

LC/MS/MS 분석을 활용한 한국산 패류에서 Palytoxin 독소 오염도 조사 연구

김영상¹ · 김혜원^{2,3} · 유재영^{2,3} · 오명진^{2,3} · 서나리^{2,3} · 안현주^{2,3*} · 전유진^{1*}

¹제주대학교 해양생명과학과, ²충남대학교 아시아-태평양 당분석 연구교육센터,
³충남대학교 분석과학기술대학원

Study on Palytoxin Contamination in Korean Shellfish Using LC/MS/MS Analysis

Young-Sang Kim¹, HyeWon Kim^{2,3}, JaeYoung Yu^{2,3}, Myung Jin Oh^{2,3}, Nari Seo^{2,3},
Hyun Joo An^{2,3*}, You Jin Jeon^{1*}

¹Department of Marine Life Science, Jeju National University, Jeju, Korea

²Asia Glycomics Reference Site, Chungnam National University, Daejeon, Korea

³Graduate School of Analytical Science and Technology, Chungnam National University, Daejeon, Korea

(Received September 9, 2024/Revised October 7, 2024/Accepted October 7, 2024)

ABSTRACT - Palytoxin (PLTX) is one of the most potent marine biotoxins and is primarily produced by species such as *Ostreopsis*, *Palythoa*, and *Trichodesmium*. This study investigates the PLTX contamination levels in shellfish distributed in Korea, an area where such contamination may pose a significant public health risk. With the increasing spread of toxic species owing to climate change, concerns regarding the presence of PLTX in edible seafood are rising. Shellfish samples were collected from various coastal regions in Korea between March and June 2023. The analysis of shellfish samples using liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry showed no detectable levels of PLTX, indicating that shellfish distributed in Korea are not contaminated with PLTX. Thus, this finding suggests that consumption of Korean shellfish is safe.

Key words: Korean shellfish, Palytoxin, LC/MS/MS, Monitoring, Public health

Palytoxin (PLTX)는 자연계에서 가장 독성이 강력한 비단백질계의 해양생물독소로, 2,680 Da 이상의 높은 분자량을 가진 매우 복잡한 물질로 알려져 있다^{1,2}. PLTX는 하와이 해안에 서식하는 연산호인 *Palythoa toxica*, 와편모조류인 *Ostreopsis* sp. 그리고 cyanobacteria인 *Trichodesmium* sp.에서 주로 발견된다³. 64개의 chiral center를 가지는 독특한 polyketide 구조로 인하여 자연에서 발견되는 독소

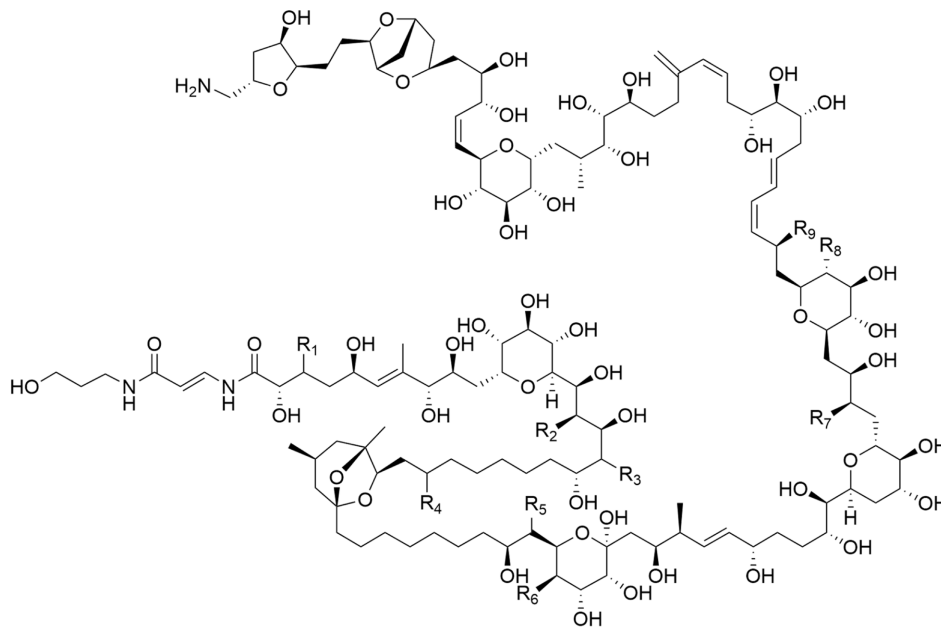
중에서는 가장 크고 복잡한 구조를 가지고 있다(Fig. 1). 현재 PLTX의 유사체로 발견된 독소들은 ostereocin B, D, ovatoxin A, 42-hydroxy PLTX, deoxypalytoxin 등이 발견되었다^{2,4-6}. PLTX의 동물 독성실험 결과, 반수치사량(lethal dose 50, LD₅₀)은 정맥주사 시(intravenous) 실험동물의 종류에 따라 25-450 ng/kg body weight (b.w.)로^{7,8}, 자연계에서 가장 잘 알려지고 강력한 독소 중 하나인 테트로도톡신(tetrodotoxin, TTX)의 LD₅₀ (4-8 µg/kg b.w., intravenous)보다 20-200배 이상 강한 독성을 나타낸다^{9,10}. PLTX는 Na⁺/K⁺ ATPase pump에 결합하여 채널의 양쪽 문(gate)를 동시에 열린 상태로 만들고, 이온 펌프의 기능을 비가역적으로 변화시켜 독성을 유발한다^{11,12}. 그 결과, Na⁺가 세포 내로 지속적으로 유입되고 K⁺가 유출되어 세포의 탈분극을 유도하게 된다. 이러한 이온의 불균형이 근육통, 소화장애, 심장기능 이상, 호흡곤란 등 심각한 증상으로 나타나게 된다¹³.

PLTX은 연산호(*Palythoa* spp.)에서 자주 발견되지만, 최근 연구에 따르면 해외에서는 *Ostreopsis* sp. 와편모조류

*Co-Correspondence to: You Jin Jeon, Department of Marine Life Science, Jeju National University, Jeju, 63243, Korea
Tel: +82-64-754-3475, Fax: +82-64-756-3493
E-mail: youjin2014@gmail.com

*Co-Correspondence to: Hyun Joo An, Asia Glycomics Reference Site, Chungnam National University, Daejeon, 34134, Korea
Graduate School of Analytical Science and Technology, Chungnam National University, Daejeon, 34134, Korea
Tel: +82-42-821-8540
E-mail: hjan@cnu.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.



| Analog | R ₁ | R ₂ | R ₃ | R ₄ | R ₅ | R ₆ | R ₇ | R ₈ | R ₉ |
|----------------------|-----------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Palytoxin | CH ₃ | OH | OH | CH ₃ | H | OH | OH | OH | OH |
| Deoxypalytoxin | CH ₃ | OH | OH | CH ₃ | H | OH | OH | OH | H |
| Ostreocin D | H | OH | H | H | OH | H | OH | OH | OH |
| Ostreocin B | H | OH | H | H | OH | OH | OH | OH | OH |
| Ovatoxin A | CH ₃ | H | OH | CH ₃ | OH | H | H | OH | OH |
| 42-Hydroxy-palytoxin | CH ₃ | OH | OH | CH ₃ | OH | OH | OH | OH | OH |

Fig. 1. Structure of palytoxin and its analogues.

에서도 지속적으로 검출되고 있다^{14,15}. 특히, 지중해와 같은 따뜻한 수역에서 *Ostreopsis ovata*와 같은 외편모조류에서 PLTX와 그 유사체인 ovatoxins를 생산하는 것으로 알려져 있다¹⁶⁻¹⁹. *Ostreopsis* sp. 열대 및 아열대 해역에 광범위하게 분포하고 있으며, 계절에 따라 수온이 높아지는 시기와 관련하여 그 발생이 증가하는 경향을 보이고 있다. *Ostreopsis* sp.은 해양 생태계에서 유해 조류 대번식(harmful algal blooms, HAB)을 일으키는 주요 원인 중 하나로 작용할 수 있다^{20,22}.

특히, 기후 변화는 *Ostreopsis* sp.의 서식지 확장에 큰 영향을 미치고 있다²³. 해양 온도의 상승과 같은 기후 변화 요인은 이 종의 성장과 독소 생산에 유리한 조건을 제공하며, 이로 인해 새로운 지역으로 서식지가 확대되고 있다²⁴. 지중해뿐만 아니라 아시아-태평양 지역에서도 *Ostreopsis* sp.의 확산이 관찰되고 있으며, 이로 인해 해당 지역의 해양 생물에서 PLTX 오염 가능성이 증가하고 있다²⁵⁻²⁷. 또한, 대형 화물선의 선박평형수(ballast water)는 배의 균형을 맞추기 위해 사용하는 바닷물로서, 출발하기 전 그 지역의

바닷물을 평형수로 사용한다. 이 과정에서 *Ostreopsis* sp.와 같은 미세조류의 장거리 이동을 가능하게 한다. 이러한 장거리 이동은 원래 서식하지 않던 지역으로의 종 확산을 촉진할 수 있고, 기후 변화로 인해 수온이 증가한 해역에서 *Ostreopsis* sp. 새롭게 정착하고 독소를 생산할 수 있는 환경을 조성하고 있다^{26,28-30}.

제주도에서 *Ostreopsis* sp.가 해조류에 부착하여 서식하는 형태로 발견되었고, 그 수가 증가하고 있다고 보고하였다³¹. 또한, Lim 등³²에 따르면, 적절한 염도와 수온 상승으로 인하여 *Ostreopsis* sp.의 밀도가 증가하고 있고, 모니터링이 필요하다고 보고하고 있다³². 기후변화와 경제활동에 의해 변화된 해양환경은 PLTX를 생성하는 미세조류인 *Ostreopsis* sp.들의 서식지 확장과 함께, PLTX 오염의 새로운 위험을 초래할 수 있다. PLTX가 국민 건강에 미칠 잠재적 위험과 공중 보건을 보호하기 위하여 지속적인 모니터링과 규제가 매우 중요해지고 있다. 현재까지 한국에서는 유통 중인 패류 제품에서 오염도 조사는 마비성 패류독소(paralytic shellfish poisoning, PSP), 설사성 패류

독소(diarrhetic shellfish poisoning, DSP), 기억상실성 패류독소(amnestic shellfish poisoning, ASP), 신경성 패류독소(neurotoxic shellfish poisoning, NSP)를 대상으로 하고 있으나, PLTX에 대한 오염도 조사는 전혀 이루어지지 않고 있었다. 따라서, 본 연구는 한국에서 최초로 유통 중인 패류 제품에서 PLTX의 오염도 조사 연구를, LC/MS/MS 기법을 활용하여 진행하였다.

Materials and Methods

실험 재료 및 시약

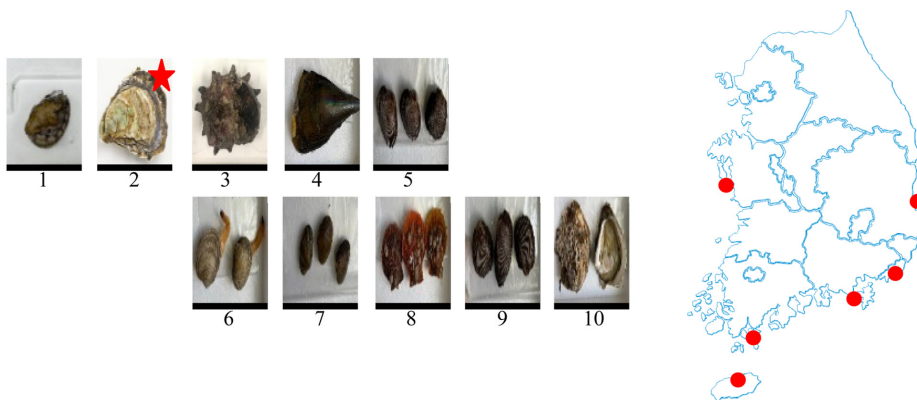
오염도 분석에 사용된 PLTX는 Fujifilm Wako Chemical (Richmond, VA, USA)에서 구입하였다. Oasis PRiME HLB (hydrophilic and lipophilic balanced) solid phase extract (SPE) cartridge는 Waters (Milford, MA, USA)에서 구입하였으며, 실험에 사용된 아세트나이트릴, 메탄올, 폼산 및 폼산 암모늄 등은 Merck (Darmstadt, Germany)에서 LC-MS 등급으로 구입하였다. 다른 모든 시약들은 HPLC용 등급의 시약을 사용하였다.

패류시료 추출물 제조

2023년 3월부터 6월까지 총 10종의 패류를 각 1 kg씩 (패각 포함 무게) 국내 수산시장에서 구입하였다. 패류시료의 종 및 구입 지역에 대한 정보는 Fig. 2에 나타내었다. 확보된 패류 시료는 탈각 후 물로 세척하여 5분간 물기가 제거되도록 방치한 후 균질화 하였다. 이후 균질화 된 시료 10 g을 분취하여 50% 메탄올 100 mL을 가한 후 초음파를 이용하여 10분간 3회 반복 추출을 진행하였다. 추출이 완료된 시료는 10,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액만 취하였다. 원심분리된 상층액의 용매제거를 위해 evaporator로 메탄올을 완전 증발시키고 남은 시료를 하루동안 -80°C 냉동고에 보관 후 동결건조 시켜 분석에 사용하였다.

Palytoxin 분석을 위한 전처리 방법

건조된 시료에 50% acetonitrile 1 mL을 가한 후³³⁾ vortex mixer를 사용하여 5분 이상 혼합하여 완전히 용해시켰다. 시료가 완전히 용해되지 않는 경우, 추가로 5분간 혼합하고 8,000 rpm에서 원심분리를 5분간 시행하고 이후 상층액만을 분석에 사용하였다. 시료의 불순물, 즉 매트릭스와 기타 다른 물질들을 제거하고 대상물질을 농축하기 위하



| No. | Sample | Scientific name | Site of production |
|-----|-----------------|--------------------------------|--------------------|
| 1 | Abalone | <i>Haliotis discus hannai</i> | Wando |
| 2 | Pacific Oyster* | <i>Crassostrea gigas</i> | Wando |
| 3 | Spiny top shell | <i>Turbo cornutus</i> | Jeju |
| 4 | Pen Shell | <i>Artina pectinata</i> | Jinhae |
| 5 | Blood clam | <i>Anadara broughtonii</i> | Jinhae |
| 6 | Clam | <i>Saxidomus purpurata</i> | Tongyeong |
| 7 | Manila Clam | <i>Ruditapes philippinarum</i> | Tongyeong |
| 8 | Noble Scallop | <i>Azumapecten farreri</i> | Tongyeong |
| 9 | Blood clam | <i>Anadara broughtonii</i> | Tongyeong |
| 10 | Rock Oyster | <i>Crassostrea nippona</i> | Tongyeong |

Fig. 2. Site of purchased shellfish samples. 10 species of shellfish were collected from March to June. (*For oysters, samples cannot be collected in May and June due to the spawning season.).

여 SPE cartridge를 사용하였다. 6 mL 메탄올과 6 mL 증류수를 차례로 카트리지에 주입하여 역상 카트리지 Oasis PRiME HLB SPE Tube (60 mg/3 mL)를 안정화 (conditioning) 시켰다. 다음으로 증류수 1 mL와 재용해 시킨 시료 100 µL를 tube에 주입시켰다. 다음 세척과정으로 6 mL의 20% 메탄올/증류수를 카트리지에 주입시켜 혼입된 매트릭스 성분과 염을 제거해주었다. 용리과정에서는 6 mL의 100% 메탄올을 이용하여 용리시켰다. 이 용리액을 원심농축기를 이용하여 완전히 휘발 건조시킨 다음 50% acetonitrile 용액 100 µL로 재용해하여 LC/MS/MS로 분석하였다.

Palytoxin LC-MRM/MS 분석

전처리 과정을 거친 패류 시료를 Agilent Infinity II 1290

Table 1. UHPLC condition for analysis of Palytoxin

| | | | |
|--------------|--|-------------|-------|
| Instrument | Agilent Infinity II 1290 UHPLC | | |
| Column | BIOShell™ A160 Peptide C18 (100 mm×2.1 mm, 2 µm) | | |
| Column temp | 60°C | | |
| Mobile phase | (A) 100 mM ammonium formate, 50 mM formic acid in water (B) 100 mM ammonium formate, 50 mM formic acid in 95% ACN | | |
| Gradient | Time (min) | A (%) | B (%) |
| | 0.0 | 75 | 25 |
| | 3.0 | 75 | 25 |
| | 8.0 | 15 | 85 |
| | 10.0 | 5 | 95 |
| | 15.0 | 5 | 95 |
| | 15.1 | 75 | 25 |
| 20.0 | 75 | 25 | |
| Flow rate | 0.3 mL/min | Inj. volume | 5 µL |

Table 2. Triple Quadrupole MS/MS condition for analysis of palytoxin

| Instrument | Agilent 6495C Triple Quadrupole MS | | |
|-------------------|------------------------------------|-----------------|----------|
| Ionization source | ESI | Polarity | Positive |
| Analyzer | Triple quadrupole type | Scan type | MRM mode |
| Capillary | 4000 V | Nozzle voltage | 0 V |
| Gas temp | 290°C | Gas flow | 11 L/min |
| Sheath Gas temp | 350°C | Sheath gas flow | 11 L/min |
| Nebulizer | | 40 psi | |

Table 3. Multi Reaction Monitoring condition for analysis of palytoxin

| Compound | M.W. (g/mol) | Precursor ion (m/z) | Product ion (m/z) | Collision energy (V) | Fragmentor (V) | Cell accelerator (V) |
|-----------|--------------|---------------------------|-------------------|----------------------|----------------|----------------------|
| Palytoxin | 2680.1 | [M+H] ⁺ 1313.5 | 327.0 | 20 | 166 | 5 |

UHPLC로 분리한 후 tandem mass spectrometer (MS/MS, Agilent 6495C Triple Quadrupole MS, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)의 다중반응모니터링법(Multi Reaction Monitoring, MRM)을 통하여 양이온 모드에서 분석하였다. LC 및 MS/MS, MRM 조건은 Table 1-3에 정리하였다. PLTX 추출물 시료는 2.1×100 mm BIOShell™ A160 Peptide C18 컬럼(Merck, Darmstadt, Germany)에서 분리되었다. 이동상은 (A) 100 mM ammonium formate 및 50 mM formic acid를 포함한 100% 증류수와 (B) 100 mM ammonium formate 및 50 mM formic acid를 포함한 95% acetonitrile로 구성되었다. LC의 기울기 조건은 다음과 같다: 0-3분, 25% B; 3-8분, 25-85% B; 8-10분, 85-95% B; 10-15분, 95% B, 15.1분 부터는 다음 시료 분석을 위하여 평형화를 위해 25% B에서 5분간 유지하였다. 컬럼 온도는 분석 중 60°C로 유지하였으며, capillary 및 nozzle 전압은 각각 4 및 0 kV로 설정하였다. 건조가스 유량은 290°C에서 11 L/min이었으며, nebulizer를 MRM 모드에서 10 ms의 대기 시간을 가지고 50 eV의 충돌에너지로 설정하였다.

Results and Discussion

국내 유통중인 패류의 Palytoxin 분석 결과

PLTX는 주로 *Palythoa* 속의 연산호에서 발견되지만, *Ostreopsis* sp.의 외편모조류, cyanobacteria인 *Trichodesmium* sp.에서도 발견된다. *Palythoa*는 관상용 연산호로 주로 사용이 되고 있지만 관리를 목적으로 만지거나 수중에서 꺼내게 되면 흡입하면서 증독증상을 일으킬 수 있어 취급시에 마스크, 장갑 등 보호장비가 필수적이다³⁴⁻³⁶. 일본에서 보고된 논문에 의하면 PLTX 또는 그 유사체가 거북목, 날개쥐치 등의 어류에서 발견이 되었고, 외편모조류는 한국 남해 연안에서 발견이 되었다는 보고가 있어 여과 섭식을 하는 패류가 이를 섭취하게 되면 체내에 축적되어 독성을 일으킬 수 있다. 패류독소는 계절에 따라 독소가 발생하

고 소멸하는 특징을 보이는데³⁷⁾, 해수온도가 15-17°C로 증가하는 4-5월경에 패류독소의 농도가 가장 높고 자주 발생하며, 6월 중-하순경에 해수온도가 18°C를 넘어가면서 사라지게 된다. 국립수산물품질관리원에서는 패류독소 발생에 대비하여 주 1회 이상의 정밀조사를 시행하고 있다. 주로 패류독소가 발생하는 시기인 3-6월, 주 발생지역인 남해안을 중심으로 완도, 진해, 통영, 제주 4곳에서 생산되는 패류 10종을 확보하였다(Fig. 2) (굴(석화)의 경우, 5,6월달은 산란기이기에 채집이 금지되어 있다.).

확보된 패류 시료에서 PLTX를 분석하기 위하여 PLTX 표준물질을 LC/MS/MS로 농도별 분석을 진행하였다. Fig. 3에 표시된 바와 같이 5-400 ng의 농도로 PLTX를 분석하였으며, retention time (RT) 5.07 분에서 강한 peak가 관

찰되었다. 실제 시료인 국내산 패류 10종에서 PLTX를 분석한 결과, 어떤 시료에서도 정량가능한 정도의 PLTX 양은 검출되지 않았다. 해외의 경우, 지중해 근처의 국가(이탈리아, 프랑스)에서 수행된 연구에서는 PLTX가 검출되어 보고된 적이 있으며, *Ostreopsis* sp.의 패류 내 축적에 의해서 오염되는 것으로 확인되었다^{38,39)}. 이러한 결과는 현재 국내 유통중인 패류가 PLTX의 위협에서 안전하다는 것을 의미한다. 하지만, 서론에 전술하였듯, PLTX를 생성하는 독성 미세조류인 *Ostreopsis* sp.가 제주, 포항, 추자도 연안에서 발견되어 PLTX의 오염 가능성은 존재한다고 볼 수 있다⁴⁰⁾.

PLTX가 검출되지 않았다는 결과는 국내산 패류의 안전성을 보장하는 긍정적인 신호로 해석될 수 있다. 패류 섭취로 인한 PLTX 독성 중독 사례가 보고된 사례가 없으며,

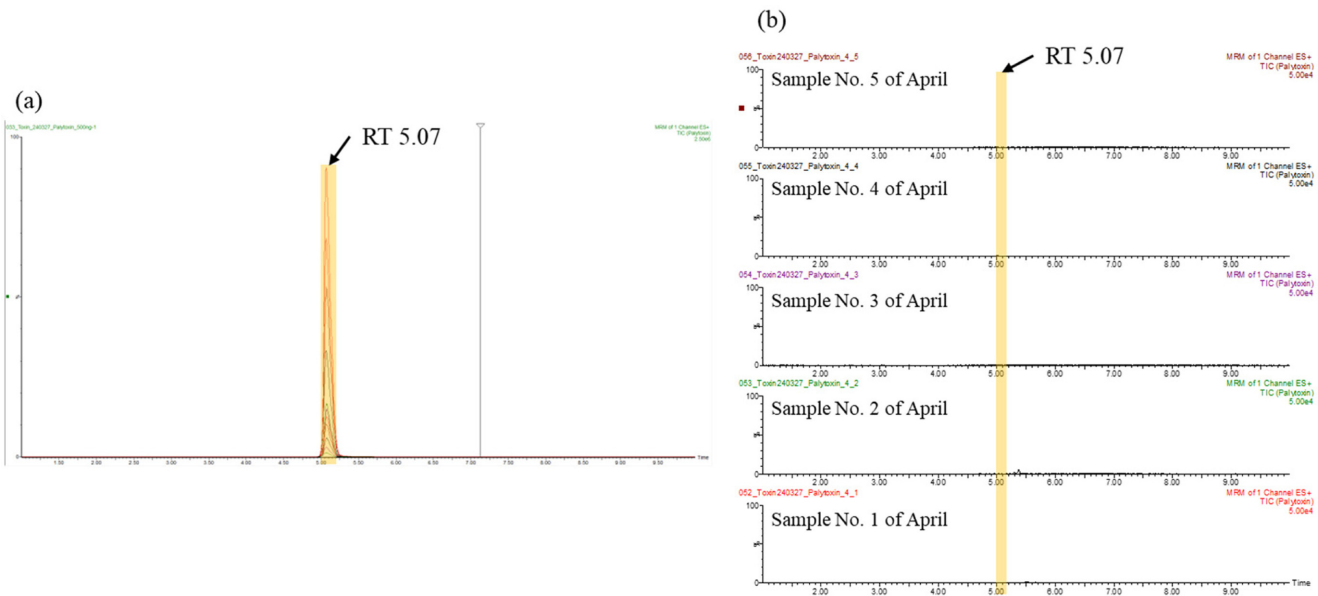


Fig. 3. MS chromatogram of PLTX analysis (a) standard (b) representative shellfish sample.

Table 4. Palytoxin Analysis results of shellfish samples

| No. | Scientific name | March | April | May | June |
|-----|--------------------------------|--------------------|-------|------|------|
| 1 | <i>Haliotis discus hannai</i> | N.D. ¹⁾ | N.D. | N.D. | N.D. |
| 2 | <i>Crassostrea gigas</i> | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| 3 | <i>Turbo cornutus</i> | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| 4 | <i>Artina pectinata</i> | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| 5 | <i>Anadara broughtonii</i> | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| 6 | <i>Saxidomus purpurata</i> | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| 7 | <i>Ruditapes philippinarum</i> | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| 8 | <i>Azumapecten farreri</i> | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| 9 | <i>Anadara broughtonii</i> | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| 10 | <i>Crassostrea nippona</i> | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |

¹⁾N.D. : not detected.

이는 국내 해양환경이 비교적 안전하다는 것을 시사한다. 이번 연구는 국내 해역에서 PLTX의 발생 여부를 확인하기 위해 중요한 데이터를 제공하였지만, 몇 가지 한계가 존재한다. 첫째, 샘플링 지역이 일부 해역에 한정되었고, 특정 계절에 집중되어 있어 연중 발생 가능성을 충분히 평가하지 못한 점이 존재한다. 향후 연구에서는 더욱 넓은 지역과 다양한 시기에 샘플링을 하여 PLTX 발생 가능성을 더 깊이 분석할 수 있는 방법론적인 개선이 요구된다.

Acknowledgments

본 연구는 2023년도 식품의약품안전처의 연구개발비(20163MFDS641)로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

국문요약

Palytoxin (PLTX)는 자연계 해양생물독소 중 가장 강력한 독소로, 전 세계적으로 관리되지 않는 해양생물독소이다. PLTX는 *Ostreopsis*, *Palythoa*, *Trichodesmium* sp. 등에서 발견된다. 이러한 해양생물독소가 식용 해산물에서 발견될 경우, 공중보건에 심각한 위협을 초래할 수 있다. 기후변화로 인한 *Ostreopsis* sp.의 서식지 확장은 국내 수산식품의 PLTX 오염에 대한 우려를 불러일으킬 수 있다. 따라서, 본 연구에서는 국내에 유통되는 국내산 패류에서 PLTX의 오염도 수준을 분석하였다. 그 결과, 실제 시료에서는 PLTX의 유의미한 농도가 검출되지 않았다. 이러한 결과는 국내에서 생산되는 패류는 PLTX에 오염되지 않았음을 기기분석법으로 확인하였으며, 이는 패류 섭취에 대한 안전성을 제공한다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Young-Sang Kim <https://orcid.org/0000-0002-4609-7421>
 HyeWon Kim <https://orcid.org/0009-0002-2450-4812>
 JaeYoung Yu <https://orcid.org/0009-0004-7083-4489>
 Myung Jin Oh <https://orcid.org/0000-0003-0136-2305>
 Nari Seo <https://orcid.org/0000-0001-9174-2330>
 Hyun Joo An <https://orcid.org/0000-0001-5847-7483>
 You Jin Jeon <https://orcid.org/0000-0003-3299-7266>

References

1. Uemura, D., Ueda, K., Hirata, Y., Naoki, H., Iwashita, T., Further studies on palytoxin. ii. structure of palytoxin. *Tetra-*

hedron Lett., **22**, 2781-2784 (1981).

- Riobó, P., Franco, J.M., Palytoxins: biological and chemical determination. *Toxicon*, **57**, 368-375 (2011).
- Cavion, F., Pelin, M., Ponti, C., Della Loggia, R., Tubaro, A., Sosa, S., Ecotoxicological impact of the marine toxin palytoxin on the micro-crustacean artemia franciscana. *Mar. Drugs*, **20**, 81 (2022).
- Carlin, M., Pelin, M., Ponti, C., Sosa, S., Tubaro, A., Functional and structural biological methods for palytoxin detection. *J. Mar. Sci. Eng.*, **10**, 916 (2022).
- Suzuki, T., Watanabe, R., Uchida, H., Matsushima, R., Nagai, H., Yasumoto, T., Yoshimatsu, T., Sato, S., Adachi, M., Lc-Ms/Ms analysis of novel ovatoxin isomers in several ostreopsis strains collected in Japan. *Harmful Algae*, **20**, 81-91 (2012).
- Terajima, T., Uchida, H., Abe, N., Yasumoto, T., Structure elucidation of Ostreocin-a and Ostreocin-E1, novel palytoxin analogs produced by the dinoflagellate ostreopsis siamensis, using Lc/Q-ToF Ms. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **83**, 381-390 (2019).
- Riobó, P., Paz, B., Franco, J.M., Vázquez, J.A., Murado, M.A., Cacho, E., Mouse bioassay for palytoxin. specific symptoms and dose-response against dose-death time relationships. *Food Chem. Toxicol.*, **46**, 2639-47 (2008).
- Patočka, J., Gupta, R.C., Wu, Q.H., Kuca, K., Toxic potential of palytoxin. *J. Huazhong Univ. Sci. Technol. Med. Sci.*, **35**, 773-780 (2015).
- Yasumoto, T., Chemistry, etiology, and food chain dynamics of marine toxins. *Proc. Jpn. Acad. B*, **81**, 43-51 (2005).
- Madejska, A., Michalski, M., Osek, J., Marine tetrodotoxin as a risk for human health. *J. Vet. Res.*, **63**, 579-586 (2019).
- Boente-Juncal, A., Raposo-García, S., Vale, C., Louzao, M.C., Otero, P., Botana, L.M., *In vivo* evaluation of the chronic oral toxicity of the marine toxin palytoxin. *Toxins (Basel)*, **12**, 489 (2020).
- Gémin, M.P., Lancelleur, R., Meslier, L., Hervé, F., Réveillon, D., Amzil, Z., Ternon, E., Thomas, O.P., Fessard, V., Toxicity of palytoxin, purified Ovatoxin-a, Ovatoxin-D and extracts of ostreopsis cf. ovata on the Caco-2 intestinal barrier model. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, **94**, 103909 (2022).
- Artigas, P., Gadsby, D.C., Na⁺/K⁺ pump ligands modulate gating of palytoxin-induced ion channels. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **100**, 501-505 (2003).
- Tartaglione, L., Dell'Aversano, C., Mazzeo, A., Forino, M., Wieringa, A., Ciminiello, P., Determination of palytoxins in soft coral and seawater from a home aquarium. Comparison between Palythoa- and Ostreopsis-Related inhalatory poisonings. *Environ. Sci. Technol.*, **50**, 1023-1030 (2016).
- Honsell, G., De Bortoli, M., Boscolo, S., Dell'Aversano, C., Battocchi, C., Fontanive, G., Penna, A., Berti, F., Sosa, S., Yasumoto, T., Ciminiello, P., Poli, M., Tubaro, A., Harmful dinoflagellate ostreopsis Cf. Ovata Fukuyo: detection of ovatoxins in field samples and cell immunolocalization using antipalytoxin antibodies. *Environ. Sci. Technol.*, **45**, 7051-7059 (2011).

16. García-Altare, M., Tartaglione, L., Dell'Aversano, C., Carnicer, O., de la Iglesia, P., Forino, M., Diogène, J., Ciminiello, P., The novel Ovatoxin-G and isobaric palytoxin (so far referred to as putative palytoxin) from *ostreopsis cf. ovata* (nw mediterranean sea): structural insights by Lc-high resolution Ms(N.). *Anal. Bioanal. Chem.*, **407**, 1191-1204 (2015).
17. Tartaglione, L., Dello Iacovo, E., Mazzeo, A., Casabianca, S., Ciminiello, P., Penna, A., Dell'Aversano, C., Variability in toxin profiles of the mediterranean *ostreopsis cf. ovata* and in structural features of the produced ovatoxins. *Environ. Sci. Technol.*, **51**, 13920-13928 (2017).
18. Ciminiello, P., Dell'Aversano, C., Forino, M., Tartaglione, L., Marine toxins in Italy: the more you look, the more you find. *Eur. J. Org. Chem.*, **2014**, 1357-1369 (2014).
19. Ciminiello, P., Dell'Aversano, C., Fattorusso, E., Forino, M., Magno, G.S., Tartaglione, L., Grillo, C., Melchiorre, N., The genoa 2005 outbreak. determination of putative palytoxin in mediterranean *ostreopsis ovata* by a new liquid chromatography tandem mass spectrometry method. *Anal. Chem.*, **78**, 6153-6159 (2006).
20. Lapucci, C., Maselli, F., Chini Zittelli, G., Betti, G., Vannucchi, V., Perna, M., Taddei, S., Gozzini, B., Ortolani, A., Brandini, C., Towards the prediction of favourable conditions for the harmful algal bloom onset of *ostreopsis ovata* in the ligurian sea based on satellite and model data. *J. Mar. Sci. Eng.*, **10**, 461 (2022).
21. Berdalet, E., Pavaux, A.S., Abós-Herrándiz, R., Travers, M., Appéré, G., Vila, M., Thomas, J., de Haro, L., Estrada, M., Medina-Pérez, I., Viure, L., Karlson, B., Lemee, R., Environmental, human health and socioeconomic impacts of *Ostreopsis* spp. blooms in the nw mediterranean. *Harmful Algae*, **119**, 102320 (2022).
22. Tsikoti, C., Genitsaris, S., Review of harmful algal blooms in the coastal mediterranean sea, with a focus on greek waters. *Diversity*, **13**, 396 (2021).
23. Fabri-Ruiz, S., Berdalet, E., Ulses, C., Somot, S., Vila, M., Lemée, R., Irisson, J.O., Harmful *ostreopsis cf. ovata* blooms could extend in time span with climate change in the western mediterranean sea. *Sci. Total Environ.*, **947**, 174726 (2024).
24. Drouet, K., Jauzein, C., Herviot-Heath, D., Hariri, S., Laza-Martinez, A., Lecadet, C., Plus, M., Seoane, S., Sourisseau, M., Lemée, R., Siano, R., Current distribution and potential expansion of the harmful benthic dinoflagellate *cf. towards* the warming waters of the bay of biscay, North-east Atlantic. *Environ. Microbiol.*, **23**, 4956-4979 (2021).
25. Lejeusne, C., Chevaldonné, P., Pergent-Martini, C., Boudouresque, C.F., Pérez, T., Climate change effects on a miniature ocean: the highly diverse, highly impacted mediterranean sea. *Trends. Ecol. Evol.*, **25**, 250-260 (2010).
26. Hallegraeff, G.M., Ocean climate change, phytoplankton community responses, and harmful algal blooms: a formidable predictive challenge1. *J. Phycol.*, **46**, 220-235 (2010).
27. Gómez, F., Claustre, H., The genus *asterodinium* (dinophyceae) as a possible biological indicator of warming in the western mediterranean sea. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.*, **83**, 173-174 (2003).
28. Anderson, D.M., Approaches to monitoring, control and management of harmful algal blooms (Habs). *Ocean Coast. Manage.*, **52**, 342-347 (2009).
29. Heisler, J., Glibert, P.M., Burkholder, J.M., Anderson, D.M., Cochlan, W., Dennison, W.C., Dortch, Q., Gobler, C.J., Heil, C.A., Humphries, E., Eutrophication and harmful algal blooms: a scientific consensus. *Harmful algae*, **8**, 3-13 (2008).
30. Chang, F.H., Shimizu, Y., Hay, B., Stewart, R., Mackay, G., Tasker, R., Three recently recorded *ostreopsis* spp. (dinophyceae) in New Zealand: temporal and regional distribution in the upper North Island from 1995 to 1997., *N. Z. J. Mar. Freshw. Res.*, **34**, 29-39 (2000).
31. Kim, H.S., Yih, W., Oh, M.R., Jang, K.G., Park, J.W., Ko, Y.D., Abundance of epiphytic dinoflagellates from Jeju island during autumn 2009 revisited with special reference to the surface-to-volume ratio of substrate macroalgal species. *Ocean Polar Res.*, **43**, 99-111 (2021).
32. Lim, A.S., Jeong, H.J., Benthic dinoflagellates in Korean waters. *Algae*, **36**, 91-109 (2021).
33. Seo, N., Kim, H.W., Yu, J.Y., Oh, M.J., Kim, Y.S., Jeon, Y.J., An, H.J., Enhancing the detection of cyclic imines in marine mollusks using advanced Lc/Mrm-Ms. *Ocean Sci. J.*, **59**, 40 (2024).
34. Schulz, M., Łoś, A., Szabelak, A., Strachecka, A., Inhalation poisoning with palytoxin from aquarium coral: case description and safety advice. *Arh. Hig. Rada. Toksikol.*, **70**, 14-17 (2019).
35. Hamade, A.K., Deglin, S.E., McLaughlin, J.B., Deeds, J.R., Handy, S.M., Knolhoff, A.M., Suspected palytoxin inhalation exposures associated with zoanthid corals in aquarium shops and homes - Alaska, 2012-2014. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.*, **64**, 852-855 (2015).
36. Hall, C., Levy, D., Sattler, S., A case of palytoxin poisoning in a home aquarium enthusiast and his family. *Emerg. Med. Case Rep.*, **2015**, 621815 (2015).
37. Aquino-Cruz, A., Purdie, D.A., Morris, S., Effect of increasing sea water temperature on the growth and toxin production of the benthic dinoflagellate *prorocentrum lima*. *Hydrobiologia*, **813**, 103-122 (2018).
38. Accoroni, S., Ubaldi, M., Bacchiocchi, S., Neri, F., Siracusa, M., Buonomo, M.G., Campanelli, A., Totti, C., Palytoxin-analogues accumulation in natural mussel banks during an *ostreopsis cf. ovata* bloom. *J. Mar. Sci. Eng.*, **10**, 1402 (2022).
39. Amzil, Z., Sibat, M., Chomerat, N., Gossel, H., Marco-Miralles, F., Lemee, R., Nezan, E., Sechet, V., Ovatoxin-a and palytoxin accumulation in seafood in relation to *ostreopsis cf. ovata* blooms on the french mediterranean coast. *Mar. Drugs*, **10**, 477-496 (2012).
40. Lee, B., Park, M.G., Distribution and genetic diversity of the toxic benthic dinoflagellate genus *ostreopsis* in Korea. *Harmful Algae*, **96**, 101820 (2020).