pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 36, No. 4, pp. 331~341 (2021)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2021.36.4.331

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

DNA Barcode를 이용한 수산가공품 원재료 진위판별

박은지[1] · 강주영[1] · 이한철[1] · 박민지[1] · 양지영[2] · 신지영[2] · 김군도[3] · 김종오[4] · 서용배[4] · 김중범[1]*
[1]순천대학교 식품공학과, [2]부경대학교 식품공학과, [3]부경대학교 미생물학과, [4]부경대학교 해양생명과학연구소

Food Fraud Monitoring of Raw Materials for Commercial Seafood Products Using DNA Barcode Information

Eun-Ji Park[1], Ju-Yeong Kang[1], Han-Cheol Lee[1], Min-Ji Park[1], Ji-Young Yang[2], Ji-Young Shin[2], Gun-Do Kim[3], Jong-Oh Kim[4], Yong-Bae Seo[4], Jung-Beom Kim[1]*
[1]*Department of Food science and Technology, Suncheon National University, Suncheon, Korea*
[2]*Department of Food Science and Technology, Pukyong National University, Busan, Korea*
[3]*Department of Microbioligy Pukyong National University, Busan, Korea*
[4]*Institute of Marine Biotechnology, Pukyong National University, Busan, Korea*

(Received March 8, 2021/Revised May 18, 2021/Accepted July 20, 2021)

ABSTRACT - DNA barcode sequences of commercial seafood products, which are difficult to morphologically discriminate, were analyzed to determine cases of food fraud. The gene sequences were analyzed by amplifying the *COX I* (cytochrome C oxidase subunit I) gene region of mitochondrial DNA, which is mainly used for species identification. The DNA barcode sequences were compared with the gene sequence of each fish registered in the US National Center for Biotechnology. A total of 46 processed seafood products (12 *Pagrus majo*, 4 *Oplegnathus fasciatus*, 7 *Dentex tumifrons*, 2 *Acanthopagrus schlegelii*, 7 *Oreochromis niloticus*, *6 Branchiostegus japonicus*, 8 *Branchiostegus albus*) were investigated. Having DNA sequence identity of more than 97% was judged as the same species. As a result of this study, no cases of forgery and alteration were detected. However, some disparities in the commercial names used in local markets and the standard names given in the Korea Food Code were found, which may cause confusion for consumers. It is therefore suggested that the standard name or scientific name be displayed on seafood product labels.

Key words : Sea Bream, Malacanthidae, DNA barcode, Food fraud, Species identification

생활 수준 향상으로 식생활의 주요급원 식품은 식물성 식품에서 동물성 식품으로 변화하고 있다[1]. 2010년부터 2018년 수산물, 곡류, 육류의 1인당 연간 소비량을 비교해 보면 식물성 식품인 곡류의 소비량은 감소하였으나 수산물과 육류의 소비량은 증가하는 추세를 나타내었다[2]. 수산물 가공 형태도 식생활의 간편화와 다양화를 추구하는 경향에 따라 다양한 형태의 가공식품이 생산, 유통되고 있다[3]. 수산물의 경우 가공 후 형태학적 판별이 어려워 비의도적인 혼입, 원재료명 표기 오류, 저가의 원재료를 고가의 원재료로 허위 표시하는 등 위변조하여 판매하는 부정·불량 식품 사례가 보고되고 있다[4,5].

안전한 먹거리 확보를 위한 부정·불량 식품 판별법으로는 이화학분석법, 단백질분석법, 분자생물분석법 등이 있다[6]. 이화학적 분석법은 식품의 고유 지표 성분을 분석하는 방법으로 liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS), gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) 등이 있다[7]. 이화학분석법은 분석 시간이 짧고, 분석 결과가 명확하다는 장점이 있지만, 지표 성분 분석을 위해 고가의 기기를 사용하여야 하는 단점이 있다[7,8]. 단백질 분석법은 항체를 이용한 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), 단백질의 양쪽성 성질을 이용하여 분리하는 isoelectric focusing

*Correspondence to: Jung-Beom Kim, Department of Food Science and Technology. Suncheon National University, Suncheon 57933, Korea
Tel: +82-61-750-3259, Fax: +82-61-750-3208
E-mail: okjbkim@sunchon.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.

(IEF), 전기 삼투압을 이용해서 분석하는 capillary electrophoresis (CE) 등이 있다[9,10]. 단백질 분석법은 가열, 건조, 분쇄 등의 수산물 가공처리 시 단백질의 물리, 화학적 변화로 위변조를 판별하기에 곤란하다는 단점이 있다[6,11-15]. 분자생물분석법은 유전자 분석을 기반으로 원료를 판별하는 분석법으로 polymerase chain reaction (PCR) 방법 등이 있다. PCR은 특정 유전자를 증폭하여 비교하는 실험법으로 단시간에 다수의 시료를 분석할 수 있다[12,13,16]. 단백질 분석법과 비교 시 가열 처리 등에 안정적인 유전자를 대상으로 하는 PCR 시험법은 가공식품 원재료 판별에 적합하다[17-19]. 최근 식품의 원재료 위변조 판별에 PCR 분석 방법이 널리 사용되고 있다[12-14]. PCR 방법으로는 Conventional PCR, 실시간으로 DNA 증폭량을 확인할 수 있는 Real-time PCR, Ultra fast real-time PCR, DNA barcode 시험법 등이 보고되고 있다[20-24]. Conventional PCR, Real-time PCR, Ultra fast real-time PCR 시험법은 종 특이적 primer를 사용하여 특정 원료를 판별하기에 적합하나, 1회 실험에 1-2종의 특정 원료만을 판별할 수 있어 실험에 많은 노동력과 장시간이 소요되는 단점이 있다. DNA barcode 시험법은 종 특이적 유전자 부분을 PCR 증폭한 후 서열 분석을 통해 종 판별하는 방법으로 단시간에 다수의 수산물 원료를 판별하기에 적합하다. DNA barocode 시험법은 다양한 수산물을 판별하기 위해 U.S. Food and Drug Administration[24]에서 사용하고 있다.

2010년부터 3년간 남해지역 어류 표본 사업결과 농어목(Perciformes)이 169종(47.5%)으로 1위로 보고되었다[25]. 농어목 도미류(Sea Bream)에는 참돔(*Pagrus majo*), 돌돔(*Oplegnathus fasciatus*), 황돔(*Dentex tumifrons*), 감성돔(*Acanthopagrus schlegelii*) 등이 알려져 있으며, 이 중 참돔이 가장 고급 식재료로 소비되고 있다[26,27]. 참돔과 형태학적으로 유사한 황돔, 감성돔을 참돔으로 위변조하여 판매하거나 필렛 형태로 가공했을 경우 판별이 어려운 나일틸라피아(역돔, *Oreochromis niloticus*)를 참돔으로 위변조하여 판매하는 불량 식품 사례가 보고되고 있다[28]. 제주도 특산물로 유명한 옥돔(*Branchiostegus japonicus*)은 농어목 옥돔과(Malacanthidae)로 분류되며 옥돔과 어류는 전 세계적으로 16종이 보고되고 국내에서는 옥돔(*Branchiostegus japonicus*), 옥두어(*Branchiostegus albus*), 황옥돔(*Branchiostegus auratus*), 등흑점옥두어(*Branchiostegus argentatus*) 등 4종이 보고되고 있다[29-31]. 옥돔의 어획량이 감소하여 형태학적으로 유사한 중국산 옥두어가 옥돔으로 위변조 판매되는 사례가 보고되고 있다[11].

따라서 시중 유통 중인 도미와 옥돔에 대한 지속적인 모니터링을 위한 진위판별법이 필요하다 하겠다. 그러나 현재까지의 연구를 살펴보면 참돔과 유사 어종판별을 위한 Multiplex PCR[32], 옥돔과 옥두어 판별을 위한 Multiplex PCR[33], Real-time PCR[11] 등 진위판별에 많은 노동력과 장시간이 소요되는 실험법만 적용되고 단시간에 다수의 수산물 원료를 판별할 수 있는 DNA barcode 시험법은 국외 연구만 보고되고 있다[34]. 따라서 본 연구에서는 DNA barcode 시험법을 이용하여 시중 유통 중인 참돔, 돌돔, 황돔, 감성돔, 나일틸라피아 등 도미류와 옥돔, 옥두어 등 옥돔과 수산가공식품의 위변조현황을 분석하였다.

Materials and Methods

재료

본 연구에서는 전통시장, 마트, 온라인으로 판매되고 있는 참돔(*Pagrus majo*), 돌돔(*Oplegnathus fasciatus*), 황돔(*Dentex tumifrons*), 감성돔(*Acanthopagrus schlegelii*), 나일틸라피아(*Oreochromis niloticus*) 등의 도미(Sea Bream)와 옥돔(*Branchiostegus japonicus*), 옥두어(*Branchiostegus albus*) 등의 옥돔과(Malacanthidae)를 분석대상으로 하였다. 분석대상 시료는 절단, 필렛, 반건조, 회 형태로 판매 중인 수산가 공식품을 구입하여 사용하였다. 또한, 각각의 표준 어류는 부경대학교 식품공학과에서 제공 받아 사용하였다. 참돔 12건, 돌돔 4건, 황돔 7건, 감성돔 2건, 나일틸라피아 7건, 옥돔 6건, 옥두어 8건 총 46건에 대해 실험을 진행하였다.

Genomic DNA 추출

가식 부위 약 200 mg을 취하여 70% ethanol과 3차 증류수로 PCR 저해 인자를 제거한 후 DNA 추출에 이용하였다. Genomic DNA 추출은 PowerPrep™ DNA Extraction from Food and Feed Kit (Kogenebiotech, Seoul, Korea)를 이용하여 제조사의 권장 방법에 따라 추출하였다. 농도측정은 PICO 200 UV/Vis Spectrophotometer (Picodrop, Hinxton, UK)를 이용하여 측정하였으며, DNA 농도를 10 ng으로 희석하여 실험에 사용하였다.

Table 1. Sequence information of primer set

Primer set	Information of primer sequence (5' → 3')[a]	Target gene	Reference
kFISHCOI LBC_ts	GTA AAA CGA CGG CCA GTG ACT CAA CYA ATC AYA AAG ATA TYG GCA C	*COX I*[b]	(24)
kFISHCOI HBC_ts	GCG GAT AAC AAT TTC ACA CAG GGA CTT CYG GGT GRC CRA ARA ATC A		

[a] Mixed base code: Y (c, t); R (a, g).
[b] *COX I* represent cytochrome *c* oxidase subunit genes.

Table 2. PCR conditions for amplification of target DNA

Step	Temperature	Time	Cycle	Reference
Pre-denaturation	94°C	60 s	1	
Denaturation	94°C	30 s		
Annealing	55°C	60 s	35	(24)
Extension	72°C	60 s		
Final extension	72°C	120 s	1	

DNA PCR 및 purification

PCR은 All In One Cycler™ Fast 96 well PCR system (Bioneer, Daejeon, Korea) 기기를 이용하여 실험하였다. PCR primer sequence와 반응조건은 Table 1과 2에 나타내었다. PCR 반응은 Handy 등이 *COX I*을 대상으로 설계한 primer sequence와 반응조건을 사용하였다[24]. PCR 반응액은 AccuPower®PCR PreMix (Bioneer, Daejeon, Korea)을 이용하여 genomic DNA 1 μL (10 ng), primer 2 μL (10 pmol), 멸균증류수 17 μL를 혼합하여 총 20 μL가 되도록 조성하였다. PCR 증폭 산물 확인을 위하여 1.2% agarose gel에 PCR product 1 μL를 로딩하고 110 V에서 30분간 전기영동 하였다. PCR product의 전기영동 결과 약 600-700 bp에서 single band가 확인되었을 경우, AccuPrep PCR Purification Kit (Bioneer, Daejeon, Korea)를 이용하여 제조사의 권장 방법에 따라 PCR product purification을 진행하였다.

DNA barcode 염기서열

DNA barcode 염기서열은 추출한 표준 어류의 미토콘드리아 cytochrome C oxidase subunit I 유전자를 증폭한 후 AB I 3730XL (Applied Biosystems, Foster city, CA, USA)를 이용하여 염기서열을 분석하였다. 분석된 염기서열은 SeqMan program (DNAStar, Madison, WI, USA)을 사용하여 정리하여 종 판별에 특이적인 639-655 bp를 선정하여 DNA barcode 염기서열로 하였다(Table 3).

염기서열 분석

PCR product purification 후 전기영동을 실시하여 single band가 확인되었을 경우 Bioneer사에 의뢰하여 염기서열

Table 3. The sequence comparison of DNA barcode information with NCBI information

Material	DNA barcode sequence	NCBI identity (%) Accession No.
Pagrus major	GGTGCTTGGGCCGGGATAGTAGGGACTGCCTTAAGCCTGCTCATCCGAGCTGAG CTTAGCCAGCCCGGGGCTCTCCTAGGCGACGACCAGATTTATAATGTAATTGTTA CAGCACACGCATTTGTAATAATTTTCTTTATAGTAATGCCAATTATGATTGGGGGC TTTGGAAACTGATTAATTCCACTTATAATTGGTGCCCCTGATATGGCCTTCCCCCG AATGAACAACATAAGCTTCTGACTACTCCCCCCATCTTTCCTTCTTCTACTCGCTT CCTCCGGGGTTGAAGCCGGGGCTGGCACTGGGTGAACAGTTTATCCACCACTGG CGGGTAATCTTGCCCATGCAGGAGCATCAGTCGACCTAACCATCTTTTCTCTTCA CTTAGCGGGTATTTCATCAATTCTTGGTGCAATTAACTTTATTACTACCATCATCAA TATGAAACCCCCTGCTATTTCCCAGTATCAGACCCCCTTGTTCGTCTGGGCCGTT CTTATTACCGCTGTCCTTCTTCTTTTATCCCTGCCAGTTCTTGCTGCAGGGATTAC AATGCTCCTAACCGATCGTAATCTAAACACTACCTTCTTTGACCCAGCTGGAGGA GGAGACCCAATTCTTTATCAACACTTGTTT	100
	GGTGCTTGGGCCGGGATAGTAGGGACTGCCTTAAGCCTGCTCATCCGAGCTGAG CTTAGCCAGCCCGGGGCTCTCCTAGGCGACGACCAGATTTATAATGTAATTGTTA CAGCACACGCATTTGTAATAATTTTCTTTATAGTAATGCCAATTATGATTGGGGGC TTTGGAAACTGATTAATTCCACTTATAATTGGTGCCCCTGATATGGCCTTCCCCCG AATGAACAACATAAGCTTCTGACTACTCCCCCCATCTTTCCTTCTTCTACTCGCTT CCTCCGGGGTTGAAGCCGGGGCTGGCACTGGGTGAACAGTTTATCCACCACTGG CGGGTAATCTTGCCCATGCAGGAGCATCAGTCGACCTAACCATCTTTTCTCTTCA CTTAGCGGGTATTTCATCAATTCTTGGTGCAATTAACTTTATTACTACCATCATCAA TATGAAACCCCCTGCTATTTCCCAGTATCAGACCCCCTTGTTCGTCTGGGCCGTT CTTATTACCGCTGTCCTTCTTCTTTTATCCCTGCCAGTTCTTGCTGCAGGGATTAC AATGCTCCTAACCGATCGTAATCTAAACACTACCTTCTTTGACCCAGCTGGAGGA GGAGACCCAATTCTTTATCAACACTTGTTT	KJ012413.1

Table 3. (Continued) The sequence comparison of DNA barcode information with NCBI information

Material	DNA barcode sequence	NCBI identity (%)
		Accession No.
Oplegnathus fasciatus	GGTGCCTGAGCCGGCATAGTAGGCACGGCCCTAAGCTTACTCATCCGAGCAGAACTAAGCCAACCAGGCGCT TTCCTCGGAGACGACCAGATCTATAATGTAATTGTTACAGCACATGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAATGC CAATTATGATTGGAGGTTTTGGAAACTGACTCATCCCCCTCATGATTGGTGCGCCAGACATGGCATTTCCTCGA ATAAATAACATGAGCTTTTGACTGCTCCCACCCTCTTTCTTGCTACTGCTGGCCTCTTCCGGAGTAGAAGCTGG AGCAGGCACCGGATGAACCGTTTATCCGCCTCTCGCAGGTAATCTAGCCCATGCAGGAGCGTCTGTTGATTTAA CAATCTTCTCTCTACACTTAGCAGGTATTTCCTCAATCCTCGGGGCAATCAACTTTATTACAACTATTATTAACAT GAAACCCCCTGCCATTTCCCAATATCAAACCCCACTATTTGTGTGAGCAGTCCTAATTACTGCTGTTCTACTTCT CCTTTCCCTCCCCGTTCTCGCTGCTGGCATCACCATGCTCCTAACAGACCGAAACCTAAATACCACCTTTTTTG ACCCTGCAGGAGGAGGAGACCCCATCCTTTACCAACACCTCTTC	100
	GGTGCCTGAGCCGGCATAGTAGGCACGGCCCTAAGCTTACTCATCCGAGCAGAACTAAGCCAACCAGGCGCT TTCCTCGGAGACGACCAGATCTATAATGTAATTGTTACAGCACATGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAATGC CAATTATGATTGGAGGTTTTGGAAACTGACTCATCCCCCTCATGATTGGTGCGCCAGACATGGCATTTCCTCGA ATAAATAACATGAGCTTTTGACTGCTCCCACCCTCTTTCTTGCTACTGCTGGCCTCTTCCGGAGTAGAAGCTGG AGCAGGCACCGGATGAACCGTTTATCCGCCTCTCGCAGGTAATCTAGCCCATGCAGGAGCGTCTGTTGATTTAA CAATCTTCTCTCTACACTTAGCAGGTATTTCCTCAATCCTCGGGGCAATCAACTTTATTACAACTATTATTAACAT GAAACCCCCTGCCATTTCCCAATATCAAACCCCACTATTTGTGTGAGCAGTCCTAATTACTGCTGTTCTACTTCT CCTTTCCCTCCCCGTTCTCGCTGCTGGCATCACCATGCTCCTAACAGACCGAAACCTAAATACCACCTTTTTTG ACCCTGCAGGAGGAGGAGACCCCATCCTTTACCAACACCTCTTC	KU944293.1
Dentex tumifrons	GGTGCTTGGGCCGGGATAGTAGGGACTGCCCTAAGCCTGCTCATTCGAGCTGAGCTAAGCCAGCCCGGCGCTC TCCTAGGCGACGACCAGATTTATAATGTTATTGTTACAGCACATGCATTTGTAATAATTTTCTTTATAGTAATACC AATCATAATTGGAGGCTTTGGAAATTGACTTATCCCGCTTATGATCGGCGCCCCTGATATAGCATTTCCCCGAAT AAACAACATGAGCTTCTGACTGCTCCCCCCCCTCATTCCTTCTTCTACTTGCCTCCTCCGGGGTTGAAGCCGGAG CCGGCACTGGATGAACCGTTTACCCCCCTCTAGCAGGAAATCTTGCCCACGCAGGAGCATCCGTCGACCTGAC CATCTTCTCCCTCCACTTAGCTGGGATCTCATCAATTCTTGGTGCAATCAATTTTATTACGACCATTATTAACATA AAACCCCCCGCTATTTCCCAGTATCAAACCCCCTTATTTGTATGAGCTGTCCTTATTACGGCCGTACTACTTCTT CTGTCACTGCCAGTTCTCGCTGCAGGAATCACAATGCTCCTAACAGACCGTAACCTGAACACCACCTTCTTTG ACCCGGCCGGGGGAGGTGATCCTATTCTTTACCAACACTTATTCT	100
	GGTGCTTGGGCCGGGATAGTAGGGACTGCCCTAAGCCTGCTCATTCGAGCTGAGCTAAGCCAGCCCGGCGCTC TCCTAGGCGACGACCAGATTTATAATGTTATTGTTACAGCACATGCATTTGTAATAATTTTCTTTATAGTAATACC AATCATAATTGGAGGCTTTGGAAATTGACTTATCCCGCTTATGATCGGCGCCCCTGATATAGCATTTCCCCGAAT AAACAACATGAGCTTCTGACTGCTCCCCCCCCTCATTCCTTCTTCTACTTGCCTCCTCCGGGGTTGAAGCCGGAG CCGGCACTGGATGAACCGTTTACCCCCCTCTAGCAGGAAATCTTGCCCACGCAGGAGCATCCGTCGACCTGAC CATCTTCTCCCTCCACTTAGCTGGGATCTCATCAATTCTTGGTGCAATCAATTTTATTACGACCATTATTAACATA AAACCCCCCGCTATTTCCCAGTATCAAACCCCCTTATTTGTATGAGCTGTCCTTATTACGGCCGTACTACTTCTT CTGTCACTGCCAGTTCTCGCTGCAGGAATCACAATGCTCCTAACAGACCGTAACCTGAACACCACCTTCTTTG ACCCGGCCGGGGGAGGTGATCCTATTCTTTACCAACACTTATTCT	NC_049151.1

Table 3. (Continued) The sequence comparison of DNA barcode information with NCBI information

Material	DNA barcode sequence	NCBI identity (%)
		Accession No.
Acanthopagrus schlegelii	GGTGCTTGAGCTGGAATAGTAGGAACCGCCTTAAGTCTGCTCATTCGAGCCGAATTAAGCCAACCTGGCGCTC TCCTAGGAGATGATCAAATTTATAATGTAATTGTTACAGCACATGCGTTTGTAATAATTTTCTTTATAGTAATACC AATTATGATTGGGGGCTTTGGAAATTGATTAGTACCACTTATGATTGGTGCCCCTGACATAGCATTCCCCCGTAT AAACAACATAAGCTTCTGACTTCTTCCTCCATCATTCCTCCTGCTGCTAGCTTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGGG CCGGTACCGGGTGGACAGTTTACCCCCCACTGGCAGGAAACCTCGCCCACGCAGGTGCATCAGTTGACTTAA CCATCTTTTCTCTTCACCTAGCCGGAATTTCATCTATTCTTGGGGCCATCAATTTTATTACCACTATTATCAATATG AAACCGCCAGCTATCTCACAATATCAAACACCCCTATTTGTGTGGGCCGTTTTAATTACTGCTGTCCTACTCCTC TTGTCCCTCCCAGTTCTTGCTGCCGGAATTACAATACTCCTTACAGACCGAAATCTAAATACCACCTTCTTTGAC CCAGCTGGAGGAGGAGACCCTATTCTCTATCAACACCTATTC GGTGCTTGAGCTGGAATAGTAGGAACCGCCTTAAGTCTGCTCATTCGAGCCGAATTAAGCCAACCTGGCGCTC TCCTAGGAGATGATCAAATTTATAATGTAATTGTTACAGCACATGCGTTTGTAATAATTTTCTTTATAGTAATACC AATTATGATTGGGGGCTTTGGAAATTGATTAGTACCACTTATGATTGGTGCCCCTGACATAGCATTCCCCCGTAT AAACAACATAAGCTTCTGACTTCTTCCTCCATCATTCCTCCTGCTGCTAGCTTCTTCTGGTGTCGAAGCTGGGG CCGGTACCGGGTGGACAGTTTACCCCCCACTGGCAGGAAACCTCGCCCACGCAGGTGCATCAGTTGACTTAA CCATCTTTTCTCTTCACCTAGCCGGAATTTCATCTATTCTTGGGGCCATCAATTTTATTACCACTATTATCAATATG AAACCGCCAGCTATCTCACAATATCAAACACCCCTATTTGTGTGGGCCGTTTTAATTACTGCTGTCCTACTCCTC TTGTCCCTCCCAGTTCTTGCTGCCGGAATTACAATACTCCTTACAGACCGAAATCTAAATACCACCTTCTTTGAC CCAGCTGGAGGAGGAGACCCTATTCTCTATCAACACCTATTC	100 MF628303.1
Oreochromis niloticus	CCTCTATCTAGTATTTGGTGCTTGAGCCGGAATAGTAGGAACTGCACTAAGCCTCCTAATTCGGGCAGAACTAA GCCAGCCCGGCTCTCTTCTCGGAGACGACCAAATCTATAATGTAATTGTTACAGCACATGCTTTCGTAATAATTT TCTTTATAGTAATACCAATTATGATTGGAGGCTTTGGAAACTGACTAGTACCCCTCATGATTGGTGCACCAGACA TGGCCTTCCCTCGAATAAATAACATGAGCTTTTGACTTCTCCCCCCCTCATTTCTTCTTCTTCTCGCCTCATCTG GAGTCGAAGCAGGTGCCGGCACAGGATGGACTGTTTATCCCCCGCTCGCAGGCAATCTTGCCCACGCTGGAC CTTCTGTTGACTTAACCATCTTCTCCCTCCACTTGGCCGGAGTGTCATCTATTTTAGGTGCAATTAATTTTATCAC AACCATTATTAACATGAAACCCCCTGCCATCTCCCAATATCAAACACCCCTATTTGTGTGATCCGTCCTAATTAC CGCAGTACTACTCCTTCTATCCCTGCCCGTTCTTGCCGCCGGCATCACAATACTTCTAACAGACCGAAACCTAA ACACAACCTTCTTTGACCCTGCCGGAGGAGGAGACCCCATCCTATACCAACACTTATTC CCTCTATCTAGTATTTGGTGCTTGAGCCGGAATAGTAGGAACTGCACTAAGCCTCCTAATTCGGGCAGAACTAA GCCAGCCCGGCTCTCTTCTCGGAGACGACCAAATCTATAATGTAATTGTTACAGCACATGCTTTCGTAATAATTT TCTTTATAGTAATACCAATTATGATTGGAGGCTTTGGAAACTGACTAGTACCCCTCATGATTGGTGCACCAGACA TGGCCTTCCCTCGAATAAATAACATGAGCTTTTGACTTCTCCCCCCCTCATTTCTTCTTCTTCTCGCCTCATCTG GAGTCGAAGCAGGTGCCGGCACAGGATGGACTGTTTATCCCCCGCTCGCAGGCAATCTTGCCCACGCTGGAC CTTCTGTTGACTTAACCATCTTCTCCCTCCACTTGGCCGGAGTGTCATCTATTTTAGGTGCAATTAATTTTATCAC AACCATTATTAACATGAAACCCCCTGCCATCTCCCAATATCAAACACCCCTATTTGTGTGATCCGTCCTAATTAC CGCAGTACTACTCCTTCTATCCCTGCCCGTTCTTGCCGCCGGCATCACAATACTTCTAACAGACCGAAACCTAA ACACAACCTTCTTTGACCCTGCCGGAGGAGGAGACCCCATCCTATACCAACACTTATTC	100 MK955805.1

Table 3. (Continued) The sequence comparison of DNA barcode information with NCBI information

Material	DNA barcode sequence	NCBI identity (%)
		Accession No.
Branchiostegus japonicus	CCTTTATTTAGTATTTGGTGCTTGAGCCGGTATAGTAGGCACAGCCTTAAGCTTGCTCATTCGAGCAGAACTTAG CCAACCAGGCGCCCTCCTCGGGGATGACCAGATTTATAATGTTATTGTTACAGCACATGCCTTCGTAATAATTTT CTTTATAGTAATACCAATTATGATTGGTGGATTCGGCAACTGACTAATCCCCCTTATAATTGGTGCCCCCGACATA GCCTTTCCTCGTATAAATAATATGAGCTTTTGACTTCTACCCCCCTCATTCCTACTCCTTCTCGCCTCCTCCGGCG TAGAGGCAGGAGCAGGGACCGGCTGAACAGTATATCCCCCTTTAGCTGGTAACCTAGCCCACGCAGGACCTTC CGTTGATTTAACAATCTTCTCCCTTCATCTGGCAGGGGTGTCTTCAATCCTCGGAGCCATTAACTTTATCACTAC CATTATCAATATGAAACCTCCCGCCACAACACAATATCAAACCCCCTTATTTGTCTGATCTGTACTAATTACCGC TGTTCTCCTCCTTCTATCCCTCCCAGTCCTTGCCGCCGGCATCACAATGCTTCTCACAGACCGAAACCTAAATA CTACCTTCTTTGACCCTGCAGGGGGAGGAGATCCAATTCTTTACCAACATCTCTTC CCTTTATTTAGTATTTGGTGCTTGAGCCGGTATAGTAGGCACAGCCTTAAGCTTGCTCATTCGAGCAGAACTTAG CCAACCAGGCGCCCTCCTCGGGGATGACCAGATTTATAATGTTATTGTTACAGCACATGCCTTCGTAATAATTTT CTTTATAGTAATACCAATTATGATTGGTGGATTCGGCAACTGACTAATCCCCCTTATAATTGGTGCCCCCGACATA GCCTTTCCTCGTATAAATAATATGAGCTTTTGACTTCTACCCCCCTCATTCCTACTCCTTCTCGCCTCCTCCGGCG TAGAGGCAGGAGCAGGGACCGGCTGAACAGTATATCCCCCTTTAGCTGGTAACCTAGCCCACGCAGGACCTTC CGTTGATTTAACAATCTTCTCCCTTCATCTGGCAGGGGTGTCTTCAATCCTCGGAGCCATTAACTTTATCACTAC CATTATCAATATGAAACCTCCCGCCACAACACAATATCAAACCCCCTTATTTGTCTGATCTGTACTAATTACCGC TGTTCTCCTCCTTCTATCCCTCCCAGTCCTTGCCGCCGGCATCACAATGCTTCTCACAGACCGAAACCTAAATA CTACCTTCTTTGACCCTGCAGGGGGAGGAGATCCAATTCTTTACCAACATCTCTTC	100 JF952691.1
Branchiostegus albus	CCTTTATTTAGTATTTGGTGCTTGAGCCGGCATAGTAGGCACAGCTTTGAGCTTGCTCATTCGAGCAGAACTTA GCCAACCAGGCGCCCTCCTCGGGGATGACCAGATTTATAATGTTATTGTTACAGCACATGCCTTTGTAATAATTT TCTTTATAGTAATACCAATTATGATTGGTGGGTTTGGCAACTGACTGATCCCCCTTATGATCGGTGCCCCCGACA TAGCCTTTCCTCGTATGAATAATATGAGCTTTTGACTTCTACCCCCTTCCTTCCTGCTCCTTCTCGCCTCCTCAGG CGTAGAGGCGGGAGCAGGAACCGGCTGAACAGTATACCCCCCTTTAGCTGGAAACCTGGCCCACGCAGGACC TTCCGTTGATCTAACAATCTTCTCCCTCCATCTGGCAGGGGTATCTTCAATCCTCGGGGCCATTAACTTTATTAC TACTATTGTTAATATGAAACCTCCCGCCACAACACAATATCAAACCCCCTTATTTGTTTGATCTGTGTTAATTACC GCTGTTCTTCTCCTTCTGTCCCTCCCAGTTCTTGCCGCCGGCATCACAATGCTTCTCACAGACCGAAACCTAAA TACTACCTTCTTTGACCCTGCAGGAGGAGGAGACCCAATTCTCTACCAACATCTCTTC CCTTTATTTAGTATTTGGTGCTTGAGCCGGCATAGTAGGCACAGCTTTGAGCTTGCTCATTCGAGCAGAACTTA GCCAACCAGGCGCCCTCCTCGGGGATGACCAGATTTATAATGTTATTGTTACAGCACATGCCTTTGTAATAATTT TCTTTATAGTAATACCAATTATGATTGGTGGGTTTGGCAACTGACTGATCCCCCTTATGATCGGTGCCCCCGACA TAGCCTTTCCTCGTATGAATAATATGAGCTTTTGACTTCTACCCCCTTCCTTCCTGCTCCTTCTCGCCTCCTCAGG CGTAGAGGCGGGAGCAGGAACCGGCTGAACAGTATACCCCCCTTTAGCTGGAAACCTGGCCCACGCAGGACC TTCCGTTGATCTAACAATCTTCTCCCTCCATCTGGCAGGGGTATCTTCAATCCTCGGGGCCATTAACTTTATTAC TACTATTGTTAATATGAAACCTCCCGCCACAACACAATATCAAACCCCCTTATTTGTTTGATCTGTGTTAATTACC GCTGTTCTTCTCCTTCTGTCCCTCCCAGTTCTTGCCGCCGGCATCACAATGCTTCTCACAGACCGAAACCTAAA TACTACCTTCTTTGACCCTGCAGGAGGAGGAGACCCAATTCTCTACCAACATCTCTTC	100 KP266796.1

분석을 진행하였다. 염기서열 분석은 universal primer M13F (-20), M13R (-20)를 이용하여 양방향 염기서열을 분석하였다. 염기서열 결정은 BioEdit (version 7.0.5, Ibis Biosciences, Carlsbad, CA, USA) 프로그램을 실행한 후 양방향의 염기서열 파일을 선택하여 base line이 유효한 peak을 결정하였다. Reverse 염기서열은 reverse complement 하여 상보적인 서열로 전환하였다. Bioedit에서 CAP contig assembly program을 이용하여 양방향 염기서열의 중복부위를 비교한 후 contig 서열을 생성하였다.

염기서열 상동성 비교 및 종판별

미국 국가 생물 공학센터(NCBI, National Center for Biotechnology Information)에서 제공하는 BLAST Search (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) 프로그램을 이용하여 정리된 염기서열과 NCBI에 등록된 각각 어류의 유전자 염기서열과 비교하였다. 분석 결과 염기서열 상동성(identity)이 97% 이상인 종을 원재료 종으로 판별하였다[12].

Results and Discussion

표준 시료 DNA barcode information 및 primer set 적합성

분석한 유전자 염기서열은 생물 종 판별에 주로 이용되는 mitochondrial DNA의 cytochrome *C* oxidase subunit I (*COX I*) 유전자 영역을 증폭하여 분석하였다. Mitochondrial DNA의 *COX I*은 *CYTB*와 16S rRNA 등과 함께 생물의 종을 판별하기 위해 주로 사용되고 있다[12,14,24]. Mitochondrial DNA는 핵의 DNA보다 간단하며, 집단의 유전적 구조분석에 유용하게 사용되고 있다[14,24,26]. Primer set의 진위판별 정확성을 확인한 결과 모든 primer set에서 PCR 증폭이 확인되었으며, 표준 어류의 DNA barcode information과 NCBI에 등록된 각각 어류의 유전자 염기서열을 비교한 결과 참돔 100%, 돌돔 100%, 황돔 100%, 감성돔 100%, 나일틸라피아 100%, 옥돔 100%, 옥두어 100%의 상동성을 나타내어 실험에 사용된 DNA barcode information과 primer set의 정확성이 확인되었다(Table 3). 따라서 본 연구에서 사용된 DNA barcode information과 primer set은 참돔, 돌돔, 황돔, 감성돔, 나일틸라피아, 옥돔, 옥두어 원재료로 사용한 수산가공품의 어종판별에 적합한 것으로 판단되었다.

시중 유통 중인 도미류와 옥돔과 수산가공식품 진위판별

DNA barcode를 이용한 도미 수산가공식품의 실험 결과는 Table 4에 나타내었다. 참돔을 원재료로 표시한 제품 12건 모두 참돔(*Pagrus majo*)으로 판정되었고, 돌돔으로

Table 4. Species identification results based on sequence information of DNA barcode and NCBI

No.	Sample No.	Raw material[a]	Identified species					Labeling compliance
			Sequence information of DNA barcode		Sequence information of NCBI			
			Identity (%)	Species	Identity (%)	Species	Accession No.	
1	M1	*Pagrus majo*	100	*Pagrus majo*	100	*Pagrus majo*	KY855493.1	C[b]
2	M2	*Pagrus majo*	100	*Pagrus majo*	100	*Pagrus majo*	KJ012413.1	C
3	M3	*Pagrus majo*	99.59	*Pagrus majo*	99.8	*Pagrus majo*	MK560706.1	C
4	M4	*Pagrus majo*	99.8	*Pagrus majo*	100	*Pagrus majo*	MK560706.1	C
5	M5	*Pagrus majo*	99.61	*Pagrus majo*	99.81	*Pagrus majo*	MK560706.1	C
6	M6	*Pagrus majo*	99.56	*Pagrus majo*	100	*Pagrus majo*	KY855492.1	C
7	M7	*Pagrus majo*	99.67	*Pagrus majo*	99.84	*Pagrus majo*	MK560706.1	C
8	M8	*Pagrus majo*	100	*Pagrus majo*	100	*Pagrus majo*	KY855492.1	C
9	M9	*Pagrus majo*	99.69	*Pagrus majo*	99.85	*Pagrus majo*	GU207340.1	C
10	M10	*Pagrus majo*	99.69	*Pagrus majo*	100	*Pagrus majo*	MK560702.1	C
11	M11	*Pagrus majo*	99.69	*Pagrus majo*	100	*Pagrus majo*	KU199067.1	C
12	M12	*Pagrus majo*	99.82	*Pagrus majo*	100	*Pagrus majo*	MK560706.1	C
13	M13	*Oplegnathus fasciatus*	100	*Oplegnathus fasciatus*	100	*Oplegnathus fasciatus*	KU944293.1	C
14	M14	*Oplegnathus fasciatus*	99.8	*Oplegnathus fasciatus*	100	*Oplegnathus fasciatus*	KU944291.1	C
15	M15	*Oplegnathus fasciatus*	100	*Oplegnathus fasciatus*	100	*Oplegnathus fasciatus*	EU266373.1	C
16	M16	*Oplegnathus fasciatus*	100	*Oplegnathus fasciatus*	100	*Oplegnathus fasciatus*	KU944293.1	C
17	M17	*Dentex tumifrons*	100	*Dentex tumifrons*	100	*Dentex hypselosomus*[c]	NC_049151.1	C

Table 4. (Continued) Species identification results based on sequence information of DNA barcode and NCBI

No.	Sample No.	Raw material[a]	Identified species					Labeling compliance
			Sequence information of DNA barcode		Sequence information of NCBI			
			Identity (%)	Species	Identity (%)	Species	Accession No.	
18	M18	*Dentex tumifrons*	100	*Dentex tumifrons*	100	*Dentex hypselosomus*	NC_049151.1	C
19	M19	*Dentex tumifrons*	100	*Dentex tumifrons*	100	*Dentex hypselosomus*	NC_049151.1	C
20	M20	*Dentex tumifrons*	100	*Dentex tumifrons*	100	*Dentex hypselosomus*	NC_049151.1	C
21	M21	*Dentex tumifrons*	99.37	*Dentex tumifrons*	99.67	*Dentex hypselosomus*	KY855487.1	C
22	M22	*Dentex tumifrons*	100	*Dentex tumifrons*	100	*Dentex hypselosomus*	NC_049151.1	C
23	M23	*Dentex tumifrons*	100	*Dentex tumifrons*	100	*Dentex hypselosomus*	NC_049151.1	C
24	M24	*Acanthopagrus schlegelii*	100	*Acanthopagrus schlegelii*	100	*Acanthopagrus schlegelii*	MK777775.1	C
25	M25	*Acanthopagrus schlegelii*	99.75	*Acanthopagrus schlegelii*	100	*Acanthopagrus schlegelii*	KY848475.1	C
26	M26	*Tilapia*[d]	100	*Oreochromis niloticus*	100	*Oreochromis niloticus*	MK955805.1	C
27	M27	*Tilapia*	100	*Oreochromis niloticus*	100	*Oreochromis niloticus*	MK955805.1	C
28	M28	*Tilapia*	100	*Oreochromis niloticus*	100	*Oreochromis niloticus*	MK955805.1	C
29	M29	*Tilapia*	100	*Oreochromis niloticus*	99.5	*Oreochromis niloticus*	MG407412.1	C
30	M30	*Tilapia*	98.26	*Oreochromis niloticus*	98.3	*Oreochromis niloticus*	MH047232.1	C
31	M31	*Tilapia*	99.85	*Oreochromis niloticus*	99.85	*Oreochromis niloticus*	MK130702.1	C
32	M32	*Tilapia*	99.85	*Oreochromis niloticus*	100	*Oreochromis niloticus*	MF509597.1	C
33	M33	*Branchiostegus japonicus*	100	*Branchiostegus japonicus*	100	*Branchiostegus japonicus*	JF952691.1	C
34	M34	*Branchiostegus japonicus*	99.32	*Branchiostegus japonicus*	99.65	*Branchiostegus japonicus*	AB513388.1	C
35	M35	*Branchiostegus japonicus*	99.32	*Branchiostegus japonicus*	99.32	*Branchiostegus japonicus*	JF952691.1	C
36	M36	*Branchiostegus japonicus*	99.98	*Branchiostegus japonicus*	99.35	*Branchiostegus japonicus*	MT667359.1	C
37	M37	*Branchiostegus japonicus*	99.65	*Branchiostegus japonicus*	99.83	*Branchiostegus japonicus*	AP006804.1	C
38	M38	*Branchiostegus japonicus*	98.81	*Branchiostegus japonicus*	98.93	*Branchiostegus japonicus*	AB513379.1	C
39	M39	*Branchiostegus albu*	100	*Branchiostegus albu*	100	*Branchiostegus albu*	KP266796.1	C
40	M40	*Branchiostegus albu*	99.53	*Branchiostegus albu*	100	*Branchiostegus albu*	KY371238.1	C
41	M41	*Branchiostegus albu*	99.83	*Branchiostegus albu*	100	*Branchiostegus albu*	KU943706.1	C
42	M42	*Branchiostegus albu*	100	*Branchiostegus albu*	100	*Branchiostegus albu*	MK777499.1	C
43	M43	*Branchiostegus albu*	100	*Branchiostegus albu*	100	*Branchiostegus albu*	KY371238.1	C
44	M44	*Branchiostegus albu*	100	*Branchiostegus albu*	100	*Branchiostegus albu*	KY371238.1	C
45	M45	*Branchiostegus albu*	100	*Branchiostegus albu*	100	*Branchiostegus albu*	KP266796.1	C
46	M46	*Branchiostegus albu*	100	*Branchiostegus albu*	100	*Branchiostegus albu*	KY371238.1	C

[a] Raw materials were displayed on the label of commercial products.
[b] C represent compliance. Identified species were compared with the raw materials displayed on the label of commercial product.
[c] *Dentex hypselosomus* is a synonym of *Dentex tumifrons*.
[d] The scientific mane of Tilapia is *Oreochromis niloticus*.

표시된 4건의 제품은 돌돔(*Oplegnathus fasciatus*)으로, 감성돔을 원재료로 표시한 제품 2건 모두 감성돔으로 판정되었다. 황돔으로 표시된 7건의 제품은 *Dentex hypselosomus*로 식품공전에 등재된 황돔(*Dentex tumifrons*)과 다르게 동정 되었으나 Iwatsuki 등이 *Dentex hypselosomus*와 *Dentex tumifrons*는 동일 종으로 보고[35]하였기에 황돔(*Dentex tumifrons*)으로 판정하였다. 원재료를 틸라피아 또는 역돔으로 표시한 7건의 제품은 나일틸라피아(*Oreochromis niloticus*)로 동정 되었는데 시장에서 일반적으로 나일틸라피아(*Oreochromis niloticus*)를 틸라피아 또는 역돔으로 지칭한다는 점을 감안하여 원재료를 틸라피아 또는 역돔으로 표시하였어도 나일틸라피아로 판정하였다. 판정 결과 시중 유통 중인 도미의 위변조 사례는 나타나지 않았으나, 원재료명에 일반명인 틸라피아 또는 역돔으로 표기하고 표준명인 나일틸라피아를 사용하지 않아 나일틸라피아(*Oreochromis niloticus*)와 다른 어종인 틸라피아(*Tilapia mossambica*)와 혼란을 야기할 수 있을 것으로 판단되었다.

DNA barcode를 이용한 옥돔과 옥두어 수산가공식품의 어종판별 실험 결과는 Table 4에 나타내었다. 옥돔을 원재료로 표시한 제품 7건 모두 옥돔(*Branchiostegus japonicus*)으로 판정되었고, 옥두어로 표시된 8건의 제품은 모두 옥두어(*Branchiostegus albus*)로 판정되어 표시사항 오류 및 위변조 사례가 나타나지 않았다.

연구 결과 참돔(*Pagrus major*), 돌돔(*Oplegnathus fasciatus*), 황돔(*Dentex tumifrons*), 감성돔(*Acanthopagrus schlegelii*), 나일틸라피아(*Oreochromis niloticus*), 옥돔(*Branchiostegus japonicus*), 옥두어(*Branchiostegus albus*) 수산가공품의 위변조 사례는 나타나지 않았다. 그러나 형태학적 판별이 어려운 수산물의 위변조 사례가 보고되고[36,37] 특히, 시장에서 통용되는 일반명칭과 식품공전에 기술된 표준명칭이 상이하여 소비자의 혼란을 야기할 수 있어 수산물 가공식품에 일반명칭과 더불어 표준명칭 또는 학명을 같이 기술하여야 할 것으로 판단되었다.

Acknowledgement

본 연구는 2020년도 식품의약품안전처의 연구개발비(17162미래사064-3)로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

국문요약

본 연구에서는 DNA barcode 시험법을 이용하여 시중 유통 중인 도미와 옥돔 수산가공식품의 위변조현황을 분석하였다. 참돔 12건, 돌돔 4건, 황돔 7건, 감성돔 2건, 나일틸라피아 7건, 옥돔 6건, 옥두어 8건 총 46건의 시료에 대해 실험을 진행하였다. 생물 종 판별에 주로 이용되는 mitochondrial DNA의 *COX I* (cytochrome C oxidase subunit I) 유전자 영역을 분석하여 원재료의 종을 판정하였다. NCBI에서 제공하는 BLAST Search 프로그램을 이용하여 분석된 염기서열과 NCBI에 등록된 각각 어류의 유전자 염기서열을 비교하였다. 분석 결과 염기서열 상동성(identity)이 97% 이상인 종을 원재료 종으로 판별하였다. DNA barcode 시험법을 이용해 시중 유통되는 참돔, 돌돔, 황돔, 감성돔, 나일틸라피아, 옥돔, 옥두 수산가공품 46건에 대해 조사한 결과 위변조 사례는 나타나지 않았다. 그러나 시장에서 통용되는 일반명칭과 식품공전에 기술된 표준명칭이 상이하여 소비자의 혼란을 야기할 수 있어 수산물 가공식품 표기에 일반명칭과 더불어 표준명칭 또는 학명을 같이 기술하여야 할 것으로 판단되었다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Eun-Ji Park https://orcid.org/0000-0003-0094-7280
Ju-Yeong Kang https://orcid.org/0000-0001-9616-076X
Han-Cheol Lee https://orcid.org/0000-0002-1772-3964
Min-Ji Park https://orcid.org/0000-0002-5107-7345
Ji-Young Yang https://orcid.org/0000-0002-4598-6542
Ji-Young Shin https://orcid.org/0000-0002-1775-1818
Gun-Do Kim https://orcid.org/0000-0001-5965-0495
Jong-Oh Kim https://orcid.org/0000-0002-1764-1045
Yong-Bae Seo https://orcid.org/0000-0002-1526-9403
Jung-Beom Kim https://orcid.org/0000-0002-0290-2687

References

1. Kim, B.H., Lee, J.W., Lee, Y., Lee, H.S., Jang, Y.A., Kim, C.I., Food and nutrient consumption patterns of the Korean adult population by income level - 2001 National health and nutrition survey. *Korean J. Community Nutr.*, **10**, 952-962 (2005).
2. Statistics Korea, (2020, October 7). Seafood consumption (per person per year) and self-sufficiency rate. Retrieved from http://www.index.go.kr/potal/main/EachDtlPageDetail.do?idx_cd=1317
3. Park, J.A., Analysis on the satisfaction with selection attributes of processed seafood : Focusing on differences by gender, ages, and household types. *JFMSE*, **30**, 1040-1050 (2018).
4. Warner, K., Roberts, W., Mustain, P., Lowell, B., Swain, M., Casting a wider net: More action needed to stop seafood fraud in the United States. OCEANA, DOI: 10.31230/osf.io/sbm8h (2019).
5. Kim, H.Y., Hong, K.H., Hong, J.H., Kim, D.S., Han, S.B., Lee, E.J., Lee, J.S., Kang, K.J., Chung, H.W., Song, K.H.,

Park, J.S., Kwon, Y.K., Jang, Y.M., Shin, I.S., Lee, C.K., Ha, S.C., Jo, J.S., Park, H.K., Studies on the separation and discrimination of the natural yellow pigment on croaker. *Korean J. Food Sci. Technol*. **34**, 762-769 (2002).

6. Kim, K.H., Kim, Y.S., Kim, M.R., Lee, H.Y., Jung, Y.K., Lee, J.H., Chang, H.S., Park, Y.C., Kim, S.Y., Choi, J.D., Jang Y.M., Development of species-specific primer to determine the authenticity of vegetable raw materials in food. *Food Eng. Prog*. **18**, 419- 426 (2014).
7. Oh, C.H., Kim, B.H., Ahn, S.D., Kim, K.S., Development of physicochemical methods for the characterization of adulterated foods. *Food Sci. Ind*., **47**, 20-45 (2014).
8. Schellenberg, A., Chmielus, S., Schlicht, C., Camin, F., Perini, M., Bontempo, L., Heinrich, K., Kelly, S.D., Rossmann, A., Thomas, F., Jamin, E., Horacek, M., Multielement stable isotope ratio (H, C, N, S) of honey from different european regions, *Food Chem.*, **121**, 770-777 (2010).
9. Civera, T., Species identification and safety of fish products. *Vet. Res. Commun.*, **27**, 481-489 (2003).
10. Moretti, V.M., Truchini, G.M., Bellagamba, F., Caprino, F., Traceability issues in fishery and aquaculture products. *Vet. Res. Commun.,* **7**, 497-505 (2003).
11. Chung, I.Y., Seo, Y.B., Yang, J.Y., Kim, G.D., Development and validation of real-time PCR to determine *Branchiostegus japonicus* and *B. albus* species based on mitochondrial DNA. *J. Life Sci*., **27**, 1331-1339 (2017).
12. Hebert, P.D.N., Gregory, T.R., The promise of DNA barcoding for taxonomy. *Syst. Biol.*, **54**, 852-859 (2005).
13. Michael, T.M., Michael, B., Gregory, T.R., Vogler, A. P., DNA-based species delineation in tropical beetles using mitochondrial and nuclear markers. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci*., **360**, 1925-1933 (2005).
14. Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., Vrijenhoek, R., DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome C oxidase subunit from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.*, **3**, 294-299 (1994).
15. Fabric, T., Celia, M., Catherine, H., Food and forensic molecular identification: update and challenges, *Trends Biotechnol.,* **23**, 359-366. (2005).
16. Park, Y.C., Jung, Y. H., Kim, M.R., Shin, J.H., Kim, K.H., Lee, J.H., Cho, T.Y., Lee, H.J., Lee, S.J., Han, S.B., Development of detection method for *Niphon spinosus*, *Epinephelus bruneus*, and *Epinephelus septemfasciatus* using 16S rRNA gene. *Korean J. Food Sci. Technol*., **45**, 1-7 (2013).
17. Mackie, I., Craig, A., Etienne, M., Jerome, M., Fleurence, J., Jessen, F., Smelt, A., Kruijt, A., Yman, I.M., Ferm, M., Martinez, I., Martin, R.P., Pineiro, C., Rehbein, H., Kundiger, R., Species identification of smoked and gravid fish products by sodium dodecylsulphate polyacrylamide gel electrophoresis, urea isoelectric focusing and native isoelectric focusing: a collaborative study. *Food Chem*. **71**, 1-7 (2000).
18. Georgina, L.H., Valerie, J.R., Susan, E.P., Hartmut, R., Javier, Q., Rodrego, V., Manuel, R.M., Carmen, G.S., Ricardo, I.P.M., Ana, T.S., Carla, R., Development of a DNA-based method aimed at identifying the fish species present in food products. *J. Agric. Food Chem*., **49**, 1175-1179 (2001).
19. Kim, K.H., Kim, Y.S., Kim, M.R., Lee, H.Y., Jung, Y.K., Lee, J.H., Chang, H.S., Park, Y.C., Kim, S.Y., Choi, J.D., Jang, Y.M., Development of species-specific primer to determine the authenticity of vegetable raw materials in food. *Food Eng. Prog*., **18**, 419- 426 (2014).
20. Kang, T.S., Basic principles for developing real-time PCR methods used in food analysis: a review. *Trends Food Sci. Technol.*, **91**, 574-585 (2019).
21. Kang, T.S., Development of four PCR-based methods to differentiate tilefish species (*Branchiostegus japonicus* and *B. albus*). *Food Chem.*, **271**, 1-8 (2019).
22. Kang, T.S. Rapid and simple identification of two closely-related snow crabs (*Chionoecetes opilio* and *C. japonicus*) by direct triplex PCR. *LWT-Food Sci. Technol.*, **99**, 562-567 (2019).
23. Kim, M.R., Kwon, K.S., Jung, Y.K., Kang, T.S., A rapid real-time PCR method to differentiate between mottled skate (*Beringraja pulchra*) and other skate and ray species. *Food Chem.*, **255**, 112-119 (2018).
24. Handy, S.M., Deeds, J.R., Ivanova, N.V., Hebert, P.D., Hanner, R., Ormos, A., Weigt, L.A., Moore, M.M., Hellberg, R.S., Yancy, H.F., Single laboratory validated method for DNA-barcoding for the species identification of fish. *J. AOAC Int*., **94**, 201-210 (2011).
25. Moon, D.Y., Jeong, H.G., Myoung, J.G., Choi, J.H., Kwun, H.J., Back, J.W., Hong, S.Y., Kim, S.Y. Fish Species Collected by the Fish Collection Project from the Southern Sea of Korea during 2010-2012. *Korean J. Fish. Aquat. Sci.*, **48**, 507-528 (2015).
26. Jin, S.Y., Im, Y.J., Choi, J.H., Jeong, J.M., Nam, K.M., Kim, D.G., Choi, Y.J., Baeck, G.W., Maturation and spawning of the red seabream (*Pagrus major*) in the south sea of Korea. *Korean J. Fish. Aquat. Sci.*, **53**, 43-49 (2020).
27. Son, M.Y., Choi, K.M., Joo, M.S., Park, C.I., Molecular characterization and expression analysis of the interleukin 7 receptor alpha chain (IL-7Rα) gene from red seabream (*Pagrus major*). *JFMSE*, **32**, 560-569 (2020).
28. Chung, J.Y., Jung, Y.M., A study on comparative analysis of food characteristics of sea bream and similar species. *CSHR*, **23**, 159-168 (2017).
29. Jenuth, J.P., Perterson, A.C., Fu, K., Shoubridge, E.A., Random genetic drift in the female germline explains the rapid segregation of mammalian mitochondrial DNA. *Nat. Genet.,* **14**, 146-151 (1996).
30. Kim, J.C., Kang I.K., Kim D.S., Lee J.H., The fishery and fishing ground environment for red horsehead (*Branchiostegus japonicus*) on the adjacent seas of Jeju Island. *J. Korean Soc. Fish. Ocean Technol*., **42**, 19-29 (2006).
31. Kim, Y.U., Ryu, J.H. Taxonomic revision of the *Genus Branchiostegus* (Perciformes, Pisces) from the adjacent waters of Korea. *Korean Journal of Ichthyology*, **10**, 40-48 (1998).
32. Choi, I.S., Shin, J.Y., Yang, J.Y., Development and validation of multiplex PCR method for the identification of *Pagrus*

major and *Sciaenops ocellatus*. *J. Food Hyg. Saf*., **35**, 561-566 (2020).
33. Kim, N.Y.S., Yang, J.Y., Kim, J.B., Development and validation of a PCR method to discriminate between *Branchiostegus japonicus* and *Branchiostegus albus. Korean J. Food Sci. Technol.*, **51**, 295-299 (2019).
34. Armani, A., Guardone, L., Castigliego, L., D'Amico, P., Messina, A., Malandra, R., Gianfaldoni D., Guidi, A., DNA and Mini-DNA barcoding for the identification of Porgies species (family Sparidae) of commercial interest on the international market. *Food Control*, **50**, 589-596 (2015).
35. Iwatsuki, Y., Akazaki, M., Taniguchi, N., Review of the species of the genus *Dentex* (Perciformes: Sparidae) in the western Pacific defined as the *D. hypselosomus* complex with the description of a new species, *Dentex abei* and a redescription of *Evynnis tumifrons*. *Bull. Natl. Mus. Nat. Sci. Ser. A, Suppl.*, **1**, 29-49 (2007).
36. Yu, Y.C., Hong, Y.W., Kim, J.J., Kim, H.S., Kang, T.S., Monitoring of commercial cephalopod products sold on the South Korea market using DNA barcode information. *J. Food Hyg. Saf*., **34**, 502-507 (2019)
37. Kang, T.S., Monitoring of commercial products sold on sushi buffet restaurants in South Korea using DNA barcode information. *J. Food Hyg. Saf.*, **35**, 45-50 (2020)