

論文要旨

十文字学園女子大学大学院人間生活学研究科食物栄養学専攻

VU THUY LINH – 18DA003

Summary in English

Researches on the Establishment of Pufferfish Food Culture in Vietnam

In Japan, pufferfish has been developed as a delicious high-class food culture, despite its toxicity. On the other hand, Vietnam has a long coastline with abundant pufferfish, and it could be a potential fishery resource but the pufferfish food culture is not developed. This applicant conducted research on the idea that introducing a Japanese-style pufferfish food culture in Vietnam could contribute to food safety and security, economic effects, nutrition, and so on. This thesis consists of the following four chapters.

Chapter 1 Research background - Literature review - Agreement between Japan and Vietnam researchers

Chapter 2 (Study 1) Acceptability evaluation by Vietnamese about non-toxic cultured pufferfish in comparison with grouper and mackerel

Chapter 3 (Study 2) Tissue distribution of tetrodotoxin and its analogs in *Lagocephalus* pufferfish collected in Vietnam

Chapter 4 Birth and development of pufferfish food culture in Vietnam

Chapter 1 describes the research background with a literature review and the purpose of these researches as a whole. In particular, the knowledge, legal measures - systems, and measures required to establish a new culture of eating pufferfish in Vietnam are discussed. As a basis for this, I did the work on Study 1 (whether pufferfish is allowed to be eaten by Vietnamese experts on Japan) and Study 2 (tetrodotoxin in tissue of pufferfish collected in Vietnam). Furthermore, the conclusion of an exchange agreement between two Japanese-based and two Vietnam-based organizations, which is a prerequisite for advancing these two studies, is also described. More specifically, regarding Chapter 1.

There are more than 100 species of pufferfish (scientific term: *Tetraodontidae*, Japanese term: fugu) that inhabit coastal and freshwater areas around the world, and there are large numbers in subtropical and tropical waters, including in Vietnam. Pufferfish have delicious white meat, but some species possess a strong neurotoxin that has often killed people. Death by pufferfish toxin is frequent in Vietnam so that the capture, marketing, and ingestion of pufferfish are currently prohibited by law. On the other hand, pufferfish are used as edible fish in Japan, and in particular, *Takifugu rubripes* Torafugu is treated as a high-class fish, but there is almost no poisoning due to this.

The toxicity of pufferfish varies depending on the habitat, species, season, gender, organs and so on. The toxic substances in pufferfish are tetrodotoxin (TTX) and analogs (TTXs). High concentrations of TTXs have been confirmed in some amphibians, arthropods, toxic mollusca,

and flatworms. The mechanisms of how these organisms become toxic have not been known clearly until now. The TTXs of pufferfish are thought to be derived from their food sources because cultured Torafugu grown on artificially compounded feed is non-toxic. In Japan, the species and parts of edible pufferfish are legally stipulated, and their processing is limited to specialists such as pufferfish processing chefs who have been certified by each prefecture government. This system works well, and currently there are very few deaths from eating pufferfish in Japan each year. Most of these death cases are due to non-licensed preparation.

Based on the successful model system in Japan, to establish a pufferfish food culture in Vietnam, an agreement to establish a pufferfish food culture in Vietnam was signed by Jumonji University, Mitsui Suisan Co., Ltd., the Vietnam National Institute of Nutrition, and the Vietnam Research Institute of Marine Fisheries. The agreement will be continuously renewed every five years unless otherwise noted. The main contents are related to the establishment of a pufferfish toxicity test system and a pufferfish processing system in Vietnam.

In Chapter 2, I conducted Study 1 on a comparison of the taste of dishes using cultured pufferfish from Japan and grouper and mackerel from Vietnam to see whether the taste of Japanese pufferfish dishes would be accepted by Vietnamese. Japanese pufferfish processing license-holder chefs prepared these three kinds of fishes in fried and hot pot dishes. In addition, Japanese-style fried fish, hot pot, sashimi (dishes with raw fish), hirezake (Japanese sake with grilled pufferfish fin in it), nikogori (a kind of jelly made from pufferfish skin), skin mix (boiled fugu skin sliced and mixed with chili, miso, and vinegar), tataki (fish grilled on the outside and kept raw inside), and shirako tofu (a kind of jelly made with pufferfish shirako) were served and evaluated for their taste. The number of selected panelists was 53 in the capital city of Hanoi and 54 in the city of Da Nang, where one of the largest fishing ports of Vietnam is located. The panelists were nutrition and marine science researchers, marine products company staff and government employees whose significance for law establishment. The results show that when comparing dishes using Japanese cultured Torafugu and Vietnamese high-quality fish, more than 90% of panelists answered that "fugu was tastier than Vietnamese high-class fish". Acceptability was scored by the 5-point method. The average score for various pufferfish dishes was over 4.40, which was very high. On the questionnaire whether they would like to eat more pufferfish, introduce it to their acquaintances, or make pufferfish a new food culture, more than 80% of the panelists answered "yes". In conclusion, Vietnamese panelists evaluated pufferfish as delicious and can become a new food culture.

In Chapter 3, I conducted Study 2 on the measurement of the content of tissue-specific TTX and TTXs in *Lagocephalus* pufferfish (Sabafugu) collected in Vietnam. There are several species belong to Sabafugu, which inhabit widely from temperate to tropical seas. Some of them are considered to be almost non-toxic in Japan. As mentioned above, the toxicity of pufferfish is said to vary greatly depending on the habitat, and the toxicity of pufferfish from Vietnam has not been elucidated. In this study, we analyzed the TTXs content of each part of the genus Sabafugu collected in each region of Vietnam. When the pufferfish was mixed with the main catch, we asked the fishermen's associations in each region to freeze it and make it available to us.

From 2017 to 2019, a total of 108 Sabafugu (*L. spadiceus* Shirosabafugu, *L. cheesemanii*

Kurosabafugu, *L. lunaris* Dokusabafugu, *L. inermis* Kanafugu) were used as samples; they were collected in the waters off Hai Phong, Nghe An in the north, Thanh Hoa, Da Nang in central, Vung Tau and Kien Giang in southern Vietnam. These frozen samples were delivered to Japan by air, dissected in a semi-thawed state, and each organ was extracted with diluted acetic acid in a hot immersion using conventional method used to prepare the test solution. The test solution was diluted with a neutral phosphate buffer solution, and the TTXs content was analyzed by the ELISA kit using a novel anti-TTX polyclonal antibody newly developed at Kitasato University. For samples in which high levels of TTXs were detected were analyzed by HPLC fluorescence (HPLC-FLD) to determine the content of TTX - a highly toxic component. In addition, for some of the samples, the presence or absence of deoxy analogs of TTX that could not be detected by HPLC-FLD was analyzed by the LC-MS method. The results show that almost no TTX and only almost non-toxic 5,6,11-trideoxy TTX (TDT) were detected in all organs of Shirosabafugu. In Kurosabafugu, trace amounts of TTX were detected in the gonads and intestines, but no TTX was confirmed in the muscles. High concentrations of TTXs were detected in Kanafugu by the ELISA method. In Dokusabafugu, trace amounts of TTX were confirmed in muscles and high concentrations in other organs. The results of this study suggest that Vietnamese Kurosabafugu and Shirosabafugu muscles are safe for food.

In Chapter 4, we considered what is necessary for the the establishment and development of a pufferfish food culture in Vietnam. The main elements are the expectations of the Vietnamese government, the establishment of a pufferfish poison analysis laboratory, the establishment of a pufferfish processing license system, and the development of the pufferfish industry.

Summary in Japanese

ベトナムのフグ食文化形成に関する研究

日本では、有毒であるが美味しい高級魚としてフグを食す文化が形成されている。一方、ベトナムは長い海岸線を有し、フグの種類また生息数が豊富であり、水産資源として期待できるが、フグ食文化は発達していない。本論文は、これらの事実に着目し、日本方式を参考とするフグ食文化の形成が、ベトナムにおける食の安全安心、経済効果、食文化の醸成質的量的、栄養、多方面に資するとの観点から取り組んだ研究成果を取りまとめたものである。本論文は英文で執筆され次の4章からなる。

- 第1章 研究背景・文献レビュー及び日越専門家の交流協定締結
- 第2章 (研究1) 養殖トラフグ、ハタ及びサワラ料理のベトナム人における官能評価の比較
- 第3章 (研究2) ベトナムで採集されたサバフグの組織別テトロドトキシンとその関連成分の含有量測定
- 第4章 ベトナムにおけるフグ食文化の誕生と発展

第1章では文献レビューによる研究背景および本研究全体の目的が述べられ、とくにベトナムでの食経験が乏しいフグを食すという新しい文化をベトナムに根付かせるために求められる知見、法的措置・制度、方策など等が検討されている。そのための基礎として、研究1 (フグの喫食がベトナムの専門家に許容されるか) および研究2 (ベトナムで採集されたフグの組織別テトロドトキシン類含有状況) に取り組んだとしている。さらに、この二つの研究を進めるための前提となる日越関連4機関による交流協定の締結についても記載されている。第1章に関し、より具体的には次のとおりである。フグ科魚類は世界各地の沿岸や淡水域に100種以上生息し、熱帯・亜熱帯海域では漁獲量も多い。フグは白身魚であり、その肉は美味である反面、強力な神経毒を保有するものがあり、しばしば死亡例を含む食中毒を引き起こしてきた。ベトナムではフグ中毒が多発しており、現在、フグ科魚類の捕獲、販売、摂取が法律で禁止されている。一方、日本ではフグ類は食用魚として利用されており、特にトラフグは高級魚として扱われ、これによる食中毒はほとんど起きていない。フグの毒性は、生息海域、種類、季節、性別、臓器などによって異なる。フグ毒の本体はテトロドトキシン(TTX)とその誘導体(TTXs)である。これら有毒生物の毒化機構は依然として不明である。配合飼料で育成した養殖トラフグが無毒であること、無毒フグに毒餌を与えると毒化することから、フグのTTXsは餌に由来すると考えられている。日本では食用可能なフグの種類と部位が法的に定められており、その取り扱いには都道府県ごとに認定したフグ処理師等の専門家に限定されている。この対策は有効に機能し、現在日本でのフグの喫食による死者は毎年数名となっており、その大部分は素人処理によるものである。

交流協定は、十文字学園女子大学、ミツイ水産株式会社、ベトナム国立栄養研究所、ベトナム海洋漁業研究所のあいだで締結した。協定は、特に意見がなれ、5年ごとに継続的に更新される。主な内容は、ベトナムのフグの毒性試験制度、フグ処理師制度の設立などに関するものである。

第2章では、研究1として、養殖トラフグ、ハタおよびサワラ料理のベトナム人における官能試験結果の比較を行った。日本のフグ料理の味がベトナム人に受け入れられるかどうかを調べるために、日本の養殖トラフグとベトナムの高級魚（ハタ、サワラ）で比較を行った。日本のフグ処理師免許保持者が、これら3種類の魚の揚げ物と鍋料理を作った。さらに日本で一般的なトラフグの調理法、すなわち唐揚げ、鍋料理、刺身、ヒレ酒、煮ごごり、皮の和え物、たたき、雑炊、白子豆腐を作り、官能評価を行った。選ばれたパネリストは107人で、栄養学及び海洋生命学分野の研究者、海産物会社員やフグに関する法律作成に関与する政府職員とした。その結果、日本の養殖トラフグとベトナムの高級魚を使った料理の比較では、90%以上が「フグはベトナムの高級魚よりもおいしい」と回答した。5点満点法の平均点では、各種フグ料理の平均スコアは4.40超と非常に高い評価を得た。質問表で、フグをもっと食べたいか、知人に紹介したいか、フグを新しい食文化にしたいかについて聞いた結果、80%以上のパネリストが「はい」と答えた。以上の結論として、ベトナムのパネリスト達の大部分から「フグは美味しく新しい食材になる」という評価を得た。

第3章では、研究2として行われたでは、ベトナムで採集されたサバフグの組織別TTXsの含有量を測定した。フグ類の毒性は産地や季節により大きくことなるとされており、ベトナム産サバフグ類の毒性については解明されていない。フグの収集は、漁師が捕獲した魚に混ざっていた場合、冷凍保存して提供していただくよう各地の漁業組合に依頼して行った。2017年から2019年までの期間に、ベトナムの長い沿岸で、北から南までの6漁港に水揚げされた合計108匹のシロサバフグ、クロサバフグを試料とした。技術の確認のために、有毒であることがわかっているドクサバフグ及びカナフグ数匹についても分析した。これら試料を凍結状態で日本に空輸し、半解凍状態で解剖して定法により希酢酸で熱浸抽出して検液を調製した。検液を中性リン酸緩衝液で希釈し、北里大学で新たに開発した新規抗TTXポリクローナル抗体を用いるELISAキットに付して含まれるTTXs含量を分析した。高レベルのTTXsが検出された試料については、検液をHPLC蛍光法(HPLC-FLD)で分析し、強毒成分であるTTXの含有量を調べた。さらに一部の検液については、HPLC-FLDでは検出できないTTXのデオキシ誘導体の有無をLC-MS法で分析した。その結果、シロサバフグの全ての部位でTTXはほとんど検出されず、ほぼ無毒の5,6,11-トリデオキシTTX (TDT) のみが検出された。クロサバフグは生殖腺と腸に微量のTTXが検出されたものの、筋肉にTTXは確認されなかった。カナフグにはELISA法でTTXsが高濃度に検出された。ドクサバフグでは、筋肉に微量、他臓器には高濃度のTTXが確認された。以上の結果、ベトナムのシロサバフグとクロサバフグの筋肉は食料として安全であることが示唆された。

第4章では、ベトナムにフグ食文化誕生と発展のために必要なことについて考察した。主な内容は、ベトナム国政府の期待すること、フグ毒分析研究所の設立、フグ処理師免許制度の創設およびフグ産業の発展である。