pISSN 1229-1153 *J. Fd Hyg. Safety*
Vol. 27, No. 2, pp. 146~151 (2012)

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

식육추출가공품의 사용원료 확인을 위한 유전자추출 방법의 비교 및 검토

박용춘* · 김미라 · 임지영 · 박영은 · 신준호 · 황초롱 · 임잔디 · 김규헌 · 이재황 · 조태용 · 이화정 · 한상배
식품의약품안전청 식품의약품안전평가원 식품위해평가부 식품감시과학팀

A Comparison of Gene Extraction Methods for the Identification of Raw Materials from Processed Meat Products

Yong-Chjun Park*, Mi-Ra Kim, Ji-Young Lim, Young-Eun Park, Jun-Ho Shin, Cho-Rong Hwang, Jan-Di Lim, Kyu-Heon Kim, Jae-Hwang Lee, Tae-Yong Cho, Hwa-Jung Lee, and Sang-Bae Han
Scientific Food Investigation Team, Food Safety Evaluation Department, National Institute of Food & Drug Safety Evaluation, Food & Drug Administration, 187 Osongsaengmyeong2(i)-ro, Osong-eup, Cheongwon-gun, Chungcheongbuk-do 363-700, Korea
(Received May 3, 2012/Revised May 17, 2012/Accepted May 30, 2012)

ABSTRACT - In this study, effective gene extraction methods were compared to identify raw materials of processed meat products through molecular biological methods. Species specific primers were used to identify ingredients of processed foods and, as a sample, 13 kinds of processed meat products including beef, pork and chicken. According to the type of sample, 13 kinds of samples were classified into liquid type, source type and powder type. The samples were pre-treated (centrifugation) and (or) performed Whole Gene Amplification (WGA) kit for amplification of the extracted DNA. As a result, it was possible to identify the raw material of products through the centrifugation of sample 1 ml for liquid type of processed meat products. For source type of products after gene extraction, it was required to perform WGA for the identification of ingredients. For powder type products did not required any further pre-treatment and WGA. In this study, it was an opportunity to confirm the possibility of identification of raw material from the gene extraction of processed meat products and this method could be used to examine the authenticity of raw material of products.

Key words: Gene extraction method, PCR (Polymerase Chain Reaction), Processed meat product, Species-specific primer

서 론

경제성장과 산업화에 따른 개인소득 증대와 함께 식생활의 모습도 빠르게 변화하고 있는 추세이다. 이러한 시대 상황은 조리된 식품, 반조리된 식품, 냉동식품 등 새로운 식품 가공 기술에도 영향을 주어 비교적 조리시간이 긴 곰탕류 등의 음식들도 가정에서 간단한 과정만 거치면 쉽게 섭취할 수 있는 가공식품으로 생산되고 있다[1]. 다양한 가공식품의 개발은 소비자에게 편의를 제공하였지만 최근 값싼 식품원료를 사용하거나 표시사항을 허위로 기재하여 소비자를 기만하는 가짜식품의 제조유통으로 인하여 식품에 대한 막연한 불안감이 높아지고 있다. 가짜식품(EMA, Economically Motivated Adulteration)이란 경제적 이득을 취하기 위하여 제조된 식품을 일반적으로 말한다. 가짜식품은 우리의 건강을 위협할 뿐 아니라 건전한 식품유통 질서를 어지럽히는 주범으로 국가적인 차원에서 안전관리가 요구된다.

가공식품 중 사용원료의 부정확한 표시나 제조과정 중 원재료 외의 원료들의 비의도적 혼입을 통제하기 위해서는 제품에 함유된 원료물질을 모니터링 할 수 있는 특이적이고 효율적인 분석방법의 개발이 필요하다. 현재 사용원료 확인방법으로는 이화학적 분석법, 단백질분석법, 유전자를 대상으로 하는 분석법 등이 있다. 광합성의 대사경로에 따른 탄소동위원소비율을 분석하는 이화학적 분석법은 벌꿀의 진위판별[2,3]에 사용되고 있으며, 분자량이 적은 ion-fragment의 패턴차이를 이용하여 비교분석하는 MS-전자코 분석법[4,5] 또한 이화학적 분석법에 해당된다. 면역학

*Correspondence to: Yong-Chjun Park, Scientific Food Investigation Team, Food Safety Evaluation Department, National Institute of Food & Drug Safety Evaluation, Food & Drug Administration, 187 Osongsaengmyeong2(i)-ro, Osong-eup, Cheongwon-gun, Chungcheongbuk-do 363-700, Korea
Tel: 82-43-719-4454, Fax: 82-43-719-4450
E-mail: yongchjun@korea.kr

적 방법이 주로 이용되는 단백질분석법의 경우 식품제조 공정 중 단백질 변성이 일어나므로 최근에는 유전자를 대상으로 하는 분석법을 주로 사용하고 있다[6,7].

유전자는 모든 동물 및 식물의 조직 내에 존재하며 식품제조 공정 중 처리되는 압력, 고열 등에 대하여 단백질보다 안정성이 높은 장점이 있다. 또한 유전물질을 분석하는 것이므로 계절이나 지역적으로 식품원료에서 단백질 함량의 차이로 인한 분석결과의 오차를 줄일 수 있다[8]. 하지만 가공식품의 경우 제조·가공과정에서 살균, 압출, 산처리 또는 발효작용 등에 의해 식품 중의 DNA가 손상되므로 PCR법에서 효과적으로 DNA를 분리, 정제하는 방법이 원재료 확인에 있어서 매우 중요하다[9,10].

종 판별을 위한 유전자 증폭에는 두 가지 방법이 있다. 그 중 일반 프라이머(universal primer)를 이용하는 방법은 증폭산물의 크기가 약 650 bp 정도으로 가공식품에 적용하기에는 한계가 있다[11,12]. 하지만 종 특이 프라이머(species specific primer)를 이용하는 방법은 증폭산물의 크기가 200 bp 정도 내외로 제작되어 가공식품에 적용이 가능하다[13].

지금까지 PCR을 이용한 알레르기 유발물질 및 유전자 재조합체의 분석방법에 대한 연구가 다수 수행되었으나 국내에서 유통되고 있는 다양한 가공식품들의 효율적인 DNA 추출법 연구는 매우 부족한 상황이다[14]. 또한 저가의 고기가 고가의 육류로 둔갑 유통되거나 가공 육제품의 원료로 사용될 경우 이를 과학적으로 식별하여 가짜식품으로부터 소비자를 보호하기 위해 가공식품의 사용원료확인을 위한 효율적인 전처리 및 분석 방법을 찾아내는 것이 필요하다[15].

따라서 본 연구에서는 곰탕류 등의 식육추출가공품을 대상으로 시료 유형별 전처리 조건 검토, 유전자 추출법 적용, 유전자 증폭 조건 등을 확립하였으며, 확립된 방법은 가공식품에 사용된 원재료를 확인하여 식품안전관리에 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

재료 및 방법

재료선정

PCR을 통한 원재료 확인이 가능한지를 알아보기 위하여 소, 돼지, 닭 등의 식육부위(뼈 포함)를 주원료로 가공한 식육추출가공품을 대상으로 선정하였다. 그리고 제품형태별 적절한 전처리, 유전자추출법 변형, 유전자추출 효율 등을 분석하기위하여 액상류, 소스류, 분말류로 구분한 뒤 원재료 확인실험을 진행하였다.

시약 및 검체 구입

유전자증폭(Polymerase Chain Reaction, PCR)을 위한 프라이머 및 *Taq* DNA polymerase는 바이오니아(Bioneer, 대한민국)에 의뢰하여 합성 또는 구매하였으며, PCR 장비는 GeneAmp™ PCR System 9700(Applied Biosystems, USA)을 사용하였다. 시료로부터 유전자를 분리하기 위한 DNeasy Blood & Tissue kit는 Qiagen(Qiagen GmbH, Hilden, Germany)으로부터 구매하였으며, 추출된 유전자의 증폭을 위하여 GenomePlex® Whole Genome Amplification(WGA) kit(Sigma-Aldrich®, USA)를 사용하였다. WGA 후에는 AccuPrep® PCR Purification Kit(Bioneer, 대한민국)를 사용하여 정제하였다. 검체로 사용된 식육추출가공품은 대형마트 및 인터넷쇼핑몰로 부터 구매하여 사용하였으며 포장지에 표시되어있는 원재료는 Table 1에 나타내었다.

Table 1. List of samples used in this study

Shape	Samples	Components		
		Beef	Pork	Chicken
Liquid	A	+	−	−
	B	+	−	−
	C	+	−	−
	D	+	−	−
	E	+	−	−
	F	−	−	+
	G	−	−	+
Sauce	H	+	−	−
	I	+	−	+
	J	+	−	+
Powder	K	+	−	−
	L	−	−	+
	M	+	+	+

+ : contain, - : not contain

전처리, 유전자 추출 및 WGA

유전자 추출방법 및 WGA는 제조사에서 제공하는 방법에 따르되 가공식품의 가공유형을 고려하여 전처리, 추출방법 변형 또는 WGA 키트는 추가로 시행하였다. 곰탕과 같은 액상형태 가공제품의 경우 1 ml을 취하여 20,000 ×g에서 10분간 원심분리한 뒤 침전물을 사용하여 유전자를 추출하였으며, 소스형태의 가공제품의 경우 DNeasy Blood & Tissue kit를 사용하여 유전자를 추출하는 중간과정 중 DNeasy Mini spin column을 사용하기 전 20,000 ×g에서 3분 정도 원심분리 과정을 추가시행 한 뒤 상등액만 취하여 DNeasy Mini spin column에 분주하였다. 또한 DNeasy Blood & Tissue kit로 추출한 유전자의 10 ul을 취하여 WGA를 시행하고 AccuPrep® PCR Purification Kit를 사용하여 제조사에서 제공하는 방법에 따라 정제하였다. 분말형태의 가공제품의 경우에는 전처리 및 추가적인 과정 없이 DNeasy Blood & Tissue kit를 사용하여 유전자를 추출하였다.

Polymerase Chain Reaction(PCR) 반응액 및 반응조건

PCR을 위한 반응액의 조성은 주형 DNA 50 ng, dNTPs 200 μM, $MgCl_2$ 2.5 mM, 프라이머 각 0.5 μM이 되게 혼합

Table 2. Information of species-specific primer used in this study

Item	Name	Primer Sequence(5' → 3')	Amplicons size(bp)	Ref.
Beef	SFI11-Cow-F	TATCTTGAACTAGACCTAGCCCAATG	131	Park, et al 2012[22]
	SFI11-Cow-R	GGTACTTTCTCTATAGCGCCGTAC		
Pork	SFI11-Pig-F	CAACCTTGACTAGAGAGTAAAACC	138	
	SFI11-Pig-R	GGTATTGGGCTAGGAGTTTGTT		
Chicken	SFI11-Chi-F	CCTAAAGACACCCACCTTTGT	281	
	SFI11-Chi-R	CCGTAGGAGGATAGGTTCCAGA		

하였으며 최종 부피는 20 μL로 하였다. 본 연구에 사용된 소, 돼지, 닭 각각의 종 특이 프라이머는 Table 2에 나타내었으며 검출을 위한 반응조건은 소와 돼지의 경우 95°C에서 10분 예비가열 후, 95°C 30초 변성, 59°C 10초 재결합, 72°C 40초 중합반응의 과정을 40회 반복하고 마지막에 72°C에서 5분간 처리하였다. 닭의 경우에는 95°C에서 10분 예비가열 후, 95°C 30초 변성, 62°C 5초 재결합, 72°C 30초 중합반응의 과정을 40회 반복하고 마지막에 72°C에서 5분간 처리하였다.

결과확인

최종산물의 확인은 반응액 3 μl를 취하여 agarose gel로 100V, 30분간 전기영동하고 marker로는 100bp DNA ladder를 사용하였다. 전기영동이 끝난 것은 EtBr로 염색(1 μg/ml)한 후 UV투영기를 이용하여 결과를 확인하였다.

결 과

액상형태 식육추출가공품의 사용원료 확인

가공식품의 사용원료 확인을 위한 PCR 방법의 적용을 위하여 시중에 유통 중인 식육추출가공품 중 액상형태의 제품을 대상으로 효율적인 유전자추출 방법을 검토하였다. 대상 식품으로는 우육(뼈 포함)이 주원료인 제품 5건과 계육(뼈 포함)이 주원료인 제품 2건을 대상으로 하였다. 액상 자체를 시료로 이용하여 유전자를 추출후 소 특이(SFI11-Cow-F/SFI11-Cow-R) 또는 닭 특이(SFI11-Chi-F/SFI11-Chi-R) 프라이머를 사용한 결과 PCR 산물이 생성되지 않았다. 그리고 액체시료 1 ml을 취하여 20,000 ×g에서 10분 동안 원심분리하고 침전물로부터 유전자 추출 후 PCR을 수행하였다. 그 결과 우육(뼈 포함)이 주원료인 제품 5건 및 계육(뼈 포함)이 주원료인 제품 2건에서 각각 131 bp 및 281 bp의 소 또는 닭에 특이적인 PCR 산물이 생성됨을 확인할 수 있었다(Fig. 1).

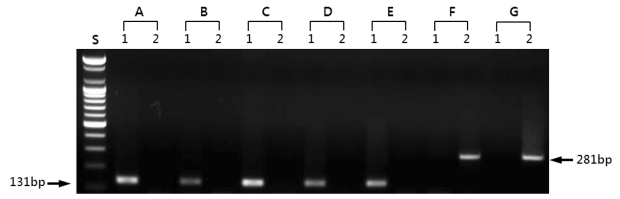

Fig. 1. Detection of beef and chicken from processed meat products by PCR using species-specific primer [beef(lane 1), chicken (lane 2)]. Sample A, B, C, D and E; include beef only, F and G; include chicken only.

소스형태 식육추출가공품의 사용원료 확인

상기와 동일한 목적으로 시중에 유통 중인 식육추출가공품 중 소스형태의 제품을 대상으로 효율적인 유전자추출 방법을 검토하였다. 대상 식품으로는 우골 고형분이나 사골추출액이 주원료인 제품 1건과 사골추출물 및 닭추출물을 모두 포함하고 있는 제품 2건을 대상으로 하였다. 소스 원액 자체를 시료로 이용하여 유전자를 추출후 소 특이(SFI11-Cow-F/SFI11-Cow-R) 또는 닭 특이(SFI11-Chi-F/SFI11-Chi-R) 프라이머를 사용한 결과 PCR 산물이 생성되지 않았다. 또한 소스 원액 1 ml을 취하여 상기와 같은 조건에서 원심분리 후 침전물을 시료로 하여 유전자 추출한 경우에도 PCR 산물 확인이 불가능 하였다. 그러나 유전자추출방법을 변형(DNeasy Mini spin column을 사용하기 전 20,000 ×g에서 3분 정도 원심분리 과정을 추가시행 한 뒤 상등액만 취하여 column에 분주)하여 추출 후 10 ul를 취하여 유전자 증폭을 위한 WGA 키트로 증폭하고 정제한 후 PCR을 시행한 결과 우골 고형분이나 사골추출액을 함유하는 제품에서 131 bp의 PCR 산물을 확인하였으며, 사골추출물과 닭추출물을 함유하는 제품 2건에서 131 bp와 281 bp의 PCR 산물을 확인하였다(Fig. 2).

분말형태 식육추출가공품의 사용원료 확인

상기와 동일한 목적으로 식육추출가공품 중 분말형태의 제품을 대상으로 효율적인 유전자추출 방법을 검토하였다. 대상 식품으로는 사골추출분말을 함유하는 제품 1건, 닭육수분말을 함유하는 제품 1건, 닭추출농축분말, 쇠고기베이스분말 및 돈골액기스분말을 함유한 제품 1건을 대상으로 하였다. 본 제품의 경우 분말형태 자체에서 유전자를 추출하여 PCR을 시행한 결과 사골추출분말을 함유하는 제품에서는 131 bp, 닭육수분말을 사용한 제품에서는 281 bp, 그리고 닭추출농축분말, 쇠고기베이스분말 및 돈골엑기스분말을 모두 함유하는 제품에서는 131 bp, 138 bp 및 281 bp

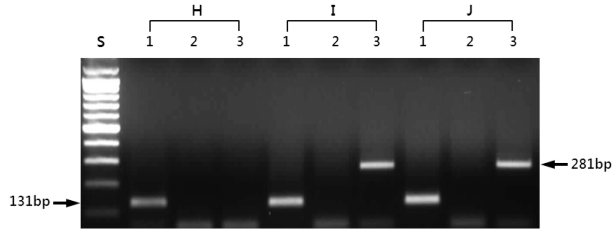

Fig. 2. Detection of beef, pork and chicken from processed meat products by PCR using species-specific primer [beef(lane 1), pork (lane 2), chicken(lane 3)]. Sample H ; include beef only, Sample I and J ; include beef and chicken.

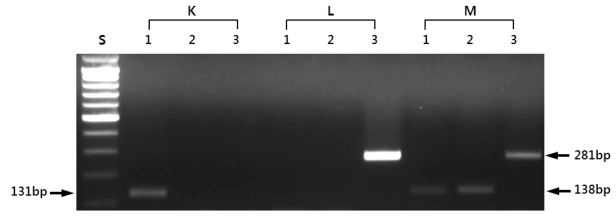

Fig. 3. Detection of beef, pork and chicken from processed meat products by PCR using species-specific primer [beef(lane 1), pork (lane 2), chicken(lane 3)]. Sample K ; include beef only, L ; include chicken only, M ; includ beef, pork and chicken.

의 3종류의 PCR 산물이 동시에 확인되었다(Fig. 3).

고 찰

육제품 가공 산업의 발달에 따라 조리에 장시간이 필요한 곰탕류 등의 음식들도 간단한 조리과정만 거치면 쉽게 섭취할 수 있는 식육추출가공품이 다양한 제품으로 생산되고 있다. 이와 같이 식육추출가공품의 종류가 다양화되고 세분화 되는 가운데 육류 유통 및 육가공 산업에서 저가의 고기가 고가의 육류로 둔갑 유통되거나 가공 육제품의 원료로 사용될 경우 이를 과학적으로 식별할 수 있는 기술개발이 필요하다[16]. 즉, 소뼈만을 사용한다고 표시하고 실질적으로는 비교적 가격이 저렴한 돼지뼈 또는 닭뼈 등을 사용하여 가공식품을 제조한 경우 이를 확인하는 방법이 필요하다. 지금까지 혼합육 및 식육추출가공품에 대한 원료성분 분석 기술로서 HPLC의 고성능 액체 크로마토그래피, SDS-PAGE 및 IEF 등의 전기영동법과 ELISA 분석법 등이 사용되어 왔다[17]. 그러나 이와 같은 기술들은 특이적 단백질을 검출하는 방법이기 때문에 가공과정을 거치는 식육추출가공품에 적용하기에는 한계가 있다. 가공식품의 경우 고압, 살균과 같은 가공처리 과정을 거치면서 단백질 변성 및 수용성 단백질 프로파일의 변화가 일어나기 때문이다[18]. 이와 같은 이유로 최근에는 단백질보다 상대적으로 안정성이 유지되는 DNA 분석을 통해 신속 정확하고 신뢰도 높은 PCR 기술로 원료성분을 분석하는 방법을 사용하고 있는 추세이다[19]. 하지만 본 연구에서도 확인하였듯이 식육추출가공품에서 정제된 DNA를 이용한 PCR 방법으로 사용원료를 확인하기란 쉽지가 않다. 가공과정을 거치면서 첨가된 식품에 존재하는 PCR 저해물질이 PCR에 미치는 영향이 매우 크다는 것을 본 실험을 통해 확인할 수 있었다. 실제로 식품은 다양한 매트릭스를 가지고 있으며 가공과정 중 주형유전자의 파괴가 일어날 가능성이 높기 때문에 종특이 프라이머를 설계하여 PCR 후 PCR 산물의 생성유무로 원료성분을 판별하는 방법에 대한 연구가 다수 보고되었다[20,21,22]. 추가적으로 가공방법, 종류 등

Table 3. PCR results of processed meat products using species-specific primer

Samples	Method								
	Method I			Method II			Method III		
	Beef	Pork	Chicken	Beef	Pork	Chicken	Beef	Pork	Chicken
A	−	−	−	+	−	−	NT	NT	NT
B	−	−	−	+	−	−	NT	NT	NT
C	−	−	−	+	−	−	NT	NT	NT
D	−	−	−	+	−	−	NT	NT	NT
E	−	−	−	+	−	−	NT	NT	NT
F	−	−	−	−	−	+	NT	NT	NT
G	−	−	−	−	−	+	NT	NT	NT
H	−	−	−	+	−	−	+	−	−
I	−	−	−	−	−	−	+	−	+
J	−	−	−	−	−	−	+	−	+
K	+	−	−	NT	NT	NT	NT	NT	NT
L	−	−	+	NT	NT	NT	NT	NT	NT
M	+	+	+	NT	NT	NT	NT	NT	NT

Method I; Direct gene extraction from processed products, Method II; Gene extraction after pre-treatment(centrifuge), Method III; Performing WGA kit for amplify after pre-treatment and gene extraction, +; a PCR product of the expected size was seen, −; no PCR product was formed, NT ; Not Tested

에 따라 효과적인 유전자 추출을 위해 가공식품 유형별 유전자추출법의 확립 또한 필요하다고 생각된다.

본 연구에서는 식육추출가공품류에 대한 분석을 하기위하여 액상제품 7건, 소스류 3건, 분말제품 3건 등 총 13종을 대상으로 하였으며, 분류 방법 중 액상제품이란 사골곰탕, 닭곰탕처럼 수분이 다량 함유되어 있으며 대부분 제품 자체를 간단한 조리로 즉시 섭취 가능한 레토르트 또는 파우치 형태로 포장되어있었다. 그리고 소스류는 식품유형에 따라 표기되어있는 제품이며, 분말제품은 수분이 거의 없는 면류 등에 동봉되어있는 분말형태의 제품이 주를 이루었다. 형태별 최적의 유전자추출 효율성을 검토하였다. 그 결과 분말형태의 제품은 시료를 채취하여 직접 유전자추출, 액상제품은 원심분리 후 침전물을 이용한 유전자추출 그리고 소스류는 유전자추출시 DNeasy Mini spin column을 사용하기 전 원심분리 과정을 추가시행 한 뒤 상등액만 취하여 DNeasy Mini spin column에 분주하였으며 추출유전자를 대상으로 WGA 키트로 증폭한 경우가 PCR을 수행하기위한 유전자추출효율이 높은 것으로 분석되었다 (Table 3). 소스류의 경우 1차적으로 추출한 경우이는 PCR 효율이 낮았으며 추출 유전자를 증폭하는 WGA 키트를 이용한 경우에 PCR이 가능한 것은 소스에 따라 발효 또는 숙성의 단계가 있어 고유의 유전자가 많이 손실되어 이런 결과가 나타나지 않았나 추정된다. 실제로 콩을 주원료로 사용하는 발표간장의 경우 콩 고유의 유전자를 검출하는 것은 어려운것로 알려져 있다.

따라서 본 연구에서 비교 검토된 식육추출가공품의 유형별 유전자추출법은 사용원료 확인을 위한 시험법으로의 적용하여 건전한 식품제조업체를 보호하고 제품 중 사용원료를 허위로 표시하는 가짜식품을 판별하기 위한 과학적 식품감시에 활용도가 매우 클 것으로 기대된다.

감사의 말

본 연구는 식품의약품안전평가원 2012년도 연구개발사업지원비(12161소비연114)에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

요 약

본 연구에서는 분자생물학적 방법을 통한 식육추출가공품의 사용원료 확인을 위해 효율적인 유전자 추출 방법을 검토하였다. 가공식품의 원료성분 확인을 위하여 종 특이 프라이머를 이용하였으며, 대상 식품원료로는 소, 돼지, 닭을 주원료로 가공된 식육추출가공품 13종을 선정하였다. 선정된 시료는 제품유형에 따라 액상, 소스, 분말류로 구분하고 원심분리 등의 전처리를 추가하거나 추출유전자의 증폭을 위하여 Whole Genome Amplification (WGA)를 실시한 뒤 유전자증폭 후 전기영동하여 예상되는 PCR 산물의 생성유무를 확인하였다. PCR을 실시한 결과 액상형태 식육추출가공품의 경우에는 1 ml을 취하여 원심분리 과정을 통해 유전자를 추출 하였을 때 사용원료 확인이 가능하였으며, 소스형태 식육추출가공품의 경우 유전자 추출 후 WGA 과정을 추가로 시행하여야 사용원료확인이 가능하였다. 분말형태 식육추출가공품의 경우에는 추가의 전처리 과정이나 WGA 과정이 필요하지 않았다. 본 연구에서 검토된 유형별 유전자추출법은 식육추출가공품의 유전자추출을 통한 사용원료확인이 가능함을 확인하였으며, 향후 식육추출가공품 중 사용원료의 진위여부 판별에 활용이 가능할 것으로 판단된다.

참고문헌

1. Lee YS, Lee DS and Lyu ES: Dietitians' Perception and Usage of Processed Meat Products, *Korean J. Food Cookery Sci.*, **6**, 813-822 (2005).
2. Padovan G. J, D. De Jong, L. P. Rodrigues and J. S. Marchini: Detection of adulteration of commercial honey samples by the 13C/12C isotope ratio, *Food Chem*., **82**, 633-636 (2003).
3. Schellenberg A., S. Chmielus, C. Schlicht, F. Camin, M. Perini, L. Bontempo, K. Heinrich, S. D. Kelly, A. Rossmann, F. thomas, E. Jamin and M. Horacek: Multielement stable isotope ratio(H, C, N, S) of honey from different european regions, *Food Chem*., **121**, 770-777 (2010).
4. Hong EJ, Kim KH, Park SJ, Kang JW, Kim DS, Lee HJ, Kim EJ, Lee JW, Kim SH, Lee KH and Noh BS: Discrimination of the salted cuttle fish and the salted mitra squid in economically motivatied authentication food using electronic nose based on mass spectrometer, *Food Eng. Progess*., **15**, 122-129 (2011).
5. Hong EJ, Kim KH, Park SJ, Kang JW, Kim DS, Lee HJ, Kim EJ, Lee JH, Lee KH and Noh BS: Discrimination of shreds of frozen and dried alaska pollack, dried pollack and cod using electronic nose, *Food Eng. Progress*., **15**, 162-168 (2011).
6. Fabric T., Celia M. and Catherine H.: Food and forensic molecular identification: update and challenges, *TRENDS in Biotech*., **23**, 359-366 (2005).
7. Folmer O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz, and R. Vrijenhoek: DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome C oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates, *Mol. Mar. Bio. and Biotech*., **3**, 294-299 (1994).
8. Jeon YJ, Kang ES and Hong KW: A PCR Method for Rapid Detection of Buckwheat Ingredients in Food, *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem*., **50**, 276-280 (2007).
9. Meyer R: Development and application of DNA analytical methods for the detection of GMOs in food, *Food Control*., **10**, 391-399 (1999).
10. Kim YC, Lee CS, Hwang SW, Kim SJ, Lee YO, Yoon SW, Seo JH and Nam YS: Comparative Evaluation on Qualitative PCR using Different Extraction Methods for Nucleic Acids on Soybean and Corn Processed Foods, *J. Fd Hyg. Safety*., **18**, 6-13 (2003).

11. Paul D. N. Hebert, Alina Cywinska, Shelley L. Ball and Jeremy R. deWaard: Biological identifications through DNA Barcodes, *Proc. R. Soc. Lond. B*., **270**, 313-321 (2003).
12. Michael T. Monaghan, Michael Balke, T. Ryan Gregory and Alfried P. Vogler: DNA-based species delineation in tropical beetles using mitochondrial and nuclear markers, *Philosophical Transactions of The Royal Society B*., **360**, 1925-1933 (2005).
13. Tomoaki Mitani, Atsushi Akane, Takuma Tokiyasu, Sumitaka Yoshimura, Yutaka Okii and Manabu Yoshida: Identification of animal species using the partial sequences in the mitochondrial 16S rRNA Gene, *Legal Med*., **11**, 449-450 (2009).
14. Trifa T and Zhang D: DNA content in Embryo an Endosperm of Maize kernel (Zea mays L.): Impact on GMO Quantification, *J. Agric. Food. Chem*., **52**, 1044-1048 (2004).
15. Lee HH, Song HS, Kim JH, Lee WY, Lee SH, Park SH, Park HK and Kim HY: Comparison of the Efficiency from Raw and Procedded Corns by Five Different DNA Extraction Methods, *J. Korean Soc. Appl. Che*., **48**, 331-334 (2005).
16. Park JK, Shin KH, Shin SC, Chung KY and Chung ER: Identification of Meat Species Using Species-Specific PCR-RFLP Fingerprint of Mitochondrial 12S rRNA Gene, *Koean J. Food Sci. Ani. Resour*., **27**, 209-215 (2007).
17. Knuutinen J and Harjula P: Identification of fish species by reversed-phase high-performance liquid chromatography with photodiode-array detection, *J. Chromatogr*., **705**, 11-21 (1998).
18. Hird H, Goodier R and Hill M: Rapid detection of chicken and turkey in heated meat products using the polymerase chain reaction followed by amplification visualization with vistra green, *Meat Sci*., **65**, 1117-1123 (2003).
19. Aida AA, Che Man YB, Wong CMVL, Raha AR and Son R: Analysis of raw meats and fats of pig using polymerase chain reaction for halal authentication, *Meat Sci*., **69**, 47-52 (2005).
20. Lee JH, Song KY, Hyeon JY, Hwang IG, Kwak HS, Han JA, Chung YH and Seo KH: Comparison of Standard Culture Method and Real-time PCR Assay for Detection of *Staphylococcus aureus* in Processed and Unprocessed Foods, *Korean J. Food Sci. Ani. Resour*., **30**, 410-418 (2010).
21. Lee SY, Jang KI, Woo GJ, Kwak HS and Kim KY: Development of Protocol for the Effective Detection of Feline Calicivirus as Norovirus Surrogate in Oyster and Lettuce, *Korean J. Food Sci. Techinol*., **39**, 71-76 (2007).
22. Park YC, Ahn CY, Jin SO, Lim JY, Kim KH, Lee JH, Cho TY, Lee HJ, Park KS and Yoon HS: Identification of Raw Materials in Processed Meat Products by PCR Using Species-Specific Primer, *J. Fd Hyg. Safety*., **27**, 68-73 (2012).