

チョウセンボラの喫食によるテトラミン食中毒事例

西川 徹、土井 康平、辻村 和也、濱野 敏一

Food Poisoning Case of Tetramine from Eating *Neptunea Arthritica Cumingii*

Toru NISHIKAWA, Kohei DOI, Kazunari TSUJIMURA and Toshikazu HAMANO

Key words: Food poisoning, Tetramine, *Neptunea arthritica cumingii*,

Liquid chromatography-tandem mass spectrometry

キーワード: 食中毒、テトラミン、チョウセンボラ、液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計

はじめに

チョウセンボラはエゾバイ科エゾボラ属の仲間であり、対馬暖流海域に生息していることが知られている¹⁾。一般的にエゾボラ属巻貝は唾液腺にテトラミン (Fig.1) を高濃度含んでいることが知られており²⁾、このテトラミンは喫食後 30 分から 1 時間程度で激しい頭痛、めまい、船酔い感、酩酊感、足のふらつき、嘔吐感などがみられるのが特徴である。チョウセンボラ以外のエゾボラ属巻貝のほとんどは寒海性であり、テトラミン中毒も北海道や東北地方で多かったが、平成 21 年 12 月、長崎県内においてもチョウセンボラ (*Neptunea arthritica cumingii*) の喫食が原因と疑われる食中毒が発生した。そこで液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計 (LC-MS/MS) を用いて検体中テトラミン含有量の調査を行ったので報告する。

調査方法

1 検体

患者が喫食したものと同様の加熱済みのチョウセンボラを採取した。

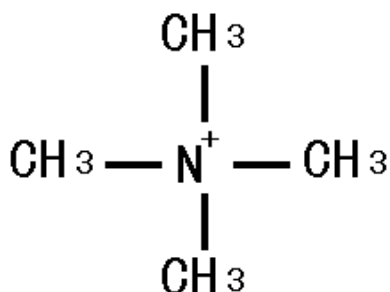


Fig.1 Structure of tetramine

2 試薬等

テトラミン標準品は塩化テトラメチルアンモニウム (WAKO, 特級) を用い、調整した。メタノールや蒸留水は関東化学社製 LC/MS 用を用いた。限外ろ過膜は東ソー社製 Amicon ultracent-10 (MWCO: 10,000) を用いた。

3 装置及び測定条件

液体クロマトグラフは(株)島津製作所製 LC-VP システム、質量分析計は Applied Biosystems 社製 API2000 を用いた。分析カラムは Waters 製 Atlantis HILIC Silica (2.0 mm i.d.×150 mm、粒子径 3 μm) を用いた。カラム温度は室温とし、移動相は 0.02%ギ酸含有 50mM ギ酸アンモニウム水溶液及びメタノールを用い、メタノールの割合が 60% となるようイソクラティック分析を行い、流速は 0.2 mL / min とした。次の分析までは 10 分間平衡化した。試料注入量は 1μL とした。

イオン化はエレクトロスプレー (ESI) によるポジティブイオン化法により行った。ポジティブモードではイオンスプレー電圧は 5.0 kv、イオン源温度は 500°C に設定した。

定量イオンは 74→58.1 (DP:26, CE:29)、定性イオンを 74→42.1 (DP:29, CE:51) とした。

4 分析方法

伊藤らの方法³⁾を参考に行った。検体を細切して均一化し、その 2g を正確に量り取り、メタノール 25mL でホモジナイズ及び超音波抽出を行った (2 回目の抽出は 15mL)。抽出後 1,200g で 10 分間遠心分離し、上清をあわせて 50mL に定容した。この 0.5mL を 50%メタノールで 100 倍希釈し、0.2μm フィルター (Millipore) でろ過後し

たものを試験溶液とし、LC/MS/MS により測定した。検量線は 0.01~0.5 µg/mL の範囲で適宜作成した。

またチョウセンボラを筋肉と剥き身に分けて採取し、過熱後の部位別濃度についても同様の方法で測定を行った。

検査結果

(1) LC-MS/MS による分析

テトラミンの分析方法としてはマウス試験⁴⁾や比色定量法⁵⁾、HPLC 法⁶⁾、イオンクロマトグラフィー法⁷⁾が開発されているが感度や特異性の点で問題がある。近年では LC-ESI/MS 法などが開発されており、感度や特異性において優れた手法であることが報告されている^{1, 8)}。そこで今回の事例ではテトラミンの迅速分析法を目的として LC-MS/MS による分析を試みた。

MRM 条件を検討したところ、74→58.1 と 74→42.1 の 2 種類のトランジションが確認された。そこで感度の高い 74→58.1 を定量イオンとし、感度が前者の 10 分の 1 程度あった 74→42.1 のトランジションを確認イオンとした。

テトラミンは通常では第 4 級アンモニウムイオンの状態で存在するため、逆相系のカラムによる分離は困難である。伊藤ら³⁾は HILIC モードにおけるテトラミンの分離法を報告している。本分析法においても HILIC モードを採用した。移動相に 0.02% ギ酸含有 50mM ギ酸アンモニウム水溶液及びメタノールを用いることでテトラミンを十分に保持することが可能であった。メタノールの割合を増やすことで保持が強くなるが、65%以上にするとピークがブロードになる傾向が見られたため、メタノールの割合は 60%とし、インクラティック分析により分析した。限外ろ過の有無によるテトラミン感度を比較したところ、50%MeOH で十分に希釈することによりほとんどイオンサプレッションは確認されなかったため、今回の分析方法では限外ろ過膜による精製を省略した。本法によって得られたクロマトグラムを Fig.2 に示す。なお、本法の定量下限値は 1 pg であり、非常に高感度であった。

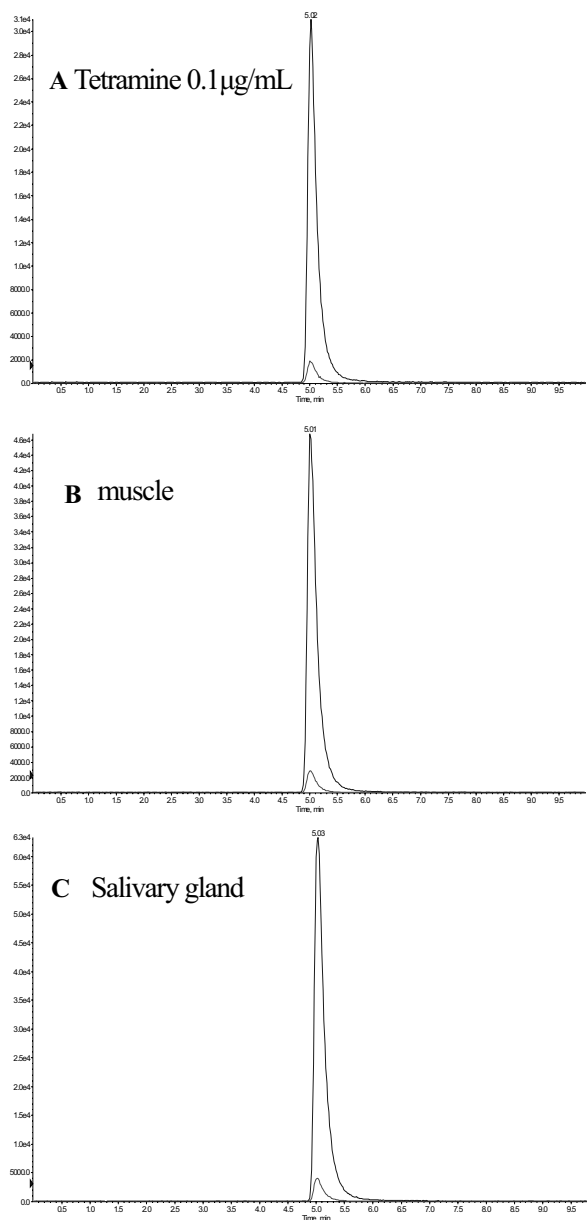


Fig2. Chromatogram of tetramine 0.1 µg/mL (A), of a muscle (B), and of a salivary gland (C) from *Neptunea arthritica cumingii*

Table.1 Tetramine content in boiled *Neptunea arthritica cumingii*.

	平均値±SD (mg)	最高値 (mg)	最低値 (mg)
チョウセンボラ全体 (n=5)	20.2 ± 3.8	24.2	15.1
筋肉 (n=3)	14.8 ± 2.3	16.4	12.2
唾液腺 (n=3)	1.2 ± 0.1	1.3	1.1

(2)テトラミン定量結果

チョウセンボラ及び部位別のテトラミン含量を Table.1 に示す。チョウセンボラ全体から検出されたテトラミンの平均含量は約 20mg であった。今回の食中毒事例では患者がそれぞれチョウセンボラを2~3個喫食しているため、40mg~60mg のテトラミンにより食中毒症状が起こったこととなる。テトラミン中毒が約 10mg と少量でも発症するという報告もあることから⁷⁾、今回のチョウセンボラに含まれているテトラミンによって食中毒が起こりうることは十分にあり得ると考えられる。

また筋肉と唾液腺の部位別に定量したところ、筋肉部位からもテトラミンが検出された。一般的にテトラミンは唾液腺に多く存在することが知られているが、今回の検体は加熱後のものであったため、テトラミンが筋肉組織へ移行していることが考えられる。

エゾボラ属の巻貝を喫食する場合は唾液腺を取り除いてから食べるよう各自治体の HP など注意されているが、加熱処理によるテトラミンの筋肉組織への移行が確認されたため、喫食前でなく調理前に唾液腺を取り除く必要があることを販売者や購入者に呼びかけていく必要がある。

参 考 文 献

1) 荒川 修, 塩見一雄:巻貝の毒 テトラミンおよびテロドトキシン, 食品衛生研究, **60**, 15-25 (2010)

2) 衛藤修一, 一色賢司, 桃園裕子, 矢野達明, 作間忠道, 宮崎昭夫: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**, 476-478 (1989)

3) 伊藤光男, 上田泰人, 小島信彰, 田中敏嗣: LC-ESI/MS/MS を用いたテトラミンの分析, 神戸市環境保健研究所, **36**, 49-55 (2008)

4) Kungswan A, Noguchi T, Kano S, and Hashimoto K: Assay method for tetramine in carnivorous gastropods, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **47**, 881-884 (1987)

5) 藤井令子, 森脇直子, 田中幸生, 小川時彦, 森悦男, 齋藤充司:テトラプロモフェノールフタレインエチレステルを用いた巻貝中のテトラミンの比色定量, 食品衛生学雑誌, **33**, 476-478 (1992)

6) 橋爪清松, 戸田千登世, 安井照代, 永納秀男: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定量, 衛生化学, **33**, 179-184 (1987)

7) 新藤哲也, 牛山博文, 観公子, 齋藤寛, 原康裕, 上原真一, 安田和男:イオンクロマトグラフィーによる巻貝(軟体動物)中テトラミンの分析及び調理における消失, 食品衛生学雑誌, **41**, 11-16 (2001)

8) Kawashima Y, Nagashima Y, Shiomi K: Determination of tetramine in marine gastropods by liquid chromatography/electrospray ionization-mass spectrometry, *Toxicon*, **44**, 185-191 (2004)