J. Fd Hyg. Safety 18(4), 211-217 (2003)

대두 가공식품의 공정단계별 유전자재조합체(GMO) 단편의 검출확인 및 비교 연구

황순욱[1] · 이철수[1] · 남용석[2] · 김수복[2] · 오덕환[3] · 김영찬[†]
[1]한국보건산업진흥원, [2]KOGEN Biotech, [3]강원대학교

Comparative Study of DNA Fragment According to Steps of Genetically Modified Soybean Processed Food

Sun-Wook Hwang[1], Cheol-Su Lee[1], Young-suk Nam[2], Su-bok Kim[2], Duk-hwan Oh[3], and Young-Chan Kim[†]
[1]*Korea Health Industry Development Institute (KHIDI), [2]Kogene Biotech, Seoul*
[3]*Kang Won National University*

ABSTRACT – To discriminate between the genetically modified soybean processed foods which were Korean traditional foods as Beansprout, doenjang, Beancurd (Tofu) and the unmodified one. we had analyzed comparatively that the loss degree of inner DNA about denaturalization factors in process step as heat or pressure and decision of suitable PCR primer by size. As a result of having compared about β-actin primer size at 600, 450, 250, 160, 35S promotor size at 190, 130, Nos terminator primer size at 200, 132 bp by size. β-actin was 160 bp, 35S promotor was 130 bp and NOS terminator was 132 bp effective. As a result of having checked a loss degree of a gene, as for the bean curd, DNA was mostly preserved well, and the loss of DNA along the processing process was hardly observed by a processing process. Most DNA of beansprout have moved to trunk after germination stage, and the appropriate analysis part was judged as the trunk. And the doenjang showed a detection difference of DNA by an operation of an enzyme among self-life periods. Besides, after 50days, insertion gene was destoryed entirely so that detection was not possible.

Key words: PCR, GMO, DNA fragment, primer size

대두는 우리나라 식생활에서 단백질의 공급원으로서 중요한 역할을 하고 있는 작물로서 우리나라에서는 전통적으로 두부, 된장, 콩나물, 콩가루, 콩기름 등의 식품의 제조 등에 사용되고 있다. 동양권이 원산지인 콩은 근래 미국과 브라질 아르헨티나 등의 국가에서 급속히 생산량이 증가하여 현재는 콩(대두)생산량의 80% 이상을 이들 국가에서 생산하고 있다.

1990년대 이후 미국 등의 농업선진국에서는 대두의 경제성 및 건강지향적 식생활등의 수요증가와 함께, 생산량 및 기능성을 향상시키기 위한 연구가 진행되고 있다. 대표적인 예로 제초제(glyphosate)에 강한 저항성을 갖는 EPSPS (EnolPyruvyl Shikimate-3-Phosphate Synthase) 유전자를 유전자재조합기술을 이용하여 대두 내부에 삽입한 제초제 저항성 대두가 개발되어 생산량의 증대를 가져와 농업의 편이성을 추구하고 있다.

[†]Author to whom correspondence should be addressed.

그러나 전세계적으로 유전자재조합된 대두(이하 GMO 대두)의 유해 논란이 꾸준히 제기되어 왔으며, 이러한 우려에 대한 대책의 하나로 유럽, 일본, 등 주요국가들은 표시제를 적용하여 규제치 이상은 표시를 법제화하고 있다. 가장 먼저 표시제를 시행하고 있는 유럽에서는 GMO의 표시제의 시행에 따른 분석방법 개발 및 모니터링연구에 따라 대두 자체뿐 만 아니라 대두함유 가공식품인 과자, 식육가공품, 이유식등과 대두섬유질을 함유한 시리얼, 스넥가공품과 레시틴을 첨가하였을 것으로 이용되는 식품으로 점차 표시대상의 확대를 추진하고 있다.

우리 나라에서는 2001년 7월부터 유전자재조합 대두 및 옥수수를 원료로 사용한 가공식품에 대해서 혼입여부를 표시하도록 규정되어 있으며 대부분의 대두를 수입에 의존하고 있는 우리나라의 현실에서 GMO 대두의 사용은 불가피한 것으로 생각하고 있다. 특히 콩을 이용한 된장, 두부, 콩나물 등은 전통식품이면서 다소비 된다는 특징을 가지고 있으며 가공처리과정 중 대부분 가열이나 장기간의 효소반응

등의 물리화학적인 유전자손실요인을 가지고 있으므로 정확한 함량 표시를 위한 가공처리조건 및 유통기간에 따른 유전자의 손실정도를 파악하는 것이 중요한 요소가 된다.

본 연구에서는 가공공정에 따른 대두가공식품 유전자의 변성과 단편화에 대한 비교분석을 위하여 분석에 적합한 프라이머의 결정과 실제 공장에서 생산되는 두부, 된장, 콩나물의 가공공정과 유통단계에서 발생될 수 있는 유전자의 단편화, 손실 등을 비교분석 하였다. 또한 GMO 대두를 이용하여 제조·가공과정 중의 물리적 변성요인(증자, 살균)에 대한 모의실험을 통하여 변성의 정확한 시점을 파악하고 이를 통하여 정확한 분석지표의 확립방안을 제시하고자 하였다.

실험재료 및 방법

재료

두부, 콩나물, 장류 제품의 원료콩과 공정단계별, 제품의 보관기간별 분석시료는 관련생산업체의 협조를 얻어 준비하였다.

두부는 GMO 원료콩, 압착후 콩비지, 두유, 완제품(순두부, 판두부), 보관3일 제품, 시중판매제품으로 준비하였고, 콩나물은 원료콩의 원산지를 국산과 중국산, 미국산으로 하여 원료콩, 재배2일, 재배5일, 완제품, 보관4일 제품을 준비하였다.

된장은 원료콩, 된장의 숙성기간에 따라 5일, 10일, 20일, 50일, 78일 제품을 준비하였다.

콩나물은 오븐에 건조하였고 수분이 많은 두부와 장류의 경우 -70°C에서 동결시켜 믹서로 분쇄하였다.

모의 실험을 위한 재료는 미국곡물협회의 도움을 얻어 100%의 유전자재조합 대두를 이용하여 분석하였다.

Primer의 제작

GMO 대두의 검출을 위한 primer들은 내재 유전자인 β-actin을 크기별로 제작하였다. Nopaline synthase(NOS) terminator gene 및 cauliflower mosaic virus의 35S promoter (CaMV 35S) gene을 Genebank를 통하여 검색하였고 이를 토대로 primer를 제작하였다.

가공조건의 변화에 따른 유전자의 손실을 알아보기 위하여 콩의 내재유전자인 β-actin의 크기를 600 bp, 495 bp, 250 bp, 160 bp로 제작하였고 삽입유전자의 검출감도의 비교를 위하여 35S promotor는 190 bp와 130 bp, NOS terminator는 200 bp와 132 bp의 크기로 제작하여 비교하였다. 제작된 Primer는 Table 1과 같다.

DNA의 추출

콩에서 DNA의 추출은 *PowerPrep*™ DNA extraction Kit(KOGENBIOTEC. CO.ltd)을 이용하였다. 사용된 시료는

Table 1. Primer pairs and probes used in this study.

Primer/probe	sequence
actin600F	5'- gag aaa aga tga ccc aaa tca tgt-3'
actin600R	5'-aac ctt aat ctt cat gct gct agg-3'
actin495F	5'-tgg tgt tat ggt tgg gat gg-3'
actin495F	5'-aga tcc aaa cga agg atg gc-3'
actin250F	5'-gag aaa aga tga ccc aaa tca tgt-3'
actin250R	5'-gat tca ggg aaa gaa caa tgt gat-3'
actin160F	5'-ctc gac ata ctg gtg tta tgg ttg-3'
actin160R	5'-aca tga ttt ggg tca tct ttt ctc-3'
35S-190F	5'-gct cct aca aat gcc atc a-3'
35S-190R	5'-gat agt ggg att gtg cgt ca-3'
35S-130F	5'-atc att gcg ata aag gaa ag-3'
35S-130R	5'-aat cca ctt gct ttg aag ac-3'
Nos-200F	5'-cga tcg ttc aaa cat ttg gc-3'
Nos-200R	5'-tta tcc tag ttt gcg cgc ta-3'
Nos-132F	5'-ata att gcg gga ctc taa tc-3'
Nos-132R	5'-gcc ggt ctt gcg atg att-3'

건조기에서 24시간 건조한 후 마쇄하여 0.1 g씩 3개의 tube로 나누어 각각 DNA추출에 이용하였다. 추출된 DNA들은 UV-spectrophotometer 3200(Jasco, Japan)를 이용하여 260 nm에서 정량하여 사용하였다. 한편 추출한 DNA는 0.5%의 agrose gel상에서 50V로 100분동안 전기영동하여 추출된 DNA의 상태를 확인을 하였으며, marker로는 λ-Hind III(Bioneer Korea)를 사용하였다.

PCR조건

PCR을 위한 반응용액은 DNA농도에 따라 DNA농도를 20 ng/μl로 준비하였다. 반응용액 조성은 5×PCR buffer 5 μl(TaKaRa, Japan), primer mixture 4 μl(10 pM/μl), Taq DNA polymerase(TaKaRa, Japan) 1 unit(1 μl), DW 10 μl로 최종 반응액이 25 μl가 되도록 조성하였다. Template DNA는 농도에 따라 1 μl 부피로 희석하여 thermocycler (Perkin Elmer 5700, USA)를 이용하여 PCR을 수행하였다. PCR조건으로 첫 cycle에서 1분간 94°C에서 수행을 한 후, 94°C에서 20초, 60°C에서 40초, 72 μl에서 30초씩 37 cycle을 수행하였으며, 마지막 단계로 72°C에서 8분간 수행한 후, 4°C에서 PCR산물을 보존하였다. PCR산물은 1.5% agarose gel상에서 전기영동한후, image analysis system(Bioneer, Korea)을 사용하여 산물의 크기 및 양을 확인하였다.

두부의 가공조건에 따른 모의 시험

콩시료는 모의 실험을 위하여 Blender를 이용하여 곱게 분쇄하였다. 분쇄된 100% GMO 대두시료는 Non-GMO 대두를 혼합하여 100%, 50%, 10%, 3%이 되도록 조제하였으

며 가열조건에 따른 DNA의 소실을 분석하기 위하여 각 시료를 10 g씩 유리용기에 담아 100°C에서 2분 간격으로 30분간 가열하여 분석하였다.

결과 및 고찰

두부에서 내재유전자의 프라이머 사이즈별 DNA검출량 비교

두부의 가공공정별 DNA의 손실정도 파악 및 적절한 크기의 프라이머를 결정하기 위하여 원료 콩 1종, 공정별 두부류 4종의 시료를 내재유전자를 600 bp, 495 bp, 250 bp, 160 bp의 크기로 합성하여 분석한 결과 160 bp, 250 bp, 495 bp에서는 검출밴드의 강도가 유사하였으나 600 bp에서는 다소 합성에 저해를 받는 것으로 분석되었다(Fig. 1). 두부제조공정이 가열처리에 의한 DNA분해가 높은 것을 감안하면 500 bp 이하의 단편으로 주로 존재하며, 두부의 제조과정 중 간수에 포함된 Mg^{2+}, Na^{+}염이 DNA의 음전하 부위에 결합하거나 DNA분해를 촉진시키므로 비교적 사이즈가 작은 프라이머를 이용하는 것이 검출에 적합한 것으로 판단되어 160 bp를 기본 프라이머로 설정하였다.

콩나물의 내재유전자의 프라이머 사이즈별 DNA검출량 비교

콩나물류의 발아 및 유통기간의 경과에 따른 DNA변화를 분석하기 위하여 원료 콩 2종, 공정별 콩나물 7종으로 총 9종을 검토한 결과 비교적 크기가 큰 600 bp의 primer로서도 DNA부위의 검출이 가능하였으나 프라이머의 사이즈가 클수록 검출 감도는 매우 떨어졌다. 국산원료 콩나물의 경우, 보관 4일째 450 bp, 600 bp에서 β-actin이 검출되지 않았다(Fig. 2). 콩나물의 경우 160 bp에서 가장 우수한 내재유전자 검출률을 보였다.

장류의 내재유전자의 DNA 추출양 조사

장류의 가공공정별 DNA의 손실 및 잔존을 검사하기 위해, 원료콩 1종, 된장류 5종, 간장류 4종, 고추장류 3종으로 총 13종을 검토한 결과, DNA의 검출을 확인할 수 있는 시료는 원료콩, 된장류였다. 프라이머 사이즈별 검사결과 원료콩의 경우는 160~600 bp까지 모두 검출이 가능하였으나 간장, 고추장류는 기본 프라이머 사이즈로 설정한 160 bp에서도 콩의 β-actin이 발견되지 않았다. 된장에서는 숙성단계에 있는 제품들은 160, 250 bp에서 단편들의 검색이 가능하였으나 495, 600 bp에서는 검출되지 않았다(Fig. 3).

삽입유전자 35S promotor와 NOS terminator의 프라이머 사이즈별 검출비교

기본삽입유전자를 결정하기 위하여 35S promotor는 190, 130 bp, NOS terminator는 200, 132 bp로 제작하여 GMO 대두를 이용하여 검출감도를 비교한 결과 유사한 정

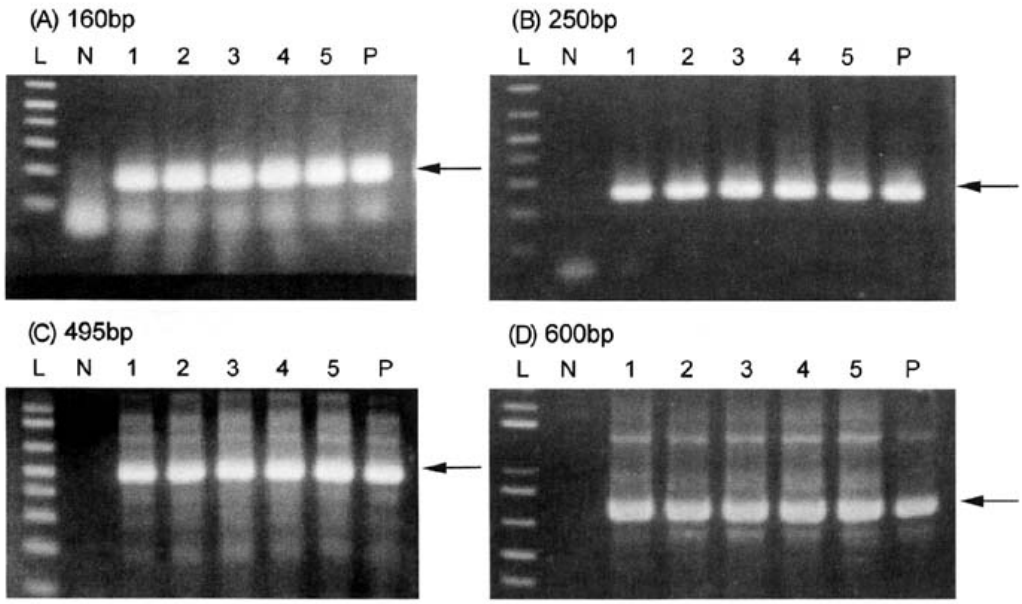

Fig. 1. Result of PCR detection on Actin from Beancurd (Tofu).
A: Actin primer size 160 bp, B : Actin primer size 250 bp, C : Actin primer size 495 bp, D : Actin primer size 600 bp, L(ladder), N(negative control), P(positive control), 원료콩(lane 1), 압착성형후(lane 2), 완제품(lane 3), 보관3일(lane 4), 시판 제품(lane 5).

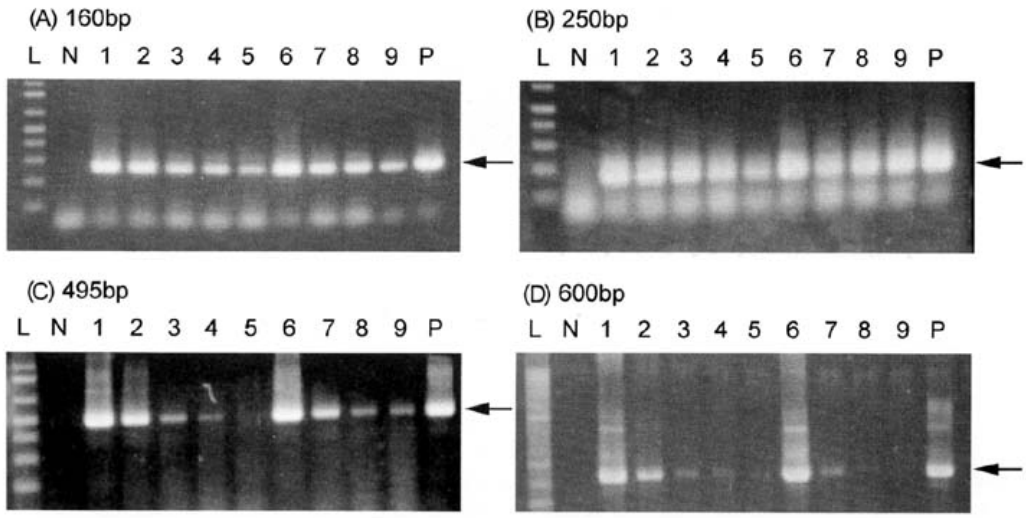

Fig. 2. Result of PCR detection on Actin from Beansprout.
A: Actin primer size 160 bp, B: Actin primer size 250 bp, C: Actin primer size 450 bp, D: Actin primer size 600 bp, L(ladder), N(negative control), P(positive control), 국산콩 원료(lane 1), 국산 콩 재배 2일(lane 2), 국산 콩 재배 5일(lane 3), 국산콩 완제품(lane 4), 국산콩 완제품 보관 4일(lane 5), 중국콩 원료(lane 6), 중국콩 재배 2일(lane 7), 중국콩 재배 5일(lane 8), 중국콩 완제품(lane 9)

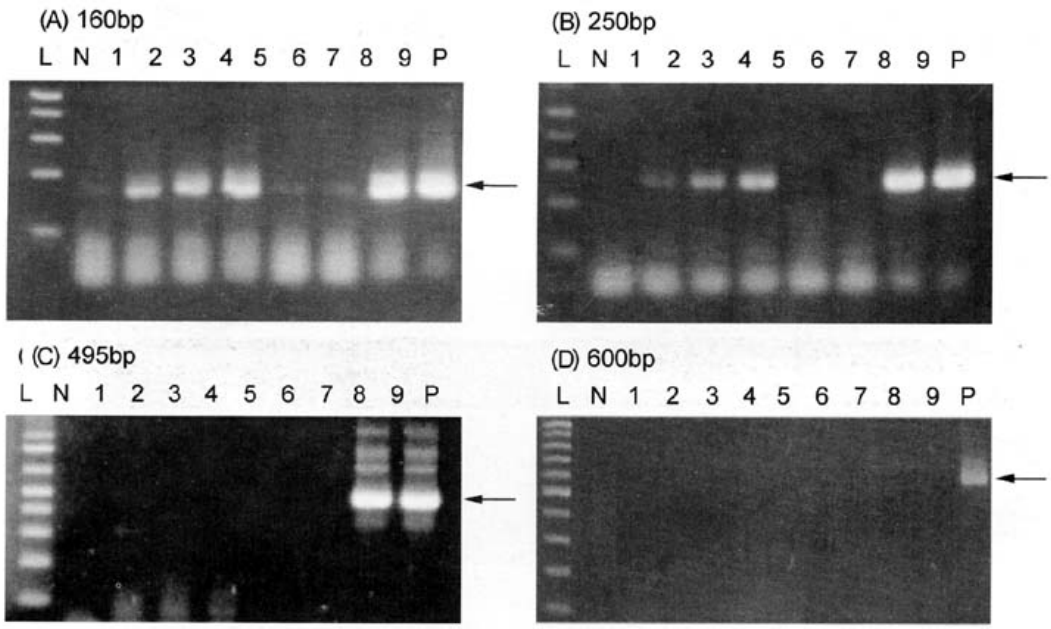

Fig. 3. Result of PCR detection on Actin from bean paste.
A: Actin primer size 160 bp, B: Actin primer size 250 bp, C: Actin primer size 495 bp, D: Actin primer size 600 bp, L(ladder), N(negative control), P(positive control), 숙성 25일 된장(lane 1), 숙성11일 된장(lane 2), 숙성 5일 된장(lane 3), 보관 78일 된장제품(lane 4). 보관 22일 된장제품(lane 5), 숙성 22일 고추장(lane 6), 숙성 6일 고추장(lane 7), 보관 33일 고추장제품(lane 8), 숙성 119일 간장(lane 9), 숙성 42일 간장(lane 10), 보관 64일 간장제품(lane 11), 보관 18일 간장 제품(lane 12), 원료 콩(lane 13).

도의 감도를 보였다(Fig. 4). 대두가공식품의 경우 가능한 작은 사이즈의 프라이머를 필요로 하므로 35S promotor은 130 bp, NOS terminator는 132 bp의 프라이머를 삽입유전자 검출 프라이머로 결정하여 분석을 하였다.

두부의 제조 및 유통기간에 따른 주요 검출지표 유전자의 손실

두부의 제조공정은 원료콩을 물에 불려 분쇄하고 열처리를 하여 대두박과 대두액으로 분리하는 물리적인 과정과 가

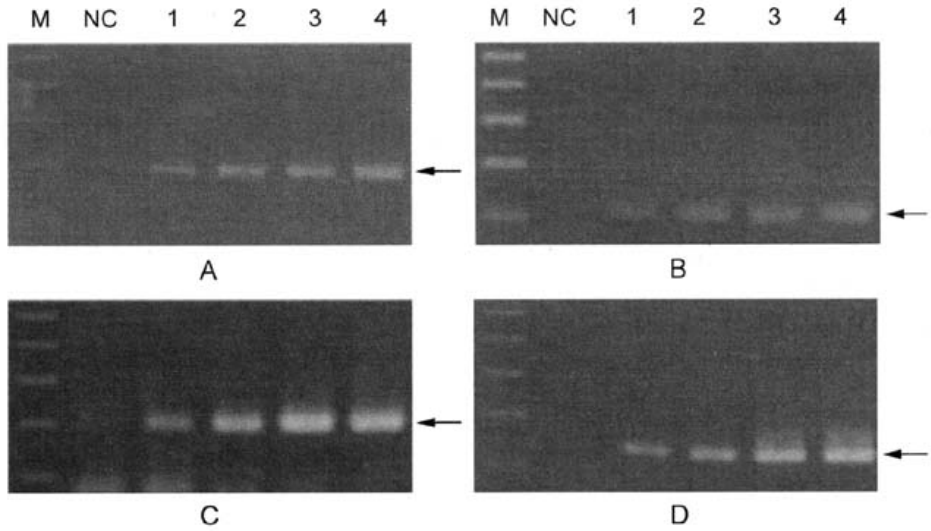

Fig. 4. Result of PCR detection on 35S promotor, NOS terminator by GMO concentration.
A: 35S promoter 190 bp 증폭, B: 35S promoter 130 bp 증폭, C: Nos terminator 200 bp, D: Nos terminator 132 bp, M: 100 bp DNA size marker, lane 1: 0.01% GMO, lane 2: 0.1% GMO, lane 3: 1% GMO, lane 4: 10% GMO.

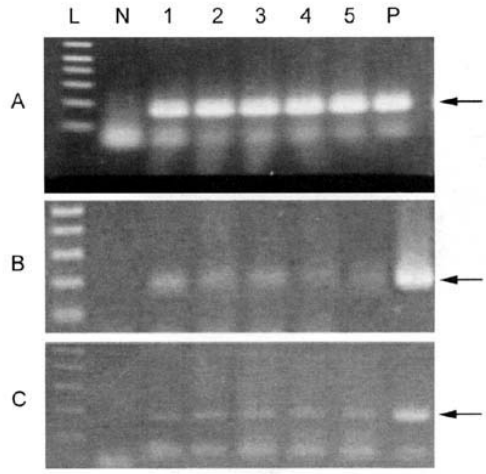

Fig. 5. Result of PCR detection on actin, 35S promotor, NOS terminator on processed soybean foods DNA were isolated from Tofu and processing.
A: actin detection B: 35S promotor detection C: NOS terminator detection, L(ladder), N(negative control), P(positive control), 원료콩(lane 1), 압착성형후(lane 2), 완제품(lane 3), 보관3일(lane 4), 시판 제품(lane 5).

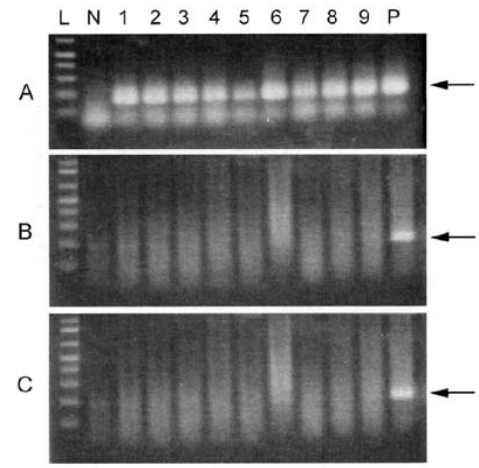

Fig. 6. Result of PCR detection on actin, 35S promotor, NOS terminator on processed soybean foods DNA were isolated from sprouted soybean.
A: actin detection, B: 35S promotor detection C: NOS terminator detection, lane 1: Korean soybean, lane 2: bean sprout 2 days, lane 3: Bean sprout 5 days, lane 4: Final bean product, lane 5: keeping 4 days, China soybean source (lane 6), China soybean sprout 2 days (lane 7), China soybean sprout 5 days (lane 8), China soybean sprout final product (lane 9).

열된 대두액을 간수로 응고시키는 화학적인 과정으로 나눌 수 있다. β-actin 160 bp, 35S promotor 130 bp, NOS terminator 132 bp로 분석한 결과 분쇄과정 중에는 내재유전자인 β-actin이나 35S promotor와 NOS terminator가 모두 잘 보존되어 있었다. 두부의 제조공정 중 콩단백질의 주요 변성요인이라고 추정되는 대두액을 가열과정과 간수처리 하는 과정 중에도 내재의 유전자는 대부분 변화 없이 잘 보존

되었다(Fig. 5). 제조된 두부를 유통기한까지 보존하여 유전자를 분석한 결과 유통기한 내에서는 어떠한 유전자의 손실도 관찰되지 않았다. 이러한 결과에서 내부유전자 및 삽입유전자는 100°C에서의 열처리에도 영향이 없는 것으로 판단되었다.

콩나물의 성장에 따른 주요검출 유전자의 손실 비교

콩나물의 성장에 따른 DNA의 검색을 위하여 제작한 35S promotor, NOS terminator부위의 검출을 위하여 PCR을 수행하였으며 내재유전자로 원래 콩에 존재하는 β-actin gene을 기초로 하여 제작된 160 bp의 primer set를 사용하여 PCR을 수행하여 Fig. 6와 같은 결과를 나타내었다. 콩나물의 경우 내재유전자의 검출은 용이하였으나 35S promotor 및 NOS terminator는 검출이 전혀 되지 않았다. 시료에서 actin primer이 경우에는 160 bp 크기의 PCR산물들을 확인할 수 있었으나 35S promotor, NOS terminator에서도 어떠한 증폭산물도 관찰되지 않았다. 유전자 재조합 된 콩을 이용하여 콩나물을 제조한 경우 콩을 불리는 과정과 초기 발아과정에서 대부분 떡잎부위에 유전자가 관찰되나 이후 점차 줄기부위로 유전자가 이동하는 현상이 관찰되었다. 이는 대두가 대부분 저장 단백질로 이루어져 있고 유전자가 많은 부위는 껍질부위와 싹 부위에 집중되어 있기 때문이라고 생각된다.

장류의 제조 및 유통기간에 따른 검출률의 비교

된장의 경우는 제조된 시점과 5일, 10일, 20일 경과한 후 분석한 결과 내재유전자는 대체로 잘 보존되어 있었다. 35S promotor와 NOS terminator의 삽입유전자중 35S promotor는 20일까지 잘 보존되는 반면 NOS terminator는 10일 후 대부분 소실되어 분석되지 않았다. 50일이 경과 후 에는 내재유전자가 감소하기 시작하였으며 삽입유전자 모두 소실되어 분석되지 않았다. 이러한 결과로 미루어 35S promotor가 각종 가수분해 효소에 의한 내성이 NOS terminator에 비하여 크며, 50일 이후에는 어떠한 삽입유전자도 소실되어 분석되지 않음을 알 수 있었다. 이는 藤波傳子 등의 75일후 5% GMO 대두로 제조한 일본된장에서 삽입유전자가 모두 소실되었다는 사실과는 약 25일 정도가 빠른 것으로 이는 국내산 된장의 염도와 발효효소의 차이에 의하여 기인한 것으로 판단된다(Fig. 7).

콩의 열처리에 따른 검출지표 유전자의 손실률의 비교

콩의 열처리조건에 따른 DNA단편의 소실 및 존재를 알아보기 위하여 100°C에서 가열시간을 조절하여 10분에서 40

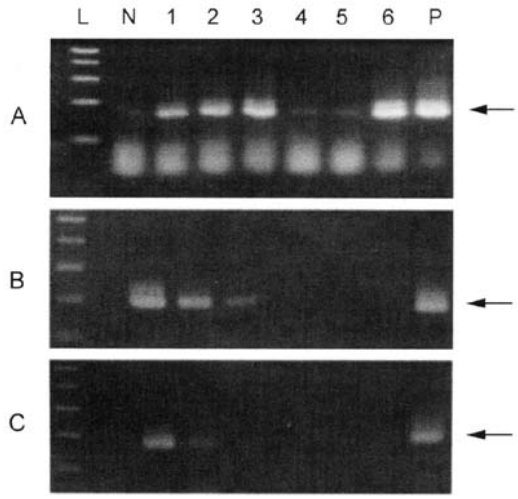

Fig. 7. Result of PCR detection on actin, 35S promotor, NOS terminator on processed soybean foods DNA were isolated from Beanpaste and processing.
A: actin detection, B: 35S promotor detection, C: NOS terminator detection, L(ladder), N(negative control), P(positive control), 숙성 5일된장(lane 1), 숙성10일 된장(lane 2), 숙성 20일 된장(lane 3), 보관 50일 된장제품(lane 4). 보관 78일 된장제품(lane 6), 원료 콩(lane 6).

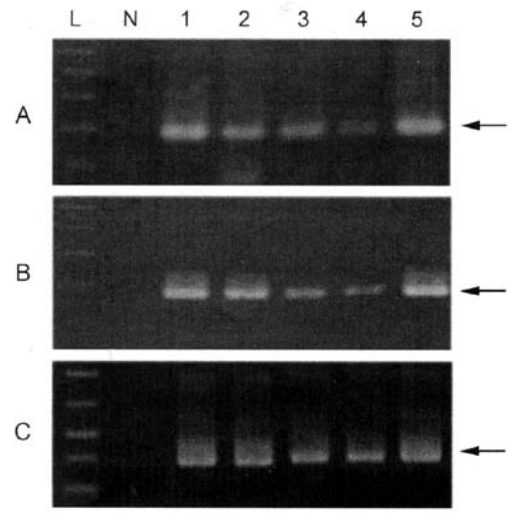

Fig. 8. Result of PCR detection on actin, 35S promotor, NOS terminator on GMO soybean foods DNA were isolated from Beanpaste and processing.
A: actin detection B: 35S promotor detection C: NOS terminator detection, L(ladder), N(negative control), P(positive control), 10분(lane 1), 20분(lane 2), 30분(lane 3), 40분(lane 4). Not treated(lane 5).

분까지 10분간격으로 4회에 걸쳐 열에 대한 DNA의 손상정도를 비교하였다. 그 결과 열처리에 의해서는 어떠한 DNA의 감소는 보이지 않았다(Fig. 8). DNA를 가열하는 경우 수분이 함유되어 있는 경우는 DNA의 안정성이 그대로 유지됨을 알 수 있었다. 두부 및 두유의 가열공정에 의한 열변성을 적은 것으로 판단되며 분석시점은 어떠한 시점에서 결정되어도 무방한 것으로 판단된다.

감사의 말씀

본 논문은 2001년도 과학재단 특정목적 기초연구사업(관리번호 R01-2000-000-00188-0)의 일환으로 수행된 연구결과의 일부이며 이에 감사하는 바이다.

국문요약

두부, 콩나물, 된장에서 유전자재조합 대두의 혼입여부를 판별하기 위해가장 적합한 PCR 프라이머의 선택과 생산공정에서 물리·화학적인 변성을 재조합 DNA의 손실정도를 공정단계별로 비교 분석하였다. 내재유전자인 β-actin은 600, 495, 250, 160bp을 비교한 결과 160 bp에서 가장 광범위하게 검출되었으며, 35S promotor는 130 bp, NOS terminator 132 bp의 작은 사이즈 프라이머가 유효하였다. 가공공정별로 유전자의 손실정도를 파악한 결과 두부는 대부분 DNA가 잘 보존되어 가공공정에 따른 DNA의 손실은 거의 관찰되지 않았다. 콩나물은 대부분의 DNA가 발아직후 줄기로 이동하여 적절한 분석부위는 줄기로 판단되었으며, 된장은 효소의 작용에 의하여 유통기간내에 DNA의 검출차이를 보였다. 20일 후 삽입유전자는 소실되었고 특히 50일 이후에는 대부분의 내재유전자 뿐만 아니라 분해되어 검출이 어려운 것으로 판단되었다. 가공처리조건인 열에 의한 DNA의 변성은 100°C에서 40분간 가열하여도 DNA의 손실되지 않고 보존됨을 알 수 있었다.

참고문헌

1. Gachet, E., Martin, G.G., Vigneau, F. and Meyer, G.: Detection of genetically modified organisms (GMOs) by PCR: a brief review of methodologies available, *Trends in Food Science & Technology*, **9**, 380-388 (1999).
2. ILSI Europe Report Series, Method Development in Relation to Regulatory Requirements for the Detection of GMOs in the food chain, ILSI Europe, 2000.
3. MacCormick, C.A., Griffin, H.G., Underwood, H.M. and Gasson, M.J.: Common DNA sequences with potential for detection of genetically manipulated organisms in food, *Journal of Applied Microbiology*, **84**, 969-980 (1998).
4. Schreiber, G.A.: Challenges for methods to detect genetically modified DNA in foods, *Food Control*, **10**, 351-352 (1999).
5. Hubner, P., Studer, E. & Luthy, J.: Quantitative competitive PCR for the detection of genetically modified organisms in food, *Food Control*, **10**, 353-358 (1999).
6. Luthy, J.: Detection strategies for food authenticity and genetically modified foods, *Food Control*, **10**, 359-361 (1999).
7. Stave, J.W.: Detection of new of modified proteins in novel foods derived from GMO-future needs, *Food Control*, **10**, 367-374, 1999.
8. Van Duijn, G., van Biert, R., Bleeker-Marcelis, H., Peppelman, H. & Hessing, M.: Detection methods for genetically modified crops, *Food Control*, **10**, 375-378 (1999).
9. Wurz, A., Bluth, A., Zeltz, P., Pfeifer, C. & Willmund, R.: Quantitative analysis of genetically modified organisms (GMO) in processed food by PCR-based methods, *Food Control*, **10**, 385-389 (1999).
10. Meyer, R.: Development and application of DNA analytical methods for the detetction of GMOs in food, *Food Control*, **10**, 391-399 (1999).
11. Andreas Zimmermann, Jurg Lithy, Urs Pauli, Quantitative and qualitative evaluation of nine different extration methods for nucleic acids on soya bean food samples, *Z Lebensm Unters Forsch A*, **207**, 81-90 (1998).
12. 藤波傳子, 山口敏和, 毛利光之: 된장 숙성 과정 중에 대두유래 DNA의 消長—재조합DNA검증—, *된장의 과학과 기술*, **48**(11), 399-402, 2000.