

下痢性貝毒による食中毒の未然発生防止のための予察技術開発

畠 直亜・中西麻希・西村昭史

目的

三重県では下痢性貝毒による一枚貝の出荷規制事例が散発的ながら多数発生している。しかし、原因プランクトンとされる*Dinophysis*属と一枚貝毒化との対応関係は不明瞭な事例が多く、一枚貝の毒化予察は困難な状況にある。そこで、*Dinophysis*属と一枚貝毒化との対応関係の解明ならびに一枚貝の毒化予察技術の開発を目的として、下痢性貝毒を高感度に分析可能な液体クロマトグラフィー／質量分析法（LC/MS）を活用した新しいモニタリング手法の導入について検討する。

方法

1. ネット採集調査と従来の採水調査による*Dinophysis*属モニタリング結果の比較

LC/MSに供する分析試料の採集方法は、簡便に大量のプランクトンを採集できる小型プランクトンネット（口径30cm、側長80cm、目合20μm）による鉛直採集を採用した。

ネット採集による*Dinophysis*属の出現動向モニタリングの的確性を検討するため、従来の採水調査との比較を行った。浦村定点において、2005年4月から8月に、週1回の頻度で合計17回の調査を実施した。ネット採集調査は、海底上1mから表層までの鉛直採集とした。採水調査の採水層は、0.5m、2m、5m、海底上1m層の4層とした。

2. 海水試料中の*Dinophysis*属の出現種、毒成分とムラサキイガイの毒化との関係

1.のネット採集調査の海水試料の一部を-30℃で凍結保存し、後日、LC/MSに供した。また、浦村定点の筏において、2m層に垂下しておいたムラサキイガイを調査時に随時採取し、中腸腺を検査部位としてマウス試験およびLC/MSに供した。LC/MSでは、OA（オカダ酸）、DTX1（ディノフィリストキシン1）、DTX3（ディノフィリストキシン3）、PTX1（ペクテノトキシン1）、PTX2（ペクテノトキシン2）、PTX2sa（ペクテノトキシン2セコ酸）、PTX6（ペクテノトキシン6）、YTX（イエッソトキシン）、45OHYTX（45ヒドロキ

シイエッソトキシン）の9成分を分析した。なお、LC/MSは東北区水産研究所が実施した。

結果および考察

1. ネット採集調査と従来の採水調査による*Dinophysis*属モニタリング結果の比較

ネット採集調査と採水調査による*Dinophysis*属の総細胞数の推移を比較して図1に示した。ネット採集調査では、5月18日、6月22日、7月6日および8月17日を中心とする4つのピークが認められた。採水調査では、4月27日、5月18日、6月22日、7月6日および8月17日を中心とする5つのピークが認められた。このうち両者の間で4つのピーク時期が一致した。また、両手法による細胞数の間には有意水準 $\alpha=0.05$ で相関が認められ、相関係数（r）は0.75であった。以上の結果より、ネット採集調査により*Dinophysis*属の出現動向を概ね把握できていると考えられた。

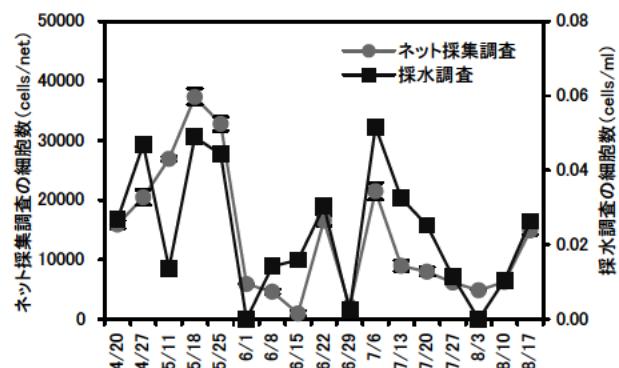


図1 ネット採集調査と採水調査による*Dinophysis*属総細胞数の推移
(採水調査の細胞数は、0.5m, 2m, 5m, B 1m層から求めた水柱平均値)

2. 海水試料中の*Dinophysis*属の出現種、毒成分とムラサキイガイの毒化との関係

海水試料中で確認された*Dinophysis*属各種の最高密度は、*Dinophysis acuminata*で26,217 cells/net、*Dinophysis rotundata*で17,652 cells/net、*Dinophysis*

*caudata*で3,378 cells/net, *Dinophysis mitra*で206 cells/net, *Dinophysis fortii*で108 cells/net, *Dinophysis infundibula*で108 cells/net, *Dinophysis diegensis*で101 cells/netであった。海水試料から検出された各毒成分の最高毒量は、OAで52 ng/net, DTX1で54 ng/net, DTX3で0.7 ng/net, PTX2で628 ng/net, PTX2saで1,798 ng/net, YTXで4 ng/netであった。海水試料中における*Dinophysis*属各種の細胞数と各毒成分の毒量の推移を比較した結果、細胞数が多かった *D. acuminata* と OA, DTX1, PTX2 類 (PTX2 と PTX2sa の合計) の推移の傾向が一致した (図2)。また、*D. acuminata* の細胞数とこれら毒成分の毒量との間には有意水準 $\alpha = 0.05$ で相関が認められ、相関係数 (r) は OA で 0.68, DTX1 で 0.84, PTX2 類で 0.95 であった。本種と DTX1 および PTX2 類との間には、昨年も $r \geq 0.8$ の強い相関が認められている。よって、*D. acuminata* がこれらの毒成分を保有している可能性が示唆された。一方、OA の相関はやや弱く、また昨年の結果では相関が得られていないため、本種が OA を保有する可能性についてはさらに検討が必要である。

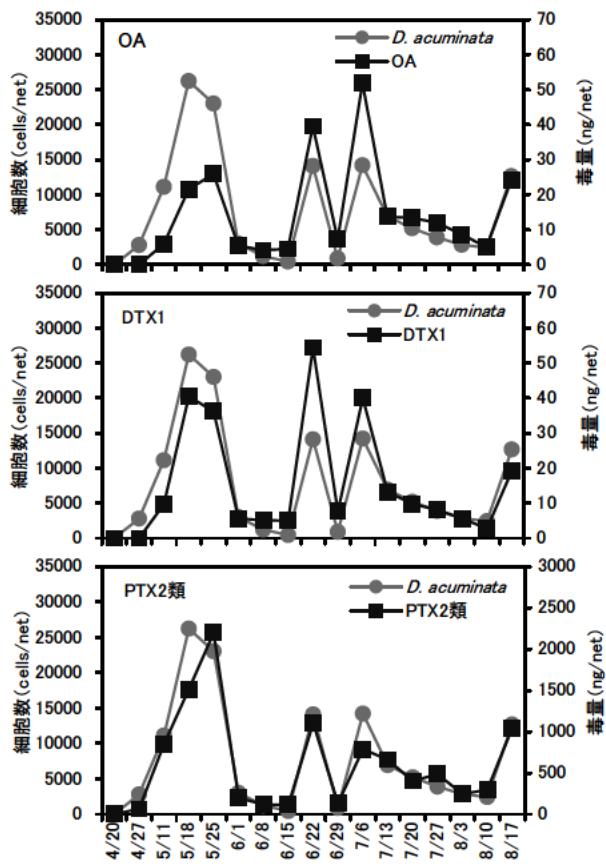


図2 海水試料中における*Dinophysis acuminata*の細胞数とOA, DTX1 およびPTX2 類の毒量の推移

要である。

ムラサキイガイ中腸腺から検出された各毒成分の最高毒量は、OAで31 ng/g, DTX1で54 ng/g, DTX3で31 ng/g, PTX2saで1,200 ng/g, YTXで71 ng/g, 45OHYTXで17 ng/gであった。海水試料とムラサキイガイ中腸腺における各毒成分の毒量の推移を比較した結果、両者の間で OA, DTX1, PTX2 類, YTX の推移の傾向が一致した (図3)。OA および DTX1 についてはムラサキイガイの毒量を1週間後の値を用いた場合に相関が認められ (有意水準 $\alpha = 0.05$), 相関係数 (r) は 0.75 および 0.86 であった。YTX についてはムラサキイガイの毒量を1週間後および2週間後の値を用いた場合に相関が認められ、相関係数 (r) は 0.79 および 0.78 であった。PTX2 類は、両者ともに当

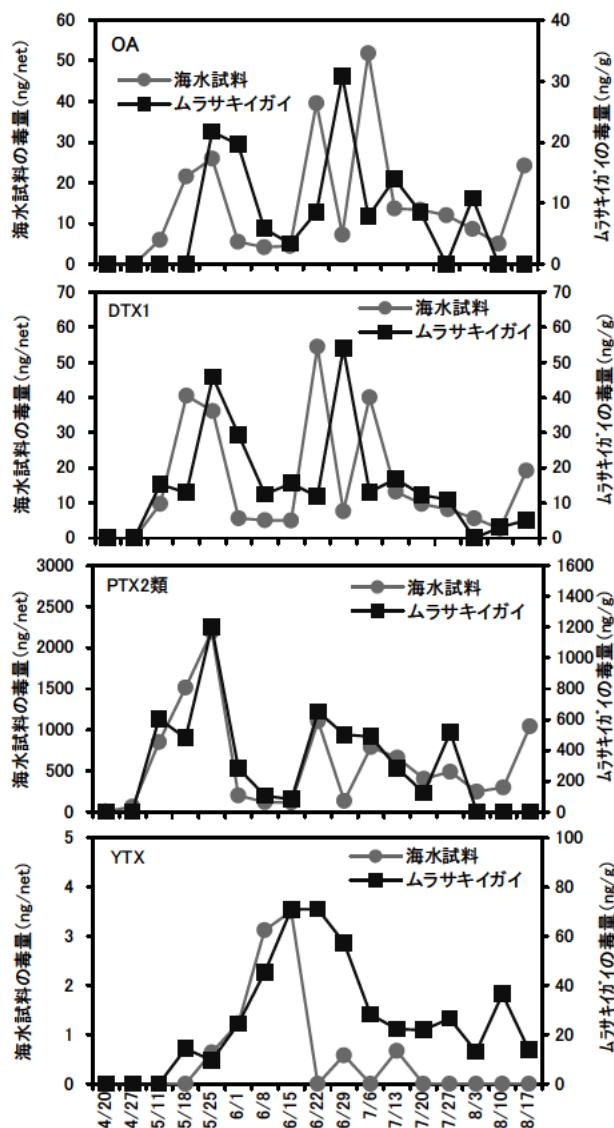


図3 海水試料とムラサキイガイ中腸腺におけるOA, DTX1, PTX2 類およびYTXの毒量の推移

日の値を用いた場合に相関が認められ、相関係数（r）は0.77であった。

海水試料とムラサキイガイの間で主要な毒成分の推移が対応したことから、海水中の毒成分をモニタリングすることにより、一枚貝の毒化を予測できる可能性が示唆された。

海水試料とムラサキイガイ中腸腺におけるマウス毒力の推移を図4に示した。海水試料の毒力はLC/MS分析による毒量からの換算値、ムラサキイガイ中腸腺の毒力はLC/MS分析からの換算値とマウス試験による測定値を比較して示した。なお、昨年の結果より、ムラサキイガイに取り込まれたPTX2は速やかに無毒のPTX2saに変換されていることが判ったため、海水試料中のPTX2はPTX2saとして、すなわち毒力は0として換算した。LC/MS分析では、海水試料およびムラサキイガイ共に顕著な毒力の増加は認められなかつたのに対し、マウス試験では7月6日から7月20日にかけて0.25～0.3MU/gが検出された。マウス試験で検出された毒力には、LC/MSにより分析した9成分以外の毒成分が関与している可能性が考えられるため、今後、毒成分の同定を試みる予定である。

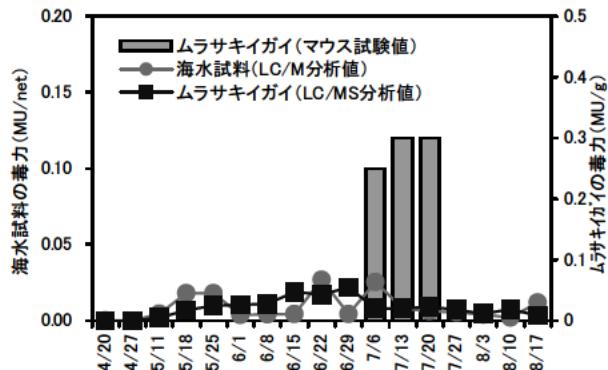


図4 海水試料とムラサキイガイ中腸腺におけるマウス毒力の推移
(LC/MS分析値は、毒量からの換算値)