

Food poisoning due to ingestion of goby *Yongeichthys nebulosus* forsskal

Follow this and additional works at: <https://www.jfda-online.com/journal>

Recommended Citation

Lin, S.-J.; Cheng, C.-A.; Tsai, Y.-H.; Sa, C.-H.; Deng, J.-F.; and Hwang, D.-F. (1996) "Food poisoning due to ingestion of goby *Yongeichthys nebulosus* forsskal," *Journal of Food and Drug Analysis*: Vol. 4 : Iss. 4 , Article 9.
Available at: <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2975>

This Original Article is brought to you for free and open access by Journal of Food and Drug Analysis. It has been accepted for inclusion in Journal of Food and Drug Analysis by an authorized editor of Journal of Food and Drug Analysis.



食用雲紋蝦虎引起之食物中毒

林欣榮¹ 鄭朝安² 蔡永祥² 薩支興³
鄧昭芳³ 黃登福^{2*}

¹德育專校食品衛生科

²海洋大學水產食品科學系

³榮民總醫院臨床毒物科

摘 要

1995年6月，臺灣新竹地區發生一件食物中毒事件，其中毒原因為食用雲紋蝦虎所致，患者夫婦一對，其中女患者較為嚴重，男患者較為輕微。患者中毒症狀為嘔吐、噁心、暈眩、口唇麻痺和呼吸困難。這些症狀與河魴毒中毒相似，因此將患者食用之殘餘三尾魚體依河魴毒之生物檢定法測其毒性，得知魚體毒性值範圍為個體 9-156 老鼠單位(MU)，肌肉 4-24 MU/g，頭部 5-120 MU/g 和內臟 7-84 MU/g。最高毒性值為個體 156MU，肌肉 24MU/g，頭部 120MU/g 和內臟 84MU/g。進一步為鑑定魚體之毒成分，乃將抽取液混合後經二氯甲烷脫脂、Diaflo YM-1膜超過濾和Bio-Gel P-2 管柱層析法精製，部份精製之毒素則以電泳分析、高效能液態層析儀分析和氣相層析儀-質譜質分析，得知此魚體中之毒素含河魴毒和其関連物質脫氫河魴毒。綜合上述結果，得知本次食物中毒事件之原因物質乃為河魴毒。

關鍵詞：雲紋蝦虎，河魴毒，脫氫河魴毒，食物中毒。

前 言

1995年6月在新竹地區發生一件食物中毒事件，有2個人煮食雲紋蝦虎(*Yongeichthys nebulosus*；又名*Gobius criniger*)發生中毒。該批魚是從竹南中港溪所捕獲。此2人(夫婦，約30歲左右)於食後1小時發生頭暈、口唇及四肢麻痺之現象，並有呼吸困難、嘔吐及全身麻木之症狀。其中女的因攝食較多，症狀較為嚴重。這二位患者被送往新竹省立醫院治療數天後即康復回家。上述魚種經台北榮總毒藥物防治諮詢中心送海洋大學進行分析。這次食物中毒事件所引起之患者症狀因係與黃等⁽¹⁻⁵⁾所報告之河魴毒中毒案例者相似，唯上述案例均係由有毒河魴所致，而本次則係因攝食雲紋蝦虎所致之食物中毒。雖然早年臺灣南部曾傳聞

有人攝食此種雲紋蝦虎而死亡之個案⁽⁶⁾，唯均未有正式記載，亦未有化學檢驗和生物毒性之證明。其次，有關雲紋蝦虎之毒成分，已有報告指出其為河魴毒⁽⁷⁾。因此仍依河魴毒之生物檢定法來分析殘留魚體之毒性，並分離純化和鑑定該毒素成分。

材料與方法

一、材料

自患者家所殘留之冷凍未處理的魚體三尾以冷凍方式送至海洋大學實驗室後，立刻量體長和稱體重並保存於-20℃備用。

二、毒性之測定

魚體經部分解凍後立刻解剖，分肌肉(含

皮、骨)、內臟和頭部等部位，經加 1 % 醋酸之甲醇溶液抽出毒後，依河魨毒生物檢定法⁽⁸⁾測定，毒性試驗係用 18-20g 雄性小白鼠(mouse)行腹腔注射而測定之。一老鼠單位(mouse unit, MU)是指使 20g ICR 系雄性小白鼠在 30 分鐘死亡之河魨毒劑量。

三、毒素之純化

毒性試驗後，殘留毒量混合後以二氯甲烷脫脂 3 次，再減壓濃縮後，經 Amicon YM-1 薄膜超過濾，濾液以 Bio-Gel P-2 層析管(2 x 15 cm)吸著後，用 0.03M 醋酸將毒液溶出，溶出之有毒部分經凍乾而得粗毒，此粗毒則依下列鑑定法分析毒成分。其中標準河魨毒(tetrodotoxin, TTX)與脫氫河魨毒(anhydrotetrodotoxin, Anh-TTX)則依 Goto 法⁽⁹⁾和前報方法⁽¹⁰⁾從瀧紋河魨(*Fugu oblongus*)之肝臟精製得到。

四、河魨毒之鑑定

(一)電泳分析(electrophoresis):

電泳分析之進行，是以纖維醋酸薄片(5 x 18 cm, Chemetron)為擔體在 0.08 M Tris-HCl 緩衝溶液(pH 8.7)下，以 0.08 mA/cm，通電流 60 分鐘後，毒成分可經由下列方式加以確認，即噴灑 10% 氫氧化鉀並在 110 °C 加熱 10 分鐘，而毒素可在 365nm 之 UV 下產生黃色或藍色螢光。

(二)高效能液相層析儀(high performance liquid chromatography, HPLC):

係採用 YMC-Pack AM-314 ODS 層析管之逆相 HPLC，二台輸送溶媒和反應液之高壓幫浦，以及反應蛇管(Teflon tube, 0.3 mm I.D. x 10 m)三部份配合之系統來分析。上述溶媒之組成為 2 mM sodium 1-hepatane sulfonic acid 和 1% 甲醇 0.05M 磷酸鉀緩衝液(pH 7.0)。層析管經此溶

媒以 1ml/min 之流速析出後，混合等量 3N 氫氧化鈉溶液後，輸送入蛇管，以 99°C 加熱。最後以 505 nm 配合 381 nm 激發波長之螢光光度計測定⁽¹¹⁾。

(三)氣相色層分析--質譜儀分析(gas chromatography-mass spectroscopy, GC- MS)

河魨毒及其關連物質之鹼水解成分，經加 pyridine : trimethylchlorosilane : N,O-bis(trimethylsilyl)acetamide (1:1:2) 溶液反應後，轉變成 C₉-base 之 trimethylsilylated (TMS) 衍生物，可於 GC-MS 中檢出。GC-MS 係為 Shimadzu QP-2000A 之 GC-mass spectrometer。層析管(column) 為 BP1 column (0.22 mm x 12.5m)。樣品經強鹼水解後，以 10% HCl 調整至 pH= 4±1，再以 n-butanol 萃取後濃縮至乾，加入 pyridine : trimethylchlorosilane : N,O-bis(trimethylsilyl) acetamide (1:1:2) 溶液反應後，將樣品注入層析管分析，注射口溫度 180 °C，層析管溫度從 165°C 升溫至 230°C，升溫速率為 3 °C/min。離子源溫度(temperature of ion source)為 200°C，離子化電壓(ionizing voltage)為 70 eV。掃描質量範圍為 200 至 450 m/z，每 3 秒掃描一次。選擇分子量為 407, 392 和 376 m/z⁽¹²⁾。

結果與討論

引起食物中毒之剩餘三尾魚體，經以河魨毒生物毒性檢定法測得之毒性值範圍為個體 9-156 MU，肌肉 4-24 MU/g，頭部 5-120 MU/g 和內臟 7-84 MU/g。最高毒性值分別為個體 156 MU，肌肉 24 MU/g，頭部 120 MU/g 和內臟 84 MU/g (Table 1)。有毒雲紋蝦虎之毒性，以內臟和頭部毒性最高，此與 Noguchi *et al.*⁽¹³⁾之結果相似。若依河魨毒之部位別最高毒性值為依據，毒性值介於 10-99MU/g 者屬弱毒，介

Table 1. Toxicity of goby *Yongeichthys nebulosus* specimens collected from food poisoning incident

Specimen No.	Body length (cm)	Body weight (g)	Toxicity(MU/g)			Total toxicity of specimen (MU)
			Muscle	Head	Viscera	
1	5.72	1.89	4	5	7	9
2	5.93	2.32	9	18	32	34
3	6.64	2.75	24	120	84	156

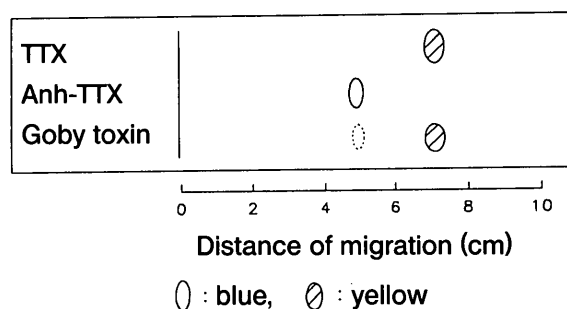


Figure 1. Cellulose acetate membrane electrophoresis of goby toxin along with authentic tetrodotoxin (TTX) and anhydrotetrodotoxin (Anh-TTX).

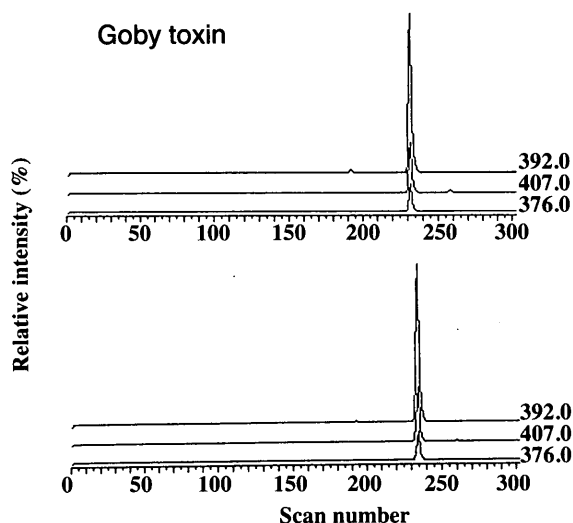


Figure 3. Selected ion detection of GC chromatogram of the trimethylsilylated (TMS) derivative of alkali-hydrolyzed goby toxin along with authentic tetrodotoxin (lower).

於100-999MU/g者屬強毒，介於1000-9999 MU/g者屬猛毒，因此引起食物中毒之三尾雲紋蝦虎應屬於有毒性⁽¹⁴⁻¹⁵⁾。谷⁽¹⁴⁾曾指出，河魴毒對成人之致死量約為10,000 MU，因此食用上述有毒雲紋蝦虎之中毒致死攝食量約需攝食150尾。中毒致症劑量通常為致死劑量之1/10，故攝食雲紋蝦虎量超過15尾者即可能引起食物中毒，因此推測該件食物中毒之兩位患者，應均攝食15尾以上之魚體，但若攝食到含有如最高毒性值之魚體，則僅須6尾即會引起

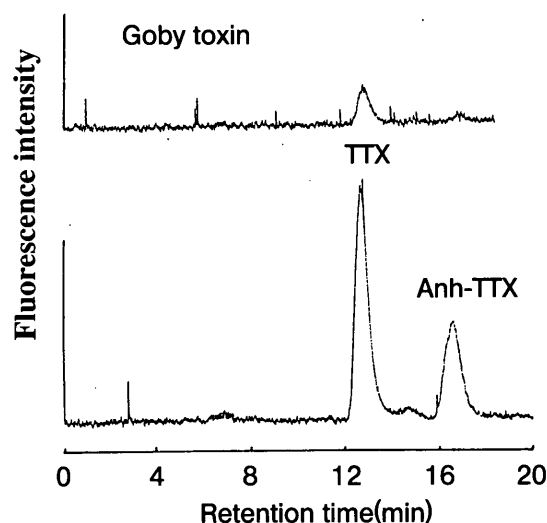


Figure 2. High performance liquid chromatography of goby toxin along with authentic tetrodotoxin (TTX) and anhydrotetrodotoxin (Anh-TTX).

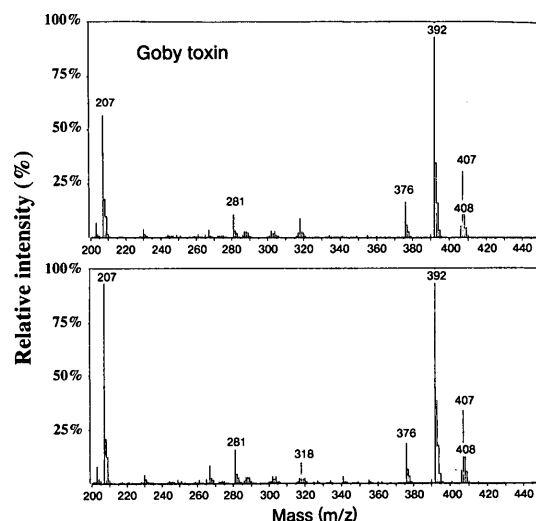


Figure 4. Mass spectrum of the trimethylsilylated (TMS) derivative of alkali-hydrolyzed goby toxin along with authentic tetrodotoxin (lower).

食物中毒。據中毒患者口述記錄，男患者約攝食了20尾左右，女患者約攝食了50尾以上，雖然河魴毒會因加熱或隨汁液流出而降低一些，但由於河魴毒耐熱性相當強，再加上係整尾魚未處理炒來吃，而且兩位患者皆有中毒症狀出現，顯示蝦虎魚炒後之毒量流失應該很少。

毒成分經混合、抽脂、超過濾後，總毒量為150 MU。經在Bio-Gel P-2 管柱層析管中層析，得知有毒成分之溶出部分呈現單一波峰，顯示魚體之毒成分其物化性質相似。此有毒溶

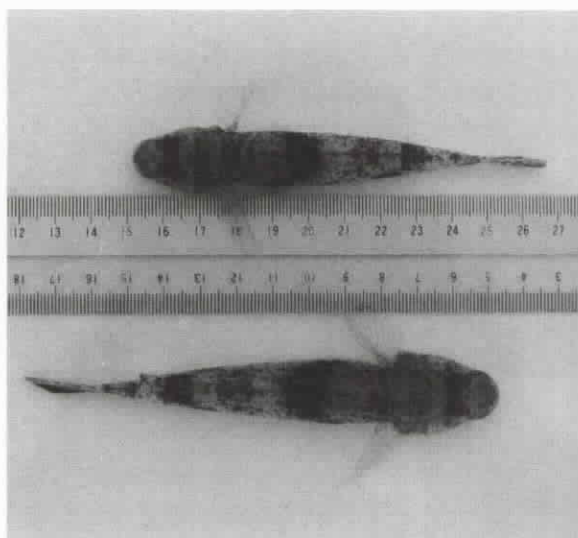


Figure 5. Goby *Yongeichthys nebulosus*.

出部分經收集凍乾得到 2.6 mg 之粗毒，其比毒性為 50 MU/mg。雲紋蝦虎粗毒經電泳分析結果如 Fig.1 所示，顯現二個斑點，其中泳動距離為 7.2 cm 和 5.0 cm 兩斑點個別對應於河魴毒和脫氫河魴毒。高性能液態層析儀分析之結果如 Fig.2 所示，雲紋蝦虎粗毒呈現一個明顯之吸收波峰，其滯留時間 (retention time) 為 12.8 分鐘。此波峰對應於標準品河魴毒者，另在 Rt 16.6 分鐘亦出現一微小波峰，此波峰為對應於標準品脫氫河魴毒者。

雲紋蝦虎粗毒之 TMS 衍生物在 GC-MS 分析之層析層如 Fig.3 所示，顯示是有與標準品 TTX 鹼水解產物 C₉-base 者具有相似之滯留波峰；另其 TMS 衍生物之 GC-MS 裂解質體分佈如 Fig.4 所示，顯示亦與標準品 TTX 及其衍生物鹼水解物 C₉-base 者具有相似之特異裂解質體，即具有 C₉-base-(TMS)³ 之親體 407 m/z 及其特異裂解質體 392 和 376 m/z 等。

綜合上述雲紋蝦虎粗毒之分析和鑑定結果可知，魚體中確實含有河魴毒 TTX 和脫氫河魴毒 Anh-TTX 成分。因此本次在新竹地區所造成之雲紋蝦虎食物中毒事件，其中毒原因物質係由河魴毒所致。本省民眾因誤食有毒河魴和蝦虎魚而引起食物中毒之事件屢次發生，而本次為首次針對蝦虎魚之食物中毒而具有生物毒性和化學鑑定之報導。

蝦虎魚屬於蝦虎科 Gobiidae⁽¹⁶⁾，其中已發現有毒種類為雲紋蝦虎 *Y. nebulosus*, *Clevelandia ios*, *Acanthogobius flavinanus* 和 *Gillichthys mirabilis* 等^(7,17)。蝦虎魚性喜棲息於

砂泥底之沿岸、河口或紅樹林，廣泛分佈於台灣西岸，種類很多，其中雲紋蝦虎體長可達 12 cm，一般為 6-7 cm，本種魚之魚鱗大，屬櫛鱗，頭裸出無鱗，體側和體中線有 3-5 枚較眼大之黑圓紋，其中之一位於尾柄，背鰭和尾鰭皆有黑點排列⁽¹⁸⁾。由於此種蝦虎魚通常一直含有河魴毒，為防止類似事件之發生，民眾應提高對此魚種之認識，因中毒事件之魚體經多次凍結解凍過，殘留魚體不易辨識，故附上其活體照片 (Fig. 5) 以供參考，並建議避免攝食，以防中毒。

誌謝

本研究承行政院衛生署計劃經費之協助始得以順利完成，謹此誌謝。

參考文獻

1. Hwang, D. F., Wang, W. C., Chung, H. M. and Jeng, S. S. 1989. First Identification of Acute Tetrodotoxin Associated Food Poisoning in Taiwan. *J. Formosan Med. Assoc.* 88:289-291.
2. Hwang, D. F., Chung, H. M., Lin, M. C., Mok, H. M. and Jeng, S. S. 1989. Food Poisoning Due to Ingestion of the Puffer *Lagocephalus Lunaris*. *Fish. Soc. Taiwan* 16:1-6.
3. Hwang, D. F., Cheng, C. R., Chung, H. M., Lin, L. C. and Jeng, S. S. 1989. Tetrodotoxin-Associated Food Poisoning due to Ingesting Fish roe. *J. Biomed. Lab. Sci.* 4:278-283.
4. Chou, S. S., Tsai, Y. H., Chang, P. C. and Hwang, D. F. 1994. Tetrodotoxin-associated Food Poisoning due to Ingesting Fish. *J. Food and Drug Analysis* 2:77-81.
5. 鄭朝安、王崇隆、周薰修、鄧昭芳、簡良潭、黃登福。1995. 食用魚卵引起之食物中毒。中華民國營養學會誌 20:83-92。
6. 楊鴻嘉、李信徹。1967。臺灣有毒及有害魚類。省立博物館科學月刊 10:37-57。
7. Noguchi, T. and Hashimoto, Y. 1973. Isolation of Tetrodotoxin From a Goby *Gobius Criniger*. *Toxicon* 11:305-308.
8. Hwang, D. F. and Jeng, S. S. 1991. Bioassay of

- Tetrodotoxin Using ICR Mouse Strain. J. Chinese Biochem. Soc. 20:30-36.
9. Goto, T., Kishi, Y., Takahashi, S. and Hirata, Y. 1965. Tetrodotoxin. Tetrahedron 21:2059-2088.
10. Hwang, D. F., Noguchi, T., Arakawa, O., Abe, T. and Hashimoto, K. 1989. Toxicological Studies on Several Species of Puffer in Taiwan. Nippon Suisan Gakkaishi 54:2001-2008.
11. Nagashima, Y., Maruyama, J., Noguchi, T. and Hashimoto, K. 1987. Analysis of Paralytic Shellfish Poison and Tetrodotoxin by Ion-pairing High Performance Liquid Chromatography. Nippon Suisan Gakkaishi 53:819-823.
12. Suenaga, K. and Kotoku, S. 1980. Detection of Tetrodotoxin in Autopsy Material by Gas Chromatography. Arch. Toxicol. 44:291-297.
13. Noguchi, T., Kao, H. and Hashimoto, Y. 1971. Toxicity of the Goby *Gobius Criniger*. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish 37:642-647.
14. 谷巖. 1945. 日本産フグの中毒學的研究. p.13. 帝國圖書, 東京.
15. Hwang, D. F., Kao, C. Y., Yang, H. C., Jeng, S. S., Noguchi, T. and Hashimoto, K. 1992. Toxicity of Puffer in Taiwan. Nippon Suisan Gakkaishi 58:1541-1547.
16. 沈士傑. 1993. 臺灣魚類誌. 523-541頁. 臺灣大學出版, 台北.
17. Elam, K. S., Fuhrman, F. A., Kim, Y. H. and Mosher, H. S. 1979. Neurotoxins from Three Species of California goby : *Clevelandia ios*, *Acanthogobius Flavimanus* and *Gillichthys Mirabilis*. Toxicon 15:45-49.
18. 邵廣昭、林幸助. 1993. 水生有毒動物. 125頁. 渡假出版社出版, 台北.

Food Poisoning due to Ingestion of Goby *Yongeichthys nebulosus* Forsskal

SHIN-JUNG LIN ¹, CHAO-AN CHENG ², YUNG-HSIANG TSAI ²,
CHIH-HSING SA ³, JOU-FANG DENG ³ AND DENG-FWU HWANG ^{2*}

¹Department of Food Health, Deh-Yu Junior College of Nursing, Keelung, Taiwan, R.O.C.

²Department of Marine Food Science, National Taiwan Ocean University, Keelung, Taiwan, R.O.C.

³Clinical Toxicology, Department of Medicine, Veterans Division of General Hospital, Taipei, Taiwan, R.O.C.

ABSTRACT

A paralytic food poisoning incident due to ingestion of the goby *Yongeichthys nebulosus* occurred in Shinchu County, Taiwan, in June 1995. The couple poisoned had symptoms which were marked by severe numbness of the lips, vomiting and impaired breathing. Three uneaten fish specimens were dissected into muscle, head and viscera, and analyzed for toxicity. Using a tetrodotoxin bioassay the fish showed the highest toxicity of 24, 120 and 84 mouse units per gram

(MU/g) in muscle, head and viscera tissues, respectively. The fish toxin was combined and purified by Diaflo YM-1 membrane ultrafiltration and Bio-Gel P-2 chromatography. The analyses of purified toxin by electrophoresis, high performance liquid chromatography and gas chromatography-mass spectroscopy indicated that the causative toxic agents were tetrodotoxin and a related substance anhydrotetrodotoxin.

Key words: Goby, tetrodotoxin, anhydrotetrodotoxin, food poisoning.