

국내 수입산 패류의 Cyclic Imine (CI) 독소에 대한 오염도 조사 분석

김영상¹ · 김혜원^{2,3} · 유재영^{2,3} · 오명진^{2,3} · 서나리^{2,3} · 최창순⁴ · 안현주^{2,3*} · 전유진^{1*}

¹제주대학교 해양생명과학과, ²충남대학교 아시아-태평양 당분석 연구교육센터,
³충남대학교 분석과학기술대학원, ⁴중앙대학교 식품공학부 식품영양전공

Investigation of Contamination Levels of CI Toxins in Imported Shellfish Products Available in South Korea

Young-Sang Kim¹, HyeWon Kim^{2,3}, JaeYoung Yu^{2,3}, Myung Jin Oh^{2,3}, Nari Seo^{2,3},
Changsun Choi⁴, 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

⁴Department of Food and Nutrition, College of Biotechnology and Agriculture Resource,
Chung-Ang University, Anseong, Korea

(Received September 6, 2024/Revised October 5, 2024/Accepted October 8, 2024)

ABSTRACT - The detection of high levels of cyclic imine (CI) toxins, noted for their neurotoxic effects, in imported shellfish products represents a significant public health concern for South Korea. In this study, we investigated the levels of CI contamination in these imported products. Specifically, we focused on spirolides (SPX-C), pinnatoxin (PnTX), and gymnodimine-A (gym-A), utilizing advanced LC/MS/MS analytical techniques. Samples collected from a range of imported shellfish revealed substantial contamination, with SPX-C being detected at 227.84 ppt in New Zealand mussels, PnTX-G at 80.42 ppt in Chilean mussels, and GYM-A at 118.79 ppt in New Zealand mussels. These findings are particularly alarming, given that the concentrations of CIs in shellfish from certain countries often exceed those found in South Korean products, posing a potentially significant risk to public health when these contaminated products are imported. On the basis of our findings, we advocate the urgent implementation of stringent regulatory measures to control and mitigate the health hazards associated with these toxins in shellfish products. Additionally, we emphasize the importance of ongoing monitoring and continuous research to gain a better understanding of these risks and to develop effective strategies for their management, which will thereby contribute to protecting consumer health in the context of increasing global seafood trade.

Key words: Imported shellfish, Pinnatoxin, Gymnodimine, Spirolide, Cyclic imines

*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.

패류는 지방질이 없고 불포화지방, 다양한 미네랄 등 연안 지역에 사는 사람들의 중요한 영양성분의 공급원으로서 이용되고 있는 수산물이다. 최근에는 패류, 어류 그리고 다른 많은 수산물들은 블루푸드(blue food)로 불리며 이들이 가진 영양학적인 성분들과 지속가능한 자원, 그리고 탄소흡수원 또는 탄소저감형 생산물로서 각광을 받고 있다¹⁾. 이렇게 중요한 영양 공급원이지만, 패류에는 알려지 유발 물질과 오염물질, 중금속, 해양생물독소 등을 함유하고 있으며, 매년 패류독소에 의한 중독사고가 발생하고 있다^{2,3)}. 일반적으로 해양생물독소는 식물플랑크톤에 의해서 생성되며, 이 중 cyclic imine (CI) 류의 독소물질은 특히 dinoflagellate인 와편모조류에서 생성된다. 패류는 식물 또는 동물 플랑크톤을 먹이로 사용하며 성장하는데, 독소를 생성하는 플랑크톤을 섭취할 경우 패류 체내에 독소가 축적되게 된다⁴⁾. 캐나다, 노르웨이, 뉴질랜드 등 여러 국가의 연안에서 확보한 패류 시료에서 CI 독소물질이 높은 농도로 검출되었으며, Otero 등⁴⁾ 및 Stirling 등⁶⁾의 연구에서 다양한 환경에서 독소를 생성하고, 그로 인해서 생태적 및 인체에 대한 위험이 존재한다고 보고하였다.

CI 독소는 해양생물에서 발견되는 독소 중 친유성 물질로, *Alexandrium ostenfeldii*, *Vulcanodinium rugosum*,

Karenia spp. 같은 와편모조류가 생성하는 물질로 알려져 있다^{5,7)}. CI 독소는 spiroalides (SPXs), gymnodimines (GYMs), pinnatoxins (PnTXs), pteriatoxins (PtTXs), 로 나뉜다. CI 독소의 기본 구조는 대형 고리구조로, 14-27개의 탄소로 이루어져 있고, spiroimine과 spiroketal 고리 체계를 가지며, 이들의 기능기 치환에 의해서 여러 가지 유도체들이 만들어진다. 또한, 이들은 imino 기능기 그룹으로 나눌 수 있으며, 생리적인 활성을 띄는 사이트로서 기능한다(Fig. 1)^{4,8)}. CI 독소의 독성은 “Fast-acting” 해양생물독소로 muscarinic acetylcholine receptors (mAChRs)와 nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs)에 작용하여 Na⁺/K⁺ ATPase 채널과 L-type transmembrane Ca²⁺ 채널을 영구적으로 손상시키고 증상이 빠르게 일어나 “Fast-acting” 독소로 알려져 있다^{9,10)}. SPXs의 경우, mouse bioassay (MBA)를 통해 복부 경련, 근육계통의 과신전, 꼬리 굽힘 등의 임상적 증상을 관찰하였다¹¹⁻¹³⁾. SPX 추출물의 반수치사량(lethal dose 50, LD₅₀)은 40 µg/kg b.w. (body weight)을 나타내었고, SPX-E와 -F 보다 높은 것으로 (>1,000 µg/kg b.w.) 밝혀졌다^{14,15)}. PnTXs는 A부터 G까지 여러 유도체를 가지고 있으며, 이들 중 PnTX-E와 -F의 LD₅₀는 16-50 µg/kg b.w.로, 많은 유도체들 중 가장 높은 독성을 나타낸다^{16,17)}. GYM-A는 암

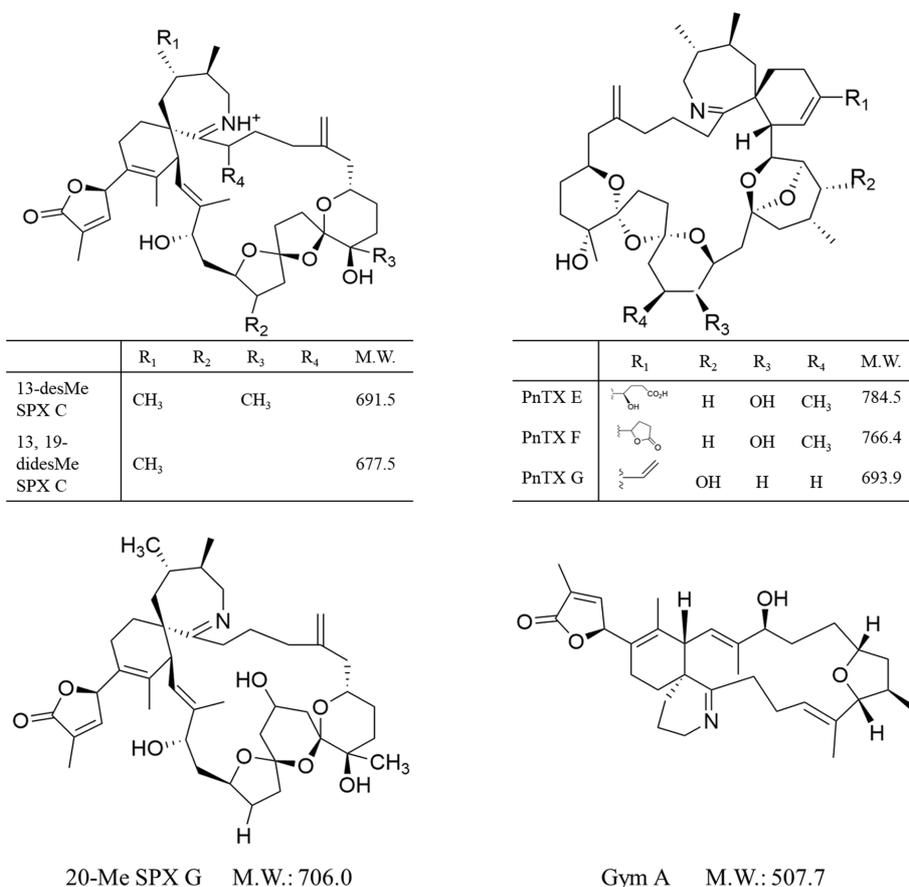


Fig. 1. Structure of cyclic imine (CI) (SPX, Gym, PnTX analogs).

컷 쥐(rat)에게 복강 투여(intraperitoneal injection, i.p. injection) 시 80-96 µg/kg b.w.로 확인되었고, 임상적 증상은 과잉 행동, 점프, 느린 움직임 및 무감각 등의 증상을 관찰하였다^{18,19}. PtTX는 PtTX-A,-B,-C로, 3가지의 유도체가 알려졌으며, Takada 등²⁰의 의하면, PtTX는 PnTX와 구조적인 유사성이 상당히 비슷한 것으로 밝혀졌다. PtTX-A의 LD₅₀ 값은 100 µg/kg b.w.이며, PtTX-B와 -C의 혼합물의 경우엔 8 µg/kg b.w.로, 상당히 높은 독성을 나타내었다고 보고하였다. 상기한대로, CI 독소는 잠재적으로 신경독성을 보인다고 알려졌으나, 아직 독성 데이터가 충분하지 않은 상황이며, 상기한 논문들의 데이터들은 대부분 급성 독성에 대한 데이터이기 때문에 만성 독성, 유전독성 등 다른 여러 독성 테스트가 더 필요한 것으로 보인다.

칠레에서는 *Mytilus chilensis*에서 PnTX 유도체 중 하나인 PnTX-G가 5.2 µg/kg의 농도로 검출되었고, 이외에도 조개류 중 하나인 *Tawera gayi* 에서 4.33-10.88 µg/kg의 양이 검출되었다²¹). 뉴질랜드에서는 *Perna canaliculus*라는 조개에서 13-desMe SPX C 이 85.6-97.9 µg/kg의 농도로 검출되었다²¹). CI 독소는 100 ppm 이하의 낮은 농도에서도 심각한 건강 문제를 일으킬 수 있기 때문에, 이들의 정확한 분석이 매우 중요하다. 최근 LC/MS/MS (액체크로마토그래피-질량 분석) 기법이 CI 독소의 검출에 널리 사용되고 있다⁹). LC/MS/MS는 높은 민감도와 특이도를 제공하여 복잡한 매트릭스에서도 CI 독소를 정밀하게 검출할 수 있는 장점이 있다⁷).

본 연구의 주된 목적은 한국에 수입되어 판매 중인 패류 제품에서 CI 독소의 오염 정도를 평가하는 것으로²²), 한국은 다량의 패류를 수입하고 있으며, 이들 수입 제품이 소비자에게 미치는 잠재적인 건강 위험성을 평가하는 것은 매우 중요하다. 특히, 수입 패류가 CI 독소에 오염되어 있을 경우, 이는 즉각적인 공중 보건 문제로 이어질 수 있으므로, CI 독소의 오염 상태를 파악함으로써 소비자의 안전을 확보하고, 나아가 규제 방안을 마련하는 데 기여하고자 한다.

Materials and Methods

실험 재료 및 시약

Pinnatoxin E, F, G 인증 표준물질(certificated reference material, CRM)은 Merck (Darmstadt, Germany)에서 구매하였고, 13-desmethyl spirolide C, gymnodimine-A는 캐나다 국립연구위원회 (The National Research Council, NRC, Halifax, NS, Canada)에서 구매하였다. 13,19-didesmethyl spirolide C 및 20-methyl spirolide G는 CIFGA (Lugo, Spain)에서 구매하였다. 분석용 methanol (MeOH) 및 LC-MRM/MS 용 hypergrade acetonitrile (ACN)은 Merck (Darmstadt, Germany)에서 구매하였다. LC용 이동상 용매에 사용된 ammonium formate는 Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서, formic acid는 WAKO Chemical (Osaka, Japan)에서 구

입하였으며, 그 밖의 모든 시약은 분석용 특급 시약을 구입하여 사용하였다.

패류시료 추출물 제조

2023년도에 수집된 수입산 패류들은 중앙대학교 식품공학부 식품영양전공의 최창순 교수 연구팀에서 제공받아 사용하였다. 총 21개의 시료는 판매되는 형태로 0.2-1 kg의 중량을 구매하였고, 충청남도 보령, 제주도, 부산 등의 수산물 판매처에서 구입하였으며, 보관을 위하여 -20°C에 저장하여 사용하였다. 원물 또는 반각 시료는 패각과 내장 제거 후 물로 세척하고 5분간 물기를 제거한 후 grinder를 이용하여 분쇄하였고, 탈각 상태의 시료는 물로 세척 후 5분간 물기 제거 후 grinder를 이용하여 분쇄하였다. 분쇄된 시료 10 g에 10배의 50% MeOH를 첨가하고 ultrasonication 10분간 진행하고 3반복 추출하였다. 추출된 샘플은 원심 분리하여(10,000 ×g, 10분, 4°C)하여 상층액을 분리하였고, evaporator로 완전 농축하였다.

LC/MRM-MS를 이용한 CI 유도체 독소 분석

총 7가지의 CI 독소는 Seo 등²³의 방법을 따라 LC/MRM-MS로 분석하였다. 농축된 시료에 1 mL의 50% acetonitrile을 첨가하여 재용해시킨 후 SupelTM swift HLB solid phase extract (SPE) cartridge (60 mg, 3 mL tube, Merck, Darmstadt, Germany)를 이용하여 정제하였다. 추출물은 HLB SPE cartridge에 loading 후 염 및 소수성 오염물을 제거하기 위하여 20% MeOH를 포함한 6 mL의 물로 세척하였다. 이후 CI 추출물은 6 mL의 MeOH로 용출시켜 진공상태에서 완전히 건조시킨 후 분석에 사용하였다. Agilent 1260 액체 크로마토그래피 (liquid chromatography, LC) 시스템과 Agilent 6495 삼중 사중극자 질량분석기 (QqQ-MS,

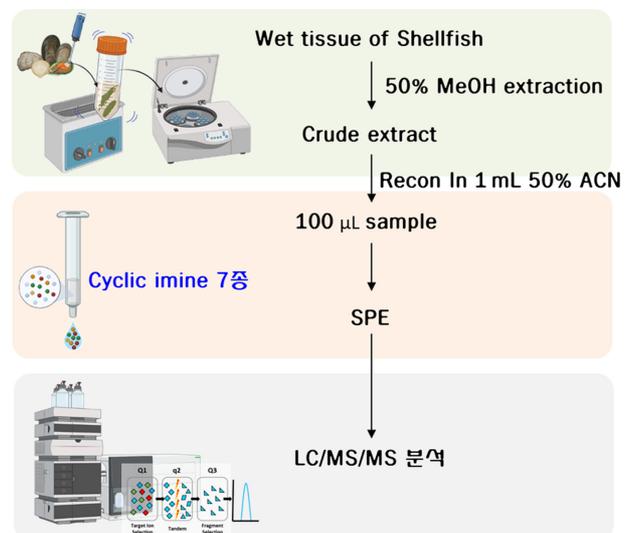


Fig. 2. Scheme of extraction and analysis protocol.

Table 1. MRM transitions and corresponding parameters for CI quantitation

Analyte	Retention time (min)	Precursor ion (Q1, <i>m/z</i>)	Product ion (Q3, <i>m/z</i>)		Dwell Time (ms)	Collision Energy (V)
			Quantifier	Qualifier		
PnTX E	3.64 ± 0.1	784.5	164.1; 230.2	488.3	10	50
PnTX F	4.87 ± 0.1	765.5	164.1; 230.2	488.3	10	50
PnTX G	5.14 ± 0.1	694.5	164.1; 230.2	458.3	10	50
GYM A	2.71 ± 0.1	508.3	121.1; 136.1; 174.1	392.3	10	50
13-desMe SPX C	4.10 ± 0.1	692.4	164.1; 230.2	444.3	10	50
13,19-didesMe SPX C	3.33 ± 0.1	678.4	164.1; 230.2	430.2	10	50
20-Me SPX G	4.60 ± 0.1	706.4	164.1; 230.2	346.2	10	50

PnTX E, F, G: Pinnatoxin E, F, G; GYM A: Gymnodimine A; 13-desMe SPX C: 13-desmethyl spirolide C; 13, 19-didesME SPX C: 13,19-didesmethyl spirolide C; 20-Me SPX C: 20-Methyl Spirolide C.

Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)를 사용하여 수행되었다. CI 추출물 시료는 2.1×100 mm BIOShell™ A160 Peptide C18 컬럼(Merck, Darmstadt, Germany)에서 분리되었다(Fig. 2). 이동상은 (A) 2 mM ammonium formate 및 50 mM formic acid를 포함한 100% 증류수와 (B) 2 mM ammonium formate 및 50 mM formic acid를 포함한 95%

acetonitrile로 구성되었다. LC의 기울기 조건은 다음과 같다: 0-8분, 25-65% B; 8-10 분, 65-95% B; 10-15분, 95% B; 15-20분, 25% B, 이후 다음 시료 분석을 위하여 평형화를 위해 95% B에서 5분간 유지하였다. 컬럼 온도는 분석 중 40°C로 유지하였으며, capillary 및 nozzle 전압은 각각 3.5 및 0 kV로 설정하였다. 건조가스 유량은 200°C에

Table 2. Analysis results of CI toxin levels in imported shellfish samples

No.	Name	Region	1*	2	3	4	5	6	7
1	<i>Amygdala Philippinarum</i>	China	-	-	14.45	88.68	-	25.72	-
2	<i>Mytilus unguiculatus</i>	China	-	-	-	-	-	23.11	-
3	<i>Amygdala Philippinarum</i>	China	-	-	-	-	-	-	-
4	<i>Pecten albicans albicans</i>	Japan	-	-	-	-	-	-	-
5	<i>Amygdala Philippinarum</i>	China	-	-	11.29	-	-	-	-
6	<i>Meretrix lusoria</i>	Japan	NC	-	NC	-	-	NC	-
7	<i>Pecten albicans albicans</i>	Japan	-	-	NC	-	-	-	-
8	<i>Meretrix lusoria</i>	Japan	-	-	NC	-	-	-	NC
9	<i>Amygdala Philippinarum</i>	China	NC	-	-	NC	-	NC	-
10	<i>Pecten albicans albicans</i>	China	-	-	-	-	-	-	-
11	<i>Amygdala Philippinarum</i>	China	-	-	-	-	-	NC	-
12	<i>Amygdala Philippinarum</i>	China	NC	-	19.48	-	-	-	-
13	<i>Pecten albicans albicans</i>	China	NC	-	NC	30.32	-	-	-
14	<i>Mytilus unguiculatus</i>	China	-	-	NC	-	-	-	-
15	<i>Pecten albicans albicans</i>	China	-	-	NC	-	-	-	-
16	<i>Perna viridis</i>	New Zealand	-	-	NC	118.79	-	227.84	-
17	<i>Pecten albicans albicans</i>	Japan	NC	-	NC	-	-	-	-
18	<i>Mytilus unguiculatus</i>	China	-	-	-	-	-	13.60	-
19	<i>Mytilus unguiculatus</i>	China	-	-	-	-	-	20.95	-
20	<i>Perna viridis</i>	Chile	-	-	80.42	-	NC	-	-
21	<i>Meretrix lusoria</i>	China	-	-	35.06	-	-	40.71	-

* 1, PnTX E; 2, PnTX F; 3, PnTX G; 4, GYM A; 5, 20-Me SPX G; 6, 13-desMe SPX C; 7, 13, 19-didesMe SPX C.

** Unit: (ng/kg).

서 11 L/min이었으며, nebulizer를 MRM 모드에서 10 ms의 대기시간을 가지고 50 eV의 충돌에너지로 설정하였다. CI 독소물질에 대해 모니터링된 MRM transition은 Table 1에 제시되어 있다.

Results and Discussion

본 연구에서는 한국에 수입되는 다양한 패류 시료에서 7가지 CI 독소물질을 분석하였다. CI 독소는 해양 생태계에서 발생하는 신경독성 물질로서, 그 독성으로 인하여 사람이 섭취 시 심각한 질병을 일으킬 수 있는 잠재적 위험이 존재하고 있다. 이러한 이유로 CI 독소에 대한 오염도 모니터링과 관리에 대한 인식이 매우 중요하다.

중국, 일본, 뉴질랜드, 칠레 등에서 수입하고 있는 패류 21건에 대하여 50% MeOH 추출물을 제조한 후 LC/MS/MS

분석을 통하여 7종의 독소 함유량을 확인하였다. 분석에 사용된 독소 표준품은 pinnatoxin E (PnTX E), pinnatoxin F (PnTX F), pinnatoxin G (PnTX G), gymnodimine A (GYM A), 20-methyl spirolide G (20-Me SPX G), 13-desmethyl spirolide C (13-desMe SPX C), 그리고 13,19-didesmethyl spirolide C (13,19-didesMe SPX C)로, 각각의 LC/MS/MS 분석 결과를 Fig. 3과 Table 2에 요약하였다.

수입산 패류의 MS Spectrum 분석 결과

질량분석기 스펙트럼(Fig. 3)은 21가지의 패류 시료에서 7가지의 CI 독소 중 limit of detection (LOD) 및 limit of quantitation (LOQ) 값 이상 검출 가능한 양으로 분석된 결과만 수록하였다. PnTX E는 21개의 모든 시료에서 검출되지 않았다. PnTX G의 경우, 총 21건의 시료 중에서 5개의 시료에서 검출한계 이상의 농도가 관찰되었다. 칠레

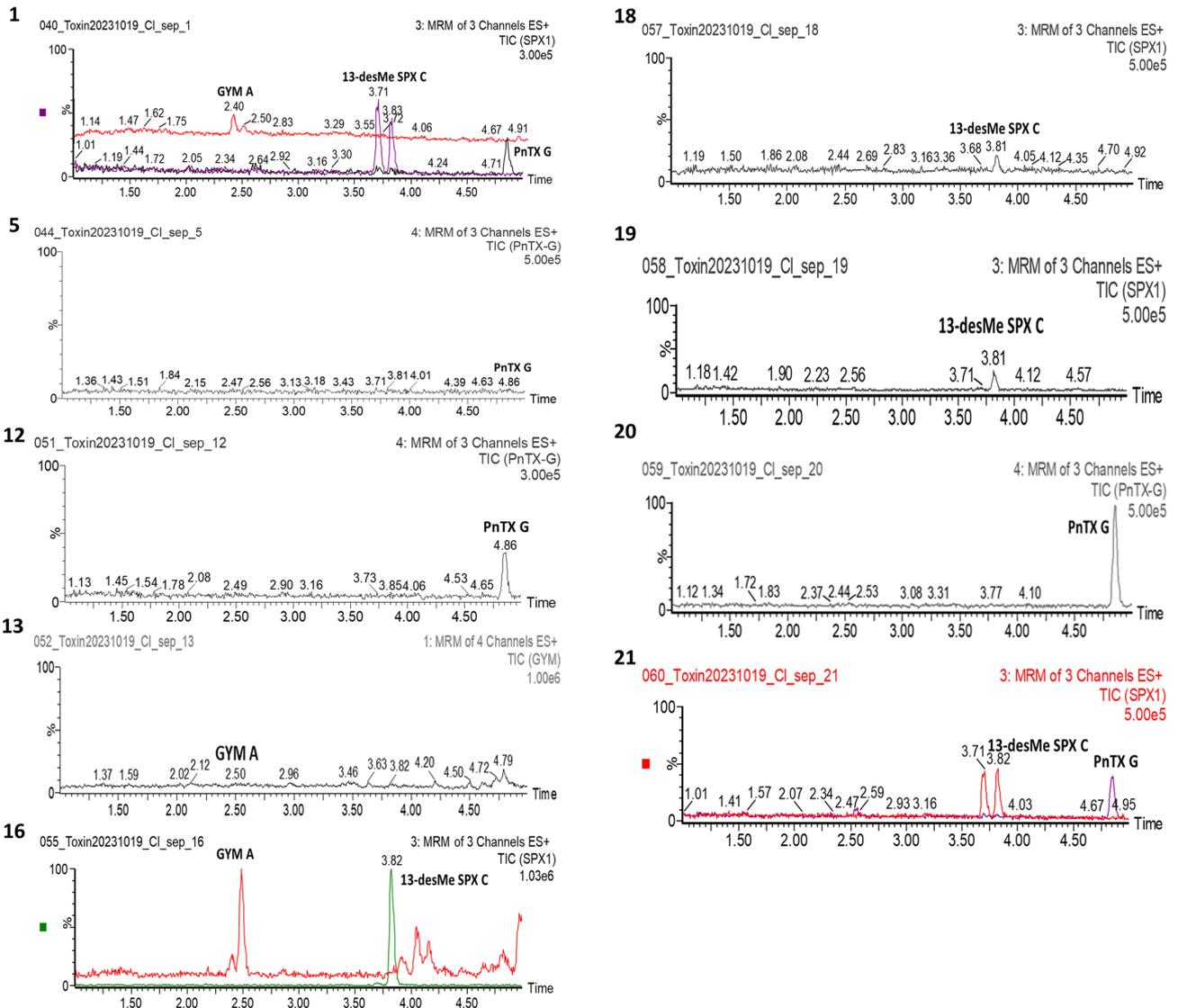


Fig. 3. Mass spectrum of CI toxins detected in imported shellfish.

산 홍합에서 80.42 ng/kg으로 가장 높은 농도로 검출되었고, 중국산 바지락(*Amygdala philippinarum*)과 대합(*Meretrix lusoria*)에서도 11.29-35.06 ng/kg으로 검출되었다. Otero 등²¹⁾의 연구에 의하면, 칠레산 홍합인 *Mytilus chilensis*에서 PnTX G가 5.2 ug/kg, Tawera gayi에서는 4.33-10.88 ug/kg의 농도로 검출되었다고 보고하였다. 칠레 남부 Magallanes 해안에서 독성 미세조류 *Vulcanodinium rugosum*의 존재 가능성이 보였고, 이 종은 PnTX G를 생산하는 것으로 알려져 있다. 이 지역에서 2021년과 2022년도에 고농도의 PnTX G가 검출되었고, 그 농도는 15-100 ug/kg에 이른다고 보고하였다²⁴⁾. 또한 중국 광둥지역에서 1990년도에 키조개인 *Pinna attenuata* 종에서 PnTX 류의 유도체가 발견되었고, 그 이후 PnTX H와 G가 검출된 보고도 있다²⁵⁾.

GYM A는 21개의 시료 중 총 3개의 시료에서 검출되었다. 중국산 바지락에서 88.68 ng/kg, 가리비에서 30.32 ng/kg, 뉴질랜드 홍합에서는 118.79 ng/kg으로 3개의 시료 중 가장 높은 농도가 검출되었다. 뉴질랜드에서 연구된 바에 따르면, 1993년부터 1999년까지 217개의 시료 중에서 155개의 시료에서 GYM A가 검출되었고 최저 14.8에서 최고 23,400 ug/kg의 범위로 확인되었다⁶⁾. 중국에서 보고한 GYM A 관련 연구에 따르면, *Antigona lamellais*, *Atrina pectinata*, *Crassostrea sp.*, *Batillaria zonalis* 종에서 GYM A가 각각 382, 99, 42, 55 nmol/kg으로 검출되었다고 보고하였으며²⁶⁾, 남중국해에서 채취한 패류에서 1.16-211.47 ug/kg 정도로 고농도의 GYM A가 자주 검출된다고 보고하였다²⁷⁾. 13-desMe SPX C (13-desmethyl spirolide C)의 경우, 21개 시료 중에서 6개의 시료에서 검출되었으며(중국산 5건, 뉴질랜드산 1건), 표준물질과 같은 retention time (RT)에서 뚜렷한 peak가 관찰되었다. 뉴질랜드산 홍합에서 227.84 ng/kg로 가장 높은 농도로 검출되었으며, 중국산 바지락, 홍합, 대합에서도 25.72-40.71 ng/kg 범위로 검출되었다. 뉴질랜드산 초록입홍합(*Perna canaliculus*)에서는 85.6-97.9 ug/kg로 검출되었으며²¹⁾, 스페인에서 수집된 1900개의 시료 6%에서 13-desmethyl SPX C가 최대 1.2-6.9 ug/kg 검출되었다²²⁾. 우리나라에 수입된 패류에서 PnTX G와 GYM A, 13-desMe SPX C가 검출된 이유는 수입된 국가의 연안에서 지속적인 독소 발생과 관련이 있을 수 있다. 본 연구를 통해서 한국에 수입되는 패류에서 미관리 신규 독소인 CI 독소 7종 중에서 PnTX G, GYM A 그리고 13-desmethyl SPX C가 검출되었다. 이들 독소는 뉴질랜드와 칠레에서 수입된 패류에서 비교적 높은 농도로 발견되었으며, 이는 한국에서도 신규독소에 대한 관리가 필요함을 시사한다. 이를 위해서 정부 차원의 규제와 관리 방안을 마련하고, 수입 해산물에 대한 정기적인 모니터링이 필수적이라고 할 수 있다. 더불어 CI 독소에 대한 추가 연구를 통하여 발생 원인 종과 독성 작용 메커니즘을 명확히 규명하는 연구를 수행하여 효과적인 관리 방안을 마련하는 것이 중요하다.

Acknowledgments

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

국문요약

이 연구는 신경독성을 나타내는 cyclic imine (CI) 독소의 한국 내 수입되는 패류 내의 오염 수준을 분석한 것으로, LC/MS/MS를 통해서 spirolide, pinnatoxin, gymnodimine 유도체 7종을 대상으로 분석하였다. 총 21개의 수입산 패류를 수집하여 분석한 결과, 뉴질랜드산 홍합에서 SPX C가 227.84 ppt, 칠레산 홍합에서 PnTX G가 80.42 ppt, 뉴질랜드산 홍합에서 Gym A가 118.79 ppt로 검출되었다. 이러한 결과는 수입산 패류에서 CI 독소가 초래할 잠재적인 위협의 가능성을 나타내며, 소비자 건강 보호를 위하여 지속적인 모니터링의 필요성을 시사한다. 또한 이러한 독소가 포함된 패류 제품에 대한 규제 조치의 시행이 필요함을 시사하며, 이를 보다 잘 이해하고 관리하기 위한 지속적인 연구가 필요하다.

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
Changsun Choi	https://orcid.org/0000-0001-7730-8538
Hyun Joo An	https://orcid.org/0000-0001-5847-7483
You Jin Jeon	https://orcid.org/0000-0003-3299-7266

References

- Harnedy, P.A., FitzGerald, R.J., Bioactive peptides from marine processing waste and shellfish: a review. *J. Funct. Foods*, **4**, 6-24 (2012).
- Gerssen, A., Pol-Hofstad, I.E., Poelman, M., Mulder, P.P.J., Van den Top, H.J., de Boer, J., Marine toxins: chemistry, toxicity, occurrence and detection, with special reference to the dutch situation. *Toxins*, **2**, 878-904 (2010).
- Mafra, L.L., de Souza, D.A., Menezes, M., Schramm, M.A., Hoff, R., Marine biotoxins: latest advances and challenges toward seafood safety, using Brazil as a case study. *Curr. Opin. Food Sci.*, **53**, 101078 (2023).
- Otero, A., Chapela, M.J., Atanassova, M., Vieites, J.M.,

- Cabado, A.G., Cyclic imines: chemistry and mechanism of action: a review. *Chem. Res. Toxicol.*, **24**, 1817-29 (2011).
5. Sarah, C., Finch, D., Harwood, T., Boundy, M.J., Selwood A.I., A review of cyclic imines in shellfish: worldwide occurrence, toxicity and assessment of the risk to consumers. *Mar. Drugs*, **22**, 129 (2024).
 6. Stirling, D.J., Survey of historical New Zealand shellfish samples for accumulation of gymnodimine. *New Zeal. J. Mar. Freshw. Res.*, **35**, 851-857 (2001).
 7. McCarron, P., Wright, E., Quilliam, M.A., Liquid chromatography/mass spectrometry of domoic acid and lipophilic shellfish toxins with selected reaction monitoring and optional confirmation by library searching of product ion spectra. *J. AOAC Int.*, **97**, 316-324 (2019).
 8. Bacchiocchi, S., Siracusa, M., Campacci, D., Ciriacci, M., Dubbini, A., Tavoloni, T., Stramenga, A., Gorbi, S., Pier-santi, A., Cyclic imines (Cis) in mussels from north-central adriatic sea: first evidence of gymnodimine a in Italy. *Toxins*, **12**, 370 (2020).
 9. Gill, S., Murphy, M., Clausen, J., Richard, D., Quilliam, M., MacKinnon, S., LaBlanc, P., Mueller, R., Pulido, O., Neural injury biomarkers of novel shellfish toxins, spirolides: a pilot study using immunochemical and transcriptional analysis. *Neurotoxicology*, **24**, 593-604 (2003).
 10. Sleno, L., Chalmers, M.J., Volmer, D.A., Structural study of spirolide marine toxins by mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.*, **378**, 977-86 (2004).
 11. Aasen, J.A., Hardstaff, W., Aune, T., Quilliam, M.A., Discovery of fatty acid ester metabolites of spirolide toxins in mussels from Norway using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid. Commun. Mass. Spectrom.*, **20**, 1531-1537 (2006).
 12. Aasen, J., MacKinnon, S.L., LeBlanc, P., Walter, J.A., Hovgaard, P., Aune, T., Quilliam, M.A., Detection and identification of spirolides in Norwegian shellfish and plankton. *Chem. Res. Toxicol.*, **18**, 509-15 (2005).
 13. Otero, P., Alfonso, A., Rodríguez, P., Rubiolo, J.A., Cifuentes, J.M., Bermúdez, R., Vieytes, M.R., Botana, L.M., Pharmacokinetic and toxicological data of spirolides after oral and intraperitoneal administration. *Food Chem. Toxicol.*, **50**, 232-237 (2012).
 14. Richard, E.A.D., Cembella, A., Quilliam, M., Investigations into the toxicology and pharmacology of spirolides, a novel group of shellfish toxins, in Proceedings of the ninth international conference on harmful algal blooms, pp. 383-386 (2000).
 15. EFSA panel on contaminants in the food chain (CONTAM), Scientific opinion on marine biotoxins in shellfish – cyclic imines (spirolides, gymnodimines, pinnatoxins and pteriattoxins). *EFSA J.*, **8**, 1628 (2010).
 16. Rhodes, L., Smith, K., Selwood, A., McNabb, P., van Ginkel, R., Holland, P., Munday, R., Production of pinnatoxins by a peridinoid dinoflagellate isolated from Northland, New Zealand. *Harmful Algae*, **9**, 384-389 (2010).
 17. Selwood, A.I., Miles, C.O., Wilkins, A.L., van Ginkel, R., Munday, R., Rise, F., McNabb, P., Isolation, structural determination and acute toxicity of pinnatoxins E, F and G. *J. Agr. Food Chem.*, **58**, 6532-6542 (2010).
 18. Munday, R., Towers, N.R., Mackenzie, L., Beuzenberg, V., Holland, P.T., Miles, C.O., Acute toxicity of gymnodimine to mice. *Toxicon*, **44**, 173-178 (2004).
 19. Rhodes, L., Smith, K., Selwood, A., McNabb, P., Molenaar, S., Munday, R., Wilkinson, C., Hallegraef, G., Production of pinnatoxins E, F and G by scrippsielloid dinoflagellates isolated from franklin harbour, South Australia. *New Zeal. J. Mar. Freshw. Res.*, **45**, 703-709 (2011).
 20. Takada, N., Umemura, N., Suenaga, K., Uemura, D., Structural determination of pteriattoxins a, B and C, extremely potent toxins from the bivalve pteria penguin. *Tetrahedron. Lett.*, **42**, 3495-3497 (2001b).
 21. Otero, P., Vale, C., Boente-Juncal, A., Costas, C., Louzao, M.C., Botana, L.M., Detection of cyclic imine toxins in dietary supplements of green lipped mussels (*Perna canaliculus*) and in shellfish mytilus chilensis. *Toxins*, **12**, 613 (2020).
 22. Moreiras, G., Leão, J.M., Gago-Martínez, A., Analysis of cyclic imines in mussels (*mytilus galloprovincialis*) from Galicia (Nw Spain) by Lc-Ms/Ms. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **17**, 281 (2020).
 23. Seo, N., Jo, H.Y., Lee, S.G., Kim, H.J., Oh, M.J., Kim, Y.S., Ro, S., Jeon, Y.J., An, H.J., An enhanced Lc-Mrm-Ms platform for sensitive and simultaneous quantification of cyclic imines in shellfish. *J. Chromatogr. B*, **1229**, 123883 (2023).
 24. Norambuena, L., Mardones, J.I., Emerging phycotoxins in the Chilean coast: first localized detection of the neurotoxic cyclic imine pinnatoxin-G in shellfish banks. *Mar. Pollut. Bull.*, **190**, 114878 (2023).
 25. Cangini, M., Dall'Ara, S., Rubini, S., Bertasi, B., Rizzi, P., Dell'Orfano, G., Milandri, S., Manfredini, S., Baldini, E., Vertuani, S., First report of Pinnatoxin-G (Pntx-G) in a marine-coastal area of the Adriatic sea associated with the presence of the dinoflagellate *vulcanodinium rugosum*. *Mar. Drugs*, **22**, 122 (2024).
 26. Ji, Y., Che, Y., Wright, E.J., McCarron, P., Hess, P., Li, A., Fatty acid ester metabolites of gymnodimine in shellfish collected from China and in mussels (*mytilus galloprovincialis*) exposed to *karenia selliformis*. *Harmful Algae*, **92**, 101774 (2020).
 27. Ji, Y., Hu, Y., Song, J.L., Chen, H.D., Li, A.F., Characteristics of components and regional distribution of lipophilic shellfish toxins in bivalves cultured along the Chinese coast in spring. *Chinese Fishery Quality and Standards*, **8**, 15-24 (2018).