

## 검은밀복어 간유 중의 고도불포화지방산의 함량

김동수 · 임정규 · 김현대\*

경성대학교 식품공학과, \*동부산대학 식품영양과

### Contents of Polyunsaturated Fatty Acid in the Pufferfish (*Lagocephalus gloveri*) Liver Oil

Dong-Soo Kim, Jung-Gyu Ihm and Hyun-Dae Kim\*

Dept. of Food Science & Technology, Kyungsoong University, Pusan 608-736, Korea

\*Dept. of Food Science & Nutrition, Dong-Pusan College, Pusan 612-084, Korea

#### Abstract

Ten specimens of pufferfish, *Lagocephalus gloveri* (called Gumeun-milbog in Korean), were purchased at a fish market in Pusan, Korea. The pufferfishes were immediately frozen, packed in ice boxes, transported to our laboratory, and then dissected into four parts. The tissues were homogenized after adding with chloroform : methanol mixture solution, and stored at cool and dark place to extract total lipid. The total lipid contents were 29.34~36.54% in liver, 4.95~6.11% in intestine, 1.08~1.60% in skin and 0.23~0.38% in muscle of the pufferfish, respectively. The contents of DHA and EPA were higher in the total lipids of livers, showing 15.99% DHA and 3.04% EPA. The other fatty acids in the total lipids of liver were mainly composed of palmitic acid(16:0), palmitoleic acid(16:1), stearic acid(18:0) and oleic acid(18:1). Furthermore, the contents of neutral lipids were 95.45%, and those of phospholipids and glycolipids were 1.45 and 3.09%, respectively. Main fatty acids of the neutral lipid were composed of palmitic acid(16:0), stearic acid(18:0), oleic acid(18:1), EPA(20:6) and DHA(22:6). The contents of DHA and EPA were 16.62 and 2.41%, respectively. From these results of toxicity in the raw liver, the tissue was judged to be nontoxic before and after extracting of total lipid.

Key words : polyunsaturated fatty acid, liver oil, pufferfish.

#### 서 론

전통적으로 수산식품은 우리의 식생활에 큰 비중을 차지하고 있다. 복어류는 어패류 식중독을 일으키는 tetrodotoxin(TTX)을 가진 어종으로 식용에는 13여종의 참복이 이용된다<sup>1)</sup>. 우리나라에서는 검은밀복어와 흰밀복어를 많이 식용한다. 복어는 전문도매업자들이 비식용부위를 제거하여 유통되고 있다. 검은밀복어의 식용 가능 근육부위는 약독 내지 무독한 것으로 알려져 있다. 검은밀복어의 간장부위는 전량 폐기되고 있어서 바다 환경오염의 요인이 되고 있다. 즉, 어체 100g 당 간장부위가 15~18g 정도 되는데 지질 함량도 다른 장기부위보다 매우 높다<sup>2)</sup>.

생선어유의 고도 불포화지방산인 eicosapentaenoic acid(EPA, C<sub>20:5</sub> ω-3)와 docosahexaenoic acid(DHA C<sub>22:6</sub> ω-3)가 건강과 질병예방에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다<sup>3)</sup>. EPA와 DHA는 분자 내에 5개 이상의 이중결합을 가지고 있어서 고도로 농축하면 5℃로 저장하여도 자동산화유도기가 3~4일에 불과할 정도로 불안정하다<sup>4)</sup>. 그러므로 고농축보다는 약농축하여 식용유와 저온 보장 어육연제품과 같은 일상식품에 첨가하여 지방산을 안정화하려는 연구도 있다<sup>5)</sup>. ω-3계 지방산은 순환기계 질환의 위험인자를 제거해 주거나 혈청내 지질구성이나 혈소판 응집기능에 변화를 주어 동맥경화증에 유익한 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다<sup>6)</sup>. 특히 DHA는 망막

Corresponding author : Dong-Soo Kim

및 두뇌 인지질의 구성성분으로 실험동물의 학습력을 비롯한 뇌기능 향상에 기여한다고 보고되어 있다<sup>7)</sup>.

현재 북어조리 부산물인 간장에  $\omega$ -3계 지방산(DHA 및 EPA)이 존재하는지 연구되어 있지 않기 때문에 본 연구에서는 검은 밀복어의 간장부위로부터 총지질을 추출하여 TLC와 gas chromatography로 DHA 및 EPA함량을 조사하고 silicic acid column chromatography로 분획하여 지질의 획분별 함량을 분석하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재 료

부산 자갈치시장에서 냉동 북어를 구입하여 아이스 박스에 넣어 실험실로 옮겨와  $-20^{\circ}\text{C}$ 에 보관하면서 사용하였다.

### 2. 총지질의 추출 및 정제

총지질은 Bligh and Dyer 법<sup>8)</sup>으로 추출하였다. 즉, 시료 50g을 10ml의 증류수에 첨가한 후 100ml의 메탄올과 50ml의 클로로포름의 혼합용액을 넣어 균질기로 2분간 마쇄하였다. 다음  $4^{\circ}\text{C}$ 의 암실에서 12시간 정치하여 지질을 추출한 후 동양여지(No. 5)를 사용한 buchner funnel로 흡입 여과시킨 후 활성탄으로 색소를 제거하고 무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 수분을 제거시켜 지질의 양을 중량법으로 계산하였다. 정제한 지질은 소량의 에테르에 녹여 질소가스로 충전한 후  $-20^{\circ}\text{C}$ 의 냉동실에 보관하면서 지방질 분석시료로 사용하였다.

### 3. 중성지질, 당지질 및 인지질의 분리 및 정량

간장으로부터 정제된 총지질을 Rouser 등<sup>9)</sup>의 방법에 따라 silicic acid column chromatography(SSC)에 의하여 중성지질, 당지질 및 인지질을 분리하였다. 즉, silicic acid(70~230 mesh, Merck Co.)를 증류수로 씻고 다시 메탄올로 세척한 후  $110^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 동안 활성화하였다. 활성화된 silicic acid를 클로로포름으로 slurry를 만든 후 유리섬유가 채워진 column(i.d.  $2.5 \times 30\text{cm}$ )에 채우고 총지질 200mg을 주입한 후 질소가스를 통과시켰다. 용매의 유출속도를 1분당 약 30ml되게 조절하면서 10배량의 클로로포름으로 중성지질을 얻은 다음 20배 가량의 아세톤과 10배량의 메탄올로 각각 용출시켜 극성지질인 당지질 및 인지질로 분리하여 용매를 제거한 후 중량법으로 이들의 함량을 계산하였다.

### 4. 박층 크로마토그래피(TLC)

TLC판(silica gel 60F<sub>24</sub> Pre-coated glass sheet,  $0.2\text{mm} \times 20 \times 20\text{cm}$ , Merck Co.)를 사용하여 총지질을 상층 1차원 법에 의해 전개시켰으며, 전개 용매는 n-hexane-ethyl ether-formic acid (80:20:2, v/v/v)의 혼합물을 사용하였고, 50% sulfuric acid를 발색제로 분무하고 탄화시켜 지질 표준품의 Rf값과 일치하는 분리 반점을 확인하였다<sup>10)</sup>.

### 5. 간유 중의 지방산 분석

총지질의 silicic acid column chromatography로 분리한 중성지질, 당지질 및 인지질의 지방산 분석은 0.5N methanolic sodium hydroxide 용액으로 비누화시킨 후 지방산을 분리하였다. 이것을 Metcalfe 등<sup>11)</sup>의 방법에 의하여 14%  $\text{BF}_3$ -methanol용액을 사용하여 methylation시켜 이를 gas chromatography(HP 5890A G.C)로 분석하였다. 그리고 동일한 조건에서 표준 지방산의 peak와 시료의 peak를 비교하여 지방산을 확인하고 피크면적 비율(%)은 총 면적에 대한 백분율로 표시하였다.

### 6. 독소의 분리, 정제 및 mouse assay

독소의 분리, 정제 및 독성시험은 일본식품위생검사지침<sup>12)</sup>에 따랐다. 즉, 북어간에 1% 초산/메탄올 용액을 첨가하여 원심 분리하여 상정액을 탈지시킨 후 진공증발기로 농축하여 Diaflo YM-2(Amicon)로 한외여과하였다. 여액을 Bio-gel P-2 칼럼( $5.6 \times 53\text{cm}$ )에 가해 초산용액으로 용출시켜 독성 부분을 모아 동결 농축하여 분석에 사용하였다. 독성시험에 사용한 ICR계 쥐(수컷, 19~21g)의 복강에 독성시료 1g을 0.1N 초산용액 4ml 가하여 추출한 독소 중 1ml를 주사한 후 mouse unit(MU)를 계산하였다.

## 결과 및 고찰

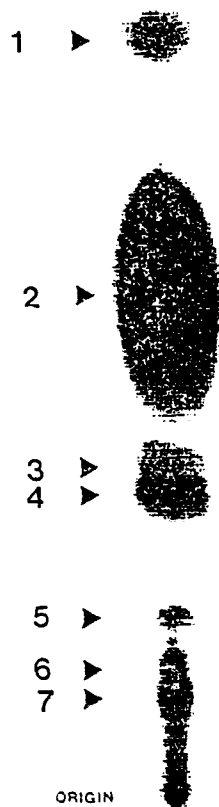
### 1. 검은 밀복어의 조직별 총지질 함량

검은 밀복어의 전장, 체중 및 총지질 함량은 Table 1과 같다. 검은 밀복어는 전장 27~30cm 및 체중 410~460g인 수컷 10개체였다. 이들의 총지질함량은 간장 29.34~36.54%, 내장 4.95~6.11%, 껍질 1.12~1.60% 및 근육 0.23~0.38%로 나타났다. 이 결과에 따라 지질이 가장 많이 검출되는 간장부위를 사용하여 DHA 및 EPA를 추출하였다.

**Table 1. The total length, body weight and contents of total lipid in the pufferfish (*Lagocephalus gloveri*)**

Specimen No.	Total length(cm)	Body weight(g)	Contents of total lipids (%)				
			Sex	Liver	Intestine	Skin	Muscle
1	29.0	450	M	35.45	5.78	1.37	0.34
2	28.3	430	M	32.26	6.10	1.54	0.37
3	27.8	410	M	31.34	5.14	1.14	0.29
4	29.3	460	M	36.54	4.95	1.42	0.38
5	26.6	400	M	29.34	5.08	1.08	0.23
6	27.4	410	M	30.92	5.15	1.12	0.24
7	28.8	430	M	32.52	6.05	1.52	0.32
8	28.4	430	M	32.46	6.11	1.60	0.35
9	27.9	410	M	31.25	5.17	1.18	0.31
10	28.2	430	M	32.14	5.17	1.17	0.27

2. 검은 밀복어의 중성지질, 당지질 및 인지질 함량 간장 부위의 총지질 조성에 대한 TLC분석결과는



**Fig. 1. Thin layer chromatography of the lipid classes of total lipid in the pufferfish (*Lagocephalus gloveri*)** 1. Monoglycerides, 2. 1,2-Diglycerides, 3. 1,3-Diglycerides, 4. Cholesterol, 5. Free fatty acid, 6. Triglycerides, 7. Cholesterol esters. Plate : Silicagel 60F<sub>254</sub> pre-coated glass sheet (0.2mm, 20 × 20cm), Solvent system : n-hexane-ethyl ether-formic acid (80:20:1, by volume).

Fig. 1과 같이 유리지방산과 mono-, di-, triglyceride 등 다양한 지질성분으로 구성되어 있다. 그 중 triglyceride가 가장 많다. 총지질에 대한 중성지질, 당지질 및 인지질 함량의 비율은 중성지질 95.46%, 당지질 1.45% 및 인지질 3.09%로 나타났다. Ackman의 보고<sup>13)</sup>에 의하면 복어류는 간장부위가 큰 어종일수록 총지질 함량이 많고, DHA나 EPA 추출에 사용되는 고등어나 정어리보다도 함량이 많은 것으로 알려져 있다.

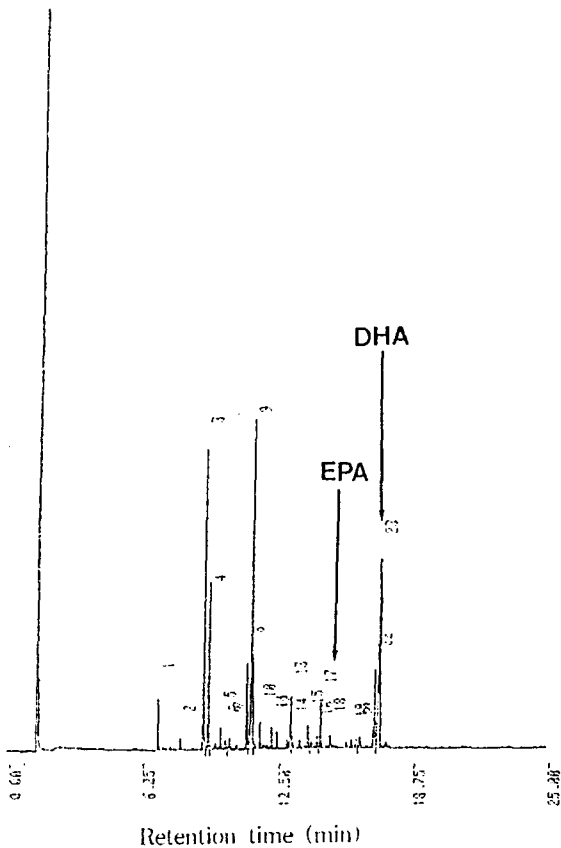
### 3. 간유 중의 총지질의 지방산 조성

복어 간장의 총지질 가운데 DHA(22:6) 및 EPA(20:5)의 가스크로마토그래피 결과는 Fig. 2에, 함량은 Table 2에 나타났다. 즉, 검은 밀복은 DHA 15.99% 및 EPA 3.04%를 나타냈다. 다른 주요 지방산은 palmitic acid(16:0), stearic acid(18:0) 및 oleic acid(18:1)로 이 등<sup>14)</sup>이 보고한 청어(8.0%), 고등어(11%) 및 정어리(10%)보다 훨씬 많게 나타났다. 포화지방산은 26.59%를 나타내 Ackman 및 Kinsella의 보고<sup>15)</sup>와 비교할 때 고등어(21%)나 정어리(24%)보다 많았다. 단일 불포화 지방산은 41.2%로 고등어(43%)보다 약간 적었고, 정어리(34%)보다 높았다. 다가 불포화 지방산은 22.44%로 고등어(22%)와는 거의 비슷하였고, 정어리(25%)보다 약간 낮았다. Barlow등의 보고<sup>16)</sup>와 비교하면 EPA함량은 대구간이나 상어간과는 거의 비슷하였고, 무지개 송어보다는 낮았으며, DHA도 약간 낮았다. 포화지방산에 대한 고도 불포화 지방산의 비율은 0.84로 이 등<sup>14)</sup>의 보고와 비교하면 고등어 1.33, 꽂치 1.28, 청어 0.94, 전갱이 1.81 및 방어 1.71%로, 복어 간유의 함량비율이 식품산업에 주로 이용되고 있는 5가지 시료의 함량비율에 미치지 못하는 것으로

**Table 2. Composition of fatty acids in the total lipid of liver oil in pufferfish(*Lagocephalus gloveri*)**

Fatty acids	Contents (%)
14 : 0	2.24
16 : 0	17.38
16 : 1	8.67
17 : 0	1.15
18 : 0	5.82
18 : 1	23.62
18 : 2	1.14
18 : 3	1.08
20 : 1	2.51
20 : 4	1.19
20 : 5	3.04
22 : 1	6.32
22 : 6	15.99
SFA*	26.59
MUFA**	41.12
PUFA***	22.44
PUFA/SFA	0.84
EPA+DHA	19.03

\* : Saturated fatty acids, \*\* : Mono unsaturated fatty acids, \*\*\* : Poly unsaturated fatty acids.

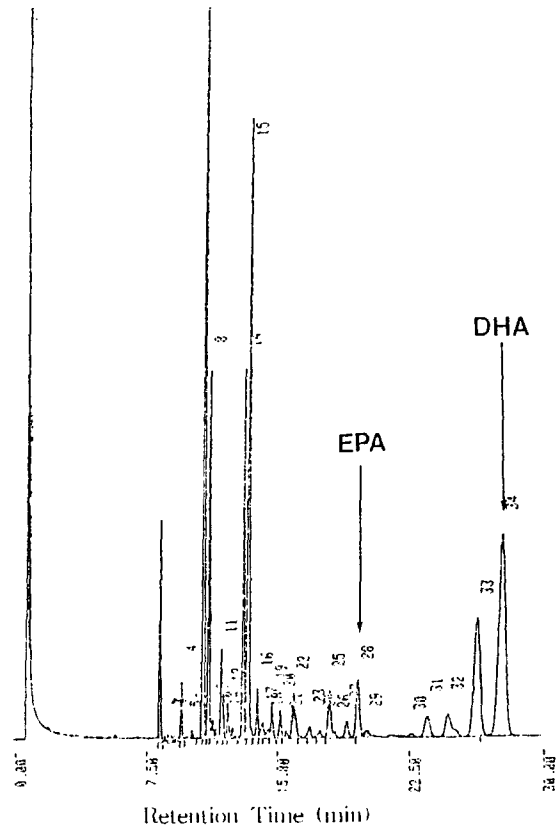


**Fig. 2. Gas chromatogram of total lipid in liver of the pufferfish(*Lagocephalus gloveri*).**

나타났다. 검은 밀복은 총지질내의 포화 지방산보다 불포화 지방산의 함량이 훨씬 높아 영양학적 가치가 높다.  $\omega$ -3지방산의 함량은 19.03%인 것으로 나타났다.

**4. 간유 중의 중성지질의 지방산 조성**

중성지질 지방산은 Fig. 3 및 Table 3과 같이 palmitic acid(16:0), palmitoleic acid(16:1), stearic acid(18:0), EPA(20:6) 및 DHA(22:1)가 주요 지방산으로 나타났다. 복어 간장 중의 DHA 및 EPA 함량 비율은 각각 15.99% 와 3.04%로 나타났다. Ackman 등<sup>13)</sup>의 결과와 비교하면 DHA는 대구간 9.5%, 청어 8.0%, 고등어 11%, 멸치 9% 및 정어리 10%로 본 결과보다 높았고, EPA는 대구간 9.0%, 청어 12.7%, 고등어 11%, 멸치 17% 및 정어리 15%로 이용된 시료보다 함량이 높았다. 이 등<sup>14)</sup>은 국내시료의 DHA는 고등어 21.9%, 꽁치 28.3%, 청어 13.2%, 전갱이 24.6% 및 방어 27.7%로 청어를 제외하고는 본 결과보다 현저하게 높다고 보고하였



**Fig. 3. Gas chromatogram of neutral lipid in the liver of the pufferfish(*Lagocephalus gloveri*).**

**Table 3. Composition of fatty acid in the neutral lipid of liver oil in pufferfish, *Lagocephalus gloveri***

Fatty acids	Contents (%)
14 : 0	3.73
16 : 0	20.11
16 : 1	7.24
17 : 0	2.55
18 : 0	6.99
18 : 1	13.96
18 : 2	1.08
18 : 3	0.77
20 : 1	1.90
20 : 4	1.81
20 : 5	2.41
22 : 1	9.11
22 : 6	16.62
SFA*	33.38
MUFA**	32.21
PUFA***	22.69
PUFA/SFA	0.68
EPA+DHA	19.03

\*, \*\*, \*\*\* : Refer to footnotes in Table 2.

다. EPA도 고등어 10.7%, 콩치 9.8%, 청어 14.6%, 전갱이 9.7% 및 방어 8.4%로 역시 높았다. 또한 시판 6종류의 어유 제품의 지방산 조성은 거의 유사하였다. 그 중 DHA의 함량은 4.3~13.3%로 본 시료보다 낮았고, EPA의 함량 비율은 19.2~50.3%로 본 시료보다 현저하게 높았다.

### 5. Mouse assay

지질의 추출 전과 후의 복어독의 잔존 여부에 따라 서 부산물의 이용 가능성이 결정된다. 지질 추출전의 복어 간장에서의 독성치는 모두 무독한 것으로 나타났으며 이러한 결과는 김 등<sup>13)</sup>의 보고와 일치하였다. 또한 지질 추출 후에도 잔류 독이 전혀 검출되지 않았다.

## 요 약

냉동 검은밀복어 10개체를 반 해동상태에서 근육, 껍질, 간장 및 내장으로 분리하여 독성검사와 총지질량을 구하였고 TLC로 조성을 조사하였다. Silicic column chromatography에 의하여 간유로부터 중성지질, 인지질 및 당지질을 분리하였으며 중성지질 중의 DHA 및 EPA함량을 gas chromatography로 분석하였다. 검은밀복어의 총지질 함량은 간장 29.

34~36.54, 내장 4.95~6.11, 껍질 1.12~1.60 및 근육 0.23~0.38%로 나타났고, TLC 분석 결과 다양한 지질성분으로 구성되었다. 그 중에서 triglyceride가 가장 많았다. 지질 함량이 가장 높은 간장 부위의 총지질의 지방산은 주로 palmitic acid(16:0), palmitoleic acid(16:1), stearic acid(18:0), oleic acid(18:1), EPA(20:6) 및 DHA(22:1)이었다. 포화지방산에 대한 고도 불포화 지방산의 비율(0.84)은 높았고, DHA와 EPA의 함량은 각각 15.99와 3.04%였다. 간유 중의 중성지질 95.46, 당지질 1.45 및 인지질 3.09%의 함량인데, 이 중 가장 함량이 높은 것으로 나타난 중성지질을 분리하여 분석한 결과 주요 지방산은 palmitic acid(16:0), stearic acid(18:0), oleic acid(18:1), EPA(20:5) 및 DHA(22:6)로 나타났다. 그 중의 DHA와 EPA함량 비율은 각각 16.62 와 2.41%로 나타났다. 한편, 간장내의 지질 추출 전과 후에 대한 독성치는 모두 무독한 것으로 판명되었다.

## 참고문헌

1. 박영호, 장동석, 김선봉 : 수산가공이용학, 형설출판사, 서울, p.1087 (1994).
2. 김현대, 박영호, 김동수 : Tetrodotoxin in a pufferfish, *Fugu xanthopterus*, 한국영양식품학회지, 23, 502~505(1994).
3. Dyerberg, J., Bang, H. O. and Stohersen, E. : Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis, *Lancet*, 2, 117~121(1978).
4. Bang, H. O., Dyerberg, J. and Hjorne, N. : The composition of food consumed by Greenland Eskimos, *Acta Med. Scand.*, 69, 200~205(1976).
5. Bang, H. O., Dyerberg, J. and Sinclair, H. M. : The composition of the Eskimo food in North western Greenland. *Am. J. Clin. Nutr.*, 33, 2657~2661 (1980).
6. Cho, S. Y. and Fusimoto, K. : Autoxidation of ethyl eicosapentaenoate and docosahexaenoate, *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, 64, 876~879(1987).
7. Neuringer, M. and Conner, W. E. : n-3 Fatty acids in the brain and retina : Evidence for their essentially, *Nutr. Rev.*, 285~291(1987).
8. Bligh, E. G. and Dyer, W. J. : A rapid method of total lipid extraction and purification, *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37, 911~917(1959)
9. Rouser, G., Kritchevsky, G. and Simon, G. : Quantitative analysis of brain and spinach leaf lipids employing silicic acid column chromatography and acetone for elution of glycolipids, *Lipids*, 2, 37~44 (1967).
10. Hwang, D. F., Noguchi, T., Arakawa, O., Abe, T.

- and Hashimoto, K. : Toxicological studies on several species of puffer in Taiwan, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**, 2001~2008(1988).
11. Metcalfe, I. D., Schmitz, A. A. and Pelka, J. R. : Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis, *Anal. Chemi.*, **38**, 514~521(1966)
12. 日本食品衛生協會 : ふぐ毒, 食品衛生検査指針, p.296~300(1991).
13. Ackman, R. G. and Connel, J. : Advances in fish science and technology, England, *Fishing News Books*, p.83~85(1980).
14. 이강호, 정인학, 서재수, 유명진, 육지희 : 적색어류의 고도 불포화 지질 이용에 관한 연구. 3. 정제 정어리유의 제조, *한국수산학회지*, **21**, 232~238(1988).
15. Kinsella, J. E. : Seafoods and fish oils in human health and disease, Marcel Dekker, New York, p. 175~184(1987).
16. Barlow, S. M. and Stansby, M. E. : Nutritional evaluation of long-chain fatty acids in fish oil, Academic Press, New York, p.23~24(1982).
17. 김동수, 김현대, 이명자, 정동윤 : Toxicity of several puffers collected at a fish market of Pusan, Korea, *한국수산학회지*, **27**, 628~688(1994).

---

(1998년 1월 27일 접수)