pISSN 1229-1153 *J. Fd Hyg. Safety*
Vol. 28, No. 1, pp. 50~55 (2013)

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

식품원료로 사용금지 대상인 기름치 (기름갈치꼬치 및 흑갈치꼬치) 판별법 개발

박용춘* · 김미라 · 정용현[1] · 신준호 · 김규헌 · 이재황 · 조태용 · 이화정 · 이상재 · 한상배
식품의약품안전청 식품의약품안전평가원 식품위해평가부 식품감시과학팀, [1]식품의약품안전청 식품기준과

Development of Detection Method for Oilfish (*Ruvettus pretiosus* and *Lepidocybirium flavobrunneum*) as a Food Materials not Usable in Foods

Yong-Chjun Park*, Mi-Ra Kim, Yong-Hyun Jung[1], Joon-Ho Shin, 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, [1]Food Standardization Division, Food & Drug Administration
187 Osongsaengmyeong2(i)-ro, Osong-eup, Cheongwon-gun, Chungcheongbuk-do 363-700, Korea
(Received June 4, 2012/Revised October 3, 2012/Accepted February 25, 2013)

ABSTRACT - Since 1 June 2012, it is prohibited to sell oilfish as a food material but there are still many illegal cases of selling oilfish as if it is tuna or grilled Patagonian toothfish. So it is absolutely crucial to construct the system to distinguish the real food material from oilfish. There are two sorts of oil fish called *Ruvettus pretiosus* and *Lepidocybirium flavobrunneum* involved in Percifomes order and Gempylidae class. 16S DNA gene region in mitochondria was selected to design the specific primers. For design species-specific primer, the theoretical experiment were performed for the sequences of *R. pretiosus, L. flavobrunneum, Thunnus thynnus, Thunnus albacores, Makaira mitsukurii* and *Xiphias gladius*, registered at the Gene bank from the National Centre for Biotechnology Information, using BioEdit 7.0.9.0. program. Through the analysis of the result from experiments, it was possible to design the 4 kinds of primers to distinguish *R. pretiosus* and *L. flavobrunneum*. As a comparison group, 3 kinds of tuna and 4 kinds of billfishes were selected and experimental verification was performed. As a result, for *R. pretiosus* and *L. flavobrunneum*, R.P-16S-006-F/R.P-16S-008-R and L.F-16S-004-F/L.F-16S-006-R primers were selected eventually and PCR condition was established. In addition, 178bp and 238bp of PCR products were confirmed from the established condition and non-specific band was not amplified among similar species. Therefore, the species-specific primers developed in this study would be very useful and used in various ways such as internet shopping mall and illegal distributions with fast and scientific results.

Key words: *Lepidocybirium flavobrunneum,* PCR (Polymerase Chain Reaction), *Ruvettus pretiosus*, species-specific primer

심해성 어류의 일종인 기름치(oilfish)는 어육의 약 25%가 기름으로 이루어져 있으며, 기름의 대부분은 사람에게 소화능력이 거의 없는 지방산의 일종인 왁스성분(Wax ester)으로 구성되어있다[1]. 기름치로 구별되는 어류로는 농어목(Perciformes) 갈치꼬치과(Gempylidae)에 속하는 기름갈치꼬치(*Ruvettus pretiosus*)와 흑갈치꼬치(*Lepidocybirium flavobrunneum*)가 있다. 기름치는 식품으로 다량 섭취 시 왁스성분으로 인하여 설사를 일으킬 수 있어 국가별로 수입, 판매 등에 대하여 규제를 하고 있다. 일본 및 이탈리아는 수입을 금지하고 있고, 호주는 식품으로 판매를 금지하고 있다. 미국 식품안전청(Food and Drug Administration, FDA)에서 발간한 '어류 및 수산가공품 가이드라인'에는 심각한 설사를 유발하는 자연독(Gempylotoxin)을 지니며, Scombrotoxin 형성 어류로 분류하고 있다[2]. 홍콩 식품안전센터(Center for Food Safety, CFA)에서는 무역업자가 기름치의 소비와 관계된 조리법과 잠정적인 건강위험도에 대하여 소비자에게 충분한 정보를 제공해야 된다고 규정하고 있다[3]. 국내에서도 식품의약품안전청 고시 제2011-41호(2011.08.19)에 의하여 기름치를 동물성식품원료에서 삭제하여 2012년 3월1일부터는 식품원료로 사용할 수 없도

*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

록 규정하였다[4]. 한편 미국, 홍콩 등에서는 기름치를 은대구(butterfish), 대구(codfish) 등으로 허위 표기하는 경우가 있으며, 국내에서도 참치(tuna)회 또는 메로구이로 판매되고 있는 경우가 있어 사회적 관심이 높다. 특히, 횟집에서 기름치를 참치회 또는 메로구이로 제공할 경우 원산물 형태가 아니어서 육안으로 이를 구별하기에는 어려움이 많다. 따라서 기름치를 과학적으로 판별할 수 있는 시험법 마련이 필요하다.

분자생물학적인 기법을 이용한 동물 또는 식물의 종 판별법에는 일반프라이머(universal primer)를 사용하여 특정 유전자를 증폭하고 염기서열을 결정 후 데이터베이스의 자료를 이용하여 판별하는 방법[5,6,7,8]과 종 특이 프라이머(species-specific primer)를 사용하여 PCR 산물의 생성 유무로 판별하는 방법이 있다[9,10,11]. 일반프라이머를 사용할 경우 염기서열 결정 및 소프트웨어를 이용한 결과 분석 등의 단계가 필요하여 분석시간과 비용이 추가로 발생된다.

따라서 본 연구에서는 종 특이 프라이머를 이용한 기름치를 판별하기 위하여 최적의 프라이머 개발과 PCR 조건을 확립하였으며, 확립된 시험법은 참치류 (다랑어류 및 새치류)로부터 기름치를 판별하여 건전한 식품유통 질서를 확립하고 소비자를 보호하는 식품안전관리에 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

재료 및 방법

재료선정

기름치는 기름갈치꼬치(*R. pretiosus*) 및 흑갈치꼬치(*L. flavobrunneum*)를 선정하였으며, 대조군으로 참다랑어(*Thunnus thynnus*), 황다랑어(Thunnus *albacares*), 눈다랑어(*Thunnus obesus*), 청새치(*Tetrapturus audax*), 황새치(*Xiphias gladius*), 녹새치(*Makaira mazara*), 돛새치(*Istiophorus platypterus*) 등 총 9종을 대상으로 하였다.

시약 및 검체 구입

유전자증폭(Polymerase Chain Reaction, PCR)을 위한 프라이머 및 *Taq* DNA polymerase는 바이오니아(Bioneer, 대한민국)에 의뢰하여 합성 또는 구매하였다. PCR 장비는 GeneAmp™ PCR System 9700 (Applied Biosystems, USA)을 사용하였으며, 유전자 추출은 DNeasy Blood & Tissue kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany)를 사용하였다. 표준시료인 기름갈치꼬치 및 흑갈치꼬치는 농림수산검역검사본부 (수산물검사과)로부터 분양받았으며, 다랑어류 3종 및 새치류 4종은 참치전문도매상으로부터 구입하였다.

유전자 추출

DNeasy Blood & Tissue kit를 사용하여 유전자를 추출하였으며 추출방법은 제조사에서 제공하는 방법에 따랐으며 최종 용출단계에서는 AE 완충용액 대신 멸균증류수를 사용하여 용출하였다

종 특이 프라이머 설계

미국 국립보건원에서 운영하는 유전자은행(www.ncbi.nlm.nih.gov)에 등록되어있는 기름치, 다랑어, 새치 등의 16S DNA부위에 대한 염기서열을 대상으로 하였으며 비교 및 분석에는 소프트웨어인 BioEdit ver. 7.0.9.0 프로그램을 사용하였다.

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 용량은 20 μL로 하였다. 기름갈치꼬치 판별을 위한 PCR 반응조건은 95°C에서 5분 예비가열 후, 95°C 30초 변성, 60°C 30초 재결합, 72°C 30초 중합반응 등의 과정을 35회 반복하고 마지막에 72°C에서 7분간 처리하였으며, 흑갈치꼬치 판별 조건은 95°C에서 5분 예비가열 후, 95°C 30초 변성, 62°C 15초 재결합, 72°C 30초 중합반응 등의 과정을 30회 반복하고 마지막에 72°C에서 7분간 처리하였다.

결과확인

최종산물의 확인은 반응액 5 μl를 취하여 아가로즈 젤로 100 V, 30분간 전기영동하고 EtBr로 염색(1 μg/ml)한 후 UV투영기를 이용하여 확인하였다.

결 과

종 특이 프라이머 설계

기름치 판별을 위하여 유전자은행에 등록되어있는 기름갈치꼬치(*R. pretiosus*, Accession No. EU410415), 흑갈치꼬치(*L. flavobrunneum*, Accession No. GU946643), 참다랑어(*T. thynnus*, Accession No. EF990668), 황다랑어(*T. albacares*, Accession No. HM071029), 청새치(*Tet. audax*, Accession No. GQ253103), 황새치(*X. gladius*, Accession No. GU946671)의 16S DNA 염기서열을 이용하였다. 기름갈치꼬치 및 흑갈치꼬치를 동시에 판별할 수 있는 프라이머를 설계하려고 상호 염기서열을 분석하였으나 염기서열의 상동성이 높지 않아 각각 설계하였다. 첫째, 기름갈치꼬치에 대한 특이 프라이머를 설계하기 위하여 기름갈치꼬치, 참다랑어, 황다랑어, 청새치 및 황새치의 염기서열 분석을 통하여 정방향 2종(R.P-16S-005-F 및 R.P-16S-006-F)과 역방향 2종(R.P-16S-007-R 및 R.P-16S-008-R)을 설계하여 총 4종류(R.P-16S-005-F/R.P-16S-007-R, R.P-16S-005-F/R.P-16S-008-R, R.P-16S-006-F/R.P-16S-007-R, R.P-16S-006-F/R.P-16S-

008-R)의 조합이 이루어지도록 하였다(Fig. 1). 둘째, 흑갈치꼬치의 경우에도 기름갈치꼬치와 유사한 방법을 통하여 정방향 2종(L.F-16S-003-F 및 L.F-16S-004-F)과 역방향 2종(L.F-16S-005-R 및 L.F-16S-006-R)을 설계하여 총 4종류(L.F-16S-003-F/L.F-16S-005-R, L.F-16S-003-F/L.F-16S-006-R, L.F-16S-004-F/L.F-16S-005-R, L.F-16S-004-F/L.F-

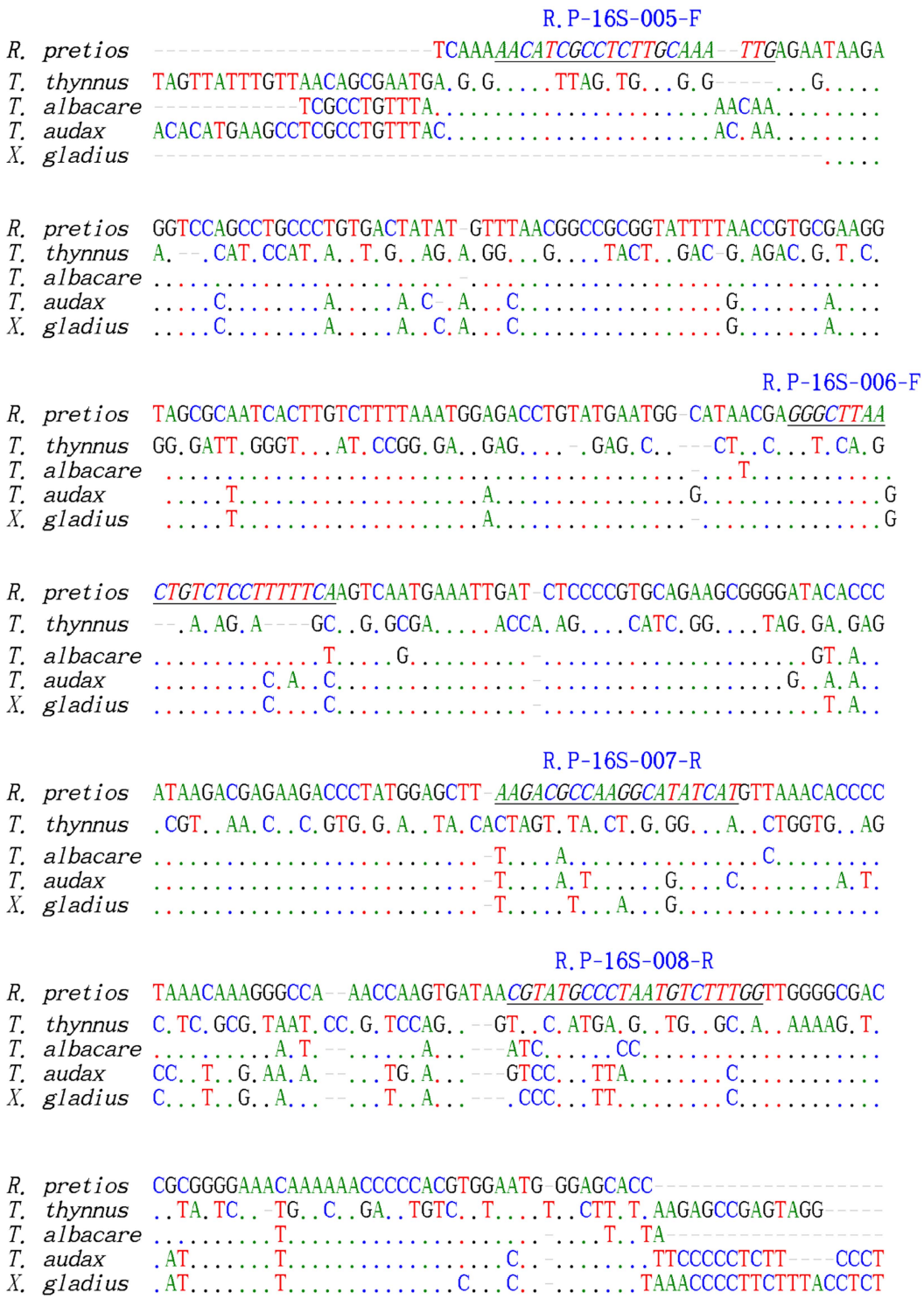

Fig. 1. Nucleotide alignment and primer information designed from 16S gene of *R. pretiosus* (Accession No. EU410415), *T. thynnus* (Accession No. EF990668), *T. albacares* (Accession No. HM071029), *Tet. audax* (Accession No. GQ253103) and *X. gladius* (Accession No. GU946671). The underline and italic sequence indicate designed primer site. For more detailed contents of primer see the Table 1.

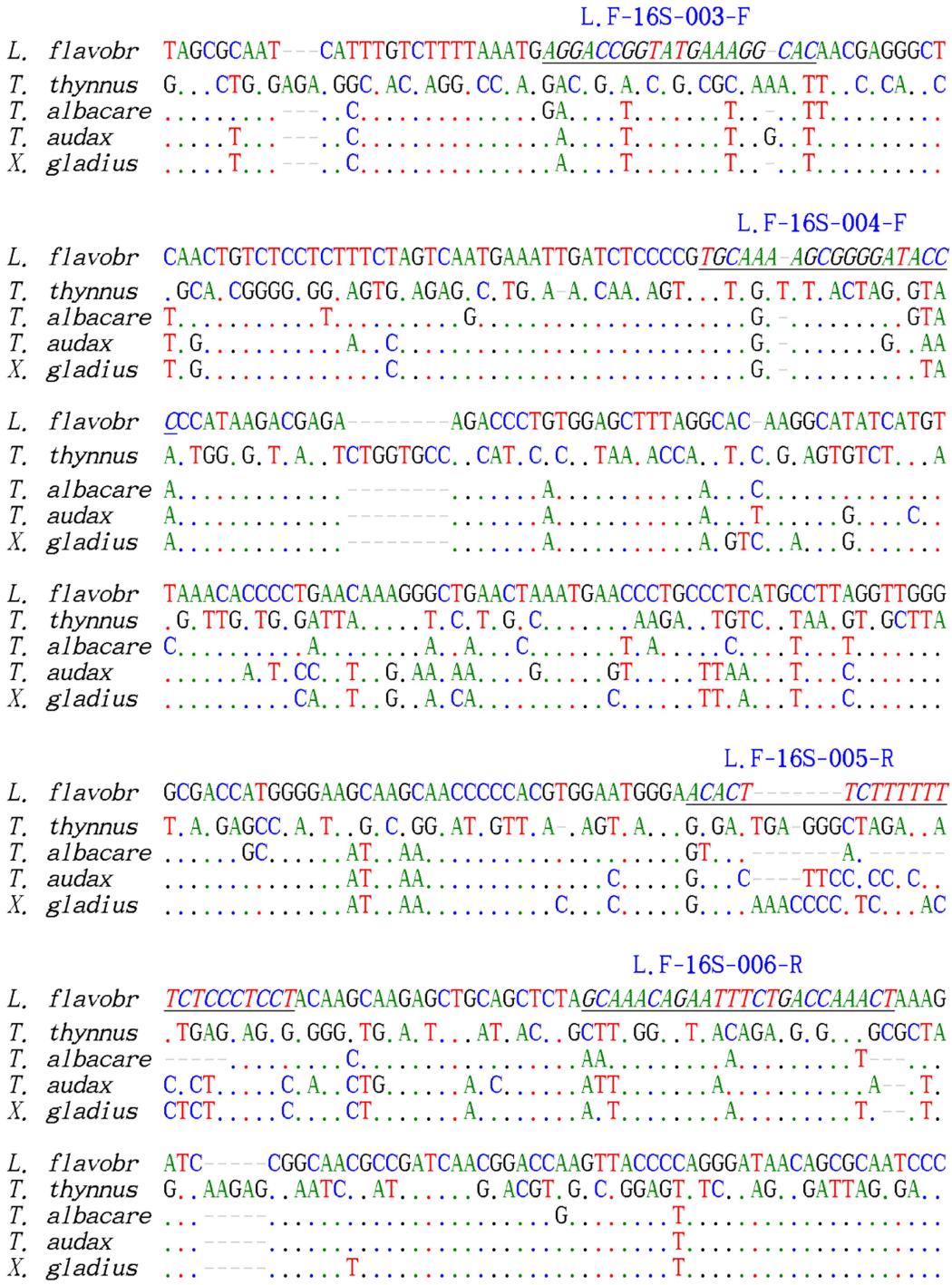

Fig. 2. Nucleotide alignment and primer information designed from 16S gene of *L. flavobrunneum* (Accession No. GU946643), *T. thynnus* (Accession No. EF990668), *T. albacares* (Accession No. HM071029), *Tet. audax* (Accession No. GQ253103) and *X. gladius* (Accession No. GU946671). The underline and italic sequence indicate designed primer site. For more detailed contents of primer see the Table 1.

16S-006-R)의 조합이 이루어지도록 하였다(Fig. 2). 설계된 프라이머에 대한 정보는 Table 1에 기술하였다.

프라이머의 실험적 검증

기름갈치꼬치의 경우 설계한 4종류의 프라이머를 이용하여 기름갈치꼬치를 대상으로 PCR을 수행한 결과 재결합온도인 50°C, 55°C 및 60°C에서 모두 프라이머별 예상 크기의 PCR 산물이 형성되는 것을 확인하였다[R.P-16S-005-F/R.P-16S-007-R(260bp), R.P-16S-005-F/R.P-16S-008-R (322bp), R.P-16S-006-F/R.P-16S-007-R(116bp) 및 R.P-16S-

Table 1. Information of species-specific primer for detection of *R. pretiosus* and *L. flavobrunneum*

Target region	Primer	Primer Sequence (5' → 3')	Length (bp)	Remarks
16S DNA	R.P-16S-005-F	aacat cgcct cttgc aaatt g	5F/7R : 260	for *R. pretiosus*
	R.P-16S-006-F	gggct taact gtctc ctttt tca	5F/8R : 322	
	R.P-16S-007-R	atgat atgcc ttggc gtctt	6F/7R : 116	
	R.P-16S-008-R	ccaaa gacat taggg catac g	6F/8R : 178	
	L.F-16S-003-F	aggac cggta tgaaa ggcac	3F/5R : 265	for *L. flavobrunneum*
	L.F-16S-004-F	tgcaa aagcg gggat accc	3F/6R : 310	
	L.F-16S-005-R	aggag ggaga aaaaa agaag tgt	4F/5R : 192	
	L.F-16S-006-R	agttt ggtca gaaat tctgt ttgc	4F/6R : 238	

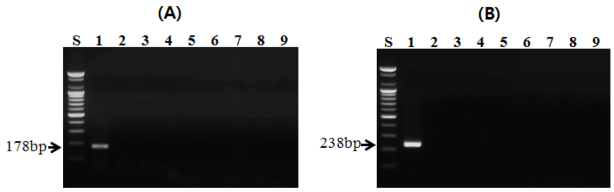

Fig. 3. PCR results from various fishes by PCR using *R. pretiosus*-specific (A) and *L. flavobrunneum*-specific (B) primer. (A) Lane 1 & (B) lane 2; *R. pretiosus*, (A) lane 2 & (B) lane 1; *L. flavobrunneum*, lane 3; *T. thynnus*, lane 4; *T. albacares*, lane 5; *T. obesus*, lane 6; *Tet. audax*, lane 7; *X. gladius*, lane 8; *M. mazara*, lane 9; *I. platypterus.*

006-F/R.P-16S-008-R(178bp)]. 또한 흑갈치꼬치의 경우에도 상기 온도에서 예상크기의 밴드를 확인하였다[L.F-16S-003-F/L.F-16S-005-R(264bp), L.F-16S-003-F/L.F-16S-006-R(310bp), L.F-16S-004-F/L.F-16S-005-R(192bp), L.F-16S-004-F/L.F-16S-006-R(238bp)].

유사종에 대한 적용성 검토

기름갈치꼬치는 흑갈치꼬치, 참다랑어, 황다랑어, 눈다랑어, 청새치, 황새치, 녹새치, 돛새치 등 8종을 대상으로 적용성을 검토하였다. 최적의 재결합온도를 설정하기 위하여 50°C, 55°C 및 60°C에서 PCR을 실시하였으나 기름갈치꼬치를 제외한 일부의 어류에서 미약한 비 특이적 밴드가 생성되어 온도와 시간에 변화를 주어 최적의 조건을 확립하였다. 상기 4종의 프라이머를 대상으로 PCR을 실시한 결과 R.P-16S-006-F/R.P-16S-008-R 프라이머가 가장 적합하였으며, 재료 및 방법에 명시된 PCR 조건에서 기름갈치꼬치에서만 178bp의 특이적인 PCR 산물이 형성되고 대조군으로 이용된 다랑어류 및 새치류 등 8종에서 비 특이적 밴드는 생성되지 않았다(Fig. 3(A)). 흑갈치꼬치의 경우에는 기름갈치꼬치, 참다랑어, 황다랑어, 눈다랑어, 청새치, 황새치, 녹새치, 돛새치 등 8종을 대상으로 하였으며, 기름갈치꼬치와 동일한 방법으로 수행한 결과 R.P-16S-006-F/R.P-16S-008-R 프라이머가 가장 적합하였으며, 흑갈치꼬치에서만 238bp의 특이적인 PCR 산물이 형성되었다(Fig. 3(B)).

고 찰

최근 값싼 식품원료를 대체하여 사용하거나 표시사항을 허위로 기재하여 소비자를 기만하는 가짜식품(EMA, Economically Motivated Adulteration)의 제조 및 유통으로 인하여 식품에 대한 막연한 불안감이 높아지고 있다. 특히 다량의 기름성분과 소화가 잘 되지않는 왁스성분을 함유하고 있는 기름치는 심각한 설사 등을 야기할 수 있어 일본, 이탈리아, 미국, 호주 등에서는 수입 또는 판매를 금지하고 있는 어종이다. 홍콩의 경우 판매업자는 기름치의 소비와 관계된 조리법과 잠정적인 건강위험도에 대하여 소비자에게 충분한 정보를 제공해야 된다고 규정하고 있다. 국내에서도 '식품의약품안전청 고시 제2011-41호'에 의하여 기름치를 동물성식품원료에서 삭제하여 2012년 3월1일부터는 식품원료로 사용할 수 없도록 규정하고 있으며, 기존의 식품 제조・가공・판매・수입 등에 의하여 유통중인 제품을 감안하여 2012년 6월 1일부터는 식품으로 사용이 전면 금지되었다[4]. 국외의 경우 기름치를 은대구 또는 대구로 표기하여 유통하여 소비자를 기만하는 사례가 많으며, 국내의 경우 기름성분이 다량 함유되어 있는 점을 이용하여 참치횟집에서 참치뱃살부위 또는 구이형태로 조리하여 메로구이라고 제공하는 등 사회적인 문제를 일으키기도 하였다.

어류의 경우 형태적 관찰을 통하여 대부분 육안으로 구별이 가능하지만 횟감형태로 썰어서 다른 어류와 혼합하거나 구이 등의 가공상태로 제공하면 전문가도 구별하기 어려운 경우가 많다. 따라서 기름치를 구별하는 객관성 및 정확성을 높이고자 PCR분석법을 개발하였다. PCR법에는 일반프라이머를 이용하는 방법 및 종 특이 프라이머를 사용하는 방법이 있으나 분석시간의 신속성 및 간편성에 장점이 있는 종 특이 프라이머법을 선정하였다.

기름치로 유통되는 어종으로는 농어목(Perciformes) 갈치꼬치과(Gempylidae)에 속하는 기름갈치꼬치(*R. pretiosus*)와 흑갈치꼬치(*L. flavobrunneum*)가 있으며 종 특이 프라이머를 제작하기 위하여 생물 종 동정에 주로 이용되고 있으며, 미토콘드리아에 존재하는 유전자부위인 16S DNA 부

위를 선정하였다. 그리고 미국 국립보건원에서 운영하는 유전자은행(www.ncbi.nlm.nih.gov)에 등록되어있는 기름치 2종, 다랑어 2종 및 새치 2종의 염기서열을 대상으로 BioEdit ver. 7.0.9.0 프로그램을 사용하여 비교 및 분석을 실시하였다. 분석을 통하여 기름갈치꼬치 및 흑갈치꼬치를 판별할 수 있는 각각 4종의 프라이머를 설계하였다. 그리고 설계된 프라이머를 사용하여 대조군으로 다랑어 3종 및 새치류 4종에 대한 실험적 평가를 실시하였다. 그 결과 기름갈치꼬치에 대하여는 R.P-16S-006-F/R.P-16S-008-R 프라이머, 흑갈치꼬치는 L.F-16S-004-F/L.F-16S-006-R 프라이머를 최종 선정하였으며 각각의 PCR 조건을 확립하였다. 최초에는 기름갈치꼬치 및 흑갈치꼬치를 동시에 판별할 수 있는 프라이머를 설계하려고 상호 염기서열을 분석하였으나 염기서열의 상동성이 낮아 설계하기가 어려웠다. 이것은 기름갈치꼬치 및 흑갈치꼬치의 학명이 *R. pretiosus* 및 *L. flavobrunneum*으로 상호 속명이 상이하여 염기배열의 상동성이 낮은 것으로 추정된다. 또한, 분석자의 편의를 위하여 PCR 조건을 통일하려고 하였으나 동일조건에서는 목적하는 PCR 생성물의 밝기가 낮거나 일부 대조군에서 비 특이적 밴드가 형성되어 동일조건을 확립하기 어려웠다.

따라서 본 연구에서 개발된 기름치 (기름갈치꼬치 및 흑갈치꼬치)을 판별할 수 있는 종 특이 프라이머는 인터넷쇼핑몰 또는 시중에 불법적으로 유통 가능성이 있는 제품을 신속하고 과학적으로 판별할 수 있어 식품안전관리에 활용도가 매우 클 것으로 기대된다.

감사의 말

본 연구는 식품의약품안전평가원 2012년도 연구개발사업 지원비(12161소비연114)에 의해 수행되었으며, 기름치의 표준시료를 제공하여주신 농립수산검역검사본부 (수산물검사과)에 감사드립니다.

요 약

기름치를 참치회 또는 메로구이로 판매하는 사례가 있으며 국내에서는 2012년 6월1일부터 식품원료로 판매가 금지되어 이를 판별하는 시험법 마련이 필요하다. 기름치는 농어목(Perciformes) 갈치꼬치과(Gempylidae)에 속하는 기름갈치꼬치(*R. pretiosus*)와 흑갈치꼬치(*L. flavobrunneum*)가 있으며 이를 판별하기 위한 종 특이 프라이머를 개발하기 위하여 미토콘드리아에 존재하는 16S DNA 유전자부위를 선정하였다. 그리고 미국 국립보건원에서 운영하는 유전자은행(www.ncbi.nlm.nih.gov)에 등록되어있는 기름갈치꼬치, 흑갈치꼬치. 참다랑어, 황다랑, 청새치 및 황새치의 염기서열을 대상으로 BioEdit ver. 7.0.9.0 프로그램을 사용하여 비교 및 분석을 실시하였다. 분석을 통하여 기름갈치꼬치 및 흑갈치꼬치를 판별할 수 있는 각각 4종의 프라이머를 설계하였다. 설계된 프라이머에 대하여 대조군으로 다랑어 3종(참다랑어, 황다랑어, 눈다랑어) 및 새치류 4종(청새치, 황새치, 녹새치, 돛새치)에 대한 실험적 평가를 실시하였다. 그 결과 기름갈치꼬치에 대하여는 R.P-16S-006-F/R.P-16S-008-R, 흑갈치꼬치는 L.F-16S-004-F/L.F-16S-006-R 프라이머를 최종 선정하였으며, PCR 조건을 확립하였다. 확립된 조건에서는 각각 178bp 및 238bp의 PCR 산물을 확인하였으며, 유사종간의 비특이적 밴드는 형성되지 않았다. 따라서 본 연구에서 개발된 기름치를 판별할 수 있는 종 특이 프라이머는 인터넷쇼핑몰 또는 시중에 불법적으로 유통 가능성이 있는 제품을 신속하고 과학적으로 판별할 수 있어 식품안전관리에 활용도가 매우 클 것으로 기대된다.

참고문헌

1. http://en.wikipedia.org.
2. Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guide, 3rd Edit. FDA. 2001.
3. http://www.cfs.gov.hk.
4. http://www.kfda.go.kr.
5. Fabrice, T., Celia, M. and Catherine, H.: Food and forensic molecular identification: update and challenges, *TRENDS in Biotech.*, **23**, 359-366 (2005).
6. Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. and Vrijenhoek, R.: DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome C oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates, *Mol. Mar. Bio. and Biotech*., **3**, 294-299 (1994).
7. Hebert, P.D.N. Cywinska, A., Shelley, L.B. and deWaard, J.R.: Biological identifications through DNA Barcodes. *Proc. R. Soc. Lond. B,* **270**, 313-321 (2003).
8. Monaghan, M.T., Michael, B., Gregory, T.R. and Vogler, A.P.: DNA-based species delineation in tropical beetles using mitochondrial and nuclear markers, *Philos. Trans R. Soc. Lond B*, **360**, 1925-1933 (2005).
9. 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).
10. Tomoaki, M., Atsushi, A., Takuma, T., Yoshimura, S., Okii, Y. and Yoshida, M.: Identification of animal species using the partial sequences in the mitochondrial 16S rRNA Gene, *Legal Med.*, **11**, 449-450 (2009).
11. 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. Safety,* **27**, 68-73 (2012).