pISSN 1229-1153 *J. Fd Hyg. Safety*
Vol. 27, No. 2, pp. 182~187 (2012)

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

고추다대기 혼입 불량고춧가루 판별법 개발

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

Identification of Faulty Red Pepper Powder Containing Seasoned Red-pepper Sauce

Yong-Chjun Park*, Ji-Young Lim, Mi-Ra Kim, Young-Eun Park, Jan-Di Lim, Cho-Rong Hwang, Kyu-Heon Kim, Jae-Hwang Lee, Tae-Yong Cho, Hwa-Jung Lee, Sang-Jae 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 8, 2012/Revised May 28, 2012/Accepted June 15, 2012)

ABSTRACT - In this study, the experimental method has been investigated using molecular biological way to identify raw materials from seasoned red-pepper sauce which is one of the most popular spices in Korea. 6 kinds of seasoned red-pepper sauces were chosen as a sample containing chilli pepper, garlic, onion as a major ingredient and species specific primers were used for the identification of the raw material of processed food. Selected samples were pre-treated to remove salt (samples were washed with distilled water 3~4 times for desalting), after that, to amplify the extracted genes, whole genome amplification (WGA) kit was performed. Afterwards, PCR products were confirmed through the electrophoresis. As a result, 102, 180, 280 bp of specific PCR products were confirmed for each major ingredients such as chilli pepper, garlic, onion. From this study, the gene extraction method was validated for the identification of ingredients from the spices and it would be applied to distinction of low quality chilli pepper powder including seasoned red-pepper sauce illegally.

Key words: PCR (Polymerase Chain Reaction), faulty red pepper powder, seasoned red-pepper sauce

서 론

최근 식품 원자재 값이 높아짐에 따라 불법 식품 제조업자의 증가에 대비한 안전관리 대책 마련이 시급한 실정이다. 경제적인 이득을 취하기 위해 저렴한 식품원료를 사용하는 방법이 다양화되고 소비자를 기만하는 가짜(불량) 식품의 제조유통으로 인하여 식품에 대한 불안감이 높아지고 있다[1,2]. 가짜식품(EMA, Economically Motivated Adulteration)이란 경제적 이득을 취하기 위하여 제조된 식품을 일반적으로 말한다. 가짜식품은 소비자의 건강을 위협할 뿐 아니라 건전한 식품 유통 질서를 어지럽히는 주범으로 국내에서도 외국처럼 이들 식품에 대한 관리, 감독을 강화해 나가야한다. 미국 식품의약품청(FDA), 영국 식품기준청(FAS)에서도 최근에 늘어나는 가짜식품, 가짜의약품, 가짜 화장품 등에 대한 관리를 강화하고 있다. 우리나라의 경우 이슈가 되었던 주요사례로는 2009년 11월 메기내장을 이용한 가짜 창난젓 사건과 중국에서 멜라민이 첨가된 유제품 및 유가공품의 생산 등이 대표적이다[3,4].

또한, 최근 들어 이상기후로 인해 농산물이 정상적으로 자라지 못하고 흉작이 들어 농산물의 물가가 상승하고 있다. 최근 통계청에서 발표한 2012년 3월 소비자물가 동향에 따르면 풋고추 가격은 지난해 같은 기간보다 50.0%나 올랐고 고춧가루도 78.6%가 상승하였다[5]. 특히 고춧가루는 한국고유의 발효식품인 김치와 고추장의 주원료로서 우리의 식문화에서 중요한 위치를 차지하게 되었다. 그러나 1980년대부터 국내의 고추 생산이 수요를 따르지 못하여 외국산 고추를 수입하였고 고추값의 폭등을 가져와 가짜 고춧가루가 사회적인 문제로 제기되어 이를 판단할 수

*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

있는 방법이 필요하다[6]. 불량 고춧가루의 제조에는 고춧가루에 혼합조미료인 양념용 다대기를 섞는 방법, 고춧가루 제조 시 원료고추 이외의 고추씨 종자 분쇄하여 혼합하는 방법, 탄저병에 걸린 고추(희아리)를 혼합하는 방법, 옥수수 속대 등을 갈아서 혼합 후 파프리카 색소를 혼합하는 방법 등 주를 이루며 대부분 증량을 목적으로 사용되고 있다.

향신료조제품의 일종인 다대기류는 마늘, 생강, 양파, 파 등을 다져 넣고 고춧가루를 넣어 만든 양념이다. 이렇듯 육안으로 원재료를 확인할 수 없거나 의도적으로 값이 저렴한 원료를 혼입하여 제조된 식품에 대하여 사용원료를 확인을 위한 분석법 개발에는 특정유전자 검출을 위한 PCR 방법과 특정 단백질을 이용한 면역학적 방법이 국내외적으로 활발히 진행되고 있다[7-9]. 특히 가공식품에 적용하기 위한 방법으로 PCR을 이용한 정성, 정량적 방법을 중심으로 연구 개발되고 있다[10,11]. PCR을 이용한 DNA 검출방법은 매우 특이적이고 감도가 뛰어날 뿐 아니라 DNA가 식품의 가공이나 제조과정 중 단백질에 비해 매우 안정하므로, 식품에서 효율적으로 추출할 수 있으며, 유전물질을 분석하는 것이므로 계절이나 지역적으로 식품원료에서 단백질 함량의 차이로 인한 분석결과의 오차를 줄일 수 있다[12].

종 판별을 위한 유전자 증폭에는 일반 프라이머(universal primer)를 이용하는 방법[13-16]과 종 특이 프라이머(species specific primer)를 이용하여 종을 판별하는 방법[17,18]이 있는데, 일반 프라이머의 경우 대부분 PCR 산물의 크기가 650 bp 이상으로 되어 있어 가공식품에 적용하기에는 한계가 있다. 즉, 가공식품에는 제조공정 중에 주형유전자가 파괴되어 PCR 산물의 크기를 최소화하여야 되기 때문에 종 특이 프라이머를 개발하여 유전자 증폭 유무로 종을 판별하였다.

본 연구에서는 종 특이 프라이머를 이용하여 고추다대기에 함유되어있는 고추, 마늘, 양파의 검출법을 확립하였으며, 향후 고추다대기를 이용한 불량고춧가루 제조 시 이를 판별할 수 있어 식품안전관리에 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

재료 및 방법

시약 및 시료 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 추출하기 위한 DNeasy plant maxi kit는 Qiagen (Qiagen GmbH, Hilden, Germany)으로부터 구매하였으며, 추출유전자의 증폭은 GenomePlex® Whole Genome Amplification (WGA) kit (Sigma-Aldrich®, USA)를 사용하였다. WGA 후에는 AccuPrep® PCR Purification Kit (Bioneer, Korea)를 사용하여 정제하였다. 시료로 사용된 향신료조제품은 경인청(시험분석센터)으로 부터 제공받았으며 시료별 주요 구성성분은 Table 1에 나타내었다.

시료의 전처리

시료는 모두 염 성분을 포함하고있어 유전자추출 효율을 높이기위하여 탈염과정을 수행하였다. 염을 제거하기 위해 시료 1 g에 가온(약 60°C)한 증류수 30 ml을 넣어 잘 섞어준 후 5,000×g에서 5분간 원심분리 후 침전물을 취하였으며 이 단계를 3~4회 반복하였다. 세척된 시료는 건조기(50°C)에서 하루 동안 건조 후 유전자추출을 위한 시료로 사용하였다.

유전자 추출 및 WGA 키트 사용

DNeasy Plant maxi kit를 사용하여 유전자를 추출하였다. 추출방법은 제조사에서 제공하는 방법에 의거하여 추출하였고 최종 용출단계에서는 AE 완충용액 대신 멸균증류수를 사용하여 DNeasy Mini spin column으로부터 용출하였다. 추출된 유전자는 증폭을 위하여 WGA 키트를 사용하였으며 간단히 요약하면, WGA 과정은 fragmentation, OmniPlex library generation, PCR amplification의 총 3단계로 이루어진다. 시료로부터 추출된 소량의 DNA를 fragmentation buffer를 이용하여 무작위로 단편화를 시킨 후 작은 단편들을 PCR 증폭이 가능한 OmniPlex® Library molecules로 전환시킨다. 그 후, OmniPlex® Library는

Table 1. List of samples used in this study

Samples	Components			
	Powdered red pepper	Garlic	Onion	NaCl
s1	38.8%	20.0%	6.3%	3.4%
s2	39.5%	5.0%	6.0%	3.0%
s3	40.0%	7.0%	4.0%	14.0%
s4	39.0%	4.0%	6.0%	2.0%
s5	39.5%	–	6.0%	1.0%
s6	19.0%	–	3.0%	8.0%

(–): not contain

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

Items	Name	Sequence (5' → 3')	Size (bp)	Ref.
Red pepper	CCS-F CCS-R	CTAATGGAAACCCTTCTAAAGC GGTTGGATTTGGAAAAGTGG	102	Song, et al 2007[28]
Garlic	GM-ASM-080-F GM-ASM-080-R	AATCTCCCTCCAAAGTCCC CTGTATTTTGTGTAAAGCATCA	180	Zhoa, et al 2011[30]
Onion	API73-F API73-R	GTTTCTTGGATGCGATTTTG GCAACTGTATAATCAGCATATGC	280	McCallum, et al 2006[31]

universal oligonucleotide 프라이머를 이용하여 유전자를 증폭하였다. 증폭된 유전자는 AccuPrep® PCR Purification Kit를 이용하여 최종적으로 정제하였다.

Polymerase Chain Reaction (PCR) 반응액 조성 및 반응조건

PCR을 위한 반응액의 조성은 주형 DNA 50 ng, dNTPs 200 μM, $MgCl_2$ 2.5 mM, 프라이머 각 0.5 μM이 되게 혼합하였으며 최종 부피는 25 μL로 하였다. 사용된 프라이머에 대한 정보는 Table 2에 명시하였다. 그리고 종별로 PCR 조건은 달리하여 실시하였다. 고추 검출을 위한 반응조건은 94ºC에서 5분 예비가열 후, 94ºC 30초 변성, 62ºC 30초 재결합, 72ºC 30초 중합반응의 과정을 40회 반복하고 마지막에 72ºC에서 7분간 처리하였다. 마늘 및 양파의 반응조건은 94ºC에서 10분 예비가열 후, 94ºC 30초 변성, 50ºC 30초 재결합, 72ºC 30초 중합반응의 과정을 40회 반복하고 마지막에 72ºC에서 5분간 처리하였다.

결 과

전처리법에 따른 유전자추출 효율 검토

본 연구에서는 향신료조제품인 고추다대기 중 고추, 마늘, 양파의 함유여부를 확인하기위한 효율적인 유전자추출 방법을 검토하였다. 대상 식품으로는 고추, 마늘, 양파를 모두 함유하는 제품 4건과 고추와 양파가 첨가된 제품 2건 등 총 6건을 대상으로 하였다. 첫째, 시료로부터 직접 유전자를 추출 후 고추(CCS-F/CCS-R), 마늘(GM-ASM-080-F/GM-ASM-080-R), 양파(API73-F/API73-R)에 특이적으로 반응하는 프라이머를 사용한 결과 모든 시료에서 PCR 산물을 확인하지 못하였다. 두 번째, 시료 중 함유되어 있는 염을 제거하기 위하여 증류수를 사용하여 3~4회 세척 후 침전물을 건조시켜 유전자 추출 후 PCR을 수행하였다. 그 결과 총 6건 중 5건에서 102 bp의 고추에 특이적인 산물이 생성됨을 확인할 수 있었으나 마늘과 양파에 대하여는 PCR 산물을 확인하지 못하였다.

추출 유전자 증폭을 위한 WGA 키트의 적용성 검토

상기와 동일한 목적으로 고추다대기의 구성성분인 원료의 확인을 위하여 시료를 증류수로 3~4회 세척 후 침전물로부터 유전자를 추출 후 WGA 키트를 사용하여 추출 유전자를 증폭하였다. 증폭된 유전자를 대상으로 PCR을 수

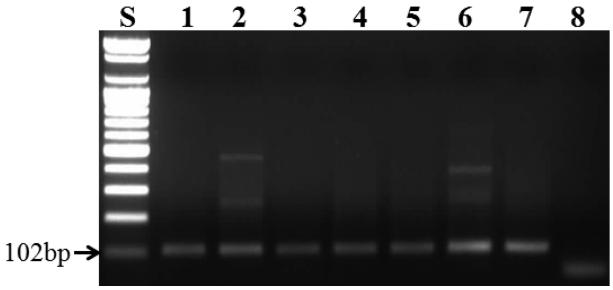

Fig. 1. Detection of red pepper from spice formula by PCR using red pepper-specific primer. Lane 1; Red pepper, 2; s1, 3; s2, 4; s3, 5; s4, 6; s 5, 7; s6, 8; No Template control.

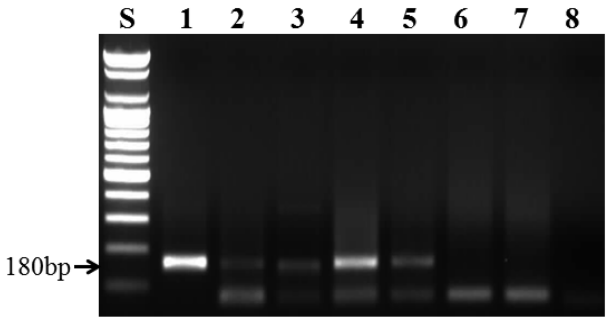

Fig. 2. Detection of garlic from spice formula by PCR using garlic-specific primer. Lane 1; garlic, 2; s1, 3; s2, 4; s3, 5; s4, 6; s5, 7; s6, 8; No Template control.

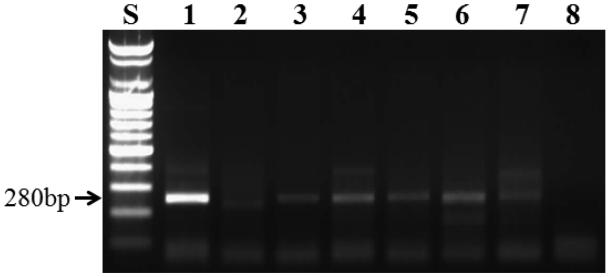

Fig. 3. Detection of onion from spice formula by PCR using onion-specific primer. Lane 1; onion, 2; s1, 3; s2, 4; s3, 5; s4, 6; s5, 7; s6, 8; No Template control.

행한 결과 6건 모두에서 고추의 유전자(102 bp)를 확인하였다(Fig. 1). 그리고 마늘을 함유하는 4건의 시료에서 마늘 유전자(180 bp)가 확인되었으며(Fig. 2), 양파를 함유하는 6건의 시료에서 양파유전자(280 bp)가 확인되었다(Fig. 3).

고 찰

최근 값싼 식품원료를 의도적으로 혼합하거나 표시사항을 허위로 기재한 EMA 식품이 급증하고 이로 인해 소비자의 불안감이 높아져만 가고 있다. 이에 따라 가공식품에 대한 원료의 정확한 표시와 소비자의 신뢰성 확보를 위해 식품의 원료 표시를 객관적으로 검증할 수 있는 과학적인 판별기술법의 개발이 요구되고 있다[1,2]. 일반적인 농・축・수산물의 경우 육안으로 관찰하여 원재료를 확인할 수 있으나 가공식품의 경우 육안으로 사용된 원재료를 확인하는 방법이 어려우며 의도적 혼입량이 소량일 경우에는 이화학적인 방법보다 분자생물학적인 분석법의 접근이 용이하다.

지금까지 식품원료의 성분 분석 기술로서 광합성의 대사경로에 따른 탄소동위원소비율 분석법[19,20], 분자량이 적은 ion-fragment의 패턴차이를 이용하여 비교분석하는 MS-전자코 분석법[21,22], 단백질분석법은 면역학적 방법[23,24]이 주로 개발되고 있다. 유전자는 모든 동물 및 식물의 조직 내에 존재하며 식품제조 공정 중 처리되는 압력, 고열 등에 대하여 단백질 보다 안정성이 높은 장점이 있다. 또한 PCR에 의하여 일부 유전자를 특이적으로 증폭 시키는 방법은 신속성, 간편성, 민감도, 특이도 등이 우수하여 최근에는 식품원료 동정을 위하여 PCR 방법을 사용하고 있는 추세이다[13-15,17,18]. 하지만 본 연구에서도 확인하였듯이 가공식품에서 PCR 방법으로 원료를 확인하기란 쉽지가 않다. 궁극적으로 가공과정을 거치면서 첨가된 식품에 존재하는 PCR 저해물질이 PCR에 미치는 영향이 매우 크다는 것을 확인할 수 있었다. 실제로 식품은 다양한 매트릭스를 가지고 있으며 가공과정 중 주형유전자의 파괴가 일어나기 때문에 종 특이 프라이머를 설계하여 PCR 후 PCR 산물의 생성유무로 원료성분을 판별하는 방법에 대한 연구가 다수 보고되었다[2,25-27]. 종 특이 프라이머를 이용하는 장점으로는 분석시간이 짧고 가공식품처럼 주형유전자의 크기가 작은 경우에도 적용이 가능하다. 단점으로는 설계된 프라이머가 유사 종에서도 증폭 가능성이 있어 프라이머 설계와 유사종에 대한 검증작업이 필수적이다.

본 연구에서는 불량 고춧가루를 판별할 수 있는 시험법 개발이 목적이다. 불량고춧가루제조의 유형으로는 향신료 조제품의 일종인 고추다대기를 혼입하는 방법, 고추의 병든 부위인 희아리를 혼입하는 방법, 옥수수 속대 등을 섞은 후 파프리카 추출색소를 혼입하는 방법 등이 주를 이루고 있다. 고추다대기는 '관세법 제85조에 따른 품목분류 기준에 관한 고시(관세청 고시 제2010-129호, '10.12.27) 제23조 2항'에 따르면 '전체 성분 중 마늘, 파, 양파, 생강 등 다대기의 특성을 부여하는 물품이 두 종류 이상 적정한 비율로 혼합되어야 하고 이들의 합의 중량비율이 전 중량의 100분의 10 이상이어야 한다'라고 규정하고 있다. 따라서 고추다대기를 혼합하여 제조된 불량고춧가루는 시료로부터 마늘, 파, 양파, 생강의 유무를 확인하는 시험법이 개발되면 불량고춧가루를 판별 수 있어 시료의 전처리법, 유전자추출법 등에 대한 연구를 수행하였다.

따라서 향신료조제품인 고추다대기 6건을 대상으로 하였으며, 시료 자체로부터 전처리를 하지 않고 DNA를 추출한 경우 고추, 마늘, 양파에 대한 종 특이 프라이머를 사용하여 PCR을 수행한 결과 모든 시료에서 특이적인 산물이 생성되지 않았다. 시료는 1.0~14.0%의 염을 포함하고 있는데 염성분이 DNA 추출 시 억제제 역할을 한 것으로 추정된다. 따라서 염 성분을 제거하기 위하여 시료를 증류수로 3~4회 세척 후 침전물을 대상으로 유전자를 추출하였다. 세척수로 사용된 증류수는 염 성분을 보다 효율적으로 제거하기 위하여 가온(약 60°C)한 증류수를 이용하였다. 전처리 과정을 수행 후 추출된 유전자를 대상으로 PCR 실시 결과 시료 6건 중 5건에서만 PCR 산물 확인되었으며, 마늘과 양파에서는 PCR 산물이 나타나지 않았다. 고추다대기의 구성원료 함량을 보면, 고춧가루 19.0~ 40.0%, 마늘 0~20.0%, 양파 3.0~6.3%로 고춧가루에 비하여 마늘 및 양파의 함유량이 소량이었다. 따라서 추출 유전자로부터 마늘 및 양파의 확인이 어려웠던 것으로 추정된다.

최근의 논문에 의하면 사용원료 판별을 위하여 올리브오일로부터 유전자 추출 후 WGA 키트를 사용하여 DNA의 양이 17~22배 정도 증가되었다는 논문이 발표되었다[29]. 상기 논문을 근거로 본 연구에서도 WGA 키트를 이용하였다. 따라서 고추다대기로부터 추출된 유전자를 증폭하기위하여 WGA키트를 사용 후 PCR을 수행하였다. 그 결과 모든 시료에 대하여 고추유전자를 확인할 수 있었으며(Fig. 1), 양파를 함유하는 6건 및 마늘을 함유하는 4건에서 각각 양파 및 마늘 유전자를 확인할 수 있었다(Fig. 2 및 3). 그리고 성분 함유량에 따른 PCR 산물의 양적 변화는 비교하기 어려웠다. 즉, 시료 1 및 시료 3의 경우 마늘 함유량이 각각 20.0% 및 7.0%로 표시되어 있었으나 전기영동사진(Fig. 2)에서는 시료 3에서 오히려 많은 PCR 산물이 생성된 것으로 나타났다. 이것은 유전자 추출 및 WGA 키트의 효율에 의한 것이라 추정된다.

따라서 본 연구에서 검토된 시료 전처리법, 유전자추출법, 추출유전자 증폭법 등은 가공식품에 대한 적용성을 최종 확인하였으며, 향후 증량의 목적으로 고추다대기를 첨가하여 제조된 불량고춧가루를 판별하는 경우 유용하게 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 말

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

요 약

본 연구에서는 향신료 조제품인 고추다대기의 사용원료 확인을 위한 분자생물학적 기법을 이용한 시험법을 검토하였다. 시료 중 원료성분 확인을 위하여 고추, 마늘, 양파의 종 특이 프라이머를 이용하였으며, 대상 식품원료로는 고추다대기 6건을 선정하였다. 시료로부터 직접 유전자 추출 후 PCR을 실시하였으나 고추 등 사용원료의 확인이 어려웠다. 따라서 염 성분을 제거하기 위하여 증류수를 이용하여 3~4회 세척 후 PCR한 결과 6건 중 5건에서만 고추유전자 확인되었으며, 마늘 및 양파 성분은 모두 확인이 불가능하였다. 따라서 염 성분 제거 후 추출유전자의 증폭을 위하여 Whole Genome Amplification (WGA) 키트를 사용 후 PCR을 실시하였다. 그 결과 모든 시료에서 고추유전자(102 bp)를 확인하였으며, 양파를 함유하는 6건 및 마늘을 함유하는 4건에서 각각 양파(280 bp) 및 마늘(180 bp) 유전자를 확인하였다. 따라서 본 연구에서 검토된 고추다대기에 대한 시료 전처리법, 유전자추출법, 추출유전자증폭법 등은 고추다대기를 이용한 불량고춧가루 제조 시 이를 판별할 수 있어 식품안전관리에 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

참고문헌

1. Kim, S.K.: Analysis of adulteration of red ginseng, *bokbunja* and plum extracts by the $^{13}C/^{12}C$ isotopic ratio, *Master's thesis., University of Sejong, Seoul, Korea* (2010).
2. Park, Y.C., Ahn, C.Y., Jin, S.O., Kim, K.H., Lee, J.H., Cho, T.Y., Lee, H.J., Park, K.S. and Yoon, H.S.: Identification of raw materials in processed meat products by PCR using species-specific primer. *J. Fd Hyg. Saferty.,* **27**, 68-73 (2012).
3. Official, J.: The European communities; Article 8. Regulation(EC) No. **178** (2002).
4. Woon, J.H. and Lim, K.J.: Understanding and response of melamin in food. *Food Ind.,* **206**, 51-65 (2008).
5. http://kosis.kr/index/index.jsp.
6. Shin, H.H. and Lee, S.R.: Attempts to estimate the use level of red pepper in *Kimch*i and *Kochujang*. *Korean J. Food Sci. Technol*., **23**, 301-305 (1991).
7. Kim, H.J., Park, S.H. and Kim, H.Y.: Study for detection of glyphosate tolerant soybean using PCR. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **33**, 521-524 (2001).
8. Kwak, B.Y., Ko, S.H., Park, C.W., Son, D.Y. and Shon, D.H.: Development of enzyme-linked immunosorbent assay for glyphosate-tolerant soybeans. *Korean J. Food Sci. Technol.,* **35**, 366-372 (2003).
9. Kim, Y.M., Sohn, S.H., Jeong, S.I., Yoon, M.S., Kim, T.S. and Park, Y.H.: Detection methods for genetically modified soybeans. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.,* **45**, 185-189 (2002).
10. Wurz, A., Bluth, A., Zeltz, P., Pfeifer, C and Willmund, R.: Quantitative analysis of genetically modified organisms (GMO) in processed food by PCR-based methods. *Food Control.*, **10**, 385-389 (1999).
11. Hubner, P., Studer, E. and Luthy, J.: Quantitative competitive PCR for the detection of genetically modified organisms in food. *Food Control.*, **10**, 353-358 (1999).
12. Goodwin, P.R.: Food allergen detection methods: a coordinated approach. *J. AOAC Int.,* **87**, 1383-1390 (2004).
13. Fabrice, T., Celia, M. and Caterine, H.: Food and forensic molecular identification:update and challentes, *TRENDS in Biotech*., **23**, 359-366 (2005).
14. Folmer O, M. Black, W. Hoeh, R. Lutz, R. Vrijenhoek.: DNA primers for amplification of mitochodrial cytochrome C oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Bio and Biotech.*, **3**, 294-299 (1994).
15. Paul D, N. Hebert, Alina Cywinska, Shelley L. Ball, Jeremy R. deWaard.: Biological identifications through DNA Barcodes. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, **270**, 313-321 (2003).
16. Michael T. Monaghan, Michael Balke, T. Ryan Gregory, 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).
17. Kocher, T.D., Thomas, W.K., Meyer, A., Edwards, S.V., Paabo, S. and Vellablanca, F.X.: Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proc, Natl. Acad. Sci.*, **86**, 6196-6200 (1989).
18. Tomoaki Mitani, Atsushi Akane, Takuma Tokiyasu, Sumitaka Yoshimura, Yutaka Okii, Manabu Yoshida.: Identification of animal species using the partial sequences in the mitochondrial 16S-rRNA gene. *Legal Med.*, **11**, 449-450 (2009).
19. Padovan G. J, D. De Jong, L. P. Rodrigues, J. S. Marchini.: Detection of adulteration of commercial honey samples by the $^{13}C/^{12}C$ isotope ratio. *Food Chem.,* **82**, 633-636 (2003).
20. Schellenberg, A., Chmielus, S., Schlicht, C., Camin, F., Perini, M., Bontempo, L., Heinrich, K., Kelly, S.D., Rossmann, A., Thomas, F., Jamin, E. and Horacek, M.: Multielement stable isotope ratio (H, C, N, S) of honey from different european regions, *Food Chem*., **121**, 770-777 (2010).
21. Hong, E.J., Kim, K.W., Park, S.J., Kang, J.W., Kim, D.S., Lee, H.J., Kim, E.J., Lee, J.H., Lee, K.H. and Noh, B.S.: Discrimination of the salted cuttle fish and the salted mitra squid in economically motivated authentication food using electronic nose based on mass spectrometer. *FoodEng. Progress*., **15**, 122-129 (2011).
22. Ampuero, S., Bogdanov, S. and Bosset, J.O.: Classification

of unifloral honey with an MS-based electronic nose using different sampling model, SHS, SPME and INDEX. *European Food Sci. Technol*., **41**, 609-614 (2004).
23. Anguita, G., Martin, R., Garci, T., Morales, P. and Haza, A.I.: Immunostick ELISA for detection of cow's milk in Ewe's milk and cheese using a monoclonal antibody against β-casein. *J. FoodProt*., **59**, 436-437 (1996).
24. Anguita, G., Martin, R., Garci, T., Morales, P., Haza, A.I., Gonzalez, I., Sanz, B. and Hrnandez, P.E.: A competitive enzyme-linked immunosorbent assay for detection of bovine milk in bovine and caprine milk and cheese using a monoclonal antibody against bovine β-casein. *J. FoodProt*., **60**, 64-66 (1997).
25. Park, J.K., Shin, K.H., Chung, K.Y. and Chung, E.R.: Identification of meat species using species-specific PCR-RFLP Fingerprint of mitochondrial 12S rRNA gene. Korean *J. Food Sci. Ani. Resour*., **27**, 209-215 (2007).
26. Kim, M.Y., Kim, J.H., Kim, H.J., Park, S.H., Woo, G.J. and Kim, H.Y.: Monitoring of genetically modified soybean and processed foods in korean market using PCR. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol*., **46**, 344-347 (2003).
27. Jeon, Y.J., Kang, E.S. and Hong, K.W.: A PCR method for rapid detection of buckwheat ingredients in food. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem*., **50**, 276-280 (2007).
28. Song, H.S., Kim, J.H., Kim, D.H. and Kim, H.Y.: Qualitative and quantitative analysis of genetically modified pepper. *J. Microbiol. Biotechnol*., **17**, 335-341 (2007).
29. Innocenzo Muzzalupo, Massimiliano Pellegrino, Enzo Perri: Detection of DNA in virgin olive oils extracted from destoned fruits. *Eur Food Res Technol*., **224**, 469-475 (2007)
30. Zhao, W.G., Chung, J.W., Lee, G.A., Ma, K.H., Kim, H.H., Kim, K.T., Chung, I.M., Lee, J.K., Kim, N.S., Kim, S.M. and Park, Y.J.: Molecular genetic diversity and population structure of a selected core set in garlic and its relatives using novel SSR markers. *Plant Breeding*., **130**, 46-54 (2011)
31. McCallum, J., Clarke, A., Pither-Joyce, M., Shaw, M., Butler, R., Brash, D., Scheffer, J., Sims, I., van Heusden, S., Shigyo, M. and Havey, M.J.: Genetic mapping of a major gene affecting onion bulb fructan content. *Theor Appl Genet*., **112**, 958-67 (2006).