Printed in the Republic of Korea
ANALYTICAL SCIENCE & TECHNOLOGY
Vol. 28, No. 3, 168-174, 2015
http://dx.doi.org/10.5806/AST.2015.28.3.168

Comparison of strip analysis and HPLC analysis for the quantitative analysis of cyanobacterial toxin

Dongjin Pyo★ and Miyeon Yim

Department of chemistry, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

(Received May 14, 2015; Revised May 20, 2015; Accepted May, 20, 2015)

남조류 독소 정량을 위한 스트립분석법과 HPLC 분석법의 비교

표동진★ · 임미연

강원대학교 자연과학대학 화학과

(2015. 5. 14. 접수, 2015. 5. 20. 수정, 2015. 5. 20. 승인)

Abstract: Cyanobacterial toxins, such as microcystins, which exist in Korean lakes, are strongly toxic in fish, cattle, and humans. This study performs a quantitative analysis of cyanobacterial toxins in water by comparing the strip method and the HPLC method. Because the detection ranges of the strip method and the HPLC method are different, the water samples were diluted. The comparison of the strip method and the HPLC method was made using seven samples that contained different concentrations of microcystin. The quantitative results produced by the strip analysis were significantly aligned with the results of the HPLC analysis. The results of correlation analysis were r = 0.99998 and p = 0.00001.

요 약: 남조류 독소인 마이크로시스틴은 여름철 우리나라 여러 호수들에 존재하여 물고기와 가축 그리고 인간에게 강한 독성을 나타내는 독소이다. 본 논문에서는 이러한 수중 남조류 독소, 마이크로시스틴을 정량분석하는 두가지 방법, 즉 고성능 액체크로마토그래피(HPLC) 분석법과 최근 우리 실험실에서 개발한 스트립분석법의 비교를 시도하였다. 두 분석법의 측정가능농도범위가 많이 달라 HPLC 법으로 먼저 측정한 후 시료를 물로 희석시켜 스트립분석법에 적용하였다. 서로 다른 농도의 마이크로시스틴을 함유한 7가지 물시료들을 사용하여 HPLC분석법과 스트립 분석법으로 남조류 독소 총량을 측정하였다. 그 결과 두 분석법의 정량측정결과가 매우 잘 일치하는 것을 볼 수 있었다. 두 분석법의 상관분석 결과 r 값은 0.99998 이었으며 통계적인 유의성을 나타내는 p 값은 0.00001 이었다.

Key words: cyanobacterial toxin, microcystin, strip, HPLC

★ Corresponding author
Phone : +82-(0)33-250-8491 Fax : +82-(0)33-259-5667
E-mail : pyod@kangwon.ac.kr

This is an open access article 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.

1. 서 론

최근 우리나라 여름철에 부영양화된 호소나 유속이 느린 하천에서 남조류가 대량증식하여 수면에 집적하여 물색을 현저하게 녹색으로 변화시키는 현상이 발생하고 있다. 이러한 현상을 녹조(綠潮)현상(green tide) 이라고 하는데 실제 녹조현상을 일으키는 원인 조류들은 대부분 남조류이다.

남조류가 다른 조류에 비해 부영양화된 수역에서 우점하여 녹조현상을 일으키는 것은 남조류가 가지고 있는 여러 가지 특성들 때문이다. 남조류는 다른 조류에 비해 여름철에 수온이 높아져 다른 조류가 증식할 수 없는 환경에서도 빠르게 증식하는 특성을 가지고 있다. 남조류 세포는 크기가 매우 작지만 일반적으로 자연환경 중에서는 수천 수만개의 세포가 점액성 물질에 싸여 서로 뭉쳐져 군체를 형성하고 있다. 남조류는 이런 군체을 형성함으로 해서 동물성플랑크톤에 의한 먹이사슬을 피할 수 있으며, 그 결과 다른 조류들에 비해 우점하여 증식할 수 있다.

여름철에 이러한 남조류 이상번식은 음용수에서 불쾌한 맛과 냄새를 유발시키며 더욱 심각한 것은 물고기와 가축 그리고 인간에게 강한 독성을 나타내는 독특한 독성물질을 발생시킨다는 사실이다.

유독한 남조류의 출현은 1870년대에 오스트레일리아에서 일어났던 *Nodularia*에 의한 동물의 죽음에서 최초로 보고되었고[1] 이 후 미국, 캐나다, 영국 등 많은 나라에서도 동물에 대한 피해가 보고된 바 있다.[2]

독성물질을 발생시키는 남조류중 세계적으로 가장 먼저 알려진 종은 *Microcystis aeruginosa*이었다. 이 종에 의한 동물의 피해는 이미 1940년대에 나타났고, 피해가 일어난 지역도 미국, 영국, 오스트레일리아 등 넓은 지역에 분포한다. 또 피해 동물도 소, 말, 코뿔소 등 대형동물부터 소형동물에 이르기까지 다양하다.[3]

지금까지 알려진 20 여 가지층의 마이크로시스템은 모두 공통된 구조적인 특징을 가지고 있다. 이러한 특징들로는 모두가 7 개의 펩타이드(peptide)가 고리를 이룬 형태를 취하고 있으며 그 기본적인 구조는 γ-linked *D*-glutamicacid(Glu), *N*-methylde-hydroalanine (Mdha), 하나의 β-aminoacid, 3-amino-9-methoxy-10-phenyl-2,3,8-trimethyldeca-4,6-dienoicacid(Adda) 그리고 두 개의 L-amino acids로 구성되어 있다. Nodularin은 마이크로시스틴과 구조가 비슷하나 5 개의 펩타이드가 고리를 이루고 있는 점이 다르다고 할 수 있다. *Fig.* 1은 대표적인 남조류 독성물질인 Mirocystin LR의 화학적 구조

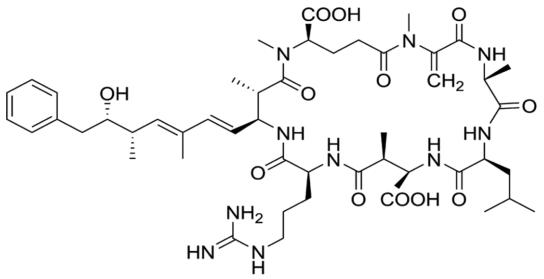

Fig. 1. Chemical structure of microcystin LR.

를 보여준다.

세계적으로 남조류 독소, 마이크로시스틴을 정량분석하는 방법에는 크게 두가지의 방법이 사용되고 있다. 하나는 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC) 분석법이고 다른 하나는 면역학적 분석법이다. HPLC는 미세한 입자들로 충전된 컬럼을 통해 높은 압력으로 용매를 흘려주어 물질을 분리하는 분석법이다. HPLC에 가장 많이 사용되는 고정상은 구형의 미공성 입자(microporous particle) 실리카로서, 실리카 1 g당 표면적이 수백 m^2이다. 컬럼의 손상을 막고 검출기의 바탕신호를 줄이기 위해서 용매는 매우 순수한 HPLC용 용매를 사용한다.

이러한 HPLC[4,5]를 이용하는 방법은 현재 마이크로시스틴의 측정, 검출에 가장 많이 이용되는 방법이다. HPLC를 이용한 마이크로시스틴의 분리, 검출에 대표적인 것은 Lawton[6] 등이 개발한 HPLC-PDA법이다. ODS 컬럼을 사용하기 때문에 역상 크로마토그래피 방법의 일종이며 마이크로시스틴의 성분 분리에 가장 유용한 방법으로 알려져 있다. 요즘 가장 많이 사용되는 HPLC 분석법은 역상 고성능 액체 크로마토그래피(reversed-phase high performance liquid chromatography)와 자외선(UV)검출기를 함께 사용하여 검출하는 방법이다.[7-10]

Harada[11] 등은 Nucleosil C_{18} 컬럼과 메탄올: 0.05% TFA 수용액을 이동상으로 하여 6:4의 비율로 분당 1 mL씩 흘려주며 마이크로시스틴을 HPLC로 분석하였다. Namikoshi[12] 등은 (300 mm×347 mm I.D.) 크기의 Bondapack C_{18}(55-105 mm) 컬럼을 사용하는 HPLC 방법으로 사용하였다. Cremer와 그의 동료들[13,14]은 silica로부터 유래한 C_2와 C_{18} (15 μm particle size)를 고정상으로 충진한 PepRPC HR 16/10 컬럼을 사용하여 마이크로시스틴-LR 혼합물을 분리, 정제하였다. 기울기 용리(gradients)와 이온쌍 시약 (ion pair reagents)을 사용하면 분리도를 증진시킬 수 있음을 확인하였

다. Craig[15] 등은 분석용 컬럼 대신 Vydac C_{18} column을 고정상으로 이용하고 0.1% trifluoroacetic acid (TFA)가 포함된 acetonitrile과 0.1% TFA가 포함된 물을 이동상으로 하여 20 분 동안 acetonitrile을 35%까지 되도록 하고, 이후 40 분 동안 acetonitrile의 비율을 100%가 되도록 기울기 용리로 실험을 진행하였다.

다수의 논문에서 등용매 용리(isocratic methods)를 이용해 마이크로시스틴을 측정하였다. Azevedo[16]등은 semipreparative HPLC (Bondapack C_{18}, 300 mm×19 mm I.D., 15-20 μm particle size)로 브라질의 Microcystis aeroginosa내의 남조류독소를 분리하였다.

면역학적 분석법은 항원, 항체를 이용하는 분석법이다. 면역학적 분석법은 분석감도가 좋기 때문에 독성성분이 극미량 포함되어 있을 때 적합한 정량방법이다. 면역 친화 크로마토그래피를 비롯하여 다른 면역 화학을 기반으로 분석 방법들은 유기 용매를 사용하지 않으면서 독성 성분을 분리, 정제할 수 있다. 마이크로시스틴은 분자량이 1000 Da 정도로 낮아 항원성이 없으므로 단백질 결합체를 만들어 면역원으로 이용한다. 1986년 최초로 마이크로시스틴에 대한 단일클론항체는 Kfir[17]등에 의해 만들어졌다. 1989년 Chu[18] 등은 마이크로시스틴-BSA conjugate를 토끼에 주입하여 다 클론 항체(polyclonal antibodies)를 얻는데 성공하였다. 이후 Chu[19] 등은 1990년에 간접경합법 면역분석법을 통해 야외 물시료속의 마이크로시스틴을 정량측정하였다.

이후 여러 과학자들(Weller *et al*.,[20] Zeck *et al*.,[21,22] Lindner *et al*.[23])은 마이크로시스틴-LR에 대한 단일클론항체(monoclonal antibodies)로부터 항원인 마이크로시스틴을 고감도로 측정하는 연구를 시행하였다.

또한 마이크로시스틴의 항체를 이용하여 효소면역흡착분석법(EIA), 방사 면역 측정법(RIA), 면역친화 크로마토그래피 (Immunoaffinity chromatography) 등의 다양한 측정법들이 개발되었다.[24,25]

이러한 배경하에서 최근 저희 실험실에서 마이크로시스틴의 단일클론항체를 사용하여 수중 마이크로시스틴을 간편하고 빠르게 미량 측정할 수 있는 면역학적 분석법의 일종인 스트립분석법[26]을 개발하였으며, 본 논문에서는 이러한 스트립 분석법과 HPLC 분석법과의 비교를 시도하였다.

2. 실 험

2.1. 시약 및 재료

실험에 사용한 메탄올, acetonitrile 등의 용매는 HPLC 등급의 용매를 사용하였으며 Aldrich(Milwaukee, WI) 사로부터 구입하였다. 마이크로시스틴 RR, LR 표준품은 Enzo(Lausen, Switzerland) 사로부터 구입하여 사용하였다. Streptavidin, biotin은 Kem-En-Tec(Copenhagen, Denmark) 사로부터 구입하였다. 7 가지의 물시료는 본 실험실의 남조류배양용기에서 얻었으며, 여기에는 마이크로시스틴 RR과 마이크로시스틴 LR이 각각 상당량 포함되어 있다.

2.2. 분석방법

2.2.1. HPLC 분석법

물시료중의 남조류독소, 마이크로시스틴을 HPLC로 분석하기 위해서는 먼저 시료중의 마이크로시스틴을 추출하는 것이 필요하다. 마이크로시스틴은 5% 초산수로 추출할 때 추출효율이 좋으며, 남조류에 존재하는 색소류는 거의 추출되지 않는 장점이 있다. 그후 가능한한 불순물을 제거하고 목적물을 농축하기 위해 ODS(octadecyl silica) 카트리지를 이용한다. 5% 초산수로 추출한 용액을 ODS 카트리지에 가한 다음에 불필요한 성분을 제거하기 위해 20% 메탄올수로 세정한다. 이때 마이크로시스틴이 함께 유출되지 않도록 조심해야 한다. 그 다음, 마이크로시스틴을 90% 메탄올로 용출한다. 이렇게 용출된 용액은 역상형태의 HPLC를 사용하여 분석하게 된다. 사용한 HPLC 기기는 Jasco PU-980 이었다. 컬럼은 Waters Spherisorb S5 ODS2 4.6×150 mm을 사용하였고, 검출기는 Jasco UV-2075, 238 nm를 사용하였다. 이동상은 [methanol+acetonitrile] : 0.025M phosphate buffer(pH 2.9) = 44:56을 사용하였고, Flow rate 는 1.0 mL/min, Injection loop 는 10 μL 이었다. *Fig.* 2는 마이크로시스틴 RR과 LR의 표준용액을 HPLC로 측정한 크로마토그램이다.

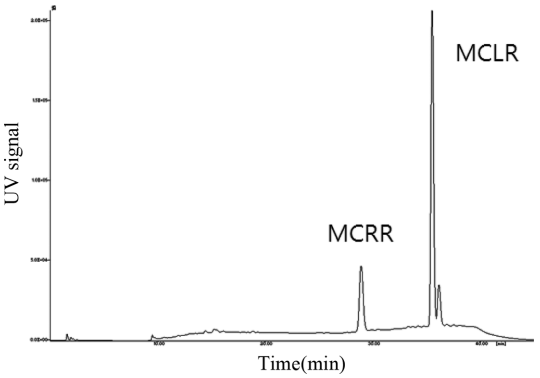

Fig. 2. HPLC chromatogram of standard microcystin RR and LR.

Table 1. Comparison of HPLC and strip analysis for seven water samples. Standard deviations are calculated based on triplicate experiments

Sample	HPLC [μg/mL]			Dilution Ratio	Strip Analysis [μg/mL]
	MCRR	MCLR	Total MC's		
1	9.900±0.0116	19.39±0.04	29.29	10,000	29.92±0.05
2	10.90±0.04	21.14±0.11	32.04	8,000	31.36±0.08
3	11.16±0.09	26.53±0.10	37.69	8,000	38.80±0.06
4	41.19±0.15	23.69±0.15	64.88	55,000	63.25±0.18
5	28.52±0.10	109.9±0.1	138.4	140,000	138.6±0.2
6	150.4±0.2	310.4±0.2	460.8	140,000	446.6±1.5
7	58.89±0.16	1258±2	1317	800,000	1296±6

2.2.2. 스트립 분석법

스트립 분석법을 이용하여 남조류독소를 정량하기 위해서는 남조류독소인 마이크로시스틴의 항체가 필요한데 이러한 항체개발은 마이크로시스틴-BSA 결합체를 실험용 쥐에 주사시켜 생체내에서 항체가 생성되도록 하는 방법을 통하여 이루어졌다. 태어난지 6-8주 되는 쥐에게 3-4 주 간격으로 4-5 차례 마이크로시스틴-BSA 결합체를 주입시키 후 쥐의 혈액으로부터 마이크로시스틴 항체를 분리해내었다.

스트립분석법에서 사용한 스트립은 샘플 받침대, 니트로셀룰로스 막, 흡수패드 세 부분으로 나누어져 구성되어 있는데 샘플패드는 유리 섬유로 되어있어 투입구로 들어온 시료가 NC 막까지 도달할 수 있게 한다. 니트로셀룰로스 막에는 기준선과 시험선이 그어져 있는데 기준선에는 스트렙트아비딘(streptavidin)이 고정되어있고 시험선에는 마이크로시스틴-BSA 결합체가 고정되어 있다.

물시료에다 형광으로 표지된 마이크로시스틴 항체를 섞어주고 섞어진 용액을 스트립위에 적하시킨다. 적하된 물시료는 크로마토그래피 매질을 통해 이동하게되고,물시료에 함유된 마이크로시스틴과 니트로셀룰로스 전개막상에 고정된 마이크로시스틴-BSA 결합체와 경쟁 반응을 한다. 만약 시료에 마이크로시스틴의 양이 많으면 고정된 시험선에 포획되는 형광의 양이 적어지고 반대로 시료내에 마이크로시스틴의 양이 적으면 포획되는 형광 표지자의 양은 증가한다. 이러한 이유는 시료에 마이크로시스틴의 농도가 높을수록 검출용액속에 있는 마이크로시스틴 항체와 많이 결합하여 시험선의 마이크로시스틴-BSA와 결합할 확률이 줄어든다. 이렇게 주입된 물시료는 막을 따라 전개되어 흡수받침대까지 이르게 된다. 흡수받침대는 샘플받침대로부터 막을 지나는 시간동안 지속적인 유속을 유지시켜 주게 된다. 시료가 주입된 스트립은 형광측정기(Boditech Med., Chunchon, Korea)에 의해 형광값이 측정된다.

2.3. 시료 분석

스트립 분석법과 HPLC 분석법을 비교하기 위해 7가지의 서로 다른 물시료를 가지고 정량분석 실험을 진행하였다. HPLC 분석법은 ODS 카트리지를 통과시킨 후 별도의 농축과정 없이 컬럼에 주입하였으며, 스트립 분석법은 측정가능 농도범위가 HPLC에 비해 현저히 낮아 물시료를 희석하여 사용하였다. 시료 1은 10,000 배, 시료 2,3은 8,000 배, 시료 4는 55,000배, 시료 5,6은 140,000 배, 시료 7은 800,000 배로 희석하여 사용하였다. 두 분석법을 이용한 측정결과치들은 3 번의 측정실험을 통하여 얻어졌으며 평균값과 표준편차를 *Table* 1에 나타내었다.

3. 결과 및 고찰

본 연구에서는 스트립 분석법과 HPLC 분석법을 비교하기 위하여 7 가지의 물시료를 가지고 정량분석 실험을 진행하였다. 7 가지 물시료에는 마이크로시스틴 RR과 마이크로시스틴 LR이 각각 포함되어 있다. 스트립 분석법과 HPLC 분석법은 측정가능 농도범위가 각각 0.2-5.0 ng/mL, 0.5-5000 μg/mL이다. 따라서 시료의 농축이나 희석없이 두가지 방법을 직접비교하는 것은 불가능하기에 본 논문에서는우선 시료의 농축이나 희석없이 HPLC 분석법을 사용하여 7 가지 물시료들에 포함된 남조류독소를 정량하고 그 뒤 7 가지 물시료들을 일정 비율로 희석하여 스트립분석법을 시행하였다.

남조류독소인 마이크로시스틴을 정량분석하는데 현

재까지 가장 많이 이용되는 것이 HPLC인데 마이크로시스틴 화학적 구조에서 벤젠고리와 이중결합부분의 소수성을 이용하여 ODS 실리카겔을 이용한 역상형태의 HPLC 분석법이 효과적이다. 이동상으로는 methanol-trifluoro acetic acid, methanol-sodium sulfate, methanol-phosphate buffer, [methanol+acetonitrile]-phosphate buffer 등이 시도 되었는데 마지막 조합이 가장 효과적이어서 이를 사용하였다. *Fig.* 3은[methanol+acetonitrile]-phosphate buffer를 이동상으로 사용하여 시료들을 HPLC로 분석한 HPLC 크로마토그램들중 대표적인 4개의 크로마토그램들이다. *Fig.* 3을 보면 마이크로시스틴 RR이 마이크로시스틴 LR보다 소수성이 낮기 때문에 먼저 용출되는 것을 볼 수 있고 측정된 결과는 마이크로시스틴 RR의 경우 9.90 μg/mL-150.41 μg/mL 범위에 걸쳐 측정되었으며 마이크로시스틴 LR의 경우 19.39 μg/mL-1258.17 μg/mL 범위에 걸쳐 측정되었다. *Fig.* 3의 마이크로시스틴 RR과 마이크로시스틴 LR 봉우리들은 각각 마이크로시스틴 RR, LR 표준물질과 봉우리 넓이를 비교하여 정량하였다.

남조류독소를 HPLC를 사용하여 정량할 때의 가장 큰 장점은 마이크로시스틴의 종류별로 개별정량이 가능하다는 점이다. 본 실험에서도 시료 1이나 시료 6의 경우는 마이크로시스틴 LR의 농도가 마이크로시스틴 RR의 농도보다 2 배이상 높은 반면, 시료 4의 경우는 마이크로시스틴 LR의 농도가 마이크로시스틴 RR의 농도보다 낮은 것을 볼 수 있다. 이러한 개별정량은 면역학적 분석법인 스트립분석법을 사용할 때는 얻을 수 없는 귀한 정보이다.

위의 HPLC에서 사용한 물시료들을 스트립분석법으로 분석하기 위해서 시료들을 8,000 배-800,000 배로 희석시켜 사용하였다. 이 이유는 남조류독소 마이크로시스틴을 정량분석할 때스트립 분석법의 정량측정범위가 0.2-5.0 ng/mL이기 때문이다. 또한 항원-항체 반응을 이용하는 스트립분석법은 마이크로시스틴 RR과 마이크로시스틴 LR 각각을 정량할 수 없고, 전체 마이크로시스틴 양만을 측정할 수 있다. 스트립에는 시험선과 기준선 두선이 그어져 있으며 스트립 입구에 시료가 적하되는 장소가 있는데 여기에 적정배율로 희석된 물시료를 적하시킨다. 시험선에는 마이크로시스틴-BSA 결합체가 분주되어 있고, 기준선에는 Streptoavidin이 분주되어 있다. 적정배율로 희석된 물시료에 검출용액(마이크로시스틴 항체-형광물질 결합체와 Biotin-BSA-형광물질 결합체가 들어있음)을 가하여 스트립에 적하시키면 물시료는 크로마토그래피 작용으로 시험선과 기준선을 통과하게 되며 물시료에 포함된 마이크로시스틴의 농도에 따라 시험선에서 얻어지는 형광값이 달라진다. 7 가지 물시료에 대해 스

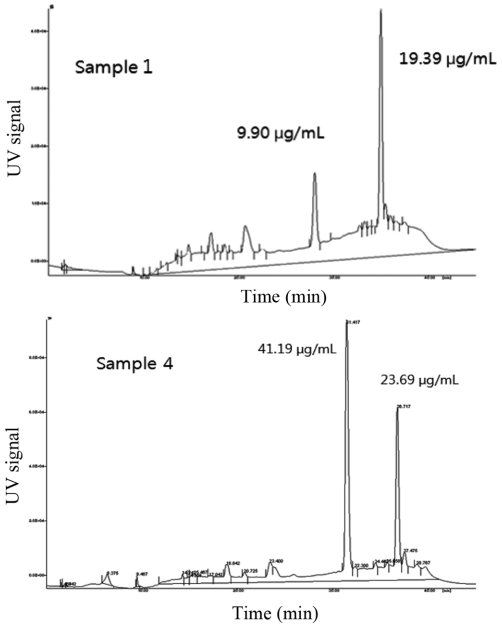

Fig. 3. HPLC chromatograms of water samples.

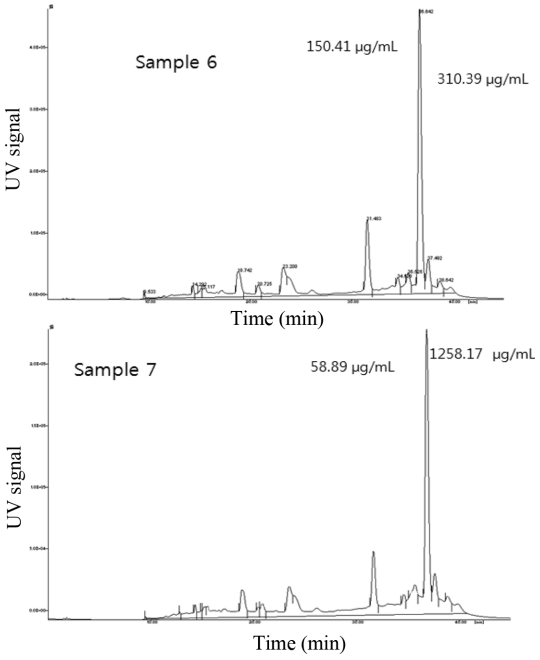

Fig. 4. Schematic diagram of the strip analysis for the detection of microcystin.

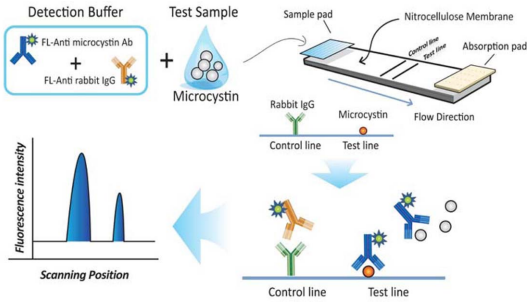

Fig. 4. Schematic diagram of the strip analysis for the detection of microcystin.

트립의 시험선과 기준선에서 얻어지는 형광값 면적을 비교함으로서 시료에 포함된 전체 마이크로시스틴을 정량하였다(*Fig.* 4).

스트립 분석법을 사용할 경우 분석시간을 크게 줄일 수 있다는 장점이 있다. HPLC로 분석할 경우 분석시간이 2-4 시간 정도 걸리지만 스트립 분석은 약 30 분정도 소요된다. 따라서 환경시료의 특성상 현장에서 실시간으로 남조류독소를 측정해야 할 경우에는 스트립분석법이 훨씬 유리한 분석방법이라고 말할 수 있다. 스트립 분석법의 또다른 장점은 측정방법이 간편해서, 전문가가 아닌 일반인도 누구나 다 쉽게 사용할 수 있다는 점이다.

이렇게 다른 농도의 마이크로시스틴을 함유한 7가지 물시료를 각각 HPLC 분석법과 스트립분석법으로 정량분석을 시행하였다. 그 결과는 *Table* 1에 나타내었다. *Table* 1을 보면 시료 1에 대해서 HPLC 분석법으로는 29.29 μg/mL 스트립분석법으로는 29.92 μg/mL이 얻어졌고, 시료 2에 대해서 HPLC 분석법으로는 32.04 μg/mL 스트립분석법으로는 31.36 μg/mL이 얻어졌고, 시료 3에 대해서 HPLC 분석법으로는 37.69 μg/mL 스트립분석법으로는 38.80 μg/mL이 얻어졌으며, 시료 7에 대해서는 HPLC 분석법으로는 1317 μg/mL 스트립분석법으로는 1296 μg/mL이 얻어졌다. 이러한 두 개의 서로 다른 분석법으로 측정한 측정치들을 상관분석을 통하여 통계분석한 결과 r 값은 0.99998, 통계적인 유의성인 p 값은 0.00001로 얻어졌다. 이는 스트립 분석법과 HPLC 분석법간의 일치도가 매우 높다는 것을 보여주는 것이다.

4. 결 론

본 연구에서는 7 가지의 물시료를 가지고 스트립 분석법과 HPLC 분석법을 각각 시행하여 정량분석 실험결과를 비교하였다. 7 가지 물시료에는 마이크로시스틴 RR과 마이크로시스틴 LR이 각각 포함되어 있었다. 스트립 분석법과 HPLC 분석법은 측정가능 농도 범위가 각각 0.2-5.0 ng/mL, 0.5-5000 μg/mL 이어서 시료의 농축이나 희석없이 두가지 방법을 직접비교하는 것은 불가능하기에 본 논문에서는먼저 HPLC 분석법을 사용하여 7 가지 물시료들에 포함된 남조류독소를 정량하고 그 뒤 7 가지 물시료들을 일정 비율로 희석하여 스트립분석법을 시행하였다. 정량분석결과 두 분석법이 매우 잘 일치하는 결과를 보여주었으며 이는 저희 실험실에서 개발된 항원-항체 면역크로마토그래피 원리를 이용하여 수중 마이크로시스틴을 간편하고 빠르게 미량 측정할 수 있는 스트립분석법이 현재 세계에서 가장 많이 사용되는 HPLC 분석법과 비교했을 때 거의 같은 정량분석결과를 얻는다는 것을 확인시켜 주었다.

감사의 글

이 논문은 2014년도 강원대학교 학술연구조성비로 연구하였음(과제번호-120140185).

References

1. G. Francis, *Nature(London)*, **18**, 11-12 (1878).
2. M. Schwimmer and D. Schwimmer, 'Medical Aspects of Phycology', p279, D. F. Jackson, Ed., Syracuse Univ., (1968).
3. W. W. Chrmichael and R. S. Saffermann, 'A Status Report on Planktonic Cyanobacteria (Blue-Green Algae) and Their Toxins', EPA/600/R92/079, 1992.
4. K. Berg, W. W. Carmichael, O. M.Skulberg, C. Benestad and B. Underdal, *Hydrobiol*., **144**, 97-103 (1987).
5. K. I. Harada, K. Matsura, M. Suzake, H. Oka, M. F. Watanabe, S. Oishi, A. M. Dahlim, V. R. Beasley and W. W. Carmichael, *J. Chromatogr.*, **448**, 275-283 (1988).
6. L. A. Lawton, C. Edwards and G. A. Codd, *Analyst*, **119**, 1525-1530 (1994).
7. J. Rapala, K. Erkomaa, J. Kukkonen, K. Sivonen and K. Lahti, *Anal. Chim. Acta*, **466**(2), 213-231 (2002).
8. L. N. Sangolkar, S. S. Maske and T. Chakrabarti, *Water Res.*, **40**(19) 3485-3496 (2006).
9. P. P. Shen, Q. Shi, Z. C. Hua, F. X. Kong, Z. G. Wang,

S. X. Zhuang and D. C. Chen, *Environ. Int.*, **29**(5) 641-647 (2003).
10. L. Spoof, K. Karlsson and J. Meriluoto, *J. Chromatogr. A* **909**(2), 225-236 (2001).
11. K.-I. Harada, M. Suzuki, A. M. Dahlem, V. R. Beasley, W. W. Carmichael and K. L. Rinehart, *Toxicon*, **26** 433-439 (1988).
12. M. Namikoshi, K. Sivonen, W. R. Evans, F. Sun, W. W. Carmichael and K. L. Rinehart, *Toxicon*, **30**, 1473-1479 (1992).
13. J. Cremer, H. Meyer and K. Henning, *J. Chromatogr.*, **558**, 430-434 (1991).
14. J. Cremer and K. Henning, *J. Chromatogr.*, **587**, 71-80 (1991).
15. M. Craig, T. L. McCready, H. A. Luu, M. A. Smillie, P. Dubord and C. F. B. Holmes, *Toxicon*, **31**, 1541-1549 (1993).
16. S. M. F. Azevedo, W. R. Evans, W. W. Carmichael and M. Namikoshi, *J. Appl. Phycol.*, **6**, 261-265 (1994).
17. R. Kfir, E. Johannsen and D. P. Botes, *Toxicon*, **6**, 543-522 (1986).
18. F. S. Chu, X. Huang, R. D. Wei and W. W. Carmichael, *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**, 1928-1933 (1989).
19. F. S. Chu, X. Huang and R. D. Wei, *J. Assoc. Anal. Chem.*, **73**, 451-456 (1990).
20. M. G. Weller, A. Zeck, A. Eikenberg, S. Nagata, Y. Ueno and R. Niessner, *Anal. Sci.,* **17**, 1445-1448 (2001).
21. A. Zeck, M. G. Weller, D. Bursill and R. Niessner, *Analyst*, **126**, 2002-2007 (2001).
22. A. Zeck, M. G. Weller and R. Niessner, *Anal. Chem.*, **73**, 5509-5517 (2001).
23. P. Lindner, R. Molz, E. Yacoub-G-George, A. Durkop and H. Wolf, *Anal. Chim. Acta*, **521**, 37-44 (2004).
24. C. T. Bishop, E. F. Anet and P. R. Gorham, *Can. J. Biochem. Physiol.,* **37**, 453-471 (1959).
25. J. A. Meriluoto, A. Sandstrm, J. E. Remand, G. A. Craog and J. Chattopadhyaya, *Toxicon*, **27**, 1021-1034 (1989).
26. D. Pyo, M. Yim and E. Kim, *Anal. Sci. Technol.*, **25**(6), 388-394 (2012).