KOREAN J. FOOD & NUTR.
Vol. 9, No. 4, 361~365(1996)

인도네시아산 흰 밀복 및 중국산 황복의 조직별 독성

김동수 · 이화정* · 이명자* · 이문조 · 김현대**

경성대학교 식품공학과

부산지방식품의약품청 시험분석실* 동래여자전문대학 식품영양과**

Anatomical Toxicity of Pufferfishes, Chinese *Fugu obscurus* and Indonesian *Lagocephalus wheeleri*

Dong-Soo Kim, Hwa-Joung Lee*, Myung-Ja Lee*, Moon-Jo Lee and Hyun-Dae Kim**

Dept. of Food Science and Technology, Kyunsung University, Pusan 608-736, Korea

**Division of Food & Drug Inspection Analysis, F.D.A. Office, Pusan 608-080, Korea*

***Dept. of Food and Nutrition, Tongrae Women's Junior College, Pusan 612-082, Korea*

Abstract

Indonesian *Lagocephalus wheeleri* ("White-milbog") and Chinese *Fugu obscurus* ("Hwang-bong") puffers were dissected into liver, intestine, ovary or testis, skin and muscle for assay of toxicity. Also, the toxins from the puffer liver were partially purified and analyzed. The frequency of toxic specimens for *Lagocephalus wheeleri* was 20, 40, 0 and 10%, in terms of liver, intestine, skin and muscle, respectively; and average toxicity was 5.5±0.9(Mean±S.E.), 11.8±4.2, 2.2±0.1 and 3.0±0.8 MU/g, respectively. All of *Fugu obscurus* specimens had toxicity ranging between 2 and 210 MU/g. The frequency of toxicity in intestine and ovary, both 100% was to be higher percentage than that of other tissues. The toxinsgave two spots tetrodotoxin(TTX) and anhydro-tetrodotoxin(anh-TTX) on TLC. Also, the toxin of each puffer species showed two spots in electrophoresis. In HPLC analysis of *Fugu obscurus*, the toxins showed TTX, 4-epi- TTX and anh-TTX.

Key words : *Lagocephalus wheeleri, Fugu obscurus, Toxicity*, TTX

서 론

수산식품은 우리의 식생활에 큰 비중을 차지하고 있고 농수산물의 수입개방으로 많은 종류의 수산물이 대량으로 수입되고 있다. 그러나, 안전성 문제는 그를 뒤따르지 못하여 많은 국민들이 불안해하고 있다. 그러므로 수산식품의 안전성 확보는 중요한 문제가 되고 있다. 복어독인 테트로도톡신(tetrodotoxin, TTX)은 복어류에만 존재하는 것으로 알려져 왔으나, 최근에는 해양미생물[1]을 비롯한 해양생물[2]에 다양하게 분포하고 있는 것으로 밝혀지고 있다. 복어독은 봄에 강해지기 시작하여 5~6월에 최고에 달한다. 식용으로 이용되는 것은 13여종의 참복과로서 독력은 종류, 부위, 계절, 개체 등에 따라 다르다[3]. 또 같은 종류라도 아열대 지역에 분포하고 있는 것은 껍질과 근육에도 강한 독성을 지니고 있다[4]. 일본의 경우는 식용가능 복어로서 22종을 지정하는 등[5] 복어독에 대한 검사기능을 강화하고 위생적 예방 대책을 제시하여 식중독사고는 감소하고 있으나, 아직도 복어독 사망자는 전체 식중독 사망자의 80% 정도를 차지하고 있다[6]. 현재까지 복어 독성에 대한 분류기준으로 이용되고 있는 것은 Tani[7]가 북구주산 복어 21종을 대상으로 한 결과이지만, 복어의 독성은 동일 종이라도 지역차, 계절차 등에 따라 다르기 때문에 Tani의 자료와 일치하지 않는다. 우리나라는 UR 협상타결로 97년 7월부터 모든 수산물이 완전 개방되면 시세차이로 복어류의 수입이 다양화 증가화할 것이다. 그러므로 복어류에 대한 독성검사를 정밀 검사체제로 전환시켜 국제화해야 한다. 복어독은 무색, 무취이므로 육안으로 식별되지 않고, 유독복어종을 육안으로 판별하기는 상당히 어렵다. 수입품 중에는 우리가 볼 수 없었던 종류나 독성이 정확히 밝혀져 있지 않은 것들도 수입될 가능성이 있기 때문에 이들 변화에 따른 새로운 기준이 필요하다.

따라서 본 연구는 이들에 대한 기준을 확립하고자 국내에서 수입 시판되고 있는 복어류 가운데 인도네시아산 흰밀복 및 중국산 황복의 독성을 생쥐를 사용하여 재

Corresponding author : Dong-Soo Kim

검토하고, Bio-gel P-2 겔 크로마토그라피, 박층 크로마토그라피, 전기영동 및 고속 액체 크로마토그라피로 복어독을 분리하여 독의 조성을 분석한 결과이다.

재료 및 방법

1. 실험재료

복어는 인도네시아산의 흰 밀복(*Lagocephalus wheeleri*) 10마리와 중국산 황복(*Fugu obscurus*) 9마리를 1996년 3월 부산시에서 냉동상태로 구입하였다. 시료어는 −20℃에서 저장하여 실험에 사용하였다. 독소 분리 및 독조성 분석 검출에는 독성이 높게 나타난 개체 간장의 독소 성분을 분리 정제하여 사용하였다.

2. 독성검사

일본식품위생검사지침의 복어독 검사법[5]에 따랐다. 즉, 시료 용액을 증류수로 희석하여 ICR계 쥐(수컷, 19~21g)의 복강에 1ml 주사한 후, TTX의 치사시간으로부터 계산하여 mouse unit(MU)로 나타냈다.

3. 독소의 분리 및 정제

복어의 간장에 1% 초산/메탄올 용액을 가하여 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하고, 잔사를 다시 2회 원심분리하여 모은 상징액을 디클로로메탄으로 탈지하였다. 수용성층을 분리하고 남은 디클로로메탄을 진공증발기로 제거한 후 Diaflo YM-2(Amicon)로 한외여과시켰다. 여액을 Bio-gel P-2 컬럼(5.6 × 53cm)에 가해 0.1M 초산용액으로 용출시켜 독성부분을 크로마토그래피하여 분리한 다음 동결 농축하여 사용하였다.

4. TLC

복어독 80㎍을 취하여 5×20cm Whatmann LHP-K plate상에 spot하고 pyridine-ethylacetate-acetic acid-water 혼합액(15 : 5 : 3 : 4)으로 전개시킨 후 10% KOH를 분무하여 365nm의 UV로 표준품 TTX, 4-epi-TTX 및 anh-TTX의 이동거리를 확인하였다.

5. 전기영동

복어독 70㎍을 취하여 5×18cm cellulose acetate strip(Chemetron)상에 spot하고 0.08M Tris-HCl buffer(pH 8.7)내에서 0.08 mA/cm의 전류를 30분간 가하여 전기영동하였다. 검출은 TLC와 같은 방법으로 하였다.

6. HPLC

컬럼은 YMC-pack AM-314 ODS를 이동상은 2mM sodium 1-heptane sulfonic acid/0.05M potassium phosphate buffer(pH 7.0)용액과 methanol 혼합액(99:1)을 사용하고, 유속은 1ml/min로 하였다. 시료는 3N NaOH로 100℃에서 C9-base (2-amino6-hydroxymethyl-8-hydroxyquinazoline)로 변환시킨 후 형광검출기를 사용하여 들뜸 파장 380nm, 형광파장 505nm에서 검출하였다.

결과 및 고찰

1. 흰 밀복의 조직별 독성

인도네시아산 흰 밀복 10마리의 전장, 체중 및 독성 검출 결과는 Table 1과 같다. 흰 밀복은 전장이 35cm 정도의 중형종으로 근육, 껍질, 정소는 무독한 것으로 알려져 있다. 본 실험에 사용한 것은 전장 17.0~26.5cm, 체중 110~320g의 수컷 8마리와 암컷 2마리로, 근육 및 껍질 부위는 각각 83~244 및 15~51g 이었다. 부위별 독성검사에서 생식선 및 담즙부위는 양이 적어서 조사하지 못하였다. 간장, 내장, 껍질 및 근육부위에 대한 독성은 각각 <2~11MU/g, <2~39 MU/g, <2~3MU/g 및 <2~10MU/g 범위로 나타났다. 유독 개체별 출현율은 Table 2와 같이, 간장, 내장 및 근육 부위가 각각 20%(2/10), 40%(4/10)였고, 껍질은 전 개체가 무독하였다. 각 부위별 평균독성은 내장(11.8 ± 4.2MU/g) 외에는 10MU/g 미만으로 무독한 것으로 나타났다. 개체에 따라 독성차이가 나타난 간장, 내장 및 근육의 경우 최고 독성치는 11, 39 및 10 MU/g, 껍질부위는 3MU/g 이하였다. 흰 밀복 10마리 중 내장(4마리), 간장(2마리) 및 근육(1마리)에서 10~40 MU/g의 독성치를 나타냈다. 내장의 경우 다른 부위의 독성치 보다 다소 높았다.

2. 황복의 조직별 독성

황복은 중국산으로 9마리에 대한 전장, 체중 및 독성 검출 결과는 Table 3과 같다. 황복은 삼채복 성어와 유사하지만, 가슴지느러미 뒷부분과 배지느러미 기부에 검은 반점이 있어 구별된다. 전장 약 45cm의 중형종으로 근육, 정소는 무독한 것으로 알려져 있다[10]. 본 실험에는 전장 29.0~35.0cm, 체중 480~940g의 암컷 6마리와 수컷 3마리를 사용하였다. 식용인 껍질과 근육부위 무게는 각각 43.0~84.0g 및 330.0~521.0g였다. 간장, 내장, 정소, 난소의 독성은 6~210MU/g, 13~186MU/g, 40~133MU/g 및 9~200MU/g으로 나타났다. 껍질 및 근육은 3~34와 <2~44MU/g으

Table 1. Anatomical distribution of the toxicity for the Indonesian pufferfish, *Lagocephalus wheeleri*

Specimen No.	Total length (cm)	Body weight (g)	Sex	Liver		Intestine		Skin		Muscle	
				W[a]	T[b]	W	T	W	T	W	T
1	26.5	320	M	11.9	4	12.8	39	50.8	<2	243.6	<2
2	22.0	210	F	8.0	4	9.7	25	32.4	<2	159.8	2
3	20.5	210	M	6.3	11	12.0	23	30.0	2	161.4	<2
4	21.5	190	M	4.8	6	11.4	4	28.3	<2	145.1	<2
5	18.5	120	M	2.6	7	11.3	<2	23.2	<2	172.7	<2
6	21.0	170	F	3.0	<2	5.7	<2	18.2	<2	140.3	<2
7	17.0	110	M	3.5	<2	8.6	<2	14.8	<2	82.9	<2
8	18.0	120	M	5.1	10	6.0	17	20.6	3	87.7	4
9	19.0	130	M	2.8	3	6.6	2	20.7	3	99.9	10
10	18.5	120	M	1.8	6	7.6	<2	17.0	<2	93.2	2

a, Weight (g) b, Toxicity (MU/g)

Table 2. Toxicity of Indonesian pufferfish, *Lagocephalus wheeleri*, as classified by tissue

Tissue	Frequency of toxin specimens(%)	Toxicity (MU/g)	
		Range	Mean±S.E.
Liver	20(2/10)[a]	<2-11	5.5±0.9
Intestine	40(4/10)	<2-39	11.8±4.2
Skin	0(0/10)	<2-3	2.2±0.1
Muscle	10(1/10)	<2-10	3.0±0.8

a, Numbers in parenthesis represent numbers of toxic specimens (≥10 MU/g) per numbers of specimens tested.

Table 4. Toxicity of Chinese pufferfish, *Fugu obscurus*, as classified by tissue

Tissue	Frequency of toxic specimen(%)	Toxicity (MU/g)	
		Range	Mean±S.E.
Liver	78(7/9)[a]	6~210	68.9±23.4
Intestine	100(9/9)	13~186	72.6±16.8
Skin	67(6/9)	3~54	19.9±5.5
Muscle	11(1/9)	<2~44	10.0±4.4
Testis	33(1/3)	3~130	47.3±41.4
Ovary	100(6/6)	39~133	71.0±14.0
Bile	89(8/9)	9~200	61.1±19.8

a, Refer to the footnote of Table 3.

Table 3. Anatomical distribution of the toxicity for Chinese pufferfish, *Fugu obscurus*

Specimen NO.	Total length (cm)	Body weight (g)	Sex	Liver		Intestine		Skin		Muscle		Testis		Ovary		Bile	
				W[a]	T[b]	W	T	W	T	W	T	W	T	W	T	W	T
1	34.0	940	F	12.2	210	27.6	54	84.0	18	521.0	<2	−	−	270.0	65	2.0	90
2	32.5	690	F	6.7	27	19.3	73	50.0	17	410.0	10	−	−	191.7	40	0.5	26
3	34.0	730	F	10.2	88	22.8	45	53.0	6	460.0	3	−	−	172.1	93	0.8	54
4	35.0	680	M	52.9	6	12.1	90	85.8	3	410.0	3	92.8	9	−	−	0.2	16
5	32.5	710	F	69.3	74	18.3	80	43.5	6	474.1	<2	−	−	255.5	39	0.8	63
6	33.0	648	F	10.4	147	17.5	87	56.6	34	400.0	10	−	−	152.4	133	1.3	75
7	32.5	850	F	20.4	12	20.9	25	75.3	54	510.0	44	−	−	204.9	56	0.1	9
8	33.0	600	M	14.9	9	18.1	13	65.0	13	410.0	9	80.9	3	−	−	0.3	17
9	29.0	480	M	21.8	47	15.1	186	52.3	28	330.0	7	43.7	130	−	−	2.8	200

a, b, Refer to the footnote of Table 1.

로 비식용 부위보다는 낮았다. Tani[7]가 간장, 내장, 껍질 및 난소를 강독, 근육과 정소를 무독으로 분류한 결과와 달리 간장, 내장, 껍질, 난소부위들은 약독으로 나타났다. 유독개체 출현율은 간장, 내장, 정소, 난소 및 담즙이 각각 78%(7/9), 100%(9/9), 33%(1/3), 100%(6/6) 및 89%(8/9)로, 그 중 간장, 내장, 난소 및 담즙이 높았다(Table 4). 근육 및 껍질은 각각 11%(1/9)와 67%(6/9)였다. 부위별 평균독성은 비식용부위인 간장, 내장, 정소, 난소 및 담즙부위가 각각 68.9±23.4, 72.6±16.8, 47.3±41.4, 71.0±14.0 및 61.9±19.8 MU/g, 식용부위인 근육 및 껍질은 47.3±41.4 및 10.0±4.4 MU/g이었다. 이상의 결과와 같이 근육 및 껍질은 10MU/g 이상의 약독을 나타내고 있기 때문에 황복의 독성에 대한 재검토가 필요한 것으로

생각된다. 황복 9마리 중 10~100 MU/g의 약독은 간장 5마리, 내장 8마리 및 담즙 7마리였다. 100MU/g 이상의 강독은 간장 2마리, 내장 1마리, 난소 1마리 및 담즙 1마리에서 나타났다. 식용부위인 근육 및 껍질의 10~100 MU/g의 약독 범위 것은 각각 6마리 및 3마리였고, 나머지는 10MU/g 이하였다.

3. Bio-gel P-2 컬럼에 의한 독소 분리

흰 밀복 및 황복의 간장 독소 농축물을 Bio-gel P-2 컬럼에 주입하여 0.03M 초산으로 용출시켰다. 유독 부분은 생쥐를 대상으로 조사하였다. 주로 황복의 간장부위에서 독력이 높게 검출된 시험관 55 부터 65번의 부분을 모아 진공동결한 후 독소를 분석하였다(Fig. 1). 그러나 흰 밀복의 간장부위는 독력이 약하여 용출액의 독력을 검출할 수 없었다.

4. 복어독의 박층크로마토그라피

TLC에 의한 복어독 성분은 Fig. 2와 같이 2개의 분홍색 spot (Rf 0.64, and 0.86)으로 나타나 마커와 비교하여 TTX 관련물질로 확인되었다. 10% KOH로 분무한 후 110℃에서 10분간 가열하여 UV (365 nm)하에서 관찰한 결과도 역시 TTX 와 anhydro-TTX 유도물질로 확인되었다.

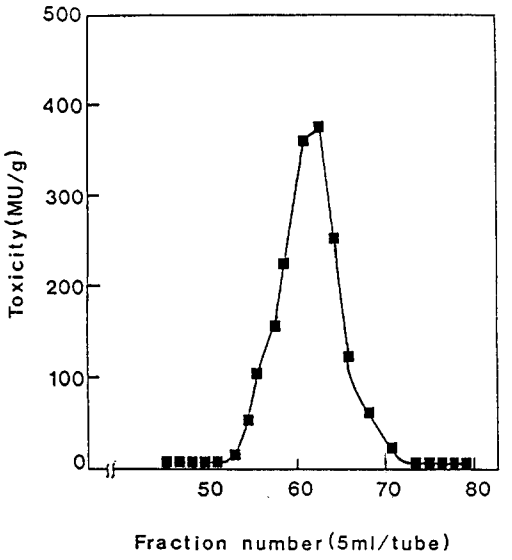

Fig. 1. Gel chromatography of the toxin in the liver of *Fugu obscures* on a column of Biogel P-2 Column size, 2×93cm ; elution, 0.03M acetate ; flow rate, 2ml/min.

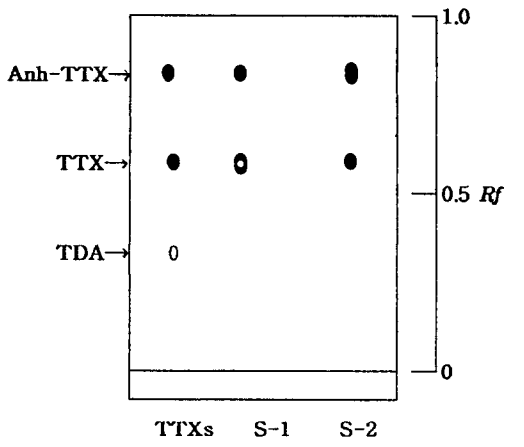

Fig. 2. Thin layer chromatography of the puffer toxin Plate, a silica gel precoated plate(E. Merck) solvent, pyridine ; ethylacetate ; acetic acid : water(15 : 5 : 3 : 4). S-1 : Lagocephlaus wheeleri (liver) S-2 : Fugu obscurus (liver) TTXs: Authentic toxin TDA: Tetrodonic acid TTX: Tetrodotoxin Anh-TTX: Anhydro-Tetrodotoxin.

5. 복어독의 전기영동

흰 밀복 및 황복의 간장 독소성분은 Fig. 3과 같이 마커 TTX 와 anh-TTX의 이동거리도와 일치하는 2개의 spot (5.3 and 7.2 cm)을 나타냈다.

6. 복어독의 고속액체크로마토그래피

독성 시험에서 2마리의 간장부위에서 10 MU/g정

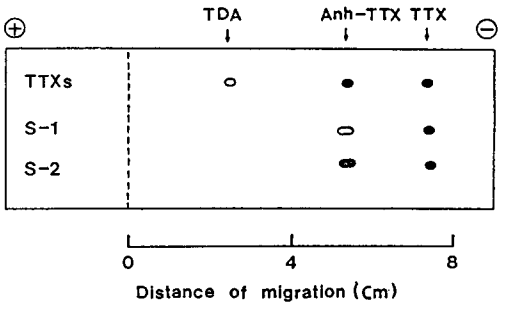

Fig. 3. Cellulose acetate electrophoresis of the puffer toxins Medium, cellulose acetate strip(Chemetron), buffer, 0.08M Tri-HCl buffer(pH 8.7), current, 0.8mA/cm ; time, 30min. TTXs, S-1, S-2, TDA, Anh-TTX and TTX : See to the footnote in Fig. 2 for explanation of symbols.

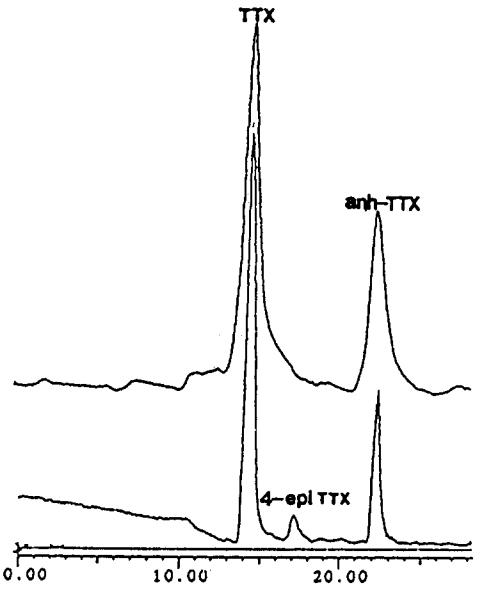

Fig. 4. HPLC of toxins from the livers of *Lagocephalus wheeleri*(upper) and *Fugu obscurus* (lower). Column, ODS column of YMC-AM 314 ; The eluate was mixed with an equal volume of 3N NaOH and heated at 100℃. TTX: Tetrodotoxin Anh-TTX: Anhydro-Tetrodotoxin 4-epi-TTX: 4-epi-Tetrodotoxin.

도의 약독을 나타낸 흰밀복을 HPLC 분석한 결과 TTX와 anhydro-TTX로 동정되었다. 결과는 Fig. 4와 같이 마커 TTX 및 anh-TTX의 retention time (14.2 and 22.3 min)과 같은 위치에서 두 피크로 나타났다. 황복은 독력이 높은 2마리의 간장(147 and 210MU/g)에서 분리 정제한 것으로 마커 TTX, 4-epi-TTX 및 TTX (14.2, 17.0 and 22.3 min)와 같은 위치에서 세 피크로 나타났다.

요 약

인도네시아산 흰밀복 10마리와 중국산 황복 9마리의 근육, 껍질, 간장, 내장 및 난소 등의 조직별 독성을 조사하였다. 또한, 간장 독소성분을 Bio-gel P-2 컬럼 크로마토크래피로 분리하여 TLC, 전기영동, HPLC 로 분석하였다. 흰 밀복의 간장은 무독하였고 내장은 무독내지 약독으로 나타났고, 평균 독력은 각각 5.5±0.9와 11.8±4.2 MU/g이었다. 그리고 근육과 껍질부위의 평균독력은 각각 3.0±0.8과 2.2±0.1 MU/g이었다. 황복의 부위별 독성은 담즙, 난소, 정소 및 간장이 각각 9~200, 40~133, 13~186 및 6~210 MU/g으로 나타났다. 껍질 및 근육부위는 3~34 MU/g 와 〈2~44 MU/g으로 비식용부위 보다는 낮았다. 각 부위의 유독개체 출현율은 난소(100%), 내장(100%), 담즙(89%), 간장(78%), 껍질(67%), 정소(33%) 및 근육(11%)의 순서로 나타났다. 흰 밀복과 황복의 간장으로부터 분리한 독소는 TLC로 분석한 결과 TTX및 anhydro-TTX로 동정되는 2개의 TTX spot을 검출하였고, 전기영동에서도 마찬가지 결과를 얻었다. 또한, HPLC의 분석결과와 TTX와 anhydro-TTX와 같은 위치의 피크를 나타냈다. 황복은 표준물질 TTX, 4-epi-TTX 및 anh-TTX의 세 피크를 나타냈다.

참고문헌

1. Narita, H., Noguchi, T., Maruyama, J., Nara, M and Hashimoto, K. : Occurrence of tetrodotoxin-associated substance in a gastropod, *Zeuxis siquijorensis*, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **50** (1), 85~88(1987).
2. Ali, A. E., Arakawa, O., Noguchi, T., Miyazawa, K., Shida, Y. and Hashimoto, K. : Tetrodotoxin and related substances in a ribbon worm *Cephalothrix linearis*, *Toxicon*, **28**, 1083~1093(1990).
3. 박영호, 장동석, 김선봉 : 수산가공이용학, 형설출판사, 서울, p.1087~1088(1995).
4. Kim, H. D., Park, Y. H. and Kim, D. S.: Tetrodotoxin in a pufferfish, *Fugu xanthopterus* (Korean name, Ggachibog), *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **23(3)**, 502~503(1994).
5. Ministry of Health and Welfare : Shokuhin Eisei Kensa, Japan, 2. p. 296~300(1991).
6. Onoue, Y., Noguchi, T. and Hashimoto, K. : Tetrodotoxin determination methods, ACS symposium series, No. 262, Seafood toxins, American Chem. Soc., p 346(1984).
7. Tani, I. : Toxicological studies of puffers in Japan, Teikokutosho, Tokyo, p. 55~57(1945).
8. Sekio, K., and Noguchi, J.: Toxicity of pufferfish *Fugu pardalis landed* at Tokyo metropolitan central wholesale market, *Bull. Japanese Soc. Sci. Fish*, **50(6)**, 985~990(1987).
9. Kim, H. D., Jeong, D. Y. and Kim, D. S. : Difference of toxicities among tissues in the pufferfish *Fugu xanthopterus*, *Bull. Korean Fish Soc.*, **24(6)**, 363~368(1991).
10. Jeong, D. Y., Kim, D. S, Lee, M. J., Kim, S. R., Byun, D. S., Kim, H. D. and Park, Y. H. : Toxicity of several puffers collected at a fish market of Pusan, Korea, *Bull. Korean Fish. Soc.* **27(6)**, 682~689 (1994).

(1996년 10월 18일 접수)