pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 35, No. 6, pp. 521~534 (2020)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2020.35.6.521

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

Review

삭시톡신과 그 유사체: 독성, 분석법, 국내외 오염도 및 관리 동향

이상유 · 임주희 · 우소영 · 최화영 · 박수빈 · 유차니 · 전향숙*
중앙대학교 생명공학대학 식품공학과

Saxitoxin and Its Analogues: Toxicity, Analytical Method, Occurrence and Safety Management

Lee Sang Yoo, Im Ju Hee, Woo So Young, Choi Hwa Young, Park Su Been, Yoo Cha Nee, Chun Hyang Sook*
School of Food Science and Technology, Chung-Ang University, Anseong, Korea

(Received September 15, 2020/Revised October 27, 2020/Accepted October 30, 2020)

ABSTRACT - Paralytic shellfish poisoning (PSP) occurs when saxitoxin (STX), which is produced by harmful algae (dinoflagellates) and then accumulated in bivalve shellfish by filter-feeding, is consumed by humans. With recent advances in analysis technology, it has been reported that dinoflagellates also produce a variety of analogues such as the gonyautoxin (GTX) group and the N-sulfo-carbamoyl toxin (C toxin) group, in addition to STX. Accordingly, CODEX and the EFSA are stepping forward to manage STX and analogues as STX groups requiring safety management. In Korea, the occurrence of dinoflagellates producing STX analogues has already been reported, and contamination of analogues (GTX group, C toxin group) in live mussels has also been reported. In this study, in order to provide the basis for systematic monitoring and safety management of STX and analogues, their physicochemical characteristics, occurrence of dinoflagellates, toxicity and toxic equivalency factor, analytical method and occurrence were widely reviewed. This review is expected to contribute to strengthening the safety management of STX and its analogues.

Key words : Paralytic shellfish poisoning, Saxitoxin, Analogues, Occurrence, Safety management

마비성 패독(paralytic shellfish poisoning, PSP)에 의한 중독은 해수 와편모조류(Dinoflagellates)의 일종인 *Alexandrium* (*A.*) spp., *Gymnodinium* (*G.*) spp., *Pyrodinium* spp. 등이 생산한 독소를 먹이활동 과정에 이매패류나 어류가 축적하고 이를 사람이 섭취함으로써 발생한다[1]. 최근에는 담수 시아노박테리아(Cyanobacteria), *Anabaena* spp., *Aphanizomenon* spp., *Cylindrospermopsis* spp. 등도 마비성 패독을 생성하는 것으로 보고되고 있다. 호수, 강 등에 생성된 시아노박테리아가 식수 공급원에 오염되고 이를 사람이 섭취함으로써 중독될 가능성이 있다[2].

국내에서 마비성 패독의 발생시기는 매년 조금씩 다르나 3월부터 남해안을 중심으로 해수 온도가 14-17.5°C 일 때 독소의 농도가 최고치에 달한다. 반면, 해수 온도가 18°C 이상으로 높아지는 6월 중순이 되면 서서히 사라지는 것으로 알려져 있다[3]. 마비성 패독에 중독되면 마비증상을 나타내므로 마비성 패독이라 불리며, 구토나 입술 주위의 마비증세에서부터 심각할 경우 호흡기 마비에 의한 사망에 이를 수 있다[1]. 따라서 마비성 패독의 안전관리를 위해서 국내의 경우 saxitoxin (STX)에 대하여 800 μg/kg으로 기준치를 설정하여 관리하고 있다[4].

마비성 패독 가운데 가장 대표적인 STX은 1957년 Schantz 등이 개조개의 일종인 *Saxidomus giganteus*의 수관(siphon)에서 분리/정제하고 이 패류의 학명을 따서 명명하였다[5]. 그 후 계속된 많은 연구에서 마비성 패독은 STX 단일성분이 아니라 여러 종류의 성분이 존재한다는 것이 밝혀졌다. 현재 STX group에는 약 50종 이상의 유사체(analoges)들이 존재하며, 유사체에 따라 독성이 다른 것으로 보고되고 있다[6].

전 세계적으로 마비성 패독에 의한 중독이 지속적으로 증가하고 있을 뿐만 아니라 발생지역 또한 확대되는 것으로 나타나고 있다. 이러한 증가현상에 대한 이유가 명확

*Correspondence to: Hyang Sook Chun, School of Food Science and Technology, Chung-Ang University, Anseong 17546, Korea
Tel: +82-31-670-3290 Fax: +82-31-670-4853
E-mail: hschun@cau.ac.kr

Copyright © The Korean Society of Food Hygiene and Safety. All rights reserved. The Journal of Food Hygiene and Safety is an Open-Access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution,and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

하지는 않으나 분석기술의 발달, 수산물의 섭취량 증가, 지구온난화로 인한 STX 유사체의 다양화 및 생체이용율의 증가 등 다양한 요인이 기여할 것으로 예측되고 있다. 특히 지구온난화로 수온이 상승하고 해수의 대기 이산화탄소 흡수량이 증가하여 해수의 pH가 낮아지게 되며 이에 따른 STX 유사체의 다양화가 이루어져 잠재적인 STX 및 유사체의 위험이 증가하게 될 가능성이 있다[7,8].

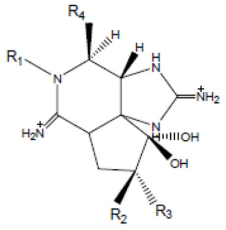
최근 국내에서 조사된 마비성 패독에 대한 오염실태를 살펴보면 STX 뿐만 아니라 그 유사체도 검출되고 있다. Shin 등[9]이 5종의 STX 및 유사체(saxitoxin (STX), gonyautoxin-1 (GTX1), gonyautoxin-2 (GTX2), gonyautoxin-3 (GTX3), gonyautoxin-1 (GTX4))를 분석한 결과 GTX group의 오염수준이 STX보다 높았다. 그 외 연구들 에서도 유사체의 오염이 STX와 유사하거나 높은 수준으로 나타났다. 하지만 현재 수행된 실태조사 연구는 홍합 등 단일 품목에 국한되어 있고 GTX group 이외 유사체를 대상으로 한 체계적인 모니터링 연구는 거의 이루어지지 않았다.

따라서 STX 및 유사체의 체계적인 모니터링 및 안전관리를 위한 기반마련을 위해 국내외 문헌 조사를 통해 STX group 독소의 이화학적 특성, 생성조류 및 국내외 발견사례, 독성 및 상대독성계수, 분석법, 오염현황 및 관리현황을 살펴보고자 한다.

STX group 독소의 이화학적 특성

STX은 tetrahydropurine 구조를 가지고 있으며 친수성으로 극성 유기용매에 잘 용해되며 일반적으로 100°C 이하에서는 안정하다. UV 및 fluorescence 흡광도는 낮은 것으로 알려져 있으며 일상적인 조건에서는 안정하기 때문에 STX는 조개 등 패류를 냉장·냉동하거나 가열 조리해도 거의 파괴되지 않는 것으로 보고되고 있다[1].

WHO에서는 현재 STX의 유사체가 50종이 넘는 것으로 보고하고 있다. 이러한 유사체들은 작용기에 따라 carbamoyl group (STX: saxitoxin, NEO: neosaxitoxin, GTX1: gonyautoxin 1, GTX2: gonyautoxin 2, GTX3: gonyautoxin 3, GTX4: gonyautoxin 4), N-sulfocarbamoyl group (B1(GTX5): gonyautoxin 5, B2(GTX6): gonyautoxin 6, C1: N-sulfocarbamoyl



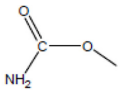
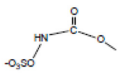
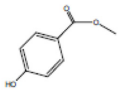
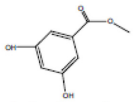
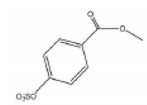
Toxin	R1	R2	R3	R4
STX	H	H	H	
NEO	OH	H	H	
GTX1	OH	H	OSO_3^-	
GTX2	H	H	OSO_3^-	
GTX3	H	OSO_3^-	H	Carbamoyl
GTX4	OH	OSO_3^-	H	
B1	H	H	H	
B2	OH	H	H	
C1	H	H	OSO_3^-	
C2	H	OSO_3^-	H	
C3	OH	H	OSO_3^-	*N*-sulfocarbamoyl
C4	OH	OSO_3^-	H	
dcSTX	H	H	H	
dcNEO	OH	H	H	
dcGTX1	OH	H	OSO_3^-	
dcGTX2	H	H	OSO_3^-	
dcGTX3	H	OSO_3^-	H	Decarbamoyl
dcGTX4	OH	OSO_3^-	H	
GC1	H	H	OSO_3^-	
GC2	H	OSO_3^-	H	
GC3	H	H	H	
GC4*	OH	H	OSO_3^-	
GC5*	OH	OSO_3^-	H	*p*-hydroxybenzoyl
GC6*	OH	H	H	
GC1a*	H	H	OSO_3^-	
GC2a*	H	OSO_3^-	H	
GC3a*	H	H	H	
GC4a*	OH	H	OSO_3^-	
GC5a*	OH	OSO_3^-	H	di-hydroxybenzoyl
GC6a*	OH	H	H	
GC1b*	H	H	OSO_3^-	
GC2b*	H	OSO_3^-	H	
GC3b*	H	H	H	
GC4b*	OH	H	OSO_3^-	
GC5b*	OH	OSO_3^-	H	sulfobenzoyl
GC6b*	OH	H	H	

Fig. 1. Structure of STX and various analogues[10].

gonyautoxins 2, C2: N-sulfocarbamoyl gonyautoxins 3, C3: N-sulfocarbamoyl gonyautoxins 1, C4: N-sulfocarbamoyl gonyautoxins 4), decarbamoyl group (dcSTX: decarbamoylsaxitoxin, dcNEO: decarbamoylneosaxitoxin, dcGTX1: decarbamoylgonyautoxin 1, dcGTX2: decarbamoylgonyautoxin 2, dcGTX3: decarbamoylgonyautoxin 3, dcGTX4: decarbamoylgonyautoxin 4) 등으로 나눌 수 있다. 최근에는 연구를 통해 benzoyl group 유사체들도 보고되고 있다(Fig. 1). 이들 유사체는 pH, 열, 어·패류 대사 등에 의한 상호전환이 일어나며 독성이 낮은 형태가 독성이 높은 형태로 전환되는 경우도 있어 문제가 되고 있다[6].

STX 및 유사체의 상호전환과 관련된 연구들(*In vitro*)에 따르면 산성 조건에서 가열 시 N-sulfo-carbamoyl기가 cabamoyl기로 전환되는 것이 확인되었다. 반면 염기성 조건(pH 약 7.4-7.5)에서 가열하면 N-sulfo-carbamoyl기가 decarbamoyl기로 전환되는 것으로 나타났다. 이 때 독성이 증가되는 형태로의 전환이 문제가 될 수 있는데 산성조건에서 GTX5, GTX6가 STX, NEO로, C1, C2가 GTX2, GTX3로 C3, C4가 GTX1, GTX4로 전환되는 경우, 염기성 조건에서GTX5, GTX6가 dcSTX, dcNEO로 C1, C2가 dcGTX2, dcGTX3로 전환되는 경우가 이에 해당된다[6].

이매패류(*In vivo*)의 체내 대사에 의한 유사체간 상호변환 연구는 패류와 독화된 와편모조류에서 발견되는 독소 프로파일이 서로 일치하지 않는다는 것에서 시작되었다. 일반적으로 STX 및 유사체의 생체내 변환은 플랑크톤 섭취량, 대사기간 등에 영향을 받는 것으로 알려져 있으나, 아직 연구가 진행되고 있는 중이다. 이매패류에서 관찰된 생체내 변환 반응으로는 에피머화, 산화, 환원, 탈황 및 가수분해 등이 있으며 소화관(중장선)내 박테리아에 의한 변환도 발생할 수 있는 것으로 보고되고 있다[11-16]. 지금까지 와편모조류, 이매패류 및 인간에게서 확인된 유사체간 생체내 상호변환을 Fig. 2에 나타내었다.

STX group 생성조류의 국내외 발생현황

STX group을 생성하는 것으로 알려진 종은 *Alexandrium* spp., *Gymnodinium* spp., *Pyrodinium* spp. 등이다. 한국에서는 1986년 마비성 패독 중독으로 4명이 사망한 사건의 원인이 홍합(*Mytilus galloprovincialis*)으로 알려지면서 생성조류와 이매패류 중 STX group 독소에 대한 연구가 증가하였다. 한국에서 STX group과 관련된 harmful algae

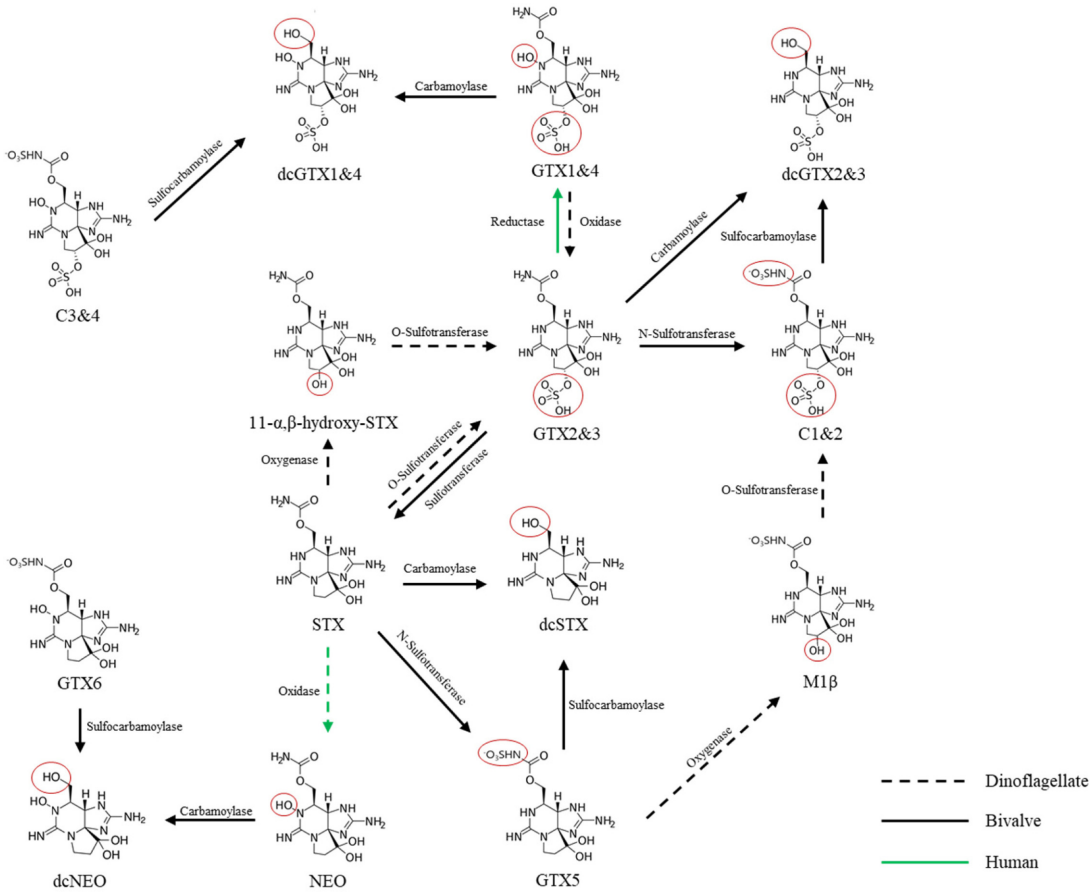


Fig. 2. Biotransformations among STX and analogues occurring in bivalves, dinoflagellates, and humans (modified from [15]).

blooming (HAB)은 주로 남해(부산, 진해, 마산, 거제 등), 동해(울산 등)에서 발견되는 *A. tamarense*가 원인이 되는 것으로 알려져 국내 STX group 생성조류 연구는 *Alexandrium* spp.의 검출과 생성 독소 프로파일링 위주로 수행되었다[17,18].

국내에서 수행된 STX group 생성조류의 검출 및 생성 독소 프로파일링 연구들은 대부분 HAB가 발생하는 부산, 거제, 마산, 여수, 진해 및 울산 등 남해 지역에서 샘플링을 수행하였다. Han 등[18]의 연구를 살펴보면 부산, 거제, 마산 및 여수의 4곳에서 샘플을 채취한 다음 *A. pacificum*의 독소 생성 패턴을 확인한 결과 총 11종의 STX group 독소를 생성하는 것으로 확인되었다. 생성 독소의 비율은 NEO (약 35%) 및 C1 (약 35%)이 가장 높았고 STX의 경우 약 1.2%로 그 생성비율은 높지 않았다. Kim 등[19]의 연구에서는 부산, 거제, 진해 및 울산의 4곳에서 샘플링을 수행하여 *A. catenella* 와 *A. tamarense*의 2종 샘플을 배양하여 각각의 독소 생성 패턴을 분석하였다. 그 결과 *A. catenella*는 11종의 STX group 독소를 생성하였으며 GTX group 및 C toxin group의 생성비율이 높았다. *A. tamarense*의 경우 9종의 STX group 독소를 생성하였으며 *A. catenella*와는 달리 GTX5와 dcGTX2를 생성하지 않았다. 가장 최근인 Baek 등[3]의 연구에서는 거제 지역에서 *A. catenella*를 채취 및 배양한 후 독소 생성 패턴을 분석한 결과 GTX1, GTX2, C1 및 C2의 4종 STX group 독소가 확인되었다.

국내 남해를 중심으로 한 STX group의 발생 및 독소 생성패턴에 대한 연구들을 종합적으로 살펴보면, STX보다 GTX group 또는 C toxin group 등 STX 유사체의 발생 이 더 높은 것으로 보인다.

국외의 경우 일본 및 호주에서는 국내와 유사하게 *A. tamarense* 또는 *A. cantanella* 등의 발생이 보고되고 있으며 STX외 다양한 유사체를 생성하는 것으로 나타났다[23,24]. 아일랜드 및 프랑스 등 유럽 지역에서도 *A. tamarense,* 및 *A cantanella* 등이 주로 발견되는 것으로 보고되고 있으며 STX외 유사체들 또한 확인되었다[25,26]. 미국 및 캐나다 등 북아메리카 지역에서는 *A. tamarense,* 및 *A cantanella*의 발생이 보고되고 있다는 점에서 국내와 유사하나 *A. fundyense*의 발생이 가장 빈번하다는 점에서 차이가 있었

Table 1. Occurrence of dinoflagellates producing STX group

Dinoflagellate	Country	Year	Detected toxin	Reference
A. pacificum	Korea	1989, 1990	STX, NEO, GTX1, GTX2, GTX3, GTX4, GTX5, dcGTX2, dcGTX3, C1, C2	[18]
A. tamarense	Korea	1997	NEO, GTX1, GTX2, GTX3, GTX4, C1, C2	[19]
A. catenella	Korea	Not shown	STX, NEO, GTX1, GTX2, GTX3, GTX4, GTX5, dcGTX2, dcGTX3, C1, C2	[20]
A. tamarense	Korea	Not shown	STX, NEO, GTX1, GTX2, GTX3, GTX4, dcGTX3, C1, C2	
A. tamarense	Korea	2012	STX, NEO, dcSTX, GTX1, GTX2, GTX3, GTX4, GTX5, C1, C2	[21]
A. pacificum	Korea	2006	NEO, GTX1, GTX3, C1, C2	[22]
A. catenella	Korea	2017	GTX1, GTX2, C1, C2	[3]
A. tamarense	Japan	1992-1995	GTX1, GTX2, GTX3, GTX4, C1, C2, C3, C4	[23]
A. catenella, A. tamarense	New Zealand	1997	STX, NEO, GTX1, GTX2, GTX3, GTX4, C1, C2, C3, C4	[24]
A. minutum A. tamarense	Ireland	2006	STX, NEO, GTX1, GTX2, GTX3, GTX4, GTX5, dcSTX, dcGTX2, dcGTX3	[25]
A. catenella	France	2003	STX, NEO, GTX1, GTX2, GTX3, GTX4, GTX5, GTX6, dcSTX, dcGTX2, dcGTX3, C1, C2, C3, C4	[26]
A. fundyense	United States	1998	STX, NEO, GTX1, GTX2, GTX3, GTX4, C1, C2	[27]
A. fundyense A. tamarense	United States	2004-2012	STX, NEO, GTX1, GTX2, GTX3, GTX4, GTX5, C1, C2	[28]
A. catenella	Canada	-[1)]	STX, NEO, GTX1, GTX2, GTX3, GTX4, GTX5, C1, C2	[29]
G. catenatum	Mexico	-[1)]	GTX5, GTX6, dcSTX, dcNEO, dcGTX1, dcGTX4, C1, C2, C3, C4	[30]
A. catenella	Chile	1994	STX, NEO, GTX1, GTX2, GTX3, GTX4, GTX5, dcSTX, C1, C2	[31]
A. tamarense	Argentina	2000, 2005	STX, NEO, GTX1, GTX2, GTX3, GTX4, C1, C2	[32]

[1)] Data not shown.

다[27-29]. 남아메리카로 넘어가는 맥시코(Mexico)에서는 다른 지역과는 다르게 *G. catenatum*의 발생이 주로 보고되고 있으며 decarbamoyl 형태의 독소가 빈번하게 나타났다[30]. 칠레(Chile) 및 아르헨티나(Argentina) 등 남아메리카 지역에서는 *A. tamarense* 및 *A. cantanella*의 발생이 보고되고 있다. 종합해보면 전세계적으로 가장 빈번하게 발생하는 STX 및 유사체를 생성하는 와편모조류는 *A. tamarense* 및 *A. cantanella*이나 지역에 따라 차이는 있었다[31,32].

STX group 독소의 독성 및 상대독성계수

STX group의 독성 메커니즘은 신경세포의 나트륨 채널의 기능을 방해함으로써 자극의 전달을 저해하는 것으로 저해 정도에 따라 경미한 마비에서 심각한 경우 호흡기관의 마비에 따른 사망에 이르게 된다. 신경세포의 나트륨 채널은 α-subunit과 β-subunit으로 나누어 지는데 STX group 독소의 경우 α-subunit의 site 1 (domain 1)에 결합하여 나트륨 채널을 차단하게 된다(Fig. 3). STX group의 독성은 나트륨 채널과의 친화력에 따라 유사체간 독성의 크기에 차이가 나타나며 몇몇 연구를 통해 carbamoyl 작용기가 나트륨 채널과의 친화력에 영향을 줄 수 있다는 가능성이 제기되고 있으나 아직 명확히 밝혀지지는 않았다[33].

STX group의 독성동태(toxicokinetics)를 살펴볼 때, 먼저 흡수는 독소에 오염된 식품의 섭취 시 입술, 혀, 구강 상피를 통해 흡수되며 혈액을 통해 타 기관으로 운반되는 것으로 알려져 있다. 흡수된 STX group의 분포와 관련한 자료는 아직 많지 않다. 일부 연구에서 독화된 식품의 섭취로 사망한 사망자의 부검을 통해 간에서 미량의 독소를 확인하였고 대부분의 독소는 장내 분변, 혈액 및 소변에서 발견되었다. 흡수된 STX group 독소는 체내 대사를 통해 다양한 유사체로 전환이 일어나는데 Gessner 등[34]은 사망자가 섭취한 홍합에 비해 사망자의 혈액과 소변에서 C1 및 C2의 비율이 높고 GTX2의 비율이 낮다는 점을 확인하였다. 또한 Llewellyn 등은 사망자의 장내 분변 및 소변에서 STX 비율이 높고 GTX2&3의 비율이 낮다는 것과 사망자가 섭취한 게에서는 검출되지 않은 GTX1&4 및 dcSTX가 검출된 것을 확인하였다. 다양한 대사체가 보고되고 있으나 인체를 대상으로 한 연구의 한계점 때문에 대사 경로가 명확하게 밝혀지지는 않았다. STX group의 배출은 신장의 사구체 여과를 통해 소변으로 배출되는 것으로 알려져 있으며 담즙을 통한 배출은 거의 일어나지 않는 것으로 보고되고 있다[1,35].

STX 및 유사체의 *in vitro* 연구의 경우 주로 Neuro-2A cell 및 Vero cell 등을 활용하여 수행되었다. 이러한 연구에서 산출된 STX 및 유사체의 IC_{50}은 STX: 0.82-7.2 nM, NEO: 1.9-6.5 nM, GTX1&4: 2.1-23.7 nM, GTX2&3: 5.8-28.1 nM, GTX5: 16.0-97.8 nM, C1&2: 74.5-307.1 nM, dcSTX: 1.5-8.2 nM, dcNEO: 2.2-20.9 nM dcGTX2&3: 13.7-53.4 nM이었다[36-39].

In vivo 연구는 대부분 mouse를 활용하여 STX 및 유사체의 독성을 확인하는 연구가 이루어졌다. STX의 AOAC 공인 분석법(AOAC 959.08)으로 복강내 투여(intraperitoneal, *i.p.*)를 통해 독력을 산출하는 mouse bioassay (MBA)가 활용되고 있다. STX 및 STX 유사체의 mouse 복강내 투여에 따른 LD_{50}는 STX: 6.6-11.6 μg/kg b.w., NEO: 30.4 μg/

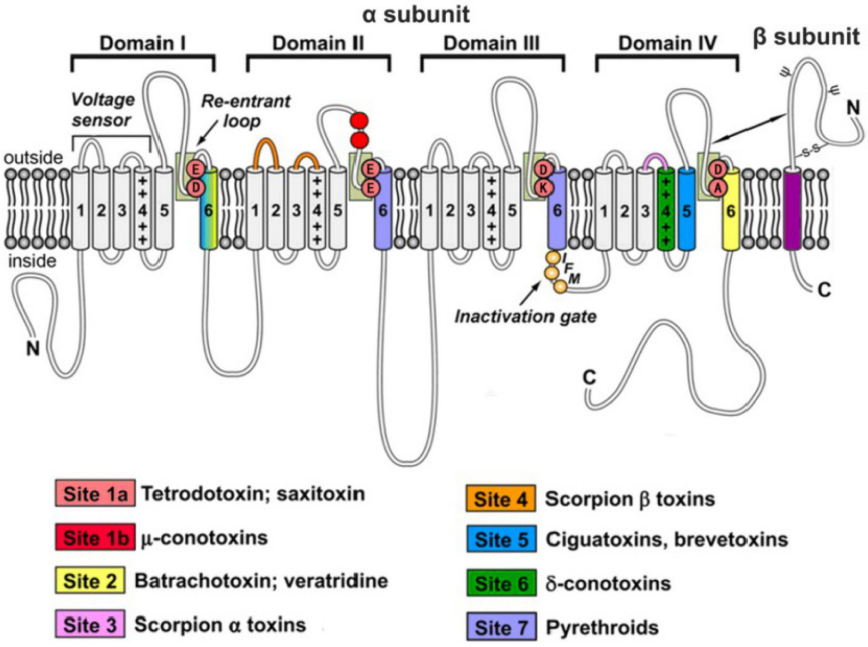


Fig. 3. Binding site of STX and their analogues on Na^+ channel[33].

Table 2. *In vitro* toxicity of STX group toxins

Toxin	Cell	Incubation	IC50 (nM)	Reference
STX	Neuro-2A cell	24 h	1.5	[36]
	Neuro-2A cell	24 h	1.01	[37]
	Vero cell	24 h	0.82	
	Mice cerebella primary cell	7 d	1.8-7.2	[38]
NeoSTX	Mice cerebella primary cell	7 d	1.9-6.5	
GTX1&4	Mice cerebella primary cell	7 d	2.1-23.7	
GTX2&3	Mice cerebella primary cell	7 d	5.8-28.1	
GTX5	Mice cerebella primary cell	7 d	16.0-97.8	
C1&2	Mice cerebella primary cell	7 d	74.5-307.1	
dcSTX	Mice cerebella primary cell	7 d	1.5-8.2	
dcNEO	Mice cerebella primary cell	7 d	2.2-20.9	
dcGTX2&3	Mice cerebella primary cell	7 d	13.7-53.4	

Table 3. *In vivo* toxicity of STX group toxins

Toxin	Species	Administration pathway	LD50 (μg/kg b.w.)	Reference
STX	Mouse	Oral (gavage)	260-263	[40]
		Intravenous	2.4-3.4	
		Intraperitoneal	9.0-11.6 (i.p.)	
	Mouse	Intraperitoneal	7.5-9.3	[41]
		Oral (gavage)	305-389	
	Mouse	Intraperitoneal	6.6-7.4	[42]
		Oral (gavage)	316-488	
NeoSTX	Rat	Intramuscular	11.4	[43]
		Intravenous	6.06	
		Intraperitoneal	30.35	
		Subcutaneous	12.41	
GTX5	Mouse	Intraperitoneal	24.6-58.8	[44]
		Oral (gavage)	5345-8226	
GTX6	Mouse	Intraperitoneal	68.4-109.4	
		Oral (gavage)	11655-14420	
C1&2	Mouse	Intraperitoneal	155.3-315.0	
		Oral (gavage)	14536-22184	
C3&4	Mouse	Intraperitoneal	231.8-245.5	
		Oral (gavage)	19640-24550	
dc-NeoSTX	Mouse	Intraperitoneal	119.9-134.7	
		Oral (gavage)	1128-1731	
dcGTX2&3	Mouse	Intraperitoneal	11.3-17.6	
		Oral (gavage)	2113-2677	

kg b.w., GTX5: 24.6 μg/kg b.w., GTX6: 68.4-109.4 μg/kg b.w., C1&2: 155.3-315.0 μg/kg b.w., C3&4: 231.8-245.5 μg/kg b.w., dcNEO: 119.9-134.7 μg/kg b.w., dcGTX2&3: 11.3-17.6 μg/kg b.w.이었다. Mouse 경구투여(oral)에 따른 LD_{50}는 STX: 260-488 μg/kg b.w., GTX5: 5345-8226 μg/kg b.w., GTX6: 11655-14420 μg/kg b.w., C1&2: 14536-22184 μg/kg

b.w., C3&4: 19640-24550 μg/kg b.w., dcNEO: 1128-1731 μg/kg b.w., dcGTX2&3: 2113-2677 μg/kg b.w.으로 나타나 투여경로에 따른 차이가 있었다[40-44].

STX group의 심혈관계에 대한 영향을 살펴본 mouse 연구에서 1 μg STX/kg b.w. 투여(i.v.) 시 저혈압을 유발하였으나 인체에 영향을 준 사례는 아직 없다. 신경계에 미치는 영향은 주로 말초신경에 작용하여 근육의 수축 약화(1-2 μg STX/kg b.w. (i.v.))하거나 신경세포의 활동전위 지연 등을 야기하는 것으로 알려져 있다. 그러나 중추신경계에 미치는 영향은 아직 확실히 밝혀지지 않았다. 호흡계에 미치는 영향은 신경계에 미치는 영향과 밀접한 연관이 있으며 신경신호 전달의 약화로 호흡이 감소되고(1-2 μg STX/kg b.w. (i.v.)) 심할 경우 호흡기관의 마비로 인한 사망(4-5 μg STX/kg b.w. (i.v.))에 이르게 된다[45].

급성독성의 경우 EFSA에서는 사람을 대상으로 한 500건 이상의 마비성 패독 중독과 관련된 자료를 조사하여 LOAEL을 1.5 μg/kg b.w.으로 정하였으며, 독소 민감인을 고려하여 3의 계수를 부여하여 급성독성참고치(ARfD)를 0.5 μg/kg b.w.으로 설정하였다[1,39].

만성독성의 경우 세포모델에서 저농도, 반복노출에 의한 신경독성 연구가 일부 수행되었다. Zepeda 등[46]은 rat를 대상으로 한 아만성독성(12 weeks) 연구에서 6 μg/kg의 NEO를 피하(subcutaneous)를 통해 투여하였을 때 체중 및 섭식 감소를 확인하였다. Ramos 등[47]은 cyanobacteria 배양물의 STX group (3, 9 μg/kg)을 식수를 통해 rat에 투여하였을 때 뇌와 간에서 산화적 스트레스 징후를 확인하였고 후속 연구를 통해 9 μg/kg 투여군에서 행동 기억력의 유의한 저하를 관찰하였다. 그러나 배양물의 정확한 유사체 프로파일에 대한 언급이 없어 어떤 유사체에 의해 기인한 증상인지 확인되지 않았다[48]. 이와 같이 만성독성에 대한 연구는 매우 제한적이기 때문에 STX 및 유사체의 만성독성에 대한 인체노출안전 기준치가 설정되지 않고 있다.

독성등가계수(TEF: toxic equivalency factor)는 위해평가 등 안전관리에 활용할 수 있도록 STX 대비 STX 유사체의 상대적인 독성을 산출한 것이다(Table 4). EFSA에서는 MBA(*i.p.*)를 통해 STX group의 상대독성을 비교한 Oshima 등[51]의 연구를 기반으로 STX및 유사체의 TEF값을 산출하였다. 그러나 이후 복강투여(*i.p.*)와 경구투여(Oral)를 통한 독성의 차이가 크다는 점과 경구투여경로가 인체노출경로를 더 잘 모방하고 있다는 점을 들어 WHO에서는 EFSA에서 설정한 TEF값을 기반으로 이후 수행된 경구투여경로 기반 독성 연구를 고려하여 TEF값을 재검토 및 보완하였다. 또한 TEF값을 결정하기 위한 데이터 참고의 우선순위를 다음과 같이 제시하였다: 1. 사람 대상의 중독사례, 2. 경구투여 기반의 동물실험 데이터(LD_{50}), 3. 복강투여 기반의 동물실험 데이터(LD_{50}), 4. MBA 데이터, 5. In vitro 데이터[6].

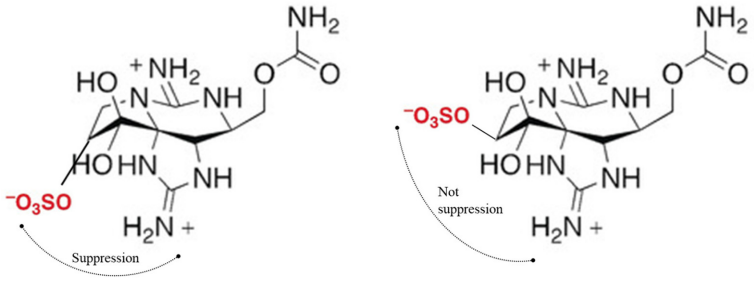
Table 4. TEF values of STX group toxin

Toxin	TEF value	
	EFSA	WHO
STX	1.0	1.0
NeoSTX	1.0	2.0
GTX1	1.0	1.0
GTX2	0.4	0.4
GTX3	0.6	0.6
GTX4	0.7	0.7
GTX5	0.1	0.1
GTX6	0.1	0.05
C1	-	0.01
C2	0.1	0.1
C3	-	0.01
C4	0.1	0.1
dcSTX	1.0	0.5
dcNEO	0.4	0.2
dcGTX2	0.2	0.2
dcGTX3	0.4	0.4

STX group 독소의 분석법

STX group 독소를 분석하기 위해서 다양한 방법들이 사용되고 있다. 가장 보편적으로 mouse를 사용하여 반수치사시간을 측정하여 독성을 산출하는 MBA방법이 사용되고 있으며 mouse 대신 rat를 사용하는 방법도 보고되어 있다. MBA방법은 복잡한 장비가 필요하지 않으며 샘플분석 시 STX 및 유사체의 독성을 한꺼번에 평가할 수 있다는 장점은 있으나 유사체 각각의 독성을 확인할 수 없다는 단점이 있다. 유사체 각각의 표준품 개발이 어렵고 다양한 유사체가 새로 발견되고 있어서 STX 및 유사체의 전체 독성을 평가할 수 있는 MBA 방법이 지금까지도 사용되고 있으나 동물복지 등 윤리적 문제에 직면하고 있다. 따라서 최근 STX 및 각각의 유사체를 동시에 분석하는 기기분석법에 대한 연구가 활발히 수행되고 있다[1,49].

HPLC-FLD를 사용하여 분석하는 방법의 경우 STX 및 유사체의 형광 흡광도가 낮기 때문에 유도체화를 필요로 한다. 유도체화를 하는 방법은 컬럼 전 유도체화(pre-column oxidation, preCOX)방법과 컬럼 후 유도체화(post-column oxidation, postCOX)방법이 보고되어 있다. 두가지 유도체화 방법 모두 STX group의 구조에 존재하는 하이드록시(-OH)기를 산화시켜 퓨린 유도체를 생성한다. 두가지 HPLC-FLD분석법은 STX 및 유사체 프로파일을 분석할 수 있는 다는 장점을 가지고 있지만 이성질체인 GTX1&4, GTX2&3, C1&C2의 분리가 불가능하고 복잡한 유도체화 과정으로 많은 시간이 소요된다(Fig. 4). 또한 유도체화 산물이 2종



11α-hydroxysulfate (GTX2) 11β-hydroxysulfate (GTX3)

Fig. 4. Structure for α- or β- form of 11-hydroxysulfate function group.

이상 생성되는 경우가(2종: dcSTX, dcGTX2, dcGTX3, 3종: NEO, dcNEO, GTX1, GTX4, GTX6, C3, C4) 있어 정확한 분석이 어렵다[50,51].

이러한 유도체화의 단점을 보완하여 STX 및 유사체를 HPLC로 분리하고 유도체화 없이 MS/MS를 검출기를 활용하여 분석하는 HPLC-MS/MS방법이 보고되었다. 그러나 이 방법은 STX 및 유사체의 높은 극성으로 일반적인 역상 크로마토그래피로는 분석이 어려워 ion-pairing 시약을 사용하는데, 이 시약에 의한 신호 억제효과(signal suppression)가 발생한다는 단점이 있다[53].

이후 ion-pairing 시약을 사용하지 않기 위해 hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC) 방법으로 STX 및 유사체를 분리하고 MS/MS 사용하여 검출하는 HILIC-MS/MS 방법이 보고되고 있다[54,55]. HILIC 방법은 기존의 역상 크로마토그래피에 사용되는 고정상에 극성이 높은 작용기를 부착시키는 방법으로 유기용매를 사용하면서 역상 크로마토그래피에서는 분리가 불가능한 극성이 높은 분자의 분석을 가능하게 하는 방법이다[56]. HILIC 크로마토그래피를 통해 기존 preCOX 및 postCOX 방법으로는 분리가 불가능했던 에피머쌍인 GTX1&4 및 GTX2&3의 분리가 이루어졌다. 이 방법을 이용한 GTX1과 GTX3, GTX2와 GTX3의 분리는 11-hydroxysulfate 그룹이 α방향으로 존재하는 경우(GTX1, GTX2) 고정상과 작용할 수 있는 양전하를 띈 작용기를 감소시키며 β방향으로 존재하는 경우(GTX3, GTX4) 고정상과 작용할 수 있는 양전하를 띈 작용기가 증가하기 때문이다. 그 외에도 기존 분석법에서 요구되었던 복잡한 전처리과정 없이 80% ACN (0.1% formic acid)을 사용한 한번의 추출이나 HILIC-SPE를 사용한 정제 후 분석이 가능하여 분석시간의 현저하게 단축되었다[54]. HILIC-MS/MS 방법의 경우 분석에 숙련된 전문가가 필요하지만 동물복지 문제를 해결할 수 있고 미량의 STX 및 유사체를 동시에 분석할 수 있기 때문에 높은 신뢰도의 데이터를 얻을 수 있다고 생각된다.

현재 활용되고 있는 국내외 공인 분석법을 살펴보면 (Table 5) 유럽의 경우 MBA(AOAC 959.08)가 가장 우선하는 공인분석법이며 2017년 개정을 통해 preCOX-HPLC-FLD(AOAC 2005.06) 분석법을 병행 사용할 수 있도록 하였다[57]. CODEX는 MBA와 postCOX-HPLC-FLD(AOAC 2011.02) 분석법을 활용할 수 있으며, 캐나다의 경우 공인분석법은 CODEX를 따르는 것으로 명시되어 있다[58,59]. 미국의 경우 MBA, preCOX-HPLC-FLD 및 postCOX-HPLC-FLD 모두를 활용할 수 있도록 하고[60]. 일본의 경우 MBA를 공인시험법으로 하고 있으며 동등성을 확인할 수 있는 경우 기기분석법을 사용할 수 있다. 추가적으로, 검증이 이루어진 기기분석법으로 postCOX-HPLC-FLD를 제시하고 있어 MBA와 postCOX-HPLC-FLD를 모두 채택하고 있다[61]. 그러나 국내의 경우는 아직 MBA만을 공인시험법으로 활용하고 있어 국제적인 조화를 이룬 시험법의 검토가 필요할 것으로 생각된다.

STX group 독소의 국내외 오염현황

STX 및 유사체의 국내외 모니터링 연구는 Table 6에 나타내었다. 2016년 식품의약품안전처에서 수행한 연구에서 홍합(mussels), 굴(oysters), 바지락(manila clam), 가리비(scallop), 백합(clam), 꼬막(blood cockle), 모시조개(chinese cyclina), 키조개(comb pen shell), 새조개(egg cockle), 멍게(sea squirt), 미더덕(stalked sea squirt) 및 오만둥이(plated sea squirt)를 대상으로 5종 STX 및 유사체를 분석하였다. 그 결과 25.3-107.0 μg/kg 수준의 독소가 검출되었고 가장 높은 오염도를 나타낸 독소는 GTX group 독소인 GTX2 및 GTX3으로 나타났다[64]. Lee 등[17]이 수행한 연구에서는 홍합을 대상으로 15종 STX 및 유사체를 분석하였다. 분석 결과 15.8-6355.3 μg/kg 수준의 독소가 검출되었으며 GTX group 독소인 GTX1, GTX2 및 GTX4와 C toxin group 독소인 C1의 오염도가 가장 높은 수준이었다. Shon 등[65]이 수행한 연구에서는 홍합을 대상으로 12종 STX 및 유사체를 분석하였다. 그 결과 2.6-43159.4 μg/kg 수준의 독소가 검출되었고 GTX group 독소인 GTX1, GTX4의 오염도가 가장 높게 나타났다. Kim 등[21]의 연구에서도 홍합을 대상으로 분석을 수행하였다. 각 독소의 오염도는 나타내지 않

Table 5. Analytical methods of STX group toxin by different countries.

Method	Reference method	Analogue detection	Country[1]						Extraction	Purification	Detection
			E.U.	Canada[2]	U.S.	Japan	Korea	Codex			
MBA	AOAC 959.08	X	O	O	O	O	O	O	Water with 0.1 N HCL (Boiling)	Centrifuge on necessary (3000 rpm, 5 min)	Swiss strain albino mice, ICR, 19-21 g
HPLC-FLD (preCOX)	AOAC 2005.06	O	O		O				Water with 0.1 N HCL (Boiling)	Solid phase extraction (SPE) C18, -COOH cartridge	Fluorescens detector
HPLC-FLD (postCOX)	AOAC 2011.02	O		O	O	O		O	Water with 0.1 N HCL (Boiling)	Deproteination (30% trichloroacetic acid) Centrifuge (16,000 g, 5 min)	Fluorescens detector, Post-column reaction system
ELISA[3]	-	O[4]							Water with 0.1 N HCL (Boiling)	Centrifuge (3000 rpm, 15 min)	ELISA kit (antibody)
HILIC-MS/MS[5]	-	O							Water:ACN, 20:80 (v/v) with 0.1% Formic acid	Solid phase extraction (SPE) Polyhydroxy-ethyl-aspartamide cartridge	Mass -spectrometer

[1] [57], [58], [59], [60], [61], [4].
[2] According to CODEX.
[3] [62], [63].
[4] Dependent on cross-reactivity of antibody.
[5] [54].

았으며 GTX group 독소인 GTX1 및 GTX4와 C toxin group 독소인 C1 및 C2의 오염비가 가장 높게 나타났다. Beak 등[3]의 연구에서는 11종 STX 및 유사체를 홍합시료에서 분석하였다. 오염도는 TEF값을 활용하여 STX equivalent로 표현하였으며 86.6-731.0 STX equivalent μg/kg 수준으로 검출되었다. 이전 연구들과 유사하게 GTX group 독소인 GTX1 및 GTX4와 C toxin group 독소인 C1 및 C2의 오염도가 높게 나타났다.

국내에서 이루어진 대부분의 연구는 홍합을 대상으로 수행되었으며 STX 보다는 GTX group 과 C toxin group의 오염수준이 높은 것으로 나타났다. 따라서 홍합뿐만 아니라 다양한 이매패류 및 어류 등 STX 오염가능 시료를 선정하여 STX 유사체를 대상으로 한 체계적인 모니터링이 필요할 것으로 생각된다.

국외의 경우도 국내와 유사하게 GTX group 및 C toxin group의 오염도가 높은 것으로 나타났다. 2018년 Mattarozzi 등의 연구에서는 홍합을 대상으로 13종의 STX 및 유사체를 분석한 결과, 22-2325 μg/kg 수준의 독소가 검출되었고 GTX group의 오염도가 가장 높았다[66]. Botelho 등[67]의 연구에서는 홍합, 조개(cockle), 맛조개(Razor shells)를 대상으로 13종의 STX 및 유사체를 분석하였다. 그 결과 타 연구들과 유사하게 GTX group 및 C toxin group의 오염도가 높게 나타났다.

이매패류 이외의 연체류 및 어류에서도 STX의 오염가능성이 조사되었다. Robertson[68]는 연체류인 문어(*Abdopus* sp.)를 대상으로 STX을 분석한 결과, 최대 2460 μg/kg의 STX 오염을 확인하였다. 뿐만 아니라 Gomaa등[69]은 어류인 고등어(Mackerel fish)를 대상으로 MBA를 활용하여 STX group을 분석한 결과, 214-450 μg/kg의 오염을 확인하였다. 이들 연구는 이매패류 외에도 연체류 및 어류 등 다양한 해양생물에 STX의 오염이 발생할 수 있는 가능성을 보여주며 국내에서도 이매패류 외 다른 다양한 시료를 대상으로 한 모니터링의 필요성이 강조된다.

STX group 독소의 국내외 관리현황

STX group 독소의 안전 관리를 위해 국내외에서는 기준치를 설정하여 관리하고 있다(Table 7). 대부분의 국가 및 기구에서 800 STX equivalent μg/kg 이하를 기준치로 설정하고 있으며 STX 유사체의 양을 TEF값을 활용하여 STX equivalent로 환산하여 유사체를 함께 관리하고 있다. CODEX의 경우 STX group을 STX, NEO, dcSTX, GTX1, GTX2, GTX3, GTX4, GTX5, GTX6, dcGTX2, dcGTX3, C1, C2, C3 및 C4의 총 15종으로 명시하고 있다. 그러나 유사체의 다양성 때문에 대부분의 국가 및 기구에서는 STX group에 대한 관리 범위를 정확하게 명시하고 있지 않고 있다.

Table 6. Occurrence of STX group toxin in mollusk and fish

Sample[1)]	Analyzed toxin	Contamination range (μg/kg)	Major analogue	Reference
A	STX, GTX1, GTX2, GTX3, GTX4	25.3-107.0	GTX group (GTX2, GTX3)	[64]
B	STX, NEO, GTX1, GTX2, GTX3, GTX4, GTX5, GTX6, C1, C2, C3, C4, dcSTX, dcGTX2, dcGTX3	15.8-6355.3	GTX group (GTX1, GTX,2 GTX4), C toxin group (C1)	[17]
B	STX, NEO, GTX1, GTX2, GTX3, GTX4, GTX5, C1, C2, dcSTX, dcGTX2, dcGTX3	2.6-43159.4	GTX group (GTX1, GTX4)	[65]
B	STX, NEO, GTX1, GTX2, GTX3, GTX4, GTX5, C1, C2, dcSTX	-[2)]	GTX group (GTX1, GTX4), C toxin group (C1, C2)	[21]
B	STX, NEO, GTX1, GTX2, GTX3, GTX4, C1, C2, C3, dcGTX2, dcGTX3	86.6-731.0[3)]	GTX group (GTX1, GTX4), C toxin group (C1, C2)	[3]
B	STX, NEO, GTX1, GTX2, GTX3, GTX4, GTX5, C1, C2, dcSTX, dcNEO, dcGTX2, dcGTX3	22-2325	GTX group (GTX1, GTX2, GTX5),	[66]
C	STX, GTX1, GTX2, GTX3, GTX4, GTX5, GTX6, C1, C2, dcSTX, dcNEO, dcGTX2, dcGTX3,	14-13300	GTX group, C toxin group	[67]
D	STX	2460 (max)	STX	[68]
E	STX group	214-450	-[4)]	[69]

[1)] A: Mussels, Oysters, Manila clam, Scallop, Clam, Blood cockle, Chinese cyclina, Comb pen shell, Egg cockle, Sea s quirt, Stalked sea squirt, Plated sea squirt, B: Mussels, C: Mussels, Cockles, Razor shells, D: *Octopus* (*Abdopus*) sp., E: Mackerel fish.
[2)] Data not shown.
[3)] Sum of STX and analogues concentration.
[4)] Analyzed by MBA assay.

Table 7. Regulatory limit of STX group toxin

Organization	Maximum level of toxin (μg/kg)	Regulatory food
European Union	≤800 of saxitoxin equivalent	Edible parts of live bivalve molluscs
Canada	≤800 of saxitoxin equivalent	Bivalve shellfish edible tissue
United States.	≤800 of saxitoxin equivalent	All fish (fish[1)] and fishery products[2)])
New Zealand	≤800 of saxitoxin equivalent	Bivalve molluscs
Japan	4 MU/g	Edible parts of live bivalve molluscs
Korea	≤800 of saxitoxin	Edible parts of live bivalve molluscs

[1)] Fish: fresh or saltwater finfish, crustaceans, other forms of aquatic animal life (including, but not limited to, alligator, frog, aquatic turtle, jellyfish, sea cucumber, and sea urchin and the roe of such animals) other than birds or mammals, and all mollusks, where such animal life is intended for human consumption.
[2)] Fishery products: any human food product in which fish is a characterizing ingredient.

국내 관리기준의 경우 800 μg/kg 이하로 설정되어 있으나 유사체의 관리에 대한 부분은 명시되어 있지 않다. 따라서 유사체를 관리하고 있는 여러 국가들과 발맞추어 국내의 경우도 STX 유사체의 오염수준 및 종류 등 체계적인 모니터링 수행 등 유사체의 안전관리를 위한 방안 마련이 필요할 것으로 생각된다.

STX의 독력은 생물시험을 통하여 측정하며 1 mouse unit (MU)은 20 g의 mouse를 15분 만에 사망시키는 독력으로 규정하고 있다. 독력을 나타낼 때 일본에서는 이 MU 단위를 그대로 사용하여 400 MU/100 g으로 기준을 설정하고 있다. 반면 미국, 캐나다 및 한국에서는 실험동물 1 MU에 상당하는 독소량인 conversion factor value (CF value, 1 MU는 STX으로 약 0.18-0.22에 상당)를 곱하여 800 μg/100 g으로 기준을 정하고 있다. 한국의 경우 1993년 식품위생법에 STX의 허용기준과 시험법을 신설한 이래 현재까지 이어져 오고 있다. 시험법은 대부분의 나라에서 MBA (AOAC 959.08) 시험법에 기초하여 패류에서 0.1 N 염산으로 추출하고 mouse로 정량하는 방법을 사용하고 있다. Table 7에 국가별 마비성 패독 STX의 관리현황을 정리하였다[4,57,59-61,70-72].

Conclusion and Suggestions

최근 지구온난화와 더불어 해양생태계가 변화하면서 기

존 발견되던 STX 독소 이외 다양한 형태의 유사체들이 발견되고 있다. 이에 따라 EFSA, CODEX 등 제외국 에서는 안전관리를 위해 STX 및 유사체를 STX group으로 관리하고자 노력을 기울이고 있다. 국내의 경우도 STX 유사체를 생성하는 조류가 발견되고 있으며 독소 프로파일을 살펴보면 실제 다양한 유사체들이 발견되는 것으로 나타났다. 때문에 국내의 경우도 STX 유사체의 체계적인 안전관리를 위한 준비가 필요할 것으로 사료된다. 이에 수행된 STX 및 유사체의 독성 및 국내외 안전관리 현황, 분석법 및 오염도 등 폭넓은 조사는 STX의 유사체의 안전관리 강화를 위한 기반으로 활용되어 STX 및 유사체의 안전관리를 강화하는 것에 기여할 것으로 기대된다.

Acknowledgments

본 연구는 2020년도 식품의약품안전처의 연구개발비 (20163MFDS641)로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

국문 요약

마비성 패독(paralytic shellfish poisoning, PSP)에 의한 중독은 와편모조류(Dinoflagellates)가 생성하는 saxitoxin (STX)이 이매패류 등의 먹이활동에 의해 축적되고 이를 사람이 섭취함으로써 발생한다. 최근 분석기술의 발전으로 와편모조류가 STX외에도 gonyautoxin (GTX) group 및 N-sulfo carbamoyl toxins (C toxin) group 등 다양한 유사체들을 생성하는 것으로 보고되고 있다. 이에 CODEX, EFSA에서는 STX외 유사체의 안전관리를 위해 STX 및 유사체를 STX group으로 관리하고자 하는 움직임을 보이고 있다. 국내의 경우도 STX 유사체를 생성하는 조류의 발생이 이미 보고되고 있으며 실제 홍합에서 유사체의 오염사례도 소수 보고되고 있다. 따라서 국제적인 움직임에 발맞추어 국내에서도 STX 및 유사체의 group 관리를 위한 준비가 필요할 것으로 사료된다. 본 연구에서는 STX 및 유사체의 체계적인 모니터링 및 안전관리의 기반을 마련하고자 STX 및 유사체의 이화학적 특성, 생성조류, 국내외 발생현황, 독성 및 상대독성계수, 분석법, 오염현황 및 관리현황에 대한 폭넓은 검토를 수행하고자 하였다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Lee Sang Yoo https://orcid.org/0000-0002-3550-209X
Im Ju Hee https://orcid.org/0000-0002-8124-4650
Woo So Young https://orcid.org/0000-0002-7627-058X
Choi Hwa Young https://orcid.org/0000-0003-4284-5602
Park Su Been https://orcid.org/0000-0002-9661-7886
Yoo Cha Nee https://orcid.org/0000-0003-2725-779X
Chun Hyang Sook https://orcid.org/0000-0003-2522-4847

References

1. European Food safety Authority, Marine biotoxins in shellfish – Saxitoxin group. *EFSA J.,* **1019**, 1-76 (2009).
2. Loftin, K.A., Graham, J.L., Hilborn, E.D., Lehmann, S.C., Meyer, M.T., Dietze, J.E., Griffith, C.B., Cyanotoxins in inland lakes of the United States: Occurrence and potential recreational health risks in the EPA National Lakes Assessment 2007. *Harmful Algae*, **56,** 77-90 (2016).
3. Beak, S.H., Choi, J.M., Lee, M., Park, B.S., Zhang, Y., Arakawa, O., Takatani, T., Jeon, J-K., Kim, Y.O., Change in Paralytic Shellfish Toxins in the Mussel *Mytilus galloprovincialis* Depending on Dynamics of Harmful *Alexandrium catenella* (Group I) in the Geoje Coast (South Korea) during Bloom Season. *Toxins,* **12,** 442 (2020).
4. Ministry of Food and Drug safety, 2013. Korean Food Standard. Chapter 2. Cheongju, Korea, pp. 2-26.
5. Schantz, E.J., Mold, J., Stanger, D., Shavel, J., Riel, F., Bowden, J., Lynch, J., Wyler, R., Riegel, B., Sommer, H., Paralytic shellfish poison VI. A procedure for the isolation and purification of the poison from toxic clams and mussel tissues. *J. Am. Chem. Soc.,* **79**, 5230-5235 (1957).
6. Food and Agriculture Organization/World Health Organization, 2016. Technical paper on toxicity equivalency factors for marine biotoxin associated with bivalve molluscs, Rome, pp. 1-108.
7. Botana, L.M., A toxicological perspective to climate change: aquatic toxins. *Chem. Res. Toxicol*., **29**, 619-625 (2016).
8. Roggatz, C.C., Fletcher, N., Benoit, D.M., Algar, A.C., Doroff, A., Wright, B., Wollenberg, Valero K.C., Hardege, J.D., Saxitoxin and tetrodotoxin bioavailability increases in future oceans. *Nat. Clim. Change.,* **9,** 840-844 (2019).
9. Shin, C., Jo, H., Kim S.H., Kang, G.J., Exposure assessment to paralytic shellfish toxins through the shellfish consumption in Korea. *Food Res. Int.,* **108,** 274-279 (2018).
10. Durán-Riveroll, L.M., Cembella, A.D., Band-Schmidt, C.J., Bustillos-Guzmán, J.J., Correa-Basurto, J., Docking simulation of the binding interactions of saxitoxin analogs produced by the marine dinoflagellate gymnodinium catenatum to the voltage-gated sodium channel Nav1.4. *Toxins,* **8,** 129 (2016).
11. Sullivan, J.J., Iwaoka, W.T., Liston, J., Enzymatic transformation of PSP toxins in the littleneck clam (Protothaca staminea). *Biochem. Biophys. Res. Commun*., **114**, 465-472 (1983).
12. Fast, M.D., Cembell, A.D., Ross, N.W., In vitro transformation of paralytic shellfish toxins in the clams *Mya arenaria*

and *Protothaca staminea*. *Harmful Algae*, **5**, 79-90 (2006).
13. Buzy, A., Thibault, P., Laycock, M.V., Development of a capillary electrophoresis Method for the Characterization of Enzymatic Products Arising from the carbamoylase digestion of paralytic shellfish poisoning toxins. *J. Chromatogr. A*., **688**, 301-316 (1994).
14. García, C., Bravo, M.C., Lagos, M., Lagos, N., Paralytic shellfish poisoning: post-mortem analysis of tissue and body fluid samples from human victims in the Patagonia fjords. *Toxicon*, **43**, 149-158 (2004).
15. Raposo, M.I.C.,Teresa, M.T., Gomes, S.R., Botelho, M.J., Rudnitskaya, A., Paralytic Shellfish Toxins (PST)-Transforming Enzymes: A Review. *Toxins*, **12**, doi: 10.3390/toxins12050344 (2020).
16. Botelho, M.J., Marques, F., Freitas, R., Pires, A., Pereira, E., Vale, C., Paralytic shellfish toxin profiles in mussel, cockle and razor shell under post-bloom natural conditions: Evidence of higher biotransformation in razor shells and cockles. *Mar. Environ. Res*., doi: 10.1016/j.marenvres.2019.104839 (2020).
17. Lee, J.S., Jeon, J.K., Han, M.S., Oshima, Y., Yasumoto, T., Paralytic shellfish toxins in the mussel *Mytilus edulis* and Dinoflagellate *Alexandrium tamarense* from Jinhae bay, Korea. *Kor. Fish Soc.,* **25(2),** 144-150 (1992).
18. Han, M.S., Jeon, J.K., Yoon Y.H., Distribution and toxin profiles of *Alexanfrium tamarense* (Lebour) balech (Dinoflagellate) in the Southeastern coastal waters, Korea. *Kor. J.Phycol.,* **8(1),** 7-13 (1993).
19. Cho, E.S., Lee, H.J., Thecal plates, toxin content and growth of five clones of *Alexandrium tamarense* (Dinophyceae) isolated from Jinhae Bay, Korea. *Phycologia,* **40(5),** 435-439 (2001).
20. Kim, C.J., Kim, C.H., Sako, Y., Paralytic shellfish poisoning toxin analysis of the genus *Alexandrium* (Dinophyceae) occurring in Korean coastal waters. *Fish Sci.,* **71,** 1-11 (2005).
21. Kim, H.Y., Shin, I.S., Comparison of Paralytic Shellfish Toxin Profiles of *Alexandrium tamarense* and Blue Mussel (*Mytilus edulis*) in Korea. *Food Sci. Biotechnol.,* **24(2),** 751-756 (2015).
22. Han, M., Lee, H., Anderson D.M., Kim, B. Paralytic shellfish toxin production by the dinoflagellate *Alexandrium pacificum* (Chinhae Bay, Korea) in axenic, nutrient-limited chemostat cultures and nutrient-enriched batch cultures. *Mar. Pollut. Bull.*, **104,** 34-43 (2016).
23. Hamasaki, K., Horie, M., Tokimitsu, S., Toda, T., Taguchi, S., Variability in toxicity of the dinoflagellate *Alexandrium tamarense* Isolation from Hiroshima Bay, western Japan, as a reflection of changing environmental conditions. *J. Plankton Res.*, **23**, 271-278 (2001).
24. MacKenzie, L., Salas, M.D., Adamson, J., Beuzenberg, V., The dinoflagellate genus Alexandrium (Halim) in New Zealand coastal waters: comparative morphology, toxicity and molecular genetics. *Harmful Algae*, **3**, 71-92 (2004).
25. Touzet, N., Farrell, H., Ní Rathaille, A., Rodriguez, P., Alfonso, A., Botana, L.M., Raine, R., Dynamics of co-occurring Alexandrium minutum (Global Clade) and A. tamarense (West European) (Dinophyceae) during a summer bloom in Cork Harbour, Ireland (2006). *Deep Sea Res. 2 Top. Stud. Oceanogr*., **57**, 268-278 (2010).
26. Laabir, M., Collos, Y., Masseret, E., Grzebyk, D., Abadie, E., Savar, V., Sibat, M., Amzil, Z., Influence of environmental factors on the paralytic shellfish toxin content and profile of alexandrium catenella (dinophyceae) isolated from the mediterranean sea. *Mar. Drugs*, **11**, 1583-1601 (2013).
27. Poulton, N.J., Keafer, B.A., Anderson, D.M., Toxin variability in natural populations of Alexandrium fundyense in Casco Bay, Maine—evidence of nitrogen limitation. *Deep Sea Res. 2 Top. Stud. Oceanogr.*, **52**, 2501-2521 (2005).
28. Borkman, D.G., Smayda, T.J., Schwarz, E.N., Flewelling, L.J., Tomas, C.R., Recurrent vernal presence of the toxic Alexandrium tamarense/Alexandrium fundyense (Dinoflagellata) species complex in Narragansett Bay, USA. *Harmful Algae*, **32**, 73-80 (2014).
29. Qiu, J., Rafuse, C., Lewis, N.I., Li, A., Meng, F., Beach, D.G., McCarron, P., Screening of cyclic imine and paralytic shellfish toxins in isolates of the genus Alexandrium (Dinophyceae) from Atlantic Canada. *Harmful Algae*, **77**, 108-118 (2018).
30. Bustillos-Guzmán, J.J., Band-Schmidt, C.J., Durán-Riveroll, L.M., Hernández-Sandoval, F.E., López-Cortésa, D.J., Nuñez-Vazquez, E.J., Cembella, A., Krock, B., Paralytic toxin profile of the marine dinoflagellate Gymnodinium catenatum (Graham) from the Mexican Pacific as revealed by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Food Additives & Contaminants: Part A*., doi: 10.1080/19440049.2014.1000978 (2015).
31. Krock, B., Seguel, C.G., Cembella, A.D., Toxin profile of Alexandrium catenella from the Chilean coast as determined by liquid chromatography with fluorescence detection and liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Harmful Algae*, **6**, 734-744 (2007).
32. Montoya, N.G., Fulco, V.K., Carignan, M.O., Carreto, J.I., Toxin variability in cultured and natural populations of Alexandrium tamarense from southern South America - Evidences of diversity and environmental regulation. *Toxicon*, **56**, 1408-1418 (2010).
33. Zhang, F., Xu, X., Li, T., Liu, Z., Shellfish toxins targeting voltage-gated sodium channels. *Mar. Drugs.,* **11,** 4698-4723 (2013).
34. Gessner, B.D., Bell, P., Doucette, G.J., Moczydlowski, E., Poli, M.A., Van Dolah, F., Hall, S., Hypertension and identification of toxin in human urine and serum following a cluster of mussel-associated paralytic shellfish poisoning outbreaks. *Toxicon*, **35**, 711-722 (1997).
35. Llewellyn, L.E., Dodd, M.J., Robertson, A., Ericson, G., de Koning, C., Negri, A.P., Postmortem analysis of samples from a human victim of a fatal poisoning caused by the xanthid crab, Zosimus aeneus. *Toxicon*, **40**, 1463-1469 (2002).
36. Perreault, F., Matias, M.S., Melegari, S.P., Pinto, C.R.S.C., Creppy, E.E., Popovic, R., Matias, W.G., Investigation of

animal and algal bioassays for reliable saxitoxin ecotoxicity and cytotoxicity risk evaluation. *Ecotoxicol. Environ. Saf..,* **74,** 1021-1026 (2011).
37. Melegari, S.P., Pinto, C.R. S. C., Moukha, S., Creppy, E.E., Matias, W.G., Evaluation of cytotoxicity and cell death induced in vitro by saxitoxin in mammalian cells. *J. Toxicol. Environ. Health, Part A.,* **78,** 1189-1200 (2015).
38. Perez, S., Vale, C., Botana, A.M., Alonso, E., Vieytes, M.R., Botana, L.M., Determination of toxicity equivalent factors for paralytic shellfish toxins by electrophysiological measurements in cultured neurons. *Chem. Res. Toxicol.,* **24(7),** 1153-1157 (2011).
39. O'Neill, K., Musgrave, I.F., Humpage, A., Low dose extended exposure to saxitoxin and its potential neurodevelopmental effects: A review. *Environ. Toxicol. Pharmacol*., **48**, 7-16 (2016).
40. Wiberg, G.S., Stephenson, N.R., Toxicologic studies on paralytic shellfish poison. *Toxicol Appl. Pharmacol.,* **2,** 607-615 (1960).
41. Munday, R., Thomas, K., Gibbs, R., Murphy, C., Quilliam, M.A., Acute toxicities of saxitoxin, neosaxitoxin, dicarbamoyl saxitoxin and gonyautoxins 1&4 and 2&3 to mice by various routes of administration. *Toxicon,* **76,** 77-83 (2013).
42. Finch, S.C., Boundy, M.J., Harwood, D.T., The acute toxicity of tetrodotoxin and tetrodotoxin-saxitoxin mixtures to mice by various routes of administration. *Toxins,* **10,** 423 (2018).
43. Zepeda, R.J., Candiracci, M., Lobos, N., Lux, S., Miranda, H.F., Chronic toxicity study of neosaxitoxin in rats. *Mar. Drugs.,* **12,** 5055-5071 (2014).
44. Selwood, A.I., Waugh, C., Harwood, D.T., Rhodes, L.L., Reeve, J., Sim, J., Munday, R., Acute toxicities of the saxitoxin congeners gonyautoxin 5, gonyautoxin 6, decarbamoyl gonyautoxin 2&3, decarbamoyl neosaxitoxin, C-1&2 and C-3&4 to mice by various routes of administration. *Toxins,* **9,** 73 (2017).
45. Mons, M.N., Van Egmond, H.P., Speijers, G.J.A., Paralytic shellfish poisoning: A review. National Institute of Public Health and Environment (RIVM), Bilthoven, The Netherlands. RIVM Report 388802 005 (1998).
46. Zepeda, R.J., Candiracci, M., Lobos, N., Lux, S., Miranda, H.F., Chronic toxicity study of neosaxitoxin in rats. *Mar. Drugs*., **12**, 5055-5071 (2014).
47. Ramos, P.B., Diehl, F., dos Santos, J.M., Monserrat, J.M., Yunes, J.S., Oxidative stress in rats induced by consumption of saxitoxin contaminated drink water. *Harmful Algae*, **37**, 68-74 (2014).
48. Diehl, F., Ramos, P.B., Dos Santos, J.M., Barros, D.M., Yunes, J.S., Behavioral alterations induced by repeated saxitoxin exposure in drinking water. *J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis*., **22**, 18 (2016).
49. Association of Official Analytical Chemists, 2000. AOAC Official Method 959.08. Paralytic shellfish poison, biological method. Final action. AOAC official methods of analysis, 17th ed., Gaithersburg, MD, USA, pp 59-61.
50. Lawrence, J.F., Niedzwiadek, B., Menard, C., Quantitative determination of paralytic shellfish poisoning toxins in shellfish Comparison of AOAC 2005.06 LC method with other methodologies 1269 using prechromatographic oxidation and liquid chromatography with fluorescence detection: collaborative study. *J. AOAC. Internat*., **88(6)**, 1714-1732 (2005).
51. Oshima, Y., Postcolumn derivatization liquid chromatographic method for paralytic shellfish toxins. *J. Aoac. Int*., **78**, 528-532 (1995).
52. EURLMB., 2020. EURLMB SOP for analysis of Paralytic shellfish toxins (PST) by precolumn HPLC-FLD according to OMA AOAC 2005.06, Version 1. Vigo, Spain, pp 1-68.
53. Wu, Y., Ho, A.Y.T., Qian, P.Y., Leung, K.S.Y., Cai, Z., Lin, J.M., Determination of paralytic shellfish toxins in dinoflagellate Alexandrium tamarense by using isotachophoresis/capillary electrophoresis. *J. Sep. Sci*., **29**, 399-404 (2006).
54. Dell'Aversano, C., Hess, P., Quilliam, M.A., Hydrophilic interaction liquid chromatography--mass spectrometry for the analysis of paralytic shellfish poisoning (PSP) toxins. *J. Chromatogr. A.,* **1081(2)**, 190-201 (2005).
55. Turner, A.D., McNabb, P.S., Harwood, D.T., Selwood, A.I., Boundy, M.J., Single-laboratory validation of a multitoxin ultra-performance LC-hydrophilic interaction LC-MS/MS method for quantitation of paralytic shellfish toxins in bivalve shellfish. *J. AOAC Int.,* **98,** 3 (2015).
56. Buszewski, B., Noga, S., Hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC)—a powerful separation technique. *Anal. Bioanal. Chem*., **402**, 231-247 (2012).
57. European Commission, (2020, September 11). Commission regulation (EC) No 2074/2005. *Official Journal of the European Union*., Retrieved from: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32005R2074
58. Canadian Food Inspection Agency, (2020, September 11). Canadian Shellfish Sanitation Program manual, Section B - Shellfish harvest areas. Retrieved from: https://www.inspection.gc.ca/food-safety-for-industry/food-specific-requirements-and-guidance/fish/canadian-shellfish-sanitation-program/eng/1527251566006/1527251566942?chap=3#s4c3
59. Codex Alimentarius, (2020, September 11). Standard for live and raw bivalve molluscs CXS292. Retrieved from: http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/list-standards/en/
60. Food and Drug Administration, (2020, September 11). Sec. 540.250 Compliance policy guide. Compliance program 7303.842. Retrieved from: https://www.fda.gov/media/71302/download
61. Minister of Health Labour and Welfare, 2015. Regarding the establishment of Guidelines for risk management of shellfish poisoning in bivalves. Tokyo, Japan, pp. 1-38.
62. Usleber, E., Schneider, E., Terplan, G., Laycock, M.V., Two formats of enzyme immunoassay for the detection of saxitoxin and other paralytic shellfish poisoning toxins. *Food Addit. Contam.,* **12(3),** 405-413 (1995).
63. Jellett, J.F., Roberts, R.L., Laycock, M.V., Quilliam, M.A.,

Barrett, R.E., Detection of paralytic shellfish poisoning (PSP) toxins in shellfish tissue using MIST Alert, a new rapid test, in parallel with the regulatory AOAC mouse bioassay. *Toxicon,* **40(10),** 1407-1425 (2002).

64. Ministry of Food and Drug Safety, (2020, September 11). Development of analytical method and monitoring of paralytic shellfish poisoning toxins in aquatic products. Retrieved from: http://www.ndsl.kr/ndsl/search/detail/report/reportSearchResultDetail.do?cn=TRKO201700017608
65. Shon, M.B., Kim, Y.S., Kim, C.H., Paralytic Shellfish Poisoning of Mediterranean mussels from Jinhae Bay in Korea. *Kor. J. Fish Aquat. Sci.,* **42(4),** 366-372 (2009).
66. Mattarozzi, M., Milioli, M., Bianchi, F., Cavazza, A., Pigozzi, S., Milandri, A., Careri, M., Optimization of a rapid QuEChERS sample treatment method for HILIC-MS^2 analysis of paralytic shellfish poisoning (PSP) toxins in mussels. *Food Control*, **60**, 138-145 (2016).
67. Botelho, M.J., Marques, F., Freitas, R., Pires, A., Pereira, E., Vale, C., Paralytic shellfish toxin profiles in mussel, cockle and razor shell under post-bloom natural conditions: Evidence of higher biotransformation in razor shells and cockles. *Mar. Environ. Res*., **154**, 104839 (2020).
68. Robertson, A., Stirling, S., Robillot, C., Llewellyn, L., Negri, A., First report of saxitoxin in octopi. *Toxicon*, **44**, 765-771 (2004).
69. Gomaa, M.N., Soliman, K.M., Embaby, M.A., Ayesh, A.M., Simultaneous occurrence of saxitoxins and biogenic amines in mackerel fish. *Afr. J. Microbiol. Res*., **5(29)**, 5178-5187 (2011).
70. Food and Drug Administration, (2020, September 11). Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance Fourth Edition - Appendix 5: FDA and EPA Safety levels in Regulations and Guidance. Retrieved from http://www.fda.gov/media/80400/download
71. Food Standards Australia and New Zealand, (2020, September 11). Australia New Zealand Food Standards Code - Schedule 19 - Maximum levels of contaminants and natural toxicants. Retrieved from: http:// www.legislation.gov.au/Details/F2017C00333
72. Health Canada, (2020, September 11). Health canada's maximum levels for chemical contaminants in foods. Retrieved from: https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/food-safety/chemical-contaminants/maximum-levels-chemical-contaminants-foods.html