온도, pH 및 빛에 대한 Domoic acid의 안정성

목종수* · 이태식[1] · 오은경 · 손광태[2] · 황혜진[3] · 김지회[1]
국립수산과학원 식품안전연구과, [1]국립수산과학원 양식환경연구센터,
[2]국립수산과학원 남해수산연구소, [3]부경대학교 식품생명공학부

Stability of Domoic Acid at Different Temperature, pH and Light

Jong-Soo MOK*, Tae-Seek LEE[1], Eun-Gyoung OH, Kwang-Tae SON[2], Hye-Jin HWANG[3] and Ji Hoe KIM[1]
Food Safety Research Division, National Fisheries Research & Development Institute, Busan 619-902, Korea
[1]Aquaculture Environment Research Center, National Fisheries Research & Development Institute, Tongyoung 650-943, Korea
[2]South Sea Fisheries Research Institute, National Fisheries Research & Development Institute, Yeosu 556-821, Korea
[3]Faculty of Food Science and Biotechnology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

To prevent the food poisoning originated by consumption of shellfish contaminated with domoic acid, the quantitative analysis of domoic acid is to be very important. The stability of domoic acid at different temperature, pH and light was investigated using high performance liquid chromatography (HPLC). The mean recoveries of domoic acid in the methanol extracts from oyster (*Crassostrea gigas*), blue mussel (*Mytilus edulis*), short neck clam (*Ruditapes philippinarum*) and ark shell (*Scapharca broughtonii*) were 85.4-104.5%, 94.8-101.2%, 91.0-104.6%, and 95.7-109.6%, respectively. The working solutions of domoic acid standard were very stable for one month at -18℃, 4℃, and room temperature. And domoic acid in the methanol extract from oyster was stable for a day at 4℃ and room temperature, and for a week at -18℃. Therefore, this implies that quantitative analysis for domoic acid must consider the storage conditions of the standard solutions and the methanol extracts from shellfish. The standard solutions adjusted to pH 3-9 were also stable after heating at 121℃ for 30 min. The effect of light exposure on domoic acid was tested by exposing the methanol extracts to light. Domoic acid degraded slowly when the samples were kept in the dark (brown vial). However, following the light exposure the photodegradation became more rapid; no detectable domoic acid remained in 1.0 μg/mL of methanol extract after 5 hours.

Key words: Domoic acid, Amnesic shellfish poisoning, Shellfish, Stability, Photodegradation

서 론

굴, 홍합, 가리비 등 이매패류는 지역에 따라 특정한 시기에 식품위생상 문제가 되는 자연독을 함유하는 경우가 있다. 이들 자연독은 대부분 독을 생성하는 원인 플랑크톤을 패류가 섭이함으로써 그 플랑크톤에 함유된 유독성분이 패류에 이행되고, 사람이 독이 축적된 패류를 섭취하면 식중독을 일으키게 된다 (Edebo et al., 1988; Silvert and Rao, 1992; Toyofuku, 2006). 1980년대 중반까지 패류에서 문제시 되었던 자연독으로는 마비성패류독 (paralytic shellfish poisoning, PSP), 설사성패류독 (diarrhetic shellfish poisoning, DSP), 신경성패류독 (neurotoxic shellfish poisoning, NSP) 및 베네루핀 (venerupin) 등으로 알려져 있었다 (Indrasena and Gill, 2000; Noguchi, 2003; Toyofuku, 2006). 그런데 1987년 11월 캐나다의 동부에 위치한 Prince Edward 섬에서 생산된 진주담치로 인하여 약 150명의 식중독 환자가 발생하여 이 중 4명이 사망하였다. 대부분의 환자들은 소화기계 장애를 동반하였고, 일부는 건망증 등 신경계 장애도 유발하였는데, 중독 원인물질은 신경흥분성 아미노산의 일종인 domoic acid로 확인되었다 (Addison and Stewart, 1989). 이 식중독 사건의 일부 환자에서 나타난 '기억상실' 증상에 기초하여 'amnesic shellfish poisoning'이라 하였으며, 우리나라에서는 '기억상실성패류독'이라 하고 있다. 그러나 domoic acid 중독 시 가벼운 경우에는 소화기계 장애만 유발되고, 항상 기억과 관련된 증상이 나타나는 것은 아니므로 최근에는 'domoic acid 중독 (domoic acid poison)'이라고 한다. Domoic acid는 규조류에 속하는 *Pseudo-nitzschia* sp. 등이 생산하는 것으로 밝혀져 있고 (Addison and Stewart, 1989; Jeffery et al., 2004; Trainer and Bill, 2004), 캐나다에서 domoic acid가 처음 검출된 이후 미국, 뉴질랜드, 유럽 등지에

*Corresponding author: mjs0620@nfrdi.go.kr

서도 확인되고 있다 (Addison and Stewart, 1989; Bill et al., 2006; Schnetzer et al., 2007; Vale and Sampayo, 2001). 또한, domoic acid는 최초 진주담치에서 검출된 이후 맛조개, 바지락, 굴, 대합, 가리비 등 이매패류 (James et al., 2005; Smith et al., 2006; Trainer and Bill, 2004; Vale and Sampayo, 2002)는 물론 낙지 등의 두족류 (Costa et al., 2004), 갑각류 (Powell et al., 2002) 및 어류 (Busse et al., 2006; Lefebvre et al., 2002) 등에서도 검출되는 것으로 보고되었다.

이에 따라 캐나다, 미국, 일본 및 유럽 등 세계 여러 나라에서는 domoic acid로 인한 식중독 예방을 위하여 연안 패류 중의 domoic acid 농도 및 해수 중의 원인 플랑크톤을 주기적으로 모니터링 하고 있으며 (Bill et al., 2006; Jeffery et al., 2004; Noguchi, 2003; Toyofuku, 2006; Vale and Sampayo, 2001; Wekell et al., 2004), 식품 중 domoic acid의 허용기준치를 20 μg/g으로 설정하여 관리하고 있다 (James et al., 2005; Jeffery et al., 2004; Toyofuku, 2006; Trainer and Bill, 2004). 우리나라에서는 아직 domoic acid 중독증이 보고된 바 없으나, 근년 각종 패류독이 세계 여러 지역으로 확산되는 사례들을 볼 때 우리나라 연안에서도 지속적으로 관리되어야 할 위해로 판단된다.

패류 중 domoic acid 정량을 위하여 thin-layer chromatography (Quilliam et al., 1998), enzyme-linked immunosorbent assay (Yu et al., 2004), high performance liquid chromatography (HPLC) (Quilliam et al., 1995; Vale and Sampayo, 2001), liquid chromatography/mass spectrometry (Powell et al., 2002) 등 여러 가지 분석법이 보고되어 있다. 이러한 분석법에 있어서 어떠한 방법을 채택하더라도 정량을 위해서는 표준 domoic acid를 사용하여야 한다. 이때 표준 domoic acid의 안정성의 확인은 분석법의 표준화와 분석결과의 신뢰도 확보에 중요한 인자이므로, 본 연구에서는 표준 domoic acid를 사용하여 온도, pH 및 빛 등 조건별 안정성을 시험하였다.

재료 및 방법

시약 및 표준용액 조제

Domoic acid 및 L-tryptophan 표준물질은 Sigma사 (USA) 제품을, 추출용 및 이동상 용매로 methanol, acetonitrile 및 trifluoroacetic acid 등은 Merck사 (Germany) 제품을 각각 사용하였다. 표준 stock solution은 domoic acid 표준물질을 10% acetonitrile 에 녹여 100 μg/mL으로 조제하고, 이 용액을 적절히 희석하여 시험에 사용하였다.

패류 중의 domoic acid 회수율

우리나라에서 생산되는 주요 패류인 굴 (*Crassostrea gigas*), 진주담치 (*Mytilus edulis*), 바지락 (*Ruditapes philippinarum*) 및 피조개 (*Scapharca broughtonii*) 등 품종별 회수율은 각각 탈각하여 균질화한 패육에 domoic acid를 일정농도 되도록 첨가하여 Quilliam et al. (1995)에 따라 추출하여 측정하였다. 즉, 시료 패육을 3분간 균질화한 후, 균질화된 시료 10 g에 domoic acid를 0.5-10.0 μg/g 되도록 첨가하여 50% 메탄올 40 mL을 가하여 다시 2분간 균질화하였다. 시료용액을 6,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 잔사를 제거하고 상층액을 0.2 μm filter로 여과 한 후 갈색 vial에 담아 HPLC 분석용 시료로 사용하였다.

표준용액 및 추출액중의 domoic acid의 안정성 시험

표준용액과 시료 추출용액 중 domoic acid의 저장 안정성을 시험하기 위하여 domoic acid 표준용액 (0.1-2.0 μg/mL)과 시료 패육을 50% 메탄올로 추출한 추출용액에 domoic acid를 최종농도 0.1-2.0 μg/mL 되도록 첨가한 시험용액 (약 pH 6.4)을 빛이 차단된 갈색 vial에 담아 각각 상온 (20℃), 냉장 (4℃) 및 냉동 (-18℃) 하에서 저장하면서 저장기간에 따른 domoic acid의 함량 변화를 측정하였다.

Domoic acid의 pH 안정성을 조사하기 위하여 표준용액 1.0 μg/mL을 pH 2, 5, 9, 11로 조정하여 121℃에서 30분 동안 가열한 후의 domoic acid 함량을 측정하였다. 또한, domoic acid에 미치는 빛의 영향을 알아보기 위하여 굴 추출용액에 domoic acid를 최종농도가 1.0 및 2.0 μg/mL 되도록 첨가한 시험용액 (약 pH 6.4)을 각각 빛을 차단 유무에 따라 domoic acid의 함량 변화를 측정하였다. 이때, 빛에 노출 조건은 1,000-1,500 Lux에서 자연환경 조건에 맞추어 하루 중 12시간만 노출시켰고, 실온에서 저장하면서 실시하였다.

HPLC에 의한 domoic acid 정량

시료중의 domoic acid 함량은 Quilliam et al. (1995)의 방법에 준하여 HPLC (high performance liquid chromatography)를 사용하여 분석하였다. 즉, adsorbosphere C_{18} (150 mm×4.6 mm, Alltech, USA) 칼럼을 부착한 HPLC (Surveyor, Thermo, USA) 사용하여 UV 검출기 (Surveyor PDA plus, Thermo, USA)로 242 nm와 280 nm에서 동시에 검출하였다. 그리고 분석시 유속은 1.0 mL/min, 시료주입량은 20 μL이었다. 이때, 이동상으로 0.1% trifluoroacetic acid를 포함한 acetonitrile와 0.1% trifluoroacetic acid를 13:87 (V/V)로 혼합한 후 여과 (0.2 μm, Nylon, Millipore, USA)하여 사용하였다.

이때, 분석의 정확성을 위하여 대조구로서 domoic acid 2 μg/mL과 L-tryptophan 20 μg/mL를 1:1로 혼합한 용액을 사용하여 확인한다.

결과 및 고찰

시료 및 표준용액중의 domoic acid 검출

Domoic acid 표준용액 및 패류 추출액의 HPLC 크로마토그램은 Fig. 1에 나타내었다. 표준용액 및 시료중의 domoic acid는 용이하게 검출할 수 있었고, 검량선은 $Y=0.9991X-0.0053$ ($R^2=0.9999$)으로 매우 양호한 직선성을 나타내었다. 그리고 시료 중에서 domoic acid는 약 5.3분경에 용출되었으며, 주변에 정량을 방해할 만한 peak는 검출되지 않았다.

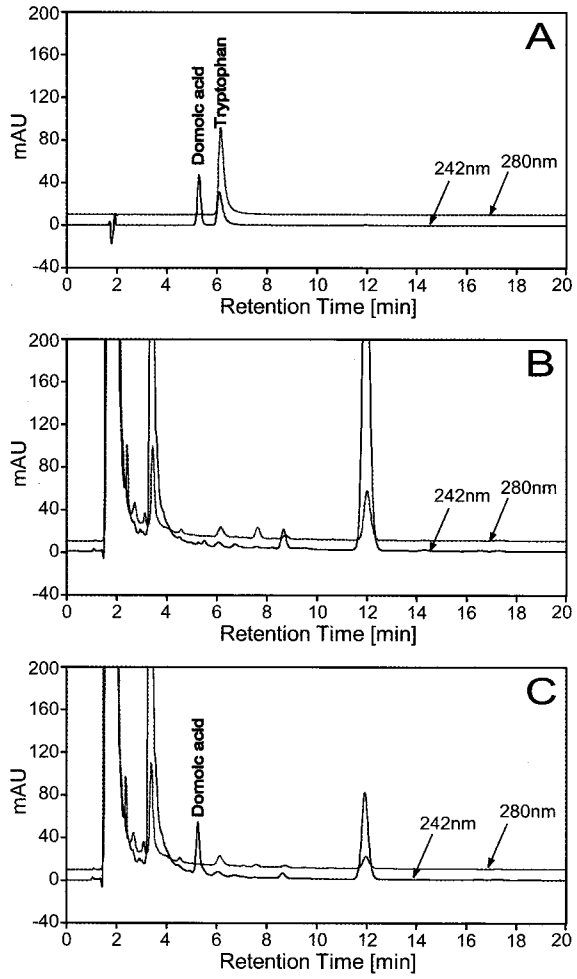

Fig. 1. HPLC chromatogram of domoic acid in standard solution (A, 1 μg/mL), the extract from oyster (B, blank) and oyster spiking domoic acid (C, 5 μg/g).

패류 중의 domoic acid 회수율

굴, 진주담치, 바지락 및 피조개 등의 이매패류 시료에 domoic acid를 0.5-10.0 μg/g 농도가 되도록 첨가하고, 50% 메탄올로 추출하였을 때 패류 품종별 및 domoic acid 첨가 농도별 회수율은 Table 1에 나타내었다.

패류 품종에 따른 회수율은 굴이 85.4-104.5%, 진주담치는 94.8-101.2%, 바지락은 91.0-104.6%, 그리고 피조개는 95.7-109.6%로 패류 품종 및/혹은 domoic acid 첨가농도에 따라 일부 차이는 있으나 전체적으로 회수율은 85% 이상을 나타내어 양호한 수준으로 확인되었다. 또한, 진주담치 CRM (CRM-ASP-Mus-e, NRC, Canada)으로 회수율 측정한 결과도 99.3-101.2%로 매우 양호한 수준이었다 (결과 미제시).

Quilliam et al. (1995)은 패류 시료를 50% 메탄올로 추출하는 것이 단백질 제거 및 회수율 차원에서 가장 좋은 것으로 보고하였고, 메탄올 추출물은 SAX (Strong Anion Exchange) 카트리지로 정제과정을 거쳐 HPLC로 분석한 결과 회수율은 85-115%이었다고 보고하여 본 연구결과와 유사하였다. Vale and Sampayo (2002)는 포르투갈 연안에서 채취한 패류를 사용하여 50% 메탄올, 80% 메탄올 (DSP와 ASP 동시 추출법) 및 0.1 N HCl (PSP와 ASP 동시 추출법)로 각각 추출하여 HPLC로 분석한 결과, 50% 메탄올 추출액에 비하여 80% 메탄올 추출액은 평균 90% 정도 회수율, 그리고 0.1 N HCl 추출액은 평균 81-85% 회수율을 나타내었다고 보고하였다. Powell et al. (2002)은 sand crab 시료를 50% 메탄올로 추출시 균질화한 후 초음파 처리한 경우가 회수율이 우수하였으며, 이때 회수율은 97±2.9%였다. 그리고 SAX 카트리지로 정제과정을 거치면 회수율이 92±4.3% 약간 저하하는 것으로 보고하였다.

표준용액 및 추출액 중의 domoic acid 저장 안정성

표준용액과 추출한 시료용액 중에서의 domoic acid 저장 안정성을 조사하기 위하여 상온 (20℃), 4℃ (냉장고) 및 -18℃ (동결고)에 시험용액을 빛이 차단된 갈색 vial에 저장하면서 domoic acid의 함량 변화를 측정한 결과는 Table 2와 3에 각각 나타내었다.

즉, domoic acid 농도가 0.1-2.0 μg/mL가 되도록 90% acetonitrile로 조제한 표준용액 (standard solution)을 각 조건에서 2개월간 저장하면서 HPLC로 분석한 결과, 조제된 표준용액은 60일이 경과한 후에도 최초농도의 90% 이상이 잔존하였다 (Table 2). 표준용액은 1개월 정도는 보관하면서 사용하여도 무방할 것으로 판단되었다

또한, 굴 시료에 첨가한 domoic acid를 50% 메탄올로 추출하여 각 조건에서 저장하면서 안정성을 조사한 결과, 상온과 4℃에서 냉장한 경우에서는 1일 후 각각 최초농도의 82.0-93.5% 및 93.7-99.3%가 잔존하였으나, 3일 후에는 각각 59.3-78.4% 및 60.2-76.3%가 잔존하여 비교적 높은 농도가 소실되

Table 1. Recovery of domoic acid extracted by the methanol from bivalvia

Domoic acid (μg/g)	Recovery rate (%)				Sample No.
	Oyster (*Crassostrea gigas*)	Blue mussel (*Mytilus edulis*)	Short neck clam (*Ruditapes philippinarum*)	Ark shell (*Scapharca broughtonii*)	
0.5	93.0±1.1	96.2±1.0	104.6±0.9	96.2±0.5	3
1.0	104.5±0.7	94.8±0.7	100.9±0.8	95.7±0.6	3
2.5	86.4±0.6	101.0±0.8	91.8±0.7	103.4±0.5	3
5.0	85.4±0.5	101.2±0.5	91.7±0.5	109.6±0.8	3
10.0	85.5±0.5	100.1±0.6	91.0±0.6	106.2±0.4	3
Average range	85.4~104.5	94.8~101.2	91.0~104.6	95.7~109.6	

Table 2. Stability of domoic acid in the standard solution by storage condition

Storage condition	Standard solution (μg/mL)	Residual rate (%)					Sample No.
		3 day	7 day	14 day	28 day	60 day	
Room temp. (@20°C)	0.1	99.0±0.6	98.0±0.7	108.7±0.9	106.7±1.6	119.9±0.9	3
	0.2	102.0±0.4	92.5±1.0	106.3±0.4	102.3±0.6	102.5±1.5	3
	0.5	102.4±0.5	100.4±0.4	111.9±0.7	103.2±0.5	104.6±0.7	3
	1.0	99.4±0.3	94.0±0.5	115.9±0.6	110.0±0.8	112.2±0.5	3
	2.0	97.4±0.5	101.5±0.3	112.4±0.5	109.2±0.6	106.5±0.4	3
Cooling (4°C)	0.1	98.0±0.6	97.0±0.8	110.0±0.8	102.2±1.1	100.0±1.2	3
	0.2	105.0±0.5	92.0±0.6	109.2±0.5	104.6±0.8	100.8±1.4	3
	0.5	104.7±0.3	99.8±0.7	115.9±0.6	103.3±0.5	108.8±0.8	3
	1.0	104.1±0.4	91.3±0.3	114.7±0.4	109.2±0.4	115.6±0.5	3
	2.0	107.7±0.2	95.0±0.5	108.0±0.3	101.1±0.6	105.9±0.7	3
Freezing (-18°C)	0.1	100.0±0.7	103.0±0.6	109.6±0.8	103.2±0.7	90.6±1.5	3
	0.2	97.0±0.6	94.5±0.5	107.7±1.1	102.7±0.6	101.3±0.8	3
	0.5	102.4±0.5	101.4±0.3	115.4±0.6	110.2±0.5	105.4±0.5	3
	1.0	104.2±0.3	93.5±0.5	115.6±0.4	106.5±0.7	106.2±0.6	3
	2.0	96.7±0.4	94.5±0.6	105.1±0.7	106.5±0.4	101.2±0.4	3

Table 3. Stability of domoic acid in the oyster extract by storage conditions

Storage condition	Standard solution (μg/mL)	Residual rate (%)						Sample No.
		1 day	3 day	5 day	7 day	14 day	28 day	
Room temp. (@20°C)	0.1	93.5±1.2	60.2±2.0	66.9±0.9	73.1±0.7	53.1±1.8	37.4±1.6	3
	0.2	82.0±0.7	59.3±1.2	58.9±1.5	62.8±0.8	52.6±1.5	39.8±1.4	3
	0.5	89.3±0.5	78.4±0.8	74.6±0.9	69.9±1.1	65.0±0.9	51.2±0.9	3
	1.0	89.8±0.6	76.1±1.0	73.2±0.6	67.9±0.9	67.5±1.0	50.9±1.5	3
	2.0	92.7±0.4	78.0±0.8	76.9±0.7	75.1±0.6	64.6±0.7	52.3±0.7	3
Cooling (4°C)	0.1	97.5±0.5	60.2±0.8	57.8±0.8	68.8±0.5	39.1±0.8	30.0±1.1	3
	0.2	93.7±0.3	65.0±0.7	55.5±0.6	69.1±0.8	44.1±0.9	35.4±1.0	3
	0.5	97.4±0.4	71.8±0.9	66.9±0.7	64.1±0.5	52.4±0.5	43.5±0.7	3
	1.0	97.3±0.2	71.1±0.7	67.5±0.4	70.0±0.4	47.9±0.8	42.1±0.5	3
	2.0	99.3±0.3	76.2±0.5	68.5±0.5	68.8±0.6	53.8±0.7	42.4±0.8	3
Freezing (-18°C)	0.1	98.2±0.4	84.2±0.6	82.2±0.7	101.7±0.5	48.4±0.8	40.5±1.5	3
	0.2	92.3±0.7	87.9±0.8	83.2±0.5	85.7±0.6	60.4±0.6	51.9±0.9	3
	0.5	99.9±0.4	87.0±0.6	87.4±0.6	97.6±0.7	79.7±0.7	62.6±0.7	3
	1.0	95.8±0.3	86.6±0.5	92.5±0.4	91.4±0.8	77.2±0.5	63.6±0.3	3
	2.0	95.8±0.2	89.1±0.3	90.7±0.3	88.2±0.5	79.8±0.6	66.3±1.0	3

었다. 그리고 -20℃에서 동결한 경우에는 1주일까지 85% 이상 잔존하는 것으로 확인되었다 (Table 3). 따라서 패류 중 domoic acid를 50% 메탄올로 추출한 후에는 가급적 즉시 분석하는 것이 바람직하나, 불가피한 경우에는 냉동 보관하여야 할 것으로 판단되었다. 한편, 표준용액에서의 domoic acid 보다 패류시료 추출액 중에서 저장기간에 따라 잔존률이 빨리 감소하는 것은 패류 시료중의 미지의 미량물질과 domoic acid가 결합 때문인 것으로 추정된다.

Vale and Sampayo (2002)는 포르투갈 연안으로부터 채취한 패류 시료를 사용하여 균질화한 후 50% 메탄올, 80% 메탄올 (DSP와 ASP 동시 추출법) 및 0.1 N HCl (PSP와 ASP 동시 추출법)로 각각 추출하여 냉동 (-10℃) 보관하면서 domoic acid 함량을 HPLC로 분석하였다. 그 결과, 50% 메탄올 추출액을 100%로 하였을 때 0.1 N HCl 추출액의 평균 회수율은 0일째는 81-85%, 2일째 72%, 3일째 65%, 4일째 57%, 8일째 52%를 나타내었다고 보고하였다. 그리고 시료를 균질화만 한 것과 80% 메탄올로 추출한 것을 각각 냉동 저장하였을 때, 두 시험구 모두 비슷한 수준으로 domoic acid의 농도가 저하하였으며, 저장 한달째 회수율은 90% 정도였다고 보고하였다.

EU에서 현재까지 domoic acid 농도가 가장 높게 검출된 시료는 가리비의 중장선이며, 대체로 이 부위는 제거하고 소비한다. EU의 권고에 따라 스코트랜드에서는 가리비에 대한 domoic acid 모니터링은 생식선에 대하여 실시하고 있다. 1998년 이후 스코트랜드 연안에 서식하는 가리비에 대한 domoic acid 모니터링을 실시하고 있으며, 주기적으로 잔류허용기준치를 초과하는 것으로 보고하고 있다 (Smith et al., 2006).

Smith et al. (2006)은 스코트랜드 연안에 서식하는 가리비를 시료로 사용하여 전체 또는 생식선을 메탄올 추출한 것과 메탄올 추출 후 SAX 카트리지로 정제하여 구연산 완충액 (0.5 M, pH 3.2)으로 추출한 것을 각각 냉장 (6.5℃) 저장에 따른 안정성을 조사한 결과, 메탄올 생식소 추출물은 저장 1주째 20-30%, 2주째 약 45% 정도 감소하였으며, 전체 시료로 사용하여 추출한 경우는 1주일 째 10% 내외 2주일째 약 15% 감소한 것으로 보고하였다. 반면, 정제 후 구연산 완충액 중에서는 저장 96일까지 거의 변화가 없어 매우 안정하였다고 보고하였다.

본 연구 결과에서도 domoic acid는 표준용액 중에서는 매우 안정하였으나, 정제하지 않은 메탄올 추출물중에서는 농도가 감소하는 경향이 나타나 Smith et al. (2006)의 결과와 유사하였다. 이것은 정제하지 않은 메탄올 추출물 중에 남아있는 패류의 단백질 성분이나 미량 성분과 domoic acid가 결합한 것으로 추정하고 있다 (Quilliam et al., 1995).

Domoic acid의 pH 안정성

표준용액 중에서 domoic acid의 pH 안정성을 조사하기 위하여 표준용액 1.0 μg/mL을 pH 2, 5, 9, 11로 조정하여 121℃에서 30분 동안 가열한 후의 domoic acid의 함량 변화를 측정한 결과는 Table 4에 나타내었다. 표준용액 중의 domoic acid는 pH 조정하여 가열하여도 85% 이상 잔존하고 있었으며, 특히 pH 5.0에서는 97.2±5.9%의 잔존하여 가장 안정한 pH 영역으로 확인되었다. Quilliam et al. (1995)도 domoic acid는 pH 5-7로 저장하였을 때는 안정하나, 극단적인 pH인 2 또는 12에서는 많이 분해되는 것으로 보고하였다. Vale and Sampayo (2002)는 domoic acid는 물에는 안정하였으나, pH 3의 HCl 용액 중에서는 불안정하여 저장한달 후에 70% 정도가 분해되었다고 하였다.

Table 4. Stability of domoic acid in the standard solution by heating at 121℃ for 30 min after pH adjusting

pH	Residual rate (%)	Sample No.
2	86.8±5.6	3
5	97.2±5.9	3
9	90.9±0.6	3
11	87.9±3.9	3

그리고 McCarron and Hess (2006)은 오염된 진주담치를 증기 (90℃, 10분) 및 autoclave (121℃, 15분)로 가열처리하면 중장선에 다량 축적된 domoic acid가 다른 조직 및 수중으로 이동하는 것이 확인하였다. 그리고 진주담치를 균질한 후 밀봉한 후 autoclave 처리 하면 약 7% 정도 domoic acid의 농도가 감소하는 것으로 보고하여 domoic acid는 열에는 안전한 물질인 것이 확인되었다.

한편, 이매패류독소 중에서 가장 잘 알려져 있는 마비성패류독소 (PSP)의 경우는 gonyautoxin 그룹 및 saxitoxin은 pH 및 온도가 높을수록 독력이 감소하였으나, C그룹 독소는 pH가 낮을수록 그리고 온도가 높을수록 독력이 감소하였다고 보고하였다 (Indrasena and Gill, 2000).

Domoic acid의 광분해성

패류 추출용액 중에서의 domoic acid의 광분해성을 조사하기 위하여 굴 시료에 표준품의 최종농도가 1.0 및 2.0 μg/mL 되도록 첨가하여 추출한 시험용액을 빛 차단 유무에 따라 실온에서 저장하면서 domoic acid의 함량 변화를 측정한 결과는 Fig. 2에 나타내었다.

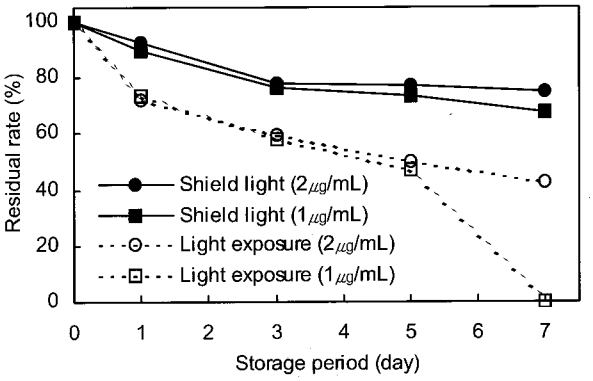

Fig. 2. Photodegradation of domoic acid in the oyster extract during light exposure at room temperature.

빛을 차단하기 위하여 갈색병에 담은 시료 추출액의 domoic acid는 서서히 감소하여 저장 일주일째는 약 70% 정도 잔존하고 있었다. 반면, 빛에 노출된 시료 추출액의 domoic acid는 급격히 감소하여 1일째 30% 정도가 분해되었고, 5일째 50% 이하로 감소하였으며, 1.0 μg/mL 첨가구는 저장 7일째 완전히 분해되어 검출되지 않았다. Quilliam et al. (1995)도 domoic acid는 산소 또는 빛에 노출되었을 때 분해되는 것으로 보고하고 있다. Bouillon et al. (2006)은 해수 및 탈이온수에서 domoic acid의 광분해성은 비슷한 수준이었으며, 노출시간이 증가할수록 분해능이 증가하는 것으로 보고하였다. 또한, Bates et al. (2003)은 탈이온수, 인공해수 및 여과한 자연해수 중에 domoic acid를 첨가한 후 의 빛을 조사하였다. 이때, 암소에 보관한 대조구에서는 domoic acid의 분해는 야기되지 않았으나, 빛을 조사한 해수 및 탈이온수 중에서는 22시간 만에 36-44%가 분해되었고, 광분해성은 초기 5시간 동안 가장 빠르게 진행되었다고 하였다. 그리고 인공해수에 철을 첨가하면 domoic acid의 광분해를 촉진하는 것으로 보고하였다.

따라서 이상의 결과를 종합해 볼 때, domoic acid는 대체로 열 및 pH 변화에는 안정하나 빛에는 매우 민감한 것으로 판단되므로 표준용액 및 추출 시료액의 보관시에는 반드시 빛이 차단된 갈색병 등에 보관해야 할 것으로 생각된다.

Domoic acid는 캐나다 동부연안 진주담치에서 처음 검출된 후 미국, 뉴질랜드, 유럽 등지에서도 검출되고 있다 (Addison and Stewart, 1989; Bill et al., 2006; Schnetzer et al., 2007; Vale and Sampayo, 2001). 캐나다 당국에서는 domoic acid에 의한 식중독 예방을 위하여 패류에서 domoic acid의 잔류허용기준

치를 20 μg/g으로 설정하여 지속적으로 모니터링을 실시하여 관리하고 있다 (Jeffery et al., 2004). 이후 미국, 일본 및 유럽 등에서는 연안해역의 패류에서 domoic acid 검출에 따른 패류 및 원인플랑크톤에 대하여 주기적으로 모니터링을 실시하여 식중독 예방을 위한 자료로 활용하고 있다 (Bill et al., 2006; Jeffery et al., 2004; Toyofuku, 2006; Vale and Sampayo, 2001; Wekell et al., 2004). 아일랜드에서 서식하는 이매패류 4종에 대한 domoic acid 모니터링을 실시한 결과, 진주담치에서는 최고 1.0 μg/g이 검출되었고, 굴에서는 5.0 μg/g 그리고 가리맛에서는 0.3 μg/g이 검출되었다. 반면, 가리비 (king scallop)에서는 최고 240 μg/g이 검출되었으며, 분석된 시료 55%가 EU의 domoic acid 잔류허용기준치인 20 μg/g을 초과하여 검출되었다고 보고하였다 (James et al., 2005). 스코트랜드 연안에 서식하는 가리비에 대한 domoic acid 모니터링을 1998년 이후 실시하고 있으며, 주기적으로 잔류허용기준치를 초과하는 것으로 보고하고 있다 (Smith et al., 2006). 우리나라에서는 아직 domoic acid 중독증이 보고된 바 없고, 국립수산과학원에서 1991년부터 연안산 패류에 대한 모니터링을 지속하고 있으나 아직은 거의 독이 검출되지 않으며, 일부 검출되는 시료에 있어서도 외국의 기준치에 훨씬 미달하는 미량으로 검출되고 있다. 그러나 근년 각종 패류독이 세계 여러 지역으로 확산되는 사례들을 볼 때 우리나라 연안에서도 지속적으로 관리되어야 할 위해로 판단된다.

사 사

본 연구는 국립수산과학원 (독물학적 위생안전 위해관리, RP-2008-FS-11)의 지원에 의해 수행되었습니다.

참 고 문 헌

Addison, R.F. and J.E. Stewart. 1989. Domoic acid and the eastern Canadian molluscan shellfish industry. Aquaculture, 77, 263-269.

Bates, S.S., C. Leger, M.L. Wells and K. Hardy. 2003. Photodegration of domoic acid. Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci., 2498, 30-35.

Bill, B.D., F.H. Cox, R.A. Horner, J.A. Borchert and V.L. Trainer. 2006. The first closure of shellfish harvesting due to domoic acid in Puget Sound, Washington, USA. African J. Marine Sci., 28, 435-440.

Bouillon, R.C., T.L. Knierim, R.J. Kieber, S.A. Skrabal and J.L.C. Wright. 2006. Photodegration of the algal toxin domoic acid in natural water matrices. Limnol. Oceanogr., 51, 321-330.

Busse, L.B., E.L. Venrick, R. Antrobus, P.E. Miller, V. Vigilant, M.W. Silver, C. Mengelt, L. Mydlarz and B.B. Prezelin. 2006. Domoic acid in phytoplankton and fish in San Diego, CA, USA. Harmful Algae, 5, 91-101.

Costa, P.R., R. Rosa and M.A.M. Sampayo. 2004. Tissue distribution of the amnesic shellfish toxin, domoic acid, in *Octopus vulgaris* from the Portuguese coast. Mar. Biol., 144, 971-976.

Edebo, L., S. Lange, X.P. Li, S. Allenmark, K. Lindgren and R. Thompson. 1988. Seasonal, geographic, and individual variation of okadaic acid content in cultivated mussels in Sweden. APMIS, 96, 1036-1042.

Indrasena, W.M. and T.A. Gill. 2000. Thermal degradation of partially purified paralytic shellfish poison toxins at different times, temperatures and pH. J. Food Sci., 65, 948-953.

James, K.J., M, Cillman, M.F. Amandi, A. Lopez-Rivera, P.F. Puente, M. Lehane, S. Mitrovic and A. Furey. 2005. Amnesic shellfish poisoning toxins in bivalve molluscs in Ireland. Toxicon, 46, 852-858.

Jeffery, B., T. Barlow, K. Moizer, S. Paul and C. Boyle. 2004. Amnesic shellfish poison. Food Chem. Toxicol., 42, 545-557.

Lefebvre, K.A., M.W. Silver, S.L. Coale and R.S. Tjeerdema. 2002. Domoic acid in planktivorous fish in relaton to toxic *Pseudo-nitzschia* cell densities. Mar. Biol., 140, 625-631.

McCarron, P. and P. Hess. 2006. Tissue distribution and effects of heat treatment on the content of domoic acid in blue mussels, *Mytilus edulis*. Toxicon, 47, 473-479.

Noguchi, T. 2003. Marine toxins. Nippon Suisan Gakkaishi, 69, 895-909.

Powell, C.L., M.E. Ferdin, M. Busman, R.G. Kvitek and G.J. Doucette. 2002. Development of a protocol for determination of domoic acid in the sand crab (*Emerita anaoga*): a possible new indicator species. Toxicon, 40, 485-492.

Quilliam, M.A., K. Tomas and J.L.C. Wright. 1998. Analysis of domoic acid in shellfish by thin-layer chromatography. Nat. Toxins, 6, 147-152.

Quilliam, M.A., M. Xie and W.R. Hardstaff. 1995. Rapid extraction and cleanup for liquid chromatographic determination of domoic acid in unsalted seafood. J. AOAC Int., 78, 543-554.

Schnetzer, A., P.E. Miller, R.A. Schaffner, B.H. Jones, S.B. Weisberg, P.M. Digiacomo, W.M. Berelson and D.A. Caron. 2007. Blooms of *Pseudo-nitzschia* and domoic acid in the San Pedro Channel and Los Angeles harbor areas of the Southern California Bight, 2003-2004. Harmful Algae, 6, 372-387.

Silvert, W. and D.V.S. Rao. 1992. Dynamic model of the flux of domoic acid, a neuro toxin, through a *Mytilus edulis* population. Can. J. Fish. Aquat Sci., 49, 400-405.

Smith, E.A., E.P. Papapanagiotou, N.A. Brown, L.A. Stobo, S. Gallacher and A.M. Shanks. 2006. Effect of storage on amnesic shellfish poisoning (ASP) toxins in king scallops (*Pecten maximus*). Harmful Algae, 5, 9-19.

Toyofuku, H. 2006. Joint FAO/WHO/IOC activities to provide scientific advice on marine biotoxins (research report). Marine Pollution Bull., 52, 1735-1745.

Trainer, V.L. and B.D. Bill. 2004. Characterization of a domoic acid binding site from Pacific razor clam. Aquatic Toxicol., 69, 125-132.

Vale, P. and M.A.M. Sampayo. 2001. Domoic acid in Portuguese shellfish and fish. Toxicon, 39, 893-904.

Vale, P. and M.A.M. Sampayo. 2002. Evaluation of extraction methods for analysis of domoic acid in naturally contaminated shellfish from Portugal. Harmful Algae, 1, 127-135.

Wekell, J.C., J. Hurst and K.A. Lefebvre. 2004. The origin of the regulatory limits for PSP and ASP toxins in shellfish. J. Shellfish Res., 23, 927-930.

Yu, F.Y., B.H. Liu, T.S. Wu, T.F. Chi and M.C. Su. 2004. Development of a senstive enzyme-linked immunosorbent assay for the determination of domoic acid in shellfish. J. Agri. Food Chem., 52, 5334-5339.

2008년 10월 21일 접수
2009년 2월 10일 수리