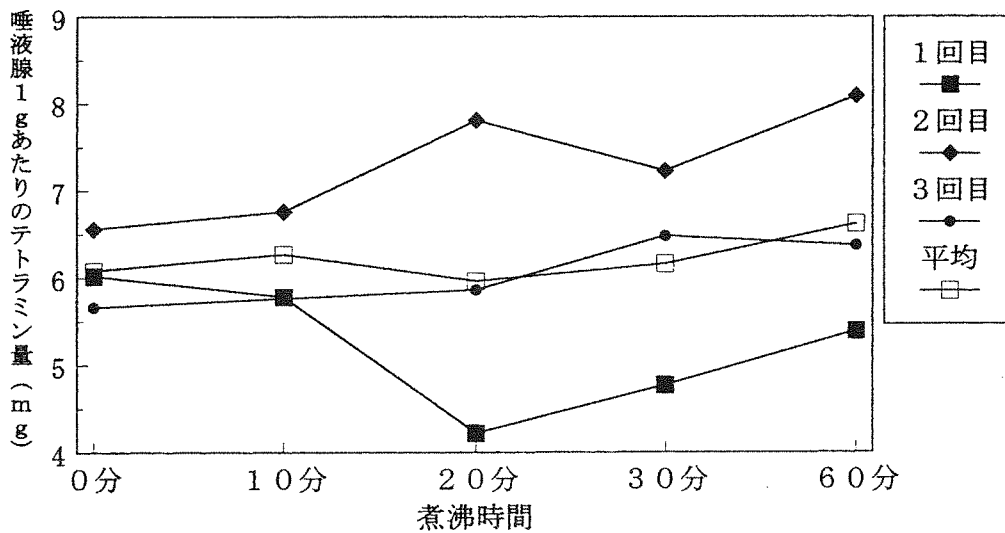


図3 チョウセンボラの唾液腺の煮沸によるテトラミン量の変化

媒系 (イ) メタノール-酢酸-水 (90 : 5 : 5) (ロ) nブタノール-酢酸-水 (4 : 1 : 5) で展開した。検出液はドラージェンドルフ試験液を用いた。

2-2. マウス試験

ddYマウス雄4週齢 (体重19~20g) を使用し、1群5匹のマウスに1mlの試験溶液を腹腔内に投与した。

さらに標準液を用い、マウスに対する用量一致死時間曲線を作成しマウス毒性試験による定量を行った。

2-3. テトラプロモフェノールフタレインエチルエステルによる比色定量法

実験方法は藤井ら [4] に基づいて行った。

試薬はテトラプロモフェノールフタレインエチルエステルカリウム (TBPE・K) 関東化学 (株) 特級を用いた。

TBPE・1, 2-ジクロロエタン溶液 (TBPE/DCE) は TBPE・K 14.0mgを秤量し、水を加え、pH3.0に調整した後、400mlにメスアップし、等量の1, 2-ジクロロエタン (DCE) と振とうして調整した。

各々試験溶液A~L及び1-4. で作成した試験溶液を1mlまたは、テトラミン標準液 (0~100µg) に1N NaOH溶液1mlを加え、水で25mlにメスアップし、よく混ぜ5分間放置した後、分液漏斗に移し、TBPE/DCE30mlを加え、5分間振とうした。その後

15分間放置し、下層を分取し30分放置後、分光光度計で610nmの吸光度を測定した。

検量線はテトラミン標準液 (0, 10, 20, 40, 60, 70, 100  $\mu\text{g}/\text{m}\ell$ ) を用いて作成した。

## 結 果

### 1. 薄層クロマトグラフィー (TLC) によるテトラミンの確認

2種類の展開溶媒を用いて、唾液腺、内臓、肉質部、テトラミン標準液を薄層クロマトグラフィーにかけた結果を図1に示す。

テトラミン標準液と唾液腺抽出液1は (イ) (ロ) どちらにおいてもスポットの位置は一致した。

内臓部及び肉質部抽出液はテトラミン標準液と同様なスポットは現れず、唾液腺以外にはテトラミンが含まれないことが分かった。

### 2. マウス試験による毒性の確認

唾液腺、内臓部、肉質部のそれぞれの抽出液をマウスに投与したところ、唾液腺の抽出液でのみ死亡した。死亡までの症状は投与後、1分から2分後に涎を流し始め、歩行失調を起こした後、うずくまり、時折痙攣を起こし、5分前後で呼吸が停止し、死亡した。

テトラミン標準液を投与したところ全く同じ症状を示した。

さらにテトラミン標準液のマウスに対する用量一致死時間を測定したところ、テトラミン標準液の用量0.4~0.7mg/m $\ell$ の間の狭い範囲で致死時間は3分から10分であった。5分前後の死亡が認められるのは0.5mgであった。

用量一致死時間から唾液腺1g当たりのテトラミン量は10mgであった。

### 3. 個体差による毒量の違い

比色定量法を用い、試験溶液A~Lのテトラミン量を測定し、各々の唾液腺1g当たり及び唾液腺1個当りに換算した量を図2に示す。

唾液腺1gあたりの毒量は平均が5.5mgで、2.2~11.1mgと幅があり個体差が認められた。1個体当りに換算すると平均は6.54mgで、G, Hの少ないものから、Dの13.6mgやIの17.7mgなど含有量に差が見られた。

### 4. 煮沸による毒量の変化

煮沸実験は3回行い、比色定量法で測定した結果を図3に示す。

測定値にかなりのばらつきが見られたが、煮沸によるテトラミン量の減少は見られなかった。

## 考 察

チョウセンボラの唾液腺に含まれるテトラミン量は衛藤ら [1] によると1.6~14.8mg/g (チョウセンボラ)、橋爪ら [3] によると5.7~9.8mg/g (エゾボラモドキ)、藤井ら [4] によると1~13mg/g (エゾバイ科の巻貝) で今回調べた値は2.2~11.1mg/gで、今まで報告されているのとはほぼ同程度のテトラミン量であった。

今回調査したチョウセンボラのテトラミン含有量は1個当たり平均6.54mgであったので、この度の食中毒事件では1人当たり4~5個食べていたことから、摂取量は32.7mgと推定された。これらの値は、テトラミンによるヒトの中毒量が数十mgと推定されていること [2] を裏付ける結果であった。

チョウセンボラなどのエゾバイ科の巻貝には、ほとんど唾液腺の中にテトラミンが局在していて、かつテトラミンは60分沸騰しても減毒効果が見られないことから、以前から言われるように唾液腺を取り除いて食べることがテトラミンによる食中毒を防ぐ最も簡単かつ確実な方法である。

## 謝 辞

今回の巻貝の鑑定をお引受けいただいた元下関水産大学教授 網尾 勝博士に深謝致します。

## 引用文献

- [1] 衛藤修一, 一色賢司, 桃園裕子, 矢野達明, 作問忠道, 宮崎昭夫 (1989) : チョウセンボラ (*Neptunea cumingii*) 中のテトラミン含量の測定, 衛生化学, 35 (6) ,476-478.
- [2] 成田弘子 (1985) : 巻貝による食中毒, 食衛誌, 26, 549.
- [3] 橋爪清松, 戸田千登世, 安居照代, 永納秀男 (1987) : 高速液体クロマトグラフィーによるエゾボラモドキ中のテトラミンの定量, 衛生化学, 33 [3] ,179-184.
- [4] 藤井令子, 森脇直子, 田中幸生, 小川時彦, 森悦男, 齋藤充司 (1992) : テトラプロモフェノールフタレインエチルエステルを用いた巻貝中テトラミンの比色定量法, 食衛誌, 33 (3), 237-240.