



1999

## First Report on Identification of Food Poisoning from Ingestion of Dried Seasoned Puffer Fish Fillet

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

---

### Recommended Citation

Du, S.-J.; Fu, Y.-M.; Shih, Y.-C.; Chang, P.-C.; Chou, S.-S.; Lue, Y.-H.; and Hwang, D.-F. (1999) "First Report on Identification of Food Poisoning from Ingestion of Dried Seasoned Puffer Fish Fillet," *Journal of Food and Drug Analysis*: Vol. 7 : Iss. 2 , Article 7.

Available at: <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2877>

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.



# 香魚片引起食物中毒之首例鑑定報告

杜先覺<sup>1</sup> 傅幼敏<sup>1</sup> 施養志<sup>1</sup> 張碧秋<sup>1</sup> 周薰修<sup>1</sup> 呂雅蕙<sup>2</sup> 黃登福<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> 行政院衛生署藥物食品檢驗局

<sup>2</sup> 海洋大學食品科學研究所 基隆市北寧路2號

## 摘要

1998年2月，台中市發生一件疑似食物中毒事件，患者食用香魚片，在食用一口後，即出現口、舌麻痺等類似河魴毒中毒之症狀，其後餵食家中貓、狗，狗食入將近3/4片剩餘之魚片和另外同包三片香魚片，導致狗死亡，貓則僅食入剩餘之香魚片部份產生嘔吐症狀。因此將患者食用同包中剩餘之一片香魚片依河魴毒之生物檢定法測其毒性，得知香魚片每公克具有525老鼠單位之河魴毒性。進一步以1%醋酸甲醇溶液抽毒後，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，部分精製之毒素則以矽土膠體60 F254薄板之薄層色層分析、醋酸纖維片之電泳分析和AM-314分析管柱之逆相高效能液態層析儀分析，得知此香魚片中之毒素含有河魴毒和脫水河魴毒。綜合上述結果，得知本次疑似食物中毒事件之原因物質乃為河魴毒所致。

**關鍵詞：**香魚片，河魴毒，脫水河魴毒，食物中毒。

## 前言

1998年2月，台中市發生一件因食用香魚片導致疑似食物中毒之事件，有一家人在食用少量香魚片後（一片約60g）即出現口舌麻痺現象，於是即刻停止食用。其後，患者家人將該片剩餘香魚片投給飼養之貓（約2 Kg）和大狼狗（約30 Kg）約各5g及50g，大狼狗尚餵食了同包中之另外三片香魚片後死亡，貓則有嘔吐症狀。剩餘一片經台中市衛生局轉送行政院衛生署藥物食品檢驗局以動物試驗檢驗毒性，發現老鼠中毒死亡現象類似河魴毒後，轉送海洋大學進行鑑定分析。此次食物中毒事件之患者症狀與黃等<sup>(1-5)</sup>所報告之河魴毒中毒案例亦極為相似。雖然早年台灣亦有食用香魚片而死亡之個案<sup>(6)</sup>，但均未有正式之記載，亦未有化學檢驗和生物毒性之證明；因此乃依河魴毒之生物檢定法來分析殘留香魚片之毒性，並

分離純化和鑑定該毒素成分，同時對同批香魚片另外進行採樣分析。

## 材料與方法

### 一、材料

香魚片乃取自台中患者家中同包食用剩餘者，另外一包香魚片（內含4片）則由台中市衛生局取自該販賣商店供毒性分析，樣品經磨碎後，保存於-20℃備用。

### 二、毒性試驗

各稱重取10g磨碎之香魚片，經加1%醋酸甲醇溶液抽出毒後，依河魴毒生物檢定法<sup>(7)</sup>測定，毒性試驗係用18~20g雄性小白鼠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

死亡之河魴毒劑量。

## 結果與討論

### 三、毒素之純化

毒性試驗後，將混合毒量 3,200 MU 以二氯甲烷脫脂 3 次，在減壓濃縮後，經 Amicon YM-1 薄膜超過濾，濾液以 Bio-Gel P-2 層析管 (2 × 98 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 2,800 MU。此粗毒則依下列鑑定法分析毒成分。其中標準河魴毒 (tetrodotoxin, TTX) 與脫水河魴毒 (anhydrotetrodotoxin, Anh-TTX) 則依 Goto 法<sup>(8)</sup>和前報方法<sup>(9)</sup>從橫紋多紀魴 (*Takifugu oblongus*) 之肝臟精製得到。

### 四、河魴毒之鑑定

#### (一)薄層分析 (thin-layer chromatography, TLC)

薄層分析是以塗有矽膠體 60 F254 薄板 (5 × 20 cm, Merck) 為擔體，將粗毒塗布其上面，以 pyridine-ethyl acetate-acetic acid-water (15:5:3:6) 和 n-butanol-acetic acid-water (2:1:1) 溶劑系統加以展開後，毒成分經噴灑 10% 氫氧化鉀並在 110°C 加熱 10 分鐘，在 365 nm 之 UV 下產生黃色或藍色螢光<sup>(9)</sup>。

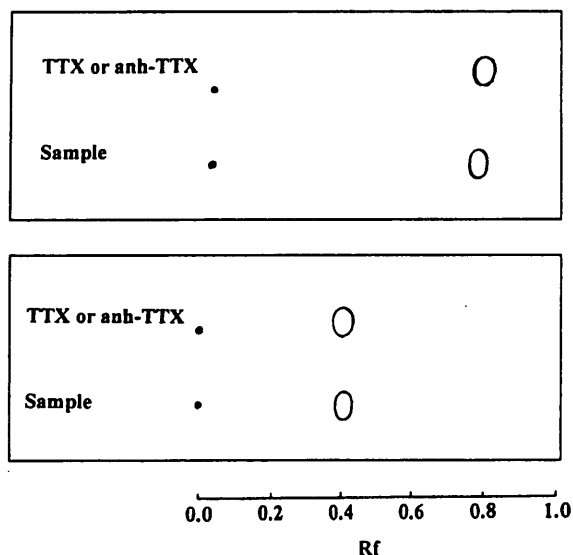
#### (二)電泳分析 (electrophoresis)

電泳分析之進行，乃以纖維醋酸薄片 (5 × 18 cm, Chemetron) 為擔體，在 0.08M Tris-HCl 緩衝溶液 (pH 8.7) 下，以 0.08 mA / cm 通電流 60 分鐘後，依薄層分析法所述之毒成分確定法觀察之<sup>(9)</sup>。

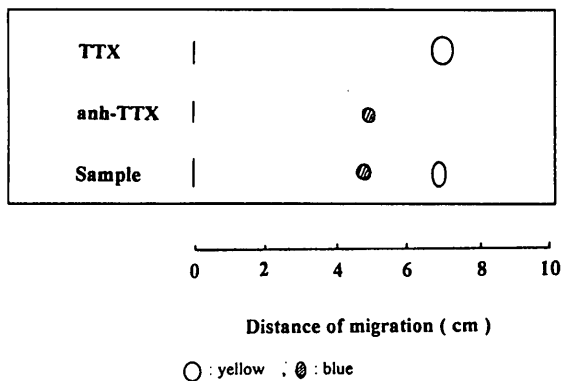
#### (三)高效能液相層析儀 (high performance liquid chromatography, HPLC)

依據 Hwang *et al.*<sup>(9)</sup>之方法，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. × 10 m) 三部分配合之系統分析。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 1 mL / min 之流速析出後，混合等量 3 N 氫氧化鈉後，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。

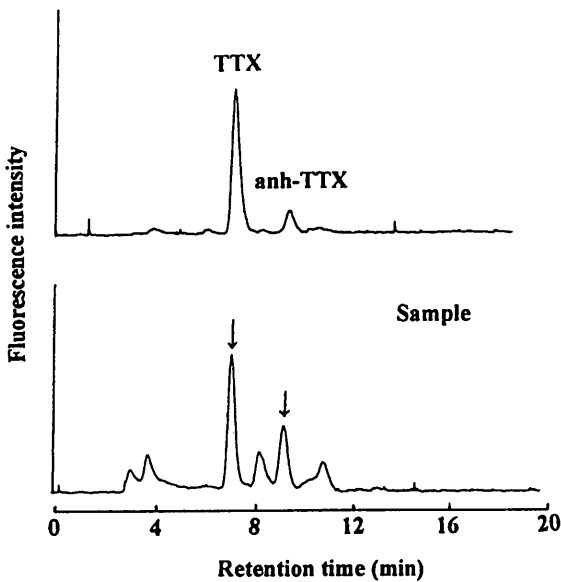
引起疑似食物中毒之同包剩餘香魚片，經以河魴毒生物檢定法測得之毒性值為 525 MU/g，另外同批不同包之四片香魚片，經檢測均屬無毒 (即毒性小於 10 MU/g 以下者謂之無毒)。目前，市售香魚片大都是由河魴魚當做原料加工製成，一般而言有毒河魴之毒性，以肝臟和卵巢最高，而有毒河魴之毒性等級，毒性值介於 10-99 MU/g 者屬弱毒，介於 100-999 MU/g 者屬強毒，介於 1000-9999 MU/g 者屬猛毒，因此引起食物中毒之香魚片應屬於強毒<sup>(10-11)</sup>。谷<sup>(10)</sup>曾指出河魴毒對成人之致死劑量約為 10,000 MU，因此食用上述有毒香魚片之中毒致死攝食量約為 20 g。中毒致症劑量通常為致死劑量之 1/10，故攝食香魚片量超過 2 g 以上者即可能引起食物中毒，因此推測該件食物中毒之患者，因其口舌已產生麻痺症狀，推測其應攝食 2 g 以上之香魚片所致。至於河魴毒對貓、狗之致死劑量均無資料可考，本次中毒資料中之狗因攝食將近 4 片之香魚片，若每片均屬有毒，每片約 60g，則狗攝食了 30,000 MU 以上之河魴毒劑量，貓則攝取約 2,500 MU



**Figure 1.** TLC of toxins extracted from dried seasoned puffer fish fillet along with authentic tetrodotoxin (TTX) and anhydrotetrodotoxin (anh-TTX). Solvent system : pyridine-ethyl acetic-acetic acid-water (15:5:3:6) (upper); n-butanol-acetic acid-water (2:1:1) (lower). The plate was sprayed with 10% KOH or weber reagent.



**Figure 2.** Electrophoresis of toxins extracted from dried seasoned puffer fish fillet along with authentic tetrodotoxin (TTX) and anhydrotetrodotoxin (anh-TTX).



**Figure 3.** HPLC chromatogram of partially purified toxins extracted from dried seasoned puffer fish fillet (lower) along with authentic tetrodotoxin (TTX) and anhydrotetrodotoxin (anh-TTX) (upper).

河魨毒，顯示貓、狗對河魨毒之毒性亦是相當敏感。

香魚片經混合抽毒，再經脫脂、超過濾後，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，顯示香魚片中之毒素為物化性質相似之毒成分。

粗毒經薄層分析結果如 Fig. 1 所示，在兩種不同溶劑展開後，香魚片粗毒經呈色均顯現

一個斑點，其相對移動值 (Rf) 類似於由橫紋多紀魨之肝臟精製所得標準品河魨毒或脫水河魨毒。

粗毒經電泳分析結果如 Fig. 2 所示，顯現兩個斑點，其中泳動距離為 6.7 cm 和 4.5 cm，兩斑點個別對應於河魨毒和脫水河魨毒。

高效能液相層析儀分析之結果如 Fig. 3 所示，香魚片粗毒呈現六個明顯之吸收波峰，滯留時間 (retention time, Rt) 分別為 3.0, 3.8, 7.2, 8.3, 9.3 和 11.0 分鐘。其中 Rt 7.2 和 9.3 分鐘之波峰各對應於河魨毒和脫水河魨毒。

綜合患者和動物之中毒症狀，及上述香魚片粗毒之分析和鑑定結果可知，香魚片中確實含有河魨毒 TTX 和脫水河魨毒 anh-TTX 等成分。因此本次香魚片食物中毒事件之中毒原因物質係由河魨毒所致。本省民眾因誤食有毒河魨和香魚片而引起食物中毒之事件屢次發生，而本次為首次針對香魚片之疑似食物中毒而具有生物毒性和化學鑑定之報導。

香魚片在水產食品上是屬於調味乾製品。早期原料為鮫鱈魚和剝皮魚，但因原料價格日益高漲，而改以產量較豐的克氏兔頭魨 (又名黑鯖河魨, *Lagocephalus gloveri*) 為主要原料，然而國內加工業者對魚種之辨種能力欠缺，易將其與劇毒魚種月尾兔頭魨 (又名毒鯖河魨, *L. lunaris*) 相混淆，其次河魨之毒性通常以肝臟、卵巢等內臟器官較強，若處理魚肉時造成內臟污染，或解凍不良時，均會造成魚肉片含有劇毒之河魨毒。本次香魚片檢出河魨毒事件，顯示消費者家中的一包香魚片，至少 2 片含毒 (一片由患者家人及貓、狗分食，另一片係送驗者)，衛生單位於確認結果後已針對同批產品予以查封，並追查生產源頭。惟於後續自同一製造廠商抽送之五包魚片中皆未檢出河魨毒。此結果類似於黃等<sup>(12)</sup>之結果，即有毒香魚片之出現比例不高。其原因推測係因香魚片之原料，主要為無毒種克氏兔頭魨，但業者偶而誤用了產量少之有毒河魨種月尾兔頭魨或橫紋多紀魨所致。因此日後加強國人對有毒河魨之認識仍極為重要，另在香魚片的製造過程及包裝標示上亦需嚴格把關，另教育消費者於食用水產品發現有口唇麻木感，即應立刻停止等以有效防止類似事件之發生。

### 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 ingestion fish roe. *J. Biomed. Lab. Sci.* 4:287-283.
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. Cheng, C. A., Wang, C. L., Chou, S. S., Deng, J. F., Chien, L. T. and Hwang, D. F. 1995. Food poisoning due to ingestion of fish roe. *J. Chinese Nutr. Soc.* 20:83-92.
6. Hwang, D. F. 1994. Food poisoning caused by marine toxins and their related researches. *Life Sciences Newsletter, NSC* 8:2-9.
7. Hwang, D. F. and Jeng, S. S. 1991. Bioassay of tetrodotoxin using ICR mouse strain. *J. Chinese Biochem. Soc.* 20:30-36.
8. Goto, T., Kishi, Y., Takahashi, S. and Hirata, Y. 1965. Tetrodotoxin. *Tetrahedron* 21:2059-2088.
9. 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.
10. Tani, I. 1945. *Toxicological Studies in Japanese Puffers.* p. 13. Teikoku Tosho, Tokyo, Japan.
11. 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.

## **First Report on Identification of Food Poisoning from Ingestion of Dried Seasoned Puffer Fish Fillet**

SHIAN-JYUE DU<sup>1</sup>, YOU-MIN FU<sup>1</sup>, YANG-CHIH SHIH<sup>1</sup>, PI-CHIOU CHANG<sup>1</sup>,  
SHIN-SHOU CHOU<sup>1</sup>, YA-HUE LUE<sup>2</sup> AND DENG-FWU HWANG<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>. *National Laboratories of Foods and Drugs, Department of Health, Executive Yuan, R. O. C.*

<sup>2</sup>. *Department of Food Science, National Taiwan Ocean University, 2 Pei-Ning Road, Keelung 202, Taiwan, R. O. C.*

### **ABSTRACT**

Dried seasoned puffer fish fillet was suspected for a paralytic food poisoning incident occurred in Taichung, Taiwan, in February 1998. Symptoms included severe numbness of lips. The uneaten portion was analyzed for toxicity and toxic composition. The dried seasoned puffer fish fillet showed a high toxicity of 525 mouse units per gram by tetrodotoxin bioassay. The sample was purified with Diaflo YM-1 membrane ultrafiltration and run through Bio-Gel P-2 chromatography. The purified toxin, analyzed with thin layer chromatography, electrophoresis and high performance liquid chromatography, indicated that the causative toxic agents were tetrodotoxin and anhydrotetrodotoxin.

*Key words:* dried seasoned fish fillet, tetrodotoxin, anhydrotetrodotoxin, food poisoning.