

Iatroscan에 의한 한국산 오징어의 부위별 콜레스테롤 함량 측정

조순영* · 김옥선 · 최용석 · 송진향¹ · 야스시 엔도¹ · 겐시로 후지모토¹강릉대학교 동해안해양생물자원연구센터, ¹일본 도후쿠대학 생체분자기능학연구소

Received September 21, 2003 / Accepted January 21, 2004

Quantitative Analysis Cholesterol in Each Parts of Korean Squid by the Chromarod TLC-FID System (Iatroscan). Soon-Yeong Cho*, Ok-Seon Kim, Yong-Seok Choi, Jin-Hyang Song¹, Yasushi Endo¹ and Kenshiro Fujimoto¹. East Coastal Marine Bioresources Research Center, Kangnung National University, Gangneung 210-702, Korea, ¹Laboratory of Food and Biomolecular Science, Tohoku University, Sendai 981-8555, Japan - Comparisons of enzymatic method, gas chromatographic method, and the Iatroscan method for the determination of cholesterol in each parts of Korean squid were undertaken. The Iatroscan method was the most suitable procedure for the rapid and simple determination of net cholesterol concentration in parts of Korean squid. 5 α -cholestane is used as a good internal standard. The cholesterol contents in body, leg, viscera, eye, skin, and liver part of Korean squid, *Todarodes pacificus* STEEN STRUP by Iatroscan method were 178.9, 321.4, 168.9, 159.5, 608.8 and 634.2 mg%, respectively.

Key words - Iatroscan, cholesterol, Korean squid

콜레스테롤은 인간의 세포막의 주요한 구성요소가 되는 주요 성분이기도 하나, 식품 중에 함유되어 있는 콜레스테롤에 대해서는 일반적으로 매우 민감하게 생각한다. 실제로 오징어나 새우에는 콜레스테롤이 많이 포함되어 있다는 이유로 건강식품인데도 불구하고 등맥경화의 예방차원에서 이들 식품이 경원되는 경향이 있다[10]. 그리고, 오징어, 문어 등 연체동물 및 새우, 게 등 갑각류나 조개류에는 콜레스테롤이 많이 함유되어 있다고 실제로 다수 보고되어 있다[5,9,10]. 더욱이 굴, 모시조개, 가막조개 등 조개류에 대한 콜레스테롤 함량은 종래의 콜레스테롤 정량법인 비색법으로 분석하였을 때 다량 함유된 스테롤까지 측정하게 되어 실제 들어 있는 양보다 2~3배 더 많은 수치를 보이고 있다[2,5,6,8,11]. 그 외 시료에 대해서는 비색법이나 효소법에 있어서 큰 함량 차이는 보이지는 않았는데, 콜레스테롤만을 분획정량 가능한 점에서는 GC분석법이 최적이라고 알려져 있다[4,7]. 그렇지만, GC법은 전처리가 복잡하고, HPLC법은 분리조건을 결정하는 것이 번거롭고 이동상으로 쓰는 유기용매 값이 비싼 단점이 있으며, 효소분석법도 분석 효소를 포함하는 키트만 있으면 간단하게 분석가능하나 국내에서는 비싸고 구하기 힘든 단점이 있다. 한편, 일반적으로 오징어의 콜레스테롤 함량이 높다고 생각되고 있으나, 오징어 부위별에 따른 콜레스테롤 함량의 정확한 정량을 행한 예는 아직 없다.

그러므로, 본 연구에서는 GC법이나 효소법보다 간편하고 정확한 콜레스테롤 정량법 확립을 TLC-FID system으로 구성되어 있는 Iatroscan이라는 기기로써 시도해 보았다. 즉, 오징어 가식부 이외에 여러 부위별 콜레스테롤치 측정을 행

하면서 신속하고 정확한 콜레스테롤 정량법 확립을 시도해 보았다. 더욱이, 오징어 부위별 수분·지방 함량 및 Iatroscan에 의한 콜레스테롤 분석의 기초 자료가 되는 지방종의 분석도 행하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 오징어 시료는 강원도 강릉 근해에서 1998년 1월에 어획된 물오징어, *Todarodes pacificus* STEEN STRUP이었고, 평균 체중 295.7 g, 전장 40.5 \pm 1.1 cm, 외투장 23.3 \pm 1.0 cm이었다. 구입 즉시 귀, 몸통, 다리와 족살, 눈, 간장, 간장 이외의 내장 부위로 각각 나누어 -40 $^{\circ}$ C 냉동고에 저장하여 두고서 필요시 꺼내어 실험하였다.

시약

콜레스테롤과 5 α -cholestane은 Nakarai chemicals Ltd (Kyto, Japan), 효소법에 의한 콜레스테롤 정량용 키트는 Wako chemicals Ltd (Oosaka, Japan)에서 구입하여 더 이상 정제없이 그대로 사용하였다. 기타 시약과 용매는 분석급 수준의 것을 사용하였다.

수분함량 측정

상압가열법으로 시료 중의 수분함량을 측정하였다.

시료 지질의 추출 및 지방함량 측정

Bligh and Dyer법[1]에 의해 총지질을 추출한 뒤, 그 추출물을 감압농축하여 증량 측정함으로써 지방함량을 결정하였다.

*Corresponding author

Tel : +82-33-640-2730, Fax : +82-33-648-3831

E-mail : csykang@kangnung.ac.kr

지방종 분석 및 Iatroscan법에 의한 콜레스테롤 정량

추출 시료 지방을 일정량 취하여 TLC에 spot하고서 Hexane-Ethylether-Formic acid (80:20:1) 전개 용매내에서 분리한 뒤 TLC-FID system인 Iatroscan TH-10 (Iatroscan Laboratories, Japan)으로 지방종 분석을 행하였다. 한편, 콜레스테롤 정량을 위해서는 시료유지에 일정량의 5 α -cholestane을 내부표준물질로서 첨가하여 Iatroscan 전용 TLC봉에 loading한 후 Hexane-Ethylether-Formic acid (80:20:1) 전개용매 내에서 분리한 뒤 Iatroscan으로 분석하였다. 콜레스테롤 함량은 Fig. 1에 나타난 검량선으로부터 환산하여 정하였다.

효소법에 의한 콜레스테롤 정량

Wako chemicals Ltd (Oosaka, Japan)에서 시판 중인 콜레스테롤 분석용 키트를 사용하여 Nakagawa등[7]의 방법에 준해 분석하였다.

가스크로마토그래피(GC)법에 의한 콜레스테롤 정량

시료로부터 추출한 불검화물 획분에 내부표준물질로서 5 α -cholestane을 일정량 첨가하여 GC로 분석하였다. 분석조건은 다음과 같았다. 장치는 GC Sciences GC-380 (Japan), 유리칼럼 3 mm \times 100 cm에 일본 크로마토공업 시판의 DMCS (80-100mesh)를 충전하였다. 이동상 가스 70 ml/min, 칼럼 온도 260 $^{\circ}$ C, 시료기화실 온도 290 $^{\circ}$ C, 검출기 온도 300 $^{\circ}$ C로 설정, 정량값은 기본적으로 반치폭법에 의해 면적비를 구해 산

출하였다. 최종 분석치는 Fig. 2에 나타난 5 α -cholestane에 대한 콜레스테롤의 면적비와 중량비로써 구해둔 콜레스테롤 검량선으로부터 계산하여 정하였다.

결과 및 고찰

오징어 각 부위별 중량 및 중량비

먼저 한국의 강릉시 근해에서 어획한 물오징어의 부위별 중량과 중량비를 구해보았는데, 그 결과는 Table 1에 나타나어져 있다. 오징어 부위 중 귀는 7.9%, 동체는 37.8%, 다리 및 족살은 26.4%, 눈부위는 3.3%, 간장은 13.9%, 간장을 제외한 내장 부분은 7.9%, 껍질은 2.6%, 연골은 0.2%를 나타내었다. 일반적인 가식부 및 껍질부위의 중량비는 여타 화살오징어나 갑오징어, 원양산 빨간오징어, 멕시코산 대왕오징어 등에 비해서 큰 차이를 보이지는 않았다[7]. 아울러, 내장이 차지하는 비율도 여타 오징어에 비해 그렇게 크지 않았다. 단지 통상적인 가식부가 72.1%나 되어 이 부분의 콜레스테롤 함량이 어느 정도 되는지 정량하는 것이 가장 중요할 것으로 생각된다. 그렇지만, 최근 껍질째 가공되는 오징어 제품도 많아 오징어 껍질의 중량비는 2.6%로서 그렇게 크지 않으나 이 중의 콜레스테롤 함량 측정도 필요하다고 본다.

오징어 각 부위별 수분 및 지방 함량

Table 2에 한국산 물오징어의 부위별 수분 및 지방의 함량

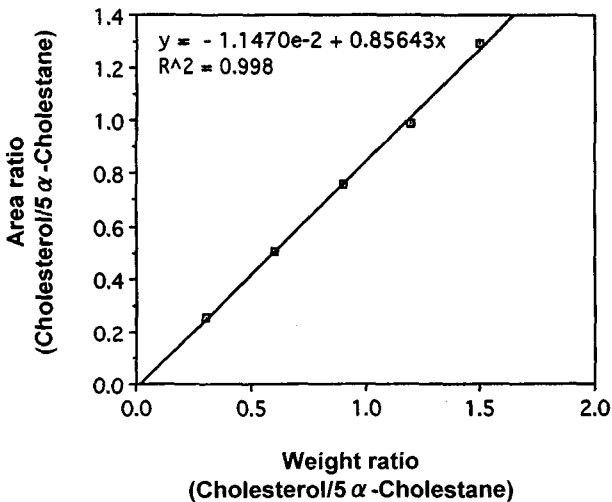


Fig. 1. Calibration curve of cholesterol by Iatroscan method. (Internal standard : 5 α -cholesterol)

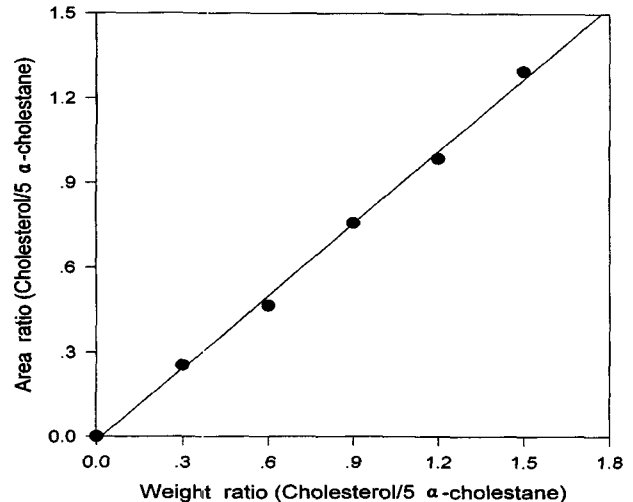


Fig. 2. Calibration curve of cholesterol by GC method. Conversion factor : K=1/0.85=1.176

Table 1. The weight and weight ratio of each parts separated from SURUME squid

Sample parts	Ear	Body	Leg	Eye	Liver	Viscera	Bone	Skin
Weight (g)	23.3	111.8	78.1	9.8	41.1	23.3	0.6	7.7
ratio (%)	7.9	37.8	26.4	3.3	13.9	7.9	0.2	2.6

Table 2. Moisture and lipid content in each parts separated from SURUME squid (unit : %)

Sample parts Factors	Ear	Body	Leg	Eye	Liver	Viscera*	Skin
Moisture	-	75.9	75.8	83.6	50.4	77.1	74.7
Lipid	-	1.9	2.4	2.1	15.0	2.3	4.7

*Except for liver part.

을 나타내었다. 수분함량의 경우는 눈부위가 83.6%로서 특히 높고 간장부위가 50.4%로서 매우 낮았으며, 그 외 부위들은 74.7~77.1% 정도로 서로 큰 차이는 없었다. 지방 함량의 경우는 간장 부위가 15%로서 가장 높았고, 껍질 부분이 4.7%로서 그 다음이었으며, 그 외 부위들은 1.9~2.4%로서 서로 큰 차이는 보이지 않았다. 이런 경향은 여타 오징어종과도 별반 차이가 없었다[7]. 오징어 중의 콜레스테롤은 전부 그 지방층에 존재하고 있기 때문에 각 부위별 100g당 차지하는 콜레스테롤 함량 못지않게 지방의 함량 자체도 그 부위에 차지하는 콜레스테롤 비율을 올리는 데에 중요하게 작용하리라 생각된다.

오징어 각 부위별 지방종 조성비 및 Iatroscan법에 의한 콜레스테롤 함량 정량

TLC-FID system인 Iatroscan으로 간단히 지방종들의 조성비를 구해본 결과, 여러 부위 중 간장만 지방종이 중성지방이 92.1%나 차지하고 인지질은 5.0%에 지나지 않았으나, 그 외 부위 중의 지방종 조성은 인지질이 70.4~87.9%로서 대부분을 차지하였다(Table 3). 그런데, 중성지방의 경우 간장을 제외시킨 내장 부위에서 10.2%로서 간장 이외의 다른 부위에서 중성지방이 차지하는 비율이 0.7~1.3%인데 비하면 매우 높은 수준이었다. 그렇지만, 간장 부위 중의 중성지방 비율에 비하면 매우 큰 차이를 보였다. 이와 같은 오징어 부위별 지방종 함유 경향은 물오징어 이외의 종에서도 거의 비슷한 양상이었다[4]. 특히 본 Iatroscan법으로 총지질 중에서 차지하는 콜레스테롤 존재 조성비도 확실히 알 수 있어, 시료에 내재해 있는 다른 지방종들과 겹치지 않는 내부표준물질만 잘 선택하면 충분히 Iatroscan법으로 번거로운 전처리 조작없이 신속하게 콜레스테롤 정량이 가능하리라 판단하였

다. 그래서, 그 내부표준물질로 오징어 각 부위별 유지 중의 내재 지방종들과 전혀 R_f치가 겹치지 않는 5 α -cholestane을 선택하여 Iatroscan에 의한 신속정확한 콜레스테롤 정량을 시도하였다. 그 결과, Table 4에 각 부위별 중량 100 g당 콜레스테롤 함량으로 나타낸 바와 같이 주 가식부인 오징어 몸통육에는 178.9 mg% 수준으로 존재하였고, 비가식부인 껍질이나 간장에 각각 608.8 mg%, 634.2 mg%로 다량 존재해 있었다. 또한, 또 다른 가식부인 다리육 부위에 의외로 몸통육보다 훨씬 많은 321.4 mg% 수준으로 콜레스테롤이 존재해 있었다. 일반적인 콜레스테롤 정량법으로 많이 사용되어져 오고 있는 효소법이나 GC법으로도 같은 시료에 대해 콜레스테롤 정량을 시도해 본 결과, Table 4에 나타낸 바와 같이 Iatroscan법에 의한 결과치와 큰 차이는 없었다. 그러나, 간장 부위의 콜레스테롤치는 GC법에 의한 수치가 매우 낮은 수치를 보였는데, 이는 다른 부위와는 달리 인지질보다는 중성지방이 많은 특성상 전처리 과정 중에 최대로 회수되지 못하고 loss가 일어난 때문으로 사료된다. 이렇게 생각되는 근거로 오징어 중의 스테롤은 91% 이상이 콜레스테롤이기 때

Table 4. The cholesterol content in each parts separated from SURUME squid (unit : mg/100 g)

Sample parts	Enzymatic method	GC method	Free fatty acids
Body	173.3 ± 24.7*	141.9 ± 10.3	178.9 ± 12.3
Leg	310.2 ± 62.5	239.3 ± 37.9	321.4 ± 73.6
Viscera	193.7 ± 21.8	168.1 ± 25.1	168.9 ± 50.2
Eye	222.3 ± 38.3	180.4 ± 33.4	159.5 ± 25.6
Skin	702.2 ± 51.1	518.6 ± 31.3	608.8 ± 56.6
Liver	987.8 ± 107.0	334.0 ± 123.4	634.2 ± 317.6

*Mean ± S.E.

Table 3. Lipid classes in each parts separated from SURUME squid (unit : %)

Sample parts	Phospholipid	Cholesterol	Free fatty acids	Triglycerides	Sterol ester
Body	87.9	14.2	0.1	1.3	0.5
Leg	81.2	16.9	1.2	0.7	N.D
Viscera	70.4	7.5	7.3	10.2	2.0
Eye	84.7	8.8	1.4	1.0	2.6
Skin	82.5	15.7	1.0	0.8	N.D
Liver	5.0	0.8	1.2	92.1	0.4

*N.D : Not detected.

문에[9] 여타 스테롤을 인식할 가능성이 효소법이나 Iatroscan법에서 거의 없다. 일반적인 지방종을 Iatroscan으로 정성분석이 아닌 정량분석까지 하려던 시도는 Itoh등[3]이 처음이었는데, 매우 복잡한 지방종으로 구성되어 있는 간장 시료 이외에는 큰 무리없이 Iatroscan법에 의한 콜레스테롤 정량이 가능하리라 판단하였고 실제로 그들 간장 시료내의 많은 지방종들과 본 연구에서 사용한 내부표준물질인 5 α -cholestane이 전혀 겹치지 않기 때문에 Data상의 오차는 크지 않았다고 본다. 본 Iatroscan에 의한 콜레스테롤 정량법은 별다른 전처리가 필요없어 비싼 효소 키트가 필요한 효소법보다 더욱 더 쉽게 정량할 수 있다고 본다. 아울러, 복잡한 검화과정과 분리조작 등의 전처리가 필요한 GC법에 의한 콜레스테롤 정량법보다도 Iatroscan에 의한 콜레스테롤 정량은 훨씬 신속하고 간편한 방법이라고 판단된다. 물론 Iatroscan법으로 콜레스테롤을 정량하기 위해서는 GC 가격 수준인 Iatroscan이란 장치가 필요하지만, 설사 Iatroscan이 구비되어 있지 않다 할지라도 일반 TLC와 densitometer만 구비해 있어도 Iatroscan과 동일한 방식으로 쉽게 콜레스테롤을 정량할 수 있다.

따라서, 복잡한 전처리없이 추출지방만으로 용이하게 정확한 콜레스테롤 정량을 Iatroscan으로 할 수 있음을 알 수 있었다. 아울러, 오징어 가식부 중 몸통보다는 다리육에 콜레스테롤양이 많았으며, 특히 껍질부위는 간장부위와 함께 난황종의 콜레스테롤치의 2/3 수준으로서 상당량의 콜레스테롤이 함유되어 있음을 본 연구로 알 수 있었다.

요 약

일반적으로 오징어의 콜레스테롤 함량은 높다고 보고하고 있지만, 이는 주요 가식부인 몸통육에 대한 것이고, 여타 스테롤도 함께 정량하는 비색법에 의한 정량 결과인 경우가 많아 신뢰하기 힘들다. 그리고 이런 단점을 개선한 효소법이나 GC법은 모두 다 또 다른 단점인 고가 효소 키트가 필요하다든가 복잡한 전처리가 필요하다든가 하여 적용하기가 쉽지 않다. 따라서, 오징어 몸통 이외의 새로운 가식부로 이용되고 있는 껍질부, 내장이나 간장부위 등에는 얼마만큼의 콜레스테롤이 함유되어 있는지 정량해 보고 아울러 기존 효소법이나 GC법의 단점을 모두 극복한 Iatroscan법에 의한 콜레스테롤 정량을 시도 확립해 보았다. 또한, 이 방법의 확립을 위해 필요한 오징어 부위별 수분함량과 지방함량 및 지방종 분석도 동시에 행하였다. 한국산 물오징어 중의 부위별 수분 및 지방함량에 있어서 간장부위가 각각 50.4%, 15%로서 다른 부위와 큰 차이를 보였고, 다른 부위는 각각 75.8~83.6%, 1.9~4.7% 수준으로서 큰 차이는 없었다. Iatroscan법에 의한 콜레스테롤 정량을 위한 근거가 되는 지방종 조성비에 있어서는 간장부위는 92.1%가 중성지방으로서 주성분을 이루고 있

었고, 몸통육과 다리육이나 껍질부위는 인지질이 81.2~87.9%로서 주성분이었다. 5 α -cholestane을 내부표준물질로 한 Iatroscan법에 의한 콜레스테롤 정량 결과 기존의 효소법과 GC법에 의한 수치와 큰 차이를 보이지는 않아 가장 간단히 콜레스테롤을 정량해 내는 법으로 사용할 수 있다고 판단되었다. 즉, Iatroscan법으로 오징어 부위별 콜레스테롤을 정량한 결과 오징어 간장 부위에 643.2 mg%, 껍질에 608.8 mg%, 다리육에 321.4 mg%, 눈부위에 159.5 mg%, 주가식부인 몸통육에 178.9 mg% 수준으로 콜레스테롤이 함유되어 있었다.

감사의 글

본 연구는 1997년도 강릉대학교 기성회 학술연구비 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고 문헌

- Bligh, E.G. and W.J. Dyer. 1959. A rapid method of lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, 911-917.
- Idler, D. R. and P. Wiseman. 1972. Molluscan sterols. *J. Fish. Res. Board Can.* **29**, 385-398.
- Itoh, T., M. Tanaka and H. Kaneko. 1985. Quantitative determination of lipids and their constituents by the chromarod TLC-FID system. *Lipids* **20**, 552-554.
- Kaneda, T., A. Nakajima, K. Fujimoto, T. Kobayashi, S. Kriyama, K. Ebihara, T. Innami, K. Tsuji, E. Tsuji, T. Kinumaki, H. Shimma and T. Kinumaki. 1980. Quantitative analysis of cholesterol in foods by gas-liquid chromatography. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **26**, 497-505.
- Kang, J. H., S. J. Cheon, H. I. Lee, Y. W. Lee and Y. H. Park. 1984. Changes in cholesterol contents of some marine products during processing. *Bull. Korean Fish. Soc.* **17**, 327-332.
- Koga, Y. 1970. Studies on cholesterol in food (part 2). On animal food other than fish. *J. Jpn. Soc. Food Nutr.* **23**, 269-275.
- Nakagawa, Y., K. Tsuji, H. Iwao, E. Tsuji and S. Suzuki. 1979. Comparison of enzymatic, colorimetric and gas-chromatographic analyses in the assay of cholesterol. *J. Jpn. Soc. Food Nutr.* **32**, 389-395.
- Sperry, W. M. and M. Webb. 1950. A revision of the Schoenheimer Sperry method for cholesterol determination. *J. Biol. Chem.* **187**, 97-106.
- Sugano, M. and K. Imaizumi. 1986. *Cholesterol*. pp. 15-48, Sankyosha, Tokyo.
- Suyama, M., S. Konosu, M. Hamabi and Y. Okuda. 1980. *Utilization of Squid*. pp. 52-86, Koseisha Koseikaku, Tokyo.
- Teshima, S. and A. Kanazawa. 1972. Comparative study on the sterol composition of marine mollusks. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* **38**, 1299-1304.