

중국으로부터 수입된 삼채복(*Fugu flavidus*)의 독성

김동수 · 김상록 · 이명자 · 설명훈 · 정동윤* · 김현대**
경성대학교 식품공학과 · *부산수산대학교 식품영양학과 · **동래여자전문대학 식품영양과

Toxicity of the Imported Pufferfish, *Fugu flavidus* ("Samchaebog"), from China

Dong-Soo KIM, Sang-Rok KIM, Myung-Ja LEE, Myung-Hoon SEOL,
Dong-Youn JEONG* and Hyun-Dae KIM**

Department of Food Science and Technology, Kyungsoong University, Pusan 608-736, Korea

*Department of Food Science and Nutrition, National Fisheries University of Pusan,
Pusan 608-737, Korea

**Department of Food and Nutrition, Tongrae Women's Junior College, Pusan 612-084, Korea

Ten specimens of the imported pufferfish, *Fugu flavidus* ("Samchaebog"), from China were assayed for anatomical distribution of toxicity. Also, a toxic ovary of each specimen was excised, and transferred into Bio-gel P-2 column chromatography for purification of the toxins. The average toxicity of all specimens assayed was calculated to be 4.1 ± 0.5 in liver, 2.8 ± 1.1 intestine, 0.8 ± 0.5 skin, 2.3 ± 1.5 testis, 39.0 ± 16.0 ovary and 7.0 ± 2.0 MU/g bile, respectively; Ovary was weakly toxic, but others were non-toxic or weakly toxic. Moreover, instrumental analyses including thin layer chromatography (TLC) and electrophoresis disclosed tetrodotoxin (TTX) and anhydro tetrodotoxin (anh-TTX), respectively. The toxins of the ovary gave four peaks in high performance liquid chromatography (HPLC) whose retention times (14 and 24 min) were close to those of TTX and anh-TTX, respectively.

Key words : pufferfish, *Fugu flavidus*, anatomical distribution of toxicity, tetrodotoxin

서 론

복어독은 일반적으로 봄에 독력이 강해지기 시작하여 5~6월에 최고에 달하는 경향이 있는데, 주로 식용으로 이용되고 있는 것은 13여종의 참복과에 속하는 어종으로 그 독력은 종류, 어체 부위, 계절, 개체 등에 따라 다르다. 또한 동일 종류일지라도 아열대 지역에 분포하고 있는 것은 꺾질과 근육에도 강한 독성을 지니고 있다(박 등, 1994). 또한, 최근에 복어의 독성분인 tetrodotoxin (TTX)은 복어류 이외에도 패류(Narita et al., 1981; Noguchi et al., 1984) 갑각류

(Noguchi et al., 1986), 해양 미생물(Narita et al., 1984) 및 해양생물(Noguchi et al., 1987; Ali et al., 1990) 등에 다양하게 분포하고 있는 것으로 밝혀지고 있다.

복어 독성에 대하여는 Tani(1945)가 일본의 北九州 産 복어 21종을 대상으로 최근까지 복어의 독성분류 기준으로 이용되고 있으나 다른 연구자들(Kim et al., 1994; Jeong et al., 1994; Kim et al., 1995) 에 의하여 Tani의 자료와 일치하지 않는 사실이 밝혀지고 있다. 또한, 대만의 Hwang et al.(1988)은 Tani가 조사하지 않은 복어류의 독성에 대하여 연구 보고된 바 있다. 우리나라의 경우 최근 농산물 수입개방 이후 복어

이 논문은 1994학년도 경성대학교 학술연구조성비에 의해서 연구되었음.

류는 수입이 급증하여 자유화된 후 약 6개월 만에 부산항을 통해 모두 1,287톤이나 수입되고 있다 같은 기간 동안 부산공동어시장에서 위판된 국내산 복어는 겨우 수입산의 10% 수준인 108톤에 불과한 물량이었다. 복어류는 참복, 까치복, 밀복, 황복, 별복 등의 종류에 따라 가격이 다르며 같은 종류의 경우 국내산과 수입산의 가격차이는 크게는 수십배에 달하는 것으로 알려져 있다(부산매일신문, 1994). 한편, 이러한 수입산과 국내산의 현저한 가격차이로 인하여 복어류의 소비량의 증대와 더불어 다양한 복어류의 수입이 증가할 추세일 것으로 생각된다. 특히, 일부 어종은 외관상 유사하여 무독복어와 유독복어의 구별이 어려워 일부 혼입될 우려도 있다. 또한 복어류의 독성은 지역차, 계절차 및 개체차 등이 뚜렷하기 때문에 이미 그 독성이 보고 되어진 종류일지라도 수입 시판되고 있는 복어류의 독성에 대하여 광범위한 재검토와 아울러 유독 복어류의 출현을 감시할 수 있는 정기적이며 지속적인 연구자료의 축적이 필요하다고 생각된다. 일본의 Ministry of Health and Welfare (1991)의 보고에 의하면 1983년 12월에 식용가능한 복어 22종을 지정하는 등 복어독에 대한 정보의 보급에 힘입어 복어로 인한 식중독사건은 감소하고 있는 실정이다.

UR협상 타결로 97년 7월 이후 모든 수산물에 완전 개방되면 정확한 독성이 알려져 있지 않은 복어의 수입량도 더욱더 폭증할 것으로 예상되므로 선진국과 같이 독자적인 식품위생의 기준 마련을 비롯하여, 검사체제의 개선, 시설, 장비 및 인원의 보강도 당면한 현안이라 생각된다.

본 연구에서는 중국에서 수입되어 시판되고 있는 삼채복을 시료로 하여 조직부위별 독성을 재검토하고 Bio-gel P-2 칼럼크로마토그래피, 박층크로마토그래피, 전기영동 및 고속액체크로마토그래피 등을 이용하여 복어독을 분리하여 그 성분을 분석 검토하였다.

재료 및 방법

1. 재료

본 실험에 사용한 복어는 중국에서 수입 시판되고 있는 삼채복(*Fugu flavidus*)을 부산시 자갈치 어시장에서 선도가 양호한 것으로 1993년 7월부터 1994년 2

월 사이에 구입하였다. 시료어는 아이스박스에 넣어 실험실로 운반한 후 -20°C 에 저장하였고, 반 해동상태에서 근육, 껍질, 내장 및 난소 등으로 나누어 조직 부위별 독성을 조사하였다. 또한, 독성 검출 결과 독성치가 높게 나타난 간장부위의 독소를 분리 정제하여 분석시료에 사용하였다.

2. 독성검사

독성시험은 mouse bioassay법 (Ministry of Health and Welfare, 1991)으로 하였다. 시료 10g에 초산완충액을 가하여 충분히 독소를 추출한 후 여과하여 공시액으로 하였다. 공시액은 증류수에 적당히 희석하여 ICR계 쥐(수컷, 18~21g)의 복강에 1ml 주사한 후, 독성치를 TTX의 치사시간으로 부터 계산하여 MU (mouse unit) 단위로 나타내었다.

3. 독소의 분리 및 정제

복어의 간장에 1% 초산/메타놀 용액을 첨가하여 3,000 r.p.m에서 15분간 원심분리하였다. 잔사에 다시 동일한 방법으로 2회 독소를 추출하여 모은 상층액을 디클로메탄으로 탈지하였다. 수용성층을 분리한 후 잔류하여 있는 디클로로메탄을 진공증발기내에서 제거하고 Diaflo YM-2(Amicon)로 한외여과하였다. 여액은 감압 농축하여 Bio-Gel P-2 칼럼(5×53 cm)에 넣어 0.1 M 초산용액으로 용출시켜 독성 획분을 얻어 농축하였다. 독성 획분은 다시 Bio-gel P-2 칼럼(2×94 cm) 상에서 0.03 M 초산용액으로 용출시켜 독성획분만을 모아 동결 농축하여 부분정제하고 이것을 기기분석에 사용하였다.

4. 기기분석

TLC분석은 Whatman LHP-K plate 상에서 pyridine-ethylacetate-acetic acid-water 혼합액 (15 : 5 : 3 : 4)으로 전개시킨 후 분리된 독소는 10% KOH를 분무하여 365 nm의 U.V. 하에서 확인하였다. 전기영동은 cellulose acetate strip(Chemetron)을 사용하여 0.08 M Tris-HCl buffer(pH 8.7)내에서 0.8 mA/cm의 전류를 30분간 흘려 분리하고 TLC와 같은 방법으로 확인하였다. HPLC분석은 YMC-pack AM-314 ODS column 상에서 2 mM sodium 1-heptane sulfonate/0.05 M potassium phosphate buffer(pH 7.0)용액과 methanol 혼

함액으로 용출시켜 C₉-base로 변환한 후 형광검출기로 분석하였다.

결과 및 고찰

중국으로부터 수입된 삼채복 10개체에 대한 전장, 체중 및 독력 검사 결과는 Table 1에 나타내었다. 본 실험의 시료로 사용한 것은 전장이 24.3~38.5 cm, 체중은 395~1,360 g 이었으며, 암컷 4개체와 수컷은 6개체이었다. 가식부위인 근육 및 껍질 부위는 171.9~659.7 g 및 52.0~299.5 g 이었다. 부위별 독력 검사 결과 내장, 난소 및 담즙은 ND-10 MU/g, 22~87 MU/g 및 ND-23 MU/g이었으나, 간장, 껍질, 근육 및 정소는 무독하였다. Tani (1945)의 보고에 의하면 삼채복은 간장, 내장, 난소는 강독, 껍질은 약독, 근육과 정소는 무독한 것으로 분류되어 있어 근육과 정소가 무독한 것은 일치하였으나 다른 부위의 독성치에는 차이가 있는 것으로 나타났다.

또한, 대만산 삼채복 6개체에 대한 조직 부위별 독력을 조사한 Hwang et al. (1992)의 연구결과를 보면, 근육(ND-28 MU/g), 내장(ND-14 MU/g), 껍질(17~190 MU/g), 간장(230~3500 MU/g), 난소(1700~2600 MU/g) 및 정소(17~100 MU/g)의 독력을 나타내어 본 연구 결과에 비하여 상당히 높은 점은 특별히 이

종류에 대하여는 식품위생학적인 측면에서 주목할 가치가 있다고 생각된다. 이러한 원인에 대하여는 여러 가지가 있을 수 있으나, 시료의 어획시기, 즉 계절에 따라 독력의 차이가 큰 것이 아닌가 생각된다.

한편, 유독개체 출현율은 Table 2에 나타내었다. 내장, 난소 및 담즙의 유독개체 출현율은 각각 10(1/10), 100(4/4), 20(2/10)%로 나타내었고, 각 부위별 평균 독성은 난소(39 MU/g)를 제외하고는 10 MU/g 미만으로 무독하였다. 간장부위의 독성치는 암수 모두 2~7 MU/g로 성별에 따른 뚜렷한 차이는 없는 것으로 나타났다고, 난소는 4개체 모두 약독인 22~87 MU/g로 나타내어 간장부위와는 상이하게 뚜렷한 독력차가 있었다. 삼채복의 간장, 내장, 난소 및 껍질에 대한 독성 검출결과는 Tani (1945)의 보고와는 다르게 나타난 것으로 보아, 본 어종에 있어서도 지역차 및 개체차가 있는 것으로 추정되며 광범위한 재검토가 필요하다고 생각된다.

한편, 삼채복과 외관이 비슷하여 판별하기 힘든 어종인 황점복(*Fugu alboplumbeus*)의 경우 독력검사 결과, 간장(34~1,203 MU/g), 난소(180 MU/g), 내장(34~36 MU/g), 껍질(13~53 MU/g), 근육 (8 MU/g), 정소(14 MU/g) 및 담즙(44~89 MU/g)으로 나타났다. 삼채복과 마찬가지로 근육은 무독하지만, 다른 부위는 약독 내지 강독으로 검출되어 수입 복어류의 독성 검사에는 서로 혼입될 유사 어종간의 판별이 특히 중

Table 1. Anatomical distribution of the toxicity for the imported pufferfish, *Fugu flavidus*, from China

Specimen No.	Total length (cm)	Body weight (g)	Sex	Toxicity (MU/g)					
				Liver	Intestine	Skin	Muscle	Gonad	Bile
1	25.5	520	M	4	ND*	ND	ND	ND	3
2	24.3	468	M	3	2	ND	ND	8	3
3	38.5	1,360	F	3	ND	4	ND	25	8
4	29.5	680	F	5	10	ND	ND	87	23
5	28.7	662	F	3	4	ND	ND	22	5
6	26.0	580	F	5	5	ND	ND	22	5
7	25.0	395	M	2	ND	ND	ND	ND	ND
8	23.7	500	M	7	ND	ND	2	ND	4
9	25.0	510	M	3	6	4	ND	6	8
10	27.5	650	M	6	ND	ND	ND	ND	11

* Not detected (ND<2 MU/g)

Table 2. Toxicity of the imported pufferfish, *Fugu flavidus*, as classified by tissue

Tissue	Frequency of toxic specimens(%)	Number of specimens ¹			Highest toxicity (MU/g)	Average toxicity ± S.E. (MU/g)
		Strongly toxic	Weakly toxic	Non toxic		
Liver	0(0/10) ²	0	0	10	7	4.1 ± 0.5
Intestine	10(1/10)	0	1	9	10	2.7 ± 1.1
Skin	0(0/10)	0	0	10	4	0.8 ± 0.5
Muscle	0(0/10)	0	0	10	2	0.2 ± 0.2
Testis	0(0/ 6)	0	0	6	8	2.3 ± 1.5
Ovary	100(4/ 4)	0	4	0	87	39.0 ± 16.0
Bile	20(2/10)	0	2	8	23	7.0 ± 2.0

¹ Strongly toxic, 100-999 MU/g; Weakly toxic, 10-99 MU/g; Non-toxic, <10 MU/g

² Number in parenthesis represents No. of toxic specimens(≥10 MU/g) per specimens tested.

요하다고 생각된다.

한편, Bio-Gel P-2 칼럼에 독소 농축물을 주입하고 0.03 M 초산을 사용하여 칼럼 크로마토그래피를 행하였다. 각 용출획분에 대하여 mouse assay에 의하여 유독 획분이라 확인된 fraction number(5 ml/tube) 55 부터 65번까지의 용출액을 모아 진공동결하여 독소의 조성검출에 사용하였다. Bio-Gel P-2칼럼에 의하여 정제된 복어독 획분을 pyridine: ethylacetate: acetic acid: water의 혼합용매에 전개시킨 TLC상에 분석하였다. 표준품 TTX와 anh-TTX의 상대이동도와 일치하는 지점에 2개의 spot(Rf 0.64, 0.86)가 모두 나타내어 TTX 관련물질들이 존재하고 있다는 사실이 확인되었다. 또한 분리된 독소 성분에 10% KOH로 분무한 후 110 °C에서 10분간 가열하여 UV(365 nm)하에서 관찰한 결과 황색형광의 spot를 나타내었다. 전기영동에 의한 분석은 cellulose acetate stripe(5×10 cm) 상에 0.08 M Tris-HCl 완충액을 사용하여 0.8 mA/cm의 전류를 30 분간 통과 시킨 후 전자와 동일한 방법으로 전처리한 결과 표준품의 이동거리와 일치하는 2개의 spot (5.3, 7.2 cm)를 나타내었다(Fig. 1).

복어독 및 폐류독의 미량정량법으로 HPLC system 이 최근에 개발되어 TTX와 그 천연동족체들의 분석이 가능한 것으로 알려져 있는데, Fig. 2는 삼채복의 독소 성분을 본 분석장치로 분석 검출한 결과 TDA, TTX와 anh-TTX의 peak는 뚜렷하였으나, 4-epi TTX의 peak는 미미하게 나타났다.

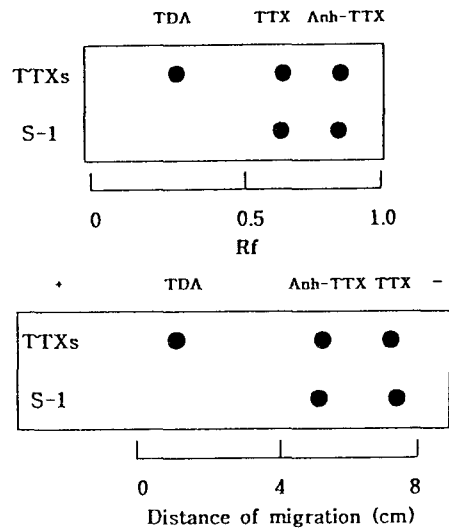


Fig. 1. Thin layer chromatography (upper) and electrophoresis (lower) chromatograms of the partially purified toxins from the pufferfish (ovary) toxin along with authentic toxin. Thin layer chromatography was performed on silica gel LHP-K plates (Whatman) using a solvent system of pyridine-ethylacetate-acetic acid-water (15 : 5 : 3 : 4). After the run, the plates were sprayed with 10% KOH, and heated at 110°C for 5 min. The toxins were visualized under UV light (366 nm). Electrophoresis was performed on 5×18 cm cellulose acetate strips (Chemetron) in 0.08 M Tris-HCl buffer (pH 8.7) at 0.8 mA/cm width for 30 min. After development toxins were detected as in thin layer chromatography. S-1: *Fugu flavidus* (ovary)

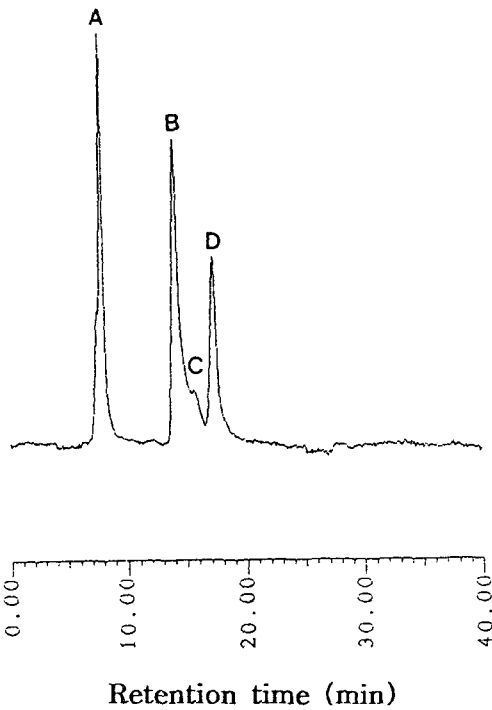


Fig. 2. High performance liquid chromatography of *Fugu flavidus*(ovary) toxin. Reverse-phase high performance liquid chromatography was carried out on an AM-314(YMC) ODS column(0.6×30 cm), using 2 mM sodium 1-heptanesulfonate as an ion-pairing reagent, with 1% MeOH-0.05 M potassium phosphate(pH 7.0). The toxin detected with 3 N NaOH, heating the reaction mixture at 100°C for 0.4 min and monitoring the fluorescense at 505 nm with 381 nm exitation. A: TDA, B: TTX, C: 4-epi TTX, D: anh-TTX

요 약

본 연구에서는 중국에서 수입되어 시중에서 판매되고 있는 삼채복을 시료로 하여 각 개체의 조직 부위별 독성을 조사하였고 Bio-Gel P-2 칼럼 크로마토그래피로 복어독을 부분정제하여 TLC, 전기영동 및 HPLC에 의하여 독 성분을 검출하고 확인하였다.

삼채복 10개체의 경우 그 독력은 내장, 난소 및 담즙은 ND-10 MU/g 및 ND-23 MU/g이었으나, 간장, 껍질, 근육 및 정소는 무독하였으며, 유독개체 출현율은 난소(100%), 담즙(20%) 및 내장(10%)순으로 나타

났다. 간장부위는 성별에 따른 독력의 차이를 볼 수 없었으나, 생식소의 경우 성별에 따른 차이가 뚜렷하게 나타났다. 한편, 삼채복의 난소로부터 분리한 독소는 TLC와 전기영동상에서 각각 표준품 TTX와 anh-TTX의 상대이동도와 유사한 두 지점인 Rf 0.64, 0.86 와 5.5, 7.2 cm에서 나타내어 TTX 관련물질임이 확인되었다. 또한, HPLC분석 결과 TDA, TTX와 anh-TTX의 peak가 뚜렷하게 나타난 반면 4-epi TTX의 peak도 약간 나타났다.

참 고 문 헌

- Ali, A. E., O. Arakawa, T. Noguchi, K. Miyazawa, Y. Shida and K. Hashimoto. 1990. Tetrodotoxin and related substances in a ribbon worm *Cephalothrix linearis* (nemertean). *Toxicon*, 28, 1083~1093.
- Hwang, D. F., T. Noguchi, O. Arakawa, T. Abe and K. Hashimoto. 1988. Toxicological studies on several species of puffer in Taiwan. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54(11), 2001~2008.
- Hwang, D. F., C. Y. Kao, H. C. Yang, S. S. Jeng, T. Noguchi and K. Hashimoto. 1992. Toxicity of puffer in Taiwan. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58(8), 1541~1547.
- Jeong, D. Y., D. S. Kim, M. J. Kim, S. R. Kim, D. S. Byun, H. D. Kim and Y. H. Park. 1994. Toxicity of several puffers collected at a fish market of Pusan, Korea. *Bull. Korean Fish Soc.*, 27(6), 682~689.
- Kim, K. C., J. W. Park, M. J. Lee, S. R. Kim, D. S. Kim, H. D. Kim and Y. H. Park. 1995. Toxicity of the pufferfish *Fugu stictonotus* ("Ggachil-bog") collected at a fish market of Pusan. *Bull. Korean Fish Soc.*, 28(1), 31~34.
- Kim, H. D., Y. H. Park and D. S. Kim. 1994. Tetrodotoxin in a pufferfish, *Fugu xanthopterus*. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 23(3), 502~508.
- Ministry of Health and Welfare. 1991. *Shokuhin Eisei Kensa*, Japan, 2. pp. 296~300.

- Narita, H., T. Noguchi, J. Maruyama, M. Nara and K. Hashimoto. 1984. Occurrence of a tetrodotoxin-associated substance in a gastropod, "Hanamushirogai" *Zeuxis siquijorensis*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 50, 85~88.
- Narita, H., T. Noguchi, J. Maruyama, Y. Ueda, K. Hashimoto, Y. Watabnabe and K. Hida. 1981. Occurrence of tetrodotoxin in a trumpet shell, "boshibora" *Charonia sauliae*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 47, 935~941.
- Noguchi, T., D. F. Hwang, O. Arakawa, H. Sugita, Y. Deguchi, Y. Shida and K. Hashimoto. 1987. *Vibrio alginolyticus*, a tetrodotoxin-producing bacterium, in the intestines of the pufferfish, *Fugu vermicularis* *vermicularis*. *Mar. Biol.*, 94, 625~630.
- Noguchi, T., J. K. Jeon, O. Arakawa, H. Sugita, Y. Deguchi, Y. Shida and K. Hashimoto. 1986. Occurrence of tetrodotoxin and anhydrotetrodotoxin in *Vibrio* sp. isolated from the intestines of a xanthid crab, *Atergatis floridus*. *J. Biochem.*, 99, 311~314.
- Noguchi, T., J. Maruyama, H. Narita and K. Hashimoto. 1984. Occurrence of tetrodotoxin in the gastropod mollusk *Tutuf lissostoma* (frogshell). *Toxicon*, 22, 219~226.
- Tani, I. 1945. Toxicological studies of puffers in Japan. Teikokutosho, Tokyo, pp 55~57.
- 박영호, 장동석, 김선봉. 1994. 수산가공이용학. 형설출판사, 서울, 1087p.
- 부산매일신문. 1994. 1471호

1995년 6월 29일 접수

1995년 9월 2일 수리