

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

（分担）研究報告書

自然毒等のリスク管理のための研究

－雑種フグの発生状況及びフグの流通状況の把握－

研究分担者	渡邊龍一	水産技術研究所	主任研究員
	内田 肇	水産技術研究所	研究員
	松嶋良次	水産技術研究所	安全管理グループ長
	鈴木敏之	水産技術研究所	環境・応用部門長

要旨：フグおよび雑種フグの各組織に含まれるテトロドトキシン（TTX）とその類縁体については、正確にその含量を把握し、それら組織が可食可能かどうか調べる必要がある。そのため、各組織から TTX を抽出する方法の最適化を行う必要がある。そこで、本研究では、宮城県気仙沼沖で採取されたフグおよび雑種フグの各組織を用いて、TTX の添加回収試験を実施した。雑種フグ（ゴマフグ×ショウサイフグ）の各組織（皮と筋肉、精巢、卵巣、肝臓）を対象とした。谷口らの方法（2021）に従って、組織重量の4倍量の抽出溶媒を添加し、ホモジナイズ、加熱処理を経て、遠心分離によって得た上清を適宜希釈し、親水性相互作用カラムを用いた液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析法（HILIC-MS/MS）で分析し、回収率を算出した。その結果、皮と筋肉、精巢、肝臓については、概ね真度70–120%の範囲内に収まった。一方、卵巣については約180%と大幅に超えた。そこで、食品衛生検査指針に記載されているフグ毒（参考法）である、2回抽出法を試したところ、適切な真度に収まったことから、卵巣のみ2回抽出法を適用することとした。これは、ゴマフグでも同様の結果であった。今回、組織ごとに適切な TTX 抽出法が定まったため、次年度以降は本法を使い、雑種フグにおける TTX とその類縁体の部位別分布を明らかにしていく予定である。

A. 研究目的

近年、従来種に限らず、雑種フグが各地で散見されている。トラフグ属魚類については、トラフグとマフグの天然交雑種について、辰野ら（2019）の報告がある。トラフグは一般に、皮、筋肉、精巢が可食部位として認められている。一方、マフグは、筋肉と精巢のみが可食部位として認められており、皮は有毒部位として処理される点が前者と大きく異なる。

このように有毒部位の異なる二種のトラフグ属魚類が天然で交雑した場合の有毒部位について調べた報告（辰野ら、2019）では、両方で可食部位として認められている筋肉と精巢は無毒あるいは低毒力である一方、違いのあった皮については有毒（調べた10個体中、最大で17.4 µg/g, 79.1 MU/g 相当）であることが判明し、有毒部位として判定される可能性が高いことが分かっている。このよう

に、有毒部位は交雑した場合に継承される可能性があることが示唆されている。

そこで、本研究では、水大校の調査で収集したフグおよび雑種フグについて各部位（皮、筋肉、肝臓、生殖腺など）に含まれるテトロドトキシン（TTX）とその類縁体を、親水性相互作用カラムを用いた液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析法（HILIC-MS/MS）で精密かつ正確に測定することにより、TTX 群の部位別分布を解明することを最終目的としている。本年度は、雑種フグ（ゴマフグ×ショウサイフグ）の各組織に TTX を添加し、回収試験を実施することで、雑種フグに適した抽出法および、HILIC-MS/MS に適した前処理法を検討し、次年度のフグおよび雑種フグに含まれる TTX およびその類縁体を正確に定量できるように分析条件を設定することを目的とする。

B. 研究方法

福井県沖で採取されたゴマフグと宮城県気仙沼沖で採取されたショウサイフグおよび雑種フグ（ゴマフグ×ショウサイフグ）の各組織を TTX の添加回収試験に用いた。ゴマフグの組織では筋肉と肝臓、精巣を、ショウサイフグでは筋肉と肝臓、皮を、雑種フグでは筋肉と肝臓、精巣、卵巣、皮を用いた。なお、ゴマフグの皮と卵巣組織は著量の TTX を含んでいたため、また、ショウサイフグの生殖巣は試料量が少なかったため、添加回収試験は実施しなかった。

TTX の添加回収試験（試験法 1）は次のように実施した。フグおよび雑種フグ

の各組織 2.00 g に対し、TTX を 10 MU/g (2.2 mg/kg) になるよう添加した。そこに、0.1% 酢酸溶液 8 ml（組織重量に対して 4 倍容）を添加し、ホモジナイズした。それを 95 °C 以上の湯浴中で加温し、氷冷して室温程度まで冷却後、遠心分離して上清を回収した（TTX 添加区）。TTX 非添加区は、TTX を添加せずに同様の操作を行って抽出した抽出液を用いた。それらを適宜希釈して、HILIC-MS/MS 分析に供した。得られた分析結果から TTX の回収量を求め、回収率を算出した。

TTX の添加回収試験（試験法 2）は次のように実施した。フグおよび雑種フグの卵巣組織 2.00 g に対し、TTX を 10 MU/g (2.2 mg/kg) になるよう添加した。そこに、0.1% 酢酸溶液 9 ml を添加し、ホモジナイズした。それを 95 °C 以上の湯浴中で加温し、氷冷して室温程度まで冷却後、遠心分離して上清を 20 ml メスフラスコに回収した。生じた残渣に 0.1% 酢酸溶液 9 ml をもう一度添加し、懸濁後、遠心分離して上清を先ほどと同様のメスフラスコに回収し、20 ml に定容した。TTX 非添加区も同様に抽出した。それらを適宜希釈して、HILIC-MS/MS 分析に供した。得られた分析結果から TTX の回収量を求め、回収率を算出した。

C. 研究結果と考察

試験法 1 で行った TTX の添加回収試験の結果を示す。ゴマフグの組織では、筋肉と肝臓、精巣を対象に実施した。その結果、筋肉での TTX の回収率は 110%で

あり、肝臓で 129.6%、精巣で 96.2%であった。いずれの組織も概ね良好な回収率が得られた。次にショウサイフグの組織では、筋肉と肝臓、皮を対象に実施した。その結果、筋肉での TTX の回収率は 113.6%、肝臓では 78.0%、皮では 126.1%と、このフグでも概ね良好な回収率を得ることができた。雑種フグでは筋肉と肝臓、皮、精巣、卵巣を対象とした。その結果、筋肉での TTX 回収率は 98.4%、肝臓で 100.0%、皮で 92.5%、精巣で 100.1%、卵巣で 178.9%であった。卵巣を除く、すべての組織において一回抽出法で十分な回収率が得られることが判明した。大幅に回収率の高かった卵巣組織については、抽出液を添加し、加熱処理をした後の遠心分離で回収できる液量が本来であれば 8 ml 程度あるものが、3 ml 程度しか回収されないことが影響していると推察された。卵巣組織の膨潤の影響と思われる。そこで、2 回抽出法である食品衛生検査指針に記載されたフグ毒(参考法)を検討することとした。

雑種フグの卵巣組織とゴマフグの肝臓組織で行った TTX の添加回収試験(試験法 2)の結果を示す。雑種フグの卵巣における TTX の回収率は 94.4%、ゴマフグ肝臓では 89.0%であり、両組織とも適切な真度の範囲内に収まった。従って、雑種フグおよびフグの卵巣組織については、食品衛生検査指針に記載された 2 回抽出法を適用することとした。

D. 結論

食品衛生検査指針に記載されたフグ毒(参考法)による分析試料の調製では、

2 回抽出を行う必要があるため、試料調製に時間を要する。一方、抽出液と残渣に均質に TTX が分散していると仮定して抽出を行う一回法では、多検体を処理するうえで時間の短縮が見込める。一回抽出法については、谷口ら(2021)による報告があり、皮と筋肉、肝臓、精巣の各組織で良好な回収率が得られている。ただし、卵巣については報告されていなかった。本研究では、雑種フグにおける皮と筋肉、肝臓、精巣、卵巣の各組織について一回抽出法を試し、卵巣を除くすべての組織で良好な回収率が得られることを再現した。卵巣については、従来からある二回抽出法が適していることが明らかになった。本結果を踏まえ、次年度以降は、雑種フグの組織分布を明らかにする予定である。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

なし

G. 学会発表

なし

H. 知的財産の出願・登録状況

なし