

## 설사성 패류독의 LC-MS/MS에 의한 분석

이종수<sup>1\*</sup> · 윤소미<sup>1</sup> · 장준호<sup>2</sup> · 신일식<sup>3</sup> · 이종옥<sup>4</sup>

<sup>1</sup>경상대학교 해양생명과학부, <sup>2</sup>일본 東北大學 대학원 농학연구과  
<sup>3</sup>강릉대학교 해양생명공학부, <sup>4</sup>식품의약품안전청 식품오염물질팀

## Detection of Diarrhetic Shellfish Poisons by LC-MS/MS

Jong-Soo Lee<sup>1\*</sup>, So-Mi Yun<sup>1</sup>, Jun-Ho Jang<sup>2</sup>, Il-Shik Shin<sup>3</sup> and Jong-Ok Lee<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Division of Marine Life Science and Technology, Institute of Marine Industry,  
Gyeongsang National University, Gyeongnam 650-160, Korea

<sup>2</sup>Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, Sendai 981-8555, Japan

<sup>3</sup>Faculty of Marine Bioscience & Technology, Kangnung National University, Gangneung 210-702, Korea

<sup>4</sup>Food Contaminants Team, Korea Food and Drug Administration, Seoul 122-704, Korea

### Abstract

Diarrhetic shellfish poisons (DSP) such as okadaic acid (OA), dinophysistoxin-1 (DTX1), pectenotoxin-1 (PTX1), PTX2, PTX6 and yessotoxin (YTX) were determined simultaneously by LC-MS/MS and mouse bioassay in the shellfishes (oyster, mussel, Washington purple clam, ark shell, scallop and short necked clam) collected at Tongyeong, from March to September, 2006. Oyster and mussel were found to contain DSP (0.05~0.1 MU/g) in March by mouse bioassay; however, no DSP components were detected on the LC-MS/MS. Also, a small amount of DTX1 (0.05 µg/g) in mussel (June) and OA (0.01~0.02 µg/g) in 5 species of shellfishes (August) were determined by LC-MS/MS.

**Key words:** diarrhetic shellfish poison (DSP), LC-MS/MS, mouse bioassay, shellfish, okadaic acid (OA), dinophysistoxin-1 (DTX1)

### 서 론

양식을 통하여 대량으로 생산되어 소비되고 있는 굴, 진주 담치 등 이매패류들은 이동성이 없이 한 곳에 고착하여 해수 중의 미세한 플랑크톤을 먹이로 섭취하여 생활한다. 따라서, 먹이가 되는 플랑크톤 중에 독성분을 함유한 외편모조류 등이 발생하면 이들을 섭취하게 되어, 본래 독성분을 함유하지 않고 있는 패류의 체내에 독이 축적하여 독화하게 된다. 이 시기에 일정량 이상의 독성분이 함유된 패류를 사람이 채취하여 먹게 되면 식중독이 발생하게 된다. 이러한 패류에 의하여 발생하는 대표적인 식중독으로서 마비성 패류중독, 설사성 패류중독과 기억 상실성 패류중독이 알려져 있다(1).

이 중 설사성 패류중독은 1978년 일본에서 처음으로 보고 되었으며(2), 그 후 유럽 여러 나라에서도 발생하고 있음이 확인되었다(3,4). 우리나라에서는 주로 인체에 치명적인 마비성 패류독이 매년 봄철에 발생하고 있으나, 설사성 패류독에 대하여는 알려진 것이 거의 없다. 그러나, 설사성 패류독을 생산하는 *Dinophysis*속의 플랑크톤이 우리나라 연안에

도 시기적으로 봄철에 출현하고 있어(5) 그 위험성은 항상 잠재하고 있어 안전성을 확보할 수 있는 감시가 필요하다.

설사성 패류독의 종류에는 polyether 화합물로서 기본 골격이 다른 okadaic acid(OA) 군, pectenotoxin(PTX) 군과 yessotoxin(YTX) 군의 수십종 유도체들이 존재하고 있으며(6,7), 지역과 계절에 따라 나타나는 독소의 종류나 함량도 다르다.

설사성 패류독의 분석에는 일본 등에서 마우스를 이용한 검사법이 이용되고 있으며(8), 패류중 함량도 마우스 독성을 기준으로 0.05 MU/g(가식부) 이하로 설정되어 있다(9). 국내에서도 이 방법에 의하여 패류중에 설사성 패류독이 존재하는 것으로 보고되어 있으나(10,11), 원인 독성분이나 정확한 함량 등에 관하여는 확인되지 않고 있다.

마우스 검사법은 생물 검정법으로서 오차가 크고, 감도가 낮으며, 마우스 치사 독성의 유무만 판단할 수 있을 뿐, 실제로 어떤 종류의 독성분이 얼마나 함유되어 있는지 함량 측정이 불가하여 여러 가지 문제가 많다. 한편, 기기를 이용한 방법으로 특정 독소 성분에 따라서는 형광 HPLC 분석법

\*Corresponding author. E-mail: leejs@gaechuk.gsnu.ac.kr  
Phone: 82-55-640-3117, Fax: 82-55-640-3111

(12,13)이나 ELISA법(14), PP2A법(15)이 개발되어 있으나, 이들 방법들은 전처리 방법이 복잡하고 특정 성분만 분석이 가능하다. 따라서, 최근에는 여러 가지 성분을 동시에 분석할 수 있고, 미량 분석이 가능하며 신뢰도가 높은 LC-MS 또는 LC-MS/MS법이 보고되었다(16-18).

본 연구에서는 우리나라 패류의 설사성 패류독소 함량에 관한 기초 자료를 얻을 목적으로 최신 분석 방법인 LC-MS/MS에 의하여 국내 유통중인 일부 패류를 분석하였으며, 기존의 마우스 법에 의하여서도 독성을 조사하여 설사성 패류독 함유 여부를 검토하였다.

### 재료 및 방법

#### 재료

2006년 3월부터 5월까지는 양식산 굴(*Crassostrea gigas*), 진주담치(*Mytilus edulis*) 및 자연산 바지락(*Ruditapes philippinarum*), 개조개(*Saxidomus purpuratus*) 및 가리비(*Patinopecten yessoensis*) 등 5종을 6월부터 9월까지는 가리비 대신 꼬막조개(*Tegillarca granosa*)를 넣어 5종을 매월 25일을 전후로 통영시 수산시장에서 껍질채로 살아있는 것 또는 가식부만을 취하여 신선한 상태로 판매 중인 것을 구입하여 실험실로 운반 후, 가식부를 마쇄하여 -20°C의 냉동고에 보관하여 두고 실험에 사용하였다.

#### 표준품 독소

Okadaic acid(OA), dinophysistoxin-1(DTX1), dinophysistoxin-3(DTX3), pectenotoxin(PTX1, PTX2, PTX6), yessotoxin(YTX) 등 7개의 표준품 독소는 일본식품분석센터(JFRL)에서 정제하여 제공한 것을 각 독소의 농도가 0.1 µg/100 mL 되도록 희석하여 1회에 5 µL씩 주입하였다. DTX3은 DTX1의 7위의 탄소에 palmitic acid가 ester 결합한 것을 사용하였다.

#### 마우스 독성 시험

마쇄한 패류 가식부 200 g을 취하여 3배량의 아세톤으로 3회 추출하여 농축 후, diethylether와 물로 분배하였다. 상층의 ether 층은 농축하고 1% tween 60 용액에 단계별로 희석 현탁시켜 마우스에 복강 주사하여 24시간 이내에 치사 여부를 조사하였다(8). 마우스는 (주)오리엔트 바이오에서 구입한 strain이 검증된 ICR계 수컷 마우스(18~20 g)를 시험에 사용하였으며, 시료당 3마리에 투여하여 2마리 이상 치사한 것을 1 MU로 계산하였다.

#### LC-MS/MS에 의한 독소의 정량 분석

**시료의 전처리:** Suzuki 등의 방법(17)에 준하여 마쇄한 가식부 1 g에 9 mL의 90% methanol을 가하고 2~3분간 mixer로 격렬히 흔들어 독소를 추출한 다음, 3,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 상등액 일부를 LC-MS/MS에 주입하

여 분석하였다.

**이동상 용매:** 용매 A(2 mM NH<sub>4</sub>COOH+50 mM HCOOH, pH 2.3)와 용매 B(2 mM NH<sub>4</sub>COOH+50 mM HCOOH in 95% CH<sub>3</sub>CN, pH 2.3)를 각각 조제하여 초음파 및 수류 펌프로 탈기하였다. 용매는 20% B 용매로 13분간 평형화 시킨 다음, 시료 주입 후 20% B 용매를 100%까지 10분간 흘리고, 100% B 용매로 15분간 더 용출시켰다. 칼럼의 세척은 분석이 끝난 후, 100% B 용매로 15분간 흘려 세척하였으며, 연속으로 시료 분석시에는 매 5회마다 표준품 용액으로 검량하였다. 이때 유속은 0.2 mL/min로 하였다.

**LC/MS/MS 조건:** 독소 분리를 위한 LC system은 Agilent 1100 series(Agilent Tech., Palo Alto, CA, USA)에 Hypersil BDS-C8(50 mm×2.1 mm I.D., Keystone Scientific, Bellefonte, PA, USA) 칼럼을, 7월부터 9월까지 시료는 Shodex RSpak DE413 2B(50 mm×2.0 mm, I.D., Showa Denko, Tokyo, Japan) 칼럼을 사용하였고, 칼럼 온도는 35°C, autosampler 온도는 5°C로 유지하였다.

MS/MS 장치는 Linear Ion Trap(LIT) Quadrupole을 이용한 Applied Biosystems/MDS Q TRAP LC/MS/MS system(AB Sciex Ins., CA, USA)을 사용하였으며, ion source로는 Turbo Ion Spray interface를 이용하여 각 7개 독소의 음이온들을 MRM(Multiple Reaction Monitoring) mode로 측정하였다. 이 때, 측정된 각 독소 성분들의 분자 이온 및 fragment ion들의 m/z는 Table 1과 같다.

### 결과 및 고찰

#### LC-MS/MS에 의한 분석법의 특성

표준품 혼합 용액 주입량이 5 µL이므로 실제 독소는 각각 0.5 ng이지만 동시에 검출이 가능하였으며, 용출 순서는 극성에 따라 YTX>PTX1>PTX6>OA>PTX2>DTX1>DTX3의 순으로 용출되었다. 용출 시간은 DTX3을 제외한 6개의 성분들이 10.9분에서 12.9분의 2분 사이에 모두 용출되었으며, 특히 YTX와 PTX1은 동일 시간에 용출되었다. 그러나, 분자량 차를 이용한 SIM으로 검출하기 때문에 동일 시간에 용출되더라도 정량 분석에는 전혀 문제가 되지 않았다.

DTX3과 PTX1을 제외한 5개 독소 표준품의 LC-MS/MS

**Table 1. Aquisition parameters of diarrhetic shellfish poisons at MRM mode (negative mode)**

Toxin	Mode	Q1 Mass (amu)	Q3 Mass (amu)	Dwell time (msec)
OA	[M-H] <sup>-</sup>	803.50	255.20	100.0
DTX1	[M-H] <sup>-</sup>	817.50	255.20	100.0
DTX3	[M-H] <sup>-</sup>	1055.70	255.20	100.0
PTX1	[M+HCOOH-H] <sup>-</sup>	919.50	137.00	100.0
PTX2	[M+HCOOH-H] <sup>-</sup>	803.50	137.00	100.0
PTX6	[M-H] <sup>-</sup>	887.50	519.20	100.0
YTX	[M-2Na+H] <sup>-</sup>	1141.50	1061.50	100.0

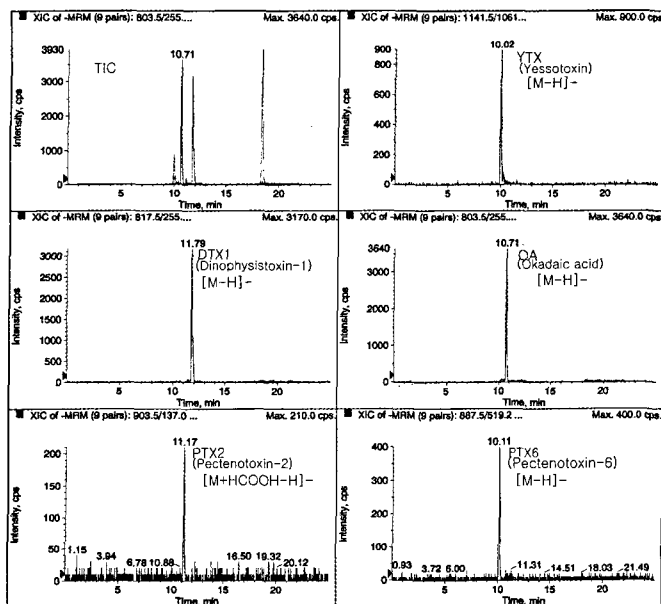


Fig. 1. LC-MS/MS chromatograms for the standard diarrhetic shellfish poisons measured at MRM mode (5  $\mu$ L injected of 100 ng each toxins/mL).

Table 2. Contents of diarrhetic shellfish poisons in shellfishes by mouse bioassay method and LC-MS/MS

Date	Shellfishes	Mouse bioassay method		LC-MS/MS method	
		Residue (g/20 g extract)	Toxicity (MU/g)	Toxin ( $\mu$ g/g)	Toxicity (MU/g)
Mar.	Oyster	0.35	0.05~0.1	- <sup>1)</sup>	-
	Mussel	0.23	0.05~0.1	-	-
	Scallop	0.06	0.05>	-	-
	Short necked clam	0.20	0.05>	-	-
	Purplish Washington clam	0.12	0.05>	-	-
Apr.	Oyster	0.36	0.05>	-	-
	Mussel	0.35	0.05>	-	-
	Scallop	0.13	0.05>	-	-
	Short necked clam	0.20	0.05>	-	-
	Purplish Washington clam	0.22	0.05>	-	-
May	Oyster	0.24	0.05>	-	-
	Mussel	0.47	0.05>	-	-
	Scallop	0.17	0.05>	-	-
	Short necked clam	0.36	0.05>	-	-
	Purplish Washington clam	0.17	0.05>	-	-
Jun.	Oyster	0.36	0.05>	-	-
	Mussel	0.18	0.05>	-	-
	Ark shell	0.56	0.05>	DTX1: 0.05	0.016
	Short necked clam	0.10	0.05>	-	-
	Purplish Washington clam	0.17	0.05>	-	-
Jul.	Oyster	0.26	0.05>	-	-
	Mussel	0.34	0.05>	-	-
	Ark shell	0.57	0.05>	-	-
	Short necked clam	0.14	0.05>	-	-
	Purplish Washington clam	0.23	0.05>	-	-
Aug.	Oyster	0.21	0.05>	OA: 0.01	0.003
	Mussel	0.31	0.05>	OA: 0.02	0.005
	Ark shell	0.17	0.05>	OA: 0.01	-
	Short necked clam	0.13	0.05>	OA: 0.01	-
	Purplish Washington clam	0.14	0.05>	OA: 0.01	-
Sep.	Oyster	0.20	0.05>	-	-
	Mussel	0.32	0.05>	-	-
	Ark shell	0.17	0.05>	-	-
	Short necked clam	0.14	0.05>	-	-
	Purplish Washington clam	0.11	0.05>	-	-

<sup>1)</sup>-: not detected.

chromatogram은 Fig. 1에 나타내었으며, 칼럼을 Shodex 칼럼으로 바꾸었을 경우는 시간을 3분 정도 단축할 수 있었다. 여기서는 각 독소별 음이온 분자와 fragment 이온을 동시에 matching하여 검출하도록 하여 MRM mode에서 측정된 것을 각각 별도의 chromatogram으로 나타내었다.

검출 모드는 LC-MS에 의하여 OA와 DTX1에 대하여는 양이온 모드에서 분석하는 것이 훨씬 감도가 좋았으나, YTX의 경우  $[M-2Na+3H]^+$  이온의 감도가 낮아 실제로 사용하기 곤란하였으며, DTX3의 경우는 matrix의 영향을 많이 받아 모든 독소를 동시에 분석하기에는 음이온 모드로 하는 것이 효과가 좋았다. 또, PTX6의 경우,  $[M-H]^-$  이온보다는  $[M+HCOOH-H]^-$  이온의 재현성이 우수하였다. 따라서, OA나 DTX1 등 일부 성분만 분석할 경우는 성분에 따라 양이온 모드로 바꾸어 측정하는 것이 좋을 것으로 생각되었다.

Peak의 재현성을 나타내는 상대 표준편차(% RSD)는 100 ng/mL의 표준품을 시료 5회 분석시마다 주입하여 검출된 독소 peak의 면적으로부터 계산한 결과, LC-MS와 비슷하여(17) 가장 큰 것이 OA의 11.9%이었다. 최소 검출 한계는 독소에 따라 다소 달랐으나, DTX1이 5 ng/g(가식부), 감도가 가장 낮은 낮은 PTX6의 경우도 50 ng/g(가식부)까지 검출이 가능하였다.

시료의 전처리는 간단하여 마쇄 시료를 9배량의 90% methanol로 추출하여 여과하는 것만으로도 충분하였으며, 모든 독소를 30분 이내에 동시 분석이 가능하였다.

마우스 검사법에 의한 설사성 패류독의 분석

3월부터 9월까지 매월 패류를 5종씩(총 35점) 구입하여 마우스 시험법에 의한 설사성 패류독을 조사한 것을 Table 2에 나타내었다. 일본에서의 기준치인 0.05 MU/g(9)을 초과하는 독성을 나타낸 것은 3월의 굴과 진주 담치의 2종 뿐이었다. 즉, 0.05 MU/g 상당량을 투여시 3월의 굴에서는 3마리 중 2마리가 치사하였으며, 진주 담치에서는 3마리 모두가 24시간 이내에 치사하였으나, 0.1 MU/g에서는 1마리도 치사하지 않아 독성은 0.05 MU/g~0.1 MU/g을 나타내었다. 간혹 가리비나 다른 시료에서도 1 마리씩 치사하는 경우도 있었으나 독성 판단의 기준은 3마리 중 2마리 이상이 치사하는지에 의하므로 1마리가 사망한 것은 독성이 없는 것으로 간주하였다.

마우스에 의한 검사법으로서는 설사성 패류독 이외의 고도 불포화 지방산이 독성을 나타내기도 하며(19), 다른 지용성 유독 성분들에 의하여서도 마우스가 치사할 수도 있다. 따라서, 마우스가 치사하는 것만으로는 설사성 패류독에 의한 것이라고 단정하기가 어려우며, 독소 성분별 정량 분석이 가능한 방법에 의한 추가적인 확인이 필요하다.

LC-MS/MS에 의한 설사성 패류독소의 정량

동일한 시료에 대하여 LC-MS/MS법에 의한 분석 결과도 Table 2에 같이 나타내었다. 마우스 검사법에 의하여 기준치를 초과하는 0.05~0.1 MU/g의 독성을 나타낸 3월 굴과 진주 담치에서는 설사성 패류독 중 어느 것도 검출되지 않아

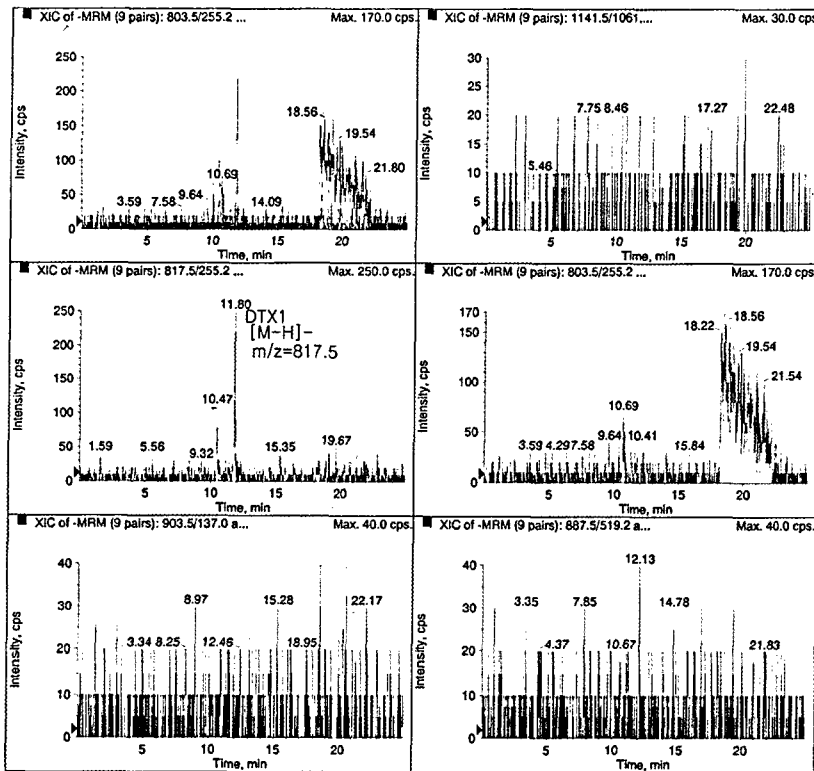


Fig. 2. MRM chromatograms detected dinophysistoxin-1 (DTX1) in mussel collected on June, 2006.

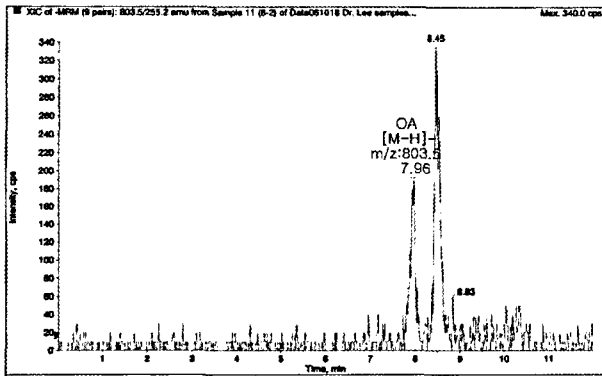


Fig. 3. A part of typical MRM chromatogram detecting okadaic acid (OA) in mussel collected on August, 2006.

이미 알려져 있는 설사성 패류독 중 어느 것도 검출되지 않아 이들 설사성 패류독들은 함유되어 있지 않은 것으로 확인되었다.

한편, 6월달 시료 중, 진주 담치에서는 가식부 1 g당 0.05 µg/g의 DTX1이 검출되었다(Table 2, Fig. 2). 또한, 8월산 시료에서는 극미량이지만 이보다 더 적은 0.01~0.02 µg/g의 OA가 모든 시료에서 검출되었다(Table 2, Fig. 3). 이러한 함량들은 설사성 패류독의 외국의 기준[0.05 MU/g(일본), OAs(OA+DTX1) 0.16 µg/g(EU)(20), New Zealand(21)]보다 상당히 낮은 수준으로 식품 위생상 전혀 문제가 되지 않는 양이다. 그러나, 수온이 20도를 넘는 여름철에 설사성 패류독을 생산하는 외편모조류가 출현할 가능성이 낮은 것으로 추정되고, 함유된 OA의 함량도 LC-MS/MS의 검출 한계에 가까운 정도로 미량이어서 잡음의 가능성도 배제할 수 없다.

이상의 결과, 이미 알려져 있는 설사성 패류독의 여러 가지 독성분들은 LC-MS/MS를 이용한다면, 간단한 전처리를 통하여 고감도로 단시간 내에 동시 분석이 가능한 것이 밝혀졌다. 그러나, 아직까지 우리나라에서는 설사성 패류독의 발생 빈도가 낮고, 함량도 적어 이에 의한 식중독이 발생하거나 양식 산업에 심각한 영향은 주지 않고 있다. 그러나, 계절에 따라서는 유독성 플랑크톤이 연안에 출현하고 있기 때문에 국내산 패류의 안전성을 확보하기 위하여서는 지속적인 모니터링을 통하여 자료를 확보하고 기준치 설정과 분석 방법을 확립하여야 할 것이다.

## 요 약

LC-MS/MS법에 의하여 설사성 패류독소 7종(okadaic acid, dinophysistoxin-1, -3, pectobotoxin-1, -2, -6, yessotoxin)의 동시 분석 조건을 확립하였고, 2006년 3월부터 9월까지 매월 5종의 이매패(굴, 진주담치, 반지락, 가리비, 개조개, 6월부터 9월까지는 가리비 대신 피조개)를 정기적으로 통영시장에서 구입하여 분석하였으며, 기존의 마우스 검사

법과 비교하였다. 마우스 검사법으로는 총 35종 시료 중 3월의 굴과 진주담치에서 0.05~0.1 MU/g의 독성을 나타내었으나, 이미 알려진 설사성 패류독소는 전혀 검출되지 않아 다른 성분에 의한 것으로 판단되었다. 한편, LC-MS/MS법에 의하여서는 6월 진주담치에서 dinophysistoxin-1(DTX1)이 0.05 µg/g 검출되었으며, 8월의 모든 시료에서 okadaic acid(OA)가 0.01~0.02 µg/g 검출되었다. 이들은 외국의 기준치[0.05 MU/g(일본), OAs(OA+DTX1) 0.16 µg/g(EU)]보다 매우 낮은 함량으로 식품 위생상 안전하였다.

## 감사의 글

본 연구는 2006년 식품의약품안전청 용역 연구 사업비(06042기준규100) 지원에 의하여 수행되었으므로 이에 감사드립니다. LC-MS/MS 분석에 협조하여 주신 日本 東北水産研究所 Suzuki Toshiaki 박사에게 감사드립니다.

## 문 헌

- Oshima Y. 1999. Shellfish toxins. In *Life Science for Nutrition and Health*. Gakumonsha, Tokyo, Japan. p 44-49.
- Yasumoto T, Oshima Y, Murakami M. 1978. Occurrence of a new type of shellfish poisoning in the Tohoku District. *Nippon Suisangakkaishi* 44: 1249-1255.
- Lee JS, Yasumoto T. 1986. A fluorometric HPLC determination of the diarrhetic shellfish toxin in European mussels. *Euro Food Toxin II* 1: 328-332.
- Lee JS, Dahl E, Hovgaard P, Yasumoto T. 1988. Diarrhetic shellfish toxins in Norwegian mussels. *Nippon Suisan Gakkaishi* 54: 1953-1957.
- Lee JH, Cho CH. 1985. Check-list of marine planktonic algae in the Korean coastal waters II. Dinophyceae. *Ocean Research* 7: 59-68.
- Yasumoto T, Murata M, Oshima Y, Sano M. 1985. Diarrhetic shellfish toxins. *Tetrahedron* 41: 1019-1025.
- Murata M, Kumagai M, Lee JS, Yasumoto T. 1987. Isolation and structure of yessotoxin, a novel polyether compound implicated in diarrhetic shellfish poisoning. *Tetrahedron Letters* 28: 5869-5872.
- Japanese Pharmacological Society. 2000. Diarrhetic shellfish toxins. In *Methods of Analysis in Health Science 2000*. Nishijima M, ed. Kanehara Pub. Co., Tokyo, Japan. p 819-823.
- 水産廳長官通達. 1979. ホタテガイ等の貝毒について. 昭和54年5月12日53水研第519号. 日本.
- Jeon JK. 1990. Diarrhetic shellfish poisons in domestic bivalves. *Bull Kor Fish Soc* 23: 63-64.
- NFRDI. 2002. Survey of sanitation in shellfish farms. Annual Report of NFRDI. p 503-510.
- Lee JS, Yanagi T, Kenma R, Yasumoto T. 1987. Fluorometric detection for the diarrhetic shellfish toxins by HPLC. *Agric Biol Chem* 51: 887-881.
- Yasumoto T, Takizawa A. 1997. Fluorometric measurement of yessotoxins in shellfish by high pressure liquid chromatography. *Biosci Biotech Biochem* 1775-1777.
- Uda T, Yasumoto T. 1988. Survey of diarrhetic shellfish poisons by monoclonal antibody. *Bio-industry* 5: 671-678.
- Sato S, Sekiguchi R, Watai M, Igarashi T, Yasumoto T.

2005. Development and inter-laboratory validation of assay kits for OAs incorporated with a catalytic subunit of wheik PP2A enzyme. The Pacichem 2005 Congress, Pro. No. 635.
16. Holland PT, Paul M, Andrew S, Tracey P, Karyn B, Lincoln M. 2002. Marine biotoxin monitoring of New Zealand shellfish—a new management program based on LC-MS. Proc. 2nd Int. Conference on Harmful Algae Manage and Mitigation. Hall S, Zou YL, eds. Nov. 2001. Chindao, China.
17. Suzuki T, Jin T, Shirota Y, Mitsuya T, Okumura Y, Kamiyama T. 2005. Quantification of lipophilic toxins associated with diarrhetic shellfish poisoning in Japanese bivalves by liquid chromatography-mass spectrometry and comparison with mouse bioassay. *Fisheries Science* 71: 1370-1378.
18. Hashimoto S, Suzuki T, Hirota Y, Honma M, Itabashi Y, Chyounan T, Kamiyama T. 2006. Lipophilic toxin profiles associated with diarrhetic shellfish poisoning in scallop, *Patinopecten yessoensis*, collected in Hokkaido and comparison of the quantitative results between LC/MS and mouse bioassay. *J Food Hygiene* 47: 33-40.
19. Takagi T, Hayashi K, Itabashi Y. 1984. Free unsaturated fatty acids in the mouse bioassay of diarrhetic shellfish toxins by intraperitoneal injection. *Bull Japan Soc Sci Fish* 50: 1413-1418.
20. L 226/60. 2004. EN Official J. of the EU 25.6.2004.
21. FIA Implementation Standards iais 005. 1. 2003. Shellfish Assurance Circular 1995. issue 25. 3.11.4.

(2007년 3월 30일 접수; 2007년 6월 7일 채택)