

DNA barcode를 이용한 민어과 수산가공품 진위판별 모니터링

박은지¹ · 조아현¹ · 강주영¹ · 이한철¹ · 박민지¹ · 양지영² · 신지영²
김군도³ · 김종오⁴ · 서용배⁴ · 김중범^{1*}

¹순천대학교 식품공학과, ²부경대학교 식품공학과,
³부경대학교 미생물학과, ⁴부경대학교 해양생명과학연구소

Food Fraud Monitoring of Commercial *Sciaenidae* Seafood Product Using DNA Barcode Information

Eun-Ji Park¹, Ah-Hyeon Jo¹, Ju-Yeong Kang¹, Han-Cheol Lee¹, Min-Ji Park¹, Ji-Young Yang², Ji-Young Shin²,
Gun-Do Kim³, Jong-Oh Kim⁴, Yong-Bae Seo⁴, Jung-Beom Kim^{1*}

¹Department of Food science and Technology, Suncheon National University, Suncheon, Korea

²Department of Food Science and Technology, Pukyong National University, Busan, Korea

³Department of Microbiology Pukyong National University, Busan, Korea

⁴Institute of Marine Biotechnology, Pukyong National University, Busan, Korea

(Received September 21, 2020/Revised October 6, 2020/Accepted October 27, 2020)

ABSTRACT - In this study we sought to determine the food fraud by discriminating species of commercial seafood product such as *Larimichthys polyactis*, *Larimichthys crocea*, *Pennahia argentatus*, and *Miichthys miiuy*, which are difficult to morphologically discriminate. After amplifying the mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit I gene of the reference fish, the DNA sequences of the amplified PCR products were analyzed. As a result, a 655 bp sequence for species identification was selected for use as DNA barcodes. To confirm the DNA data and primer set, the DNA barcode sequence of each fish was compared to that in that in the NCBI. All of the DNA barcode data were matched with the gene sequence of each fish in the NCBI. A total of 32 processed seafood products (8 *L. polyactis*, 12 *L. crocea*, 3 *Pennahia argentatus*, and 9 *Miichthys miiuy*) were investigated. Homology of 97% or more in DNA sequences was judged as the same species. As a result of the monitoring, there were no discovered cases of forgery or alteration. However, the use of a raw material name having no matching standard name in the Korea Food Code may cause consumer confusion. Therefore, it is suggested that the standard name or scientific name be co-labeled with the raw material name on seafood products to prevent consumer confusion.

Key words : Seafood product, DNA barcode, Food fraud, Species identification

최근 식생활의 소비 형태는 탄수화물 중심에서 육류 및 수산물 등 고단백식품으로 변화하고 있다¹⁾. 2016년 유엔 식량 농업기구(FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations)에서 발행한 세계 수산물 양식 현황

(SOFIA, The State of World Fisheries and Aquaculture)에 따르면 우리나라 1인당 연간 수산물 소비량은 58.4 kg으로 세계 1위로 보고되고 있다²⁾. 2018년 농림수산식품 수출입 동향 및 통계연보에 따르면 수입되는 수산물의 총량이 전년 대비 16.9% 증가한 것으로 보고되고 있는 등 수산식품의 수요를 충족시키기 위해 해외에서 다량의 수산물이 수입되고 있다^{3,4)}. 해외수입 수산물 중 일부는 냉동 혹은 가공 공정을 거친 후 수입되어 형태학적으로 판별하기 곤란하여 저가의 수산물 원료를 고가의 수산물 원료로 둔갑시켜 판매하는 가짜 식품(EMA, Economically motivated adulteration) 사례가 보고되고 있다^{5,6)}.

시중 유통 중인 수산가공식품의 위변조 판별법 중 유전

*Correspondence to: Jung-Beom Kim, Department of Food Science and Technology, SunChon National University, 255 Jungangro, Suncheon, Jeonnam 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.

학적 분석법은 식품 제조 공정 중 고온, 고압 등의 조건에서도 유전자가 안정적으로 보존되기 때문에 가공식품의 원재료 판별에 매우 유용한 시험법이다⁷⁻⁹. 유전자를 기반으로 하여 식품의 원료를 판별하는 방법으로 Multiplex polymerase chain reaction (PCR), Real-time PCR, Ultra-fast PCR, DNA barcode 시험법 등이 보고되고 있다¹⁰⁻¹⁴. Multiplex PCR, Real-time PCR, Ultra-fast PCR 시험법은 species-specific PCR 방법으로 종 판별에는 매우 뛰어난 변별력을 나타내나 1회 실험에 1-2종 만 판별 가능하여 실험에 노동력과 시간이 많이 소요되는 단점이 있다. 미국 FDA (U.S. Food and Drug Administration)에서는 다양한 수산물에 대해 종 판별이 가능한 DNA barcode 시험법¹⁴으로 단시간에 다수의 수산물을 유전학적으로 판별하고 있다.

국내에 수입되고 있는 농어목(*Perciformes*) 민어과(*Sciaenidae*) 어류에는 참조기(*Larimichthys polyactis*), 부세(*L. crocea*), 보구치(*Pennahia argentata*), 흑조기(*Atrubucca nibe*), 수조기(*Nibea albiflora*), 민어(*Miichthys miiuy*) 등 12종이 있다¹⁵. 참조기는 양질의 단백질과 불포화지방산 함량이 높아 영양학적 가치 및 풍미가 우수하여 소비자가 선호하는 식품이며 염장하고 건조한 굴비 형태 또는 냉동 형태로 판매되고 있다^{16,17}. 그러나 1990년대 후반 생태계의 변화와 중국의 불법 어획으로 인해 참조기의 어획량이 급격히 감소했으며 이후 어획량이 불안정한 것으로 보고되고 있다¹⁸. 이에 따라 소비자의 수요를 충족시키기 위해 말레이시아, 베트남, 중국 등에서 참조기가 수입되고 있으나¹⁹ 형태학적으로 참조기와 유사한 어종이 수입되어 참조기로 판매되는 사례가 보고되고 있다¹⁵. 또한, 민어(*Miichthys miiuy*)는 한국 서남해에서 어획되는 특산어종으로 여름철 보양식으로 소비되는 고급어종이다²⁰. 민어는 생물일 경우 회와 같은 단순 가공품으로 섭취하며, 가공품의 경우 대부분 반염건식품으로 가공하여 제수용 생선으로 판매되고 있다²¹. 이에 따른 수요를 충족시키기 위해 민어 유사 어종인 민어조기가 세네갈 및 스페인 등에서 수입되어 판매되고 있다²¹.

따라서 시중 유통 중인 참조기와 민어 등 민어과 어류에 대한 진위판별법 개발과 모니터링이 필요하다 하겠다. 그러나 현재까지의 연구를 살펴보면 식품의약품안전처의 참조기, 부세, 긴가이석태 등을 판별하기 위한 단일 PCR 방법²²과 참조기, 부세, 흑조기, 긴가이석태 4종을 판별하기 위한 multiplex PCR 방법¹⁵, 참조기와 부세 판별 Real-

time PCR 방법²³이 보고되고, 단시간에 다양한 수산물을 유전학적으로 판별할 수 있는 DNA barcode 시험법을 이용하여 민어과 수산물을 판별하는 국외 연구가 보고되고 있다^{24,25}. 그러나 국내 유통 중인 참조기, 부세, 보구치, 민어 등 민어과 수산물의 DNA barcode 연구는 전무한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 민어과 수산물의 표준 시료 DNA 염기서열을 분석한 후 DNA barcode 염기서열을 확정하고 검증한 후 시중 유통 중인 민어과 수산가공식품의 위변조 현황 조사하였다.

Materials and Methods

시료

본 연구에서는 다소비 수산물인 참조기(*L. polyactis*)와 민어(*Miichthys miiuy*)의 위변조 현황을 조사하기 위해 유사어종인 부세(*L. crocea*), 보구치(*Pennahia argentata*) 등 총 4종을 실험대상으로 사용하였다. 각각 표준 어류는 부경대학교 식품공학과에서 제공받아 사용하였다. 모니터링 시료는 온라인 매장에서 27건, 전통 시장에서 5건 총 32건을 구입하여 사용하였다.

Genomic DNA 추출

가식 부위 약 200 mg을 취하여 70% Ethanol로 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. 추출한 DNA의 농도는 PICO 200 UV/Vis Spectrophotometer (Picodrop, Hinxton, UK)를 이용하여 측정하였다.

PCR 반응

PCR 반응액은 총 20 µL로 Prime Taq Premix (2×) (Genetbio Corporation, Daejeon, Korea) 10 µL, genomic DNA 1 µL (10 ng), primer 2 µL (10 pmol), 멸균증류수 7 µL를 혼합하여 조성하였다. PCR 반응에 사용한 primer 염기서열은 Table 1에 나타내었다. PCR 반응은 AllInOneCycler™ Fast 96 well PCR system (Bioneer, Daejeon, Korea)을 이용하였으며, PCR 반응조건은 Table 2에 나타내었다. PCR 증폭산물 확인을 위하여 1% agarose gel에 PCR product 1 µL를 로딩하고 110 V에서 30분간 전기영동을 하였다.

Table 1. Sequence information of primer sets

| 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 | (14) |
| 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 I gene.

Table 2. PCR reaction 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 | (14) |
| Extension | 72°C | 60 s | | |
| Final extension | 72°C | 120 s | 1 | |

Table 3. DNA barcode information

| Material | DNA barcode sequence |
|-------------------------------|---|
| <i>Larimichthys polyactis</i> | CCTCTATCTAATTTTTGGTGCATGAGCCGGAATAGTGGGCACCGGCCTAAGTCTCATTATTTCGAGCAG AGCTAAGCCAGCCCGGCTCGCTTCTCGGAGACGACCAGATTTTTAACGTAGTTGTTACGGCACATGC CTTCGTTATAATCTTCTTTATAGTAATACCCGTAATAATCGGAGGGTTTCGGAAACTGACTCGTGCCTTTA ATAATTGGCGCCCCGACATAGCATTCCCCGAATAAATAACATAAGCTTCTGACTTATCCCCCTGCT TTCATTATGCTCGAGCCTCATCAGCGGTTGAAGCAGGGGCCGGAACAGGGTGAACAGTCTACCCCC CACTTGCTGGAAATCTCGCACACGAGGACTTCAGTCGACTTAGCCATTTTCGCTCTGCACCTTGCG GGTGTCTCTTCAATCCTGGGGGCCATCAACTTCATCACAACGATTCTTAACATAAAACCCCCGGCAT AACCCAATACCAAACACCCCTGTTTGTGTGATCCGTTCTGATTACAGCAGTCTCCTCCTACTATCACT GCCCCGCTAGCTGCCGGCATCACAATGCTTTTTAACGGACCGCAACCTCAACACAACCTTTTTTGACC CCTCAGGTGGAGGCGATCCCATCCTTTATCAACACCTATTC |
| <i>Larimichthys crocea</i> | CCTCTACCTAATTTTTGGTGCATGAGCCGGAATAGTGGGCACAGCCCTAAGTCTCCTAATTCGAGCAG AACTAAGCCAGCCCGGCTCACTTCTCGGAGACGACCAGATTTTTAATGTAATCGTTACGGCACATGCT TTCGTTATAATCTTCTTTATAGTAATACCCGTTATAATTGGAGGGTTCGGGAACTGGCTTGTGCCTTTAA TAATTGGCGCCCCGACATAGCATTCCCCGAATGAATAACATAAGCTTCTGGCTCATCCCCCTTCTT TCCTACTGCTCCTCGCCTCATCAGGGGTTGAAGCAGGGGCCGGAACAGGGTGGACAGTCTACCCCC GCTTGCTGGAAACCTGGCGCACGCAGGGCCTTCAGTCGACTTAGCTATTTTTCCCTACACCTCGCAG GTGTTTCTCAATCCTGGGGGCCATCAACTTCATTACAACAATTATTAATATGAAACCCCCGGCATCA CCCAATATCAAACACCTCTGTTTGTCTGAGCCGTTCTAATTACAGCCGTCCTCCTGCTGCTCTACTAC CTGTTTTAGCCGCCGGCATCACAATGCTTTTACTGACCGCAATCTGAATACAACCTTTCTTCGACCCTT CGGGCGGAGGCGATCCCATCCTTACCAACACCTATTC |
| <i>Pemahia argentata</i> | CCTATACCTAGTTTTTGGTGCATGAGCCGGAATAGTAGGCACAGCCCTGAGTCTTTTAATCCGGGCAG AACTAAGCCAACCCGGTTCCCTTCTCGGGGACGATCAGATTTATAACGTCATCGTACAGCCCATGCC TTTGTGCATGATTTTCTTTATAGTAATGCCGTTATGATCGGGGGTTTTGGGAACTGACTTATCCCCTTAA TAATCGGTGCCCCGACATAGCATTCCCCGAATAAACAATATGAGTTTCTGACTTCTCCCCCTTCTT TCCTTCTTCTAACTTCTTCAGGTGTTGAAGCGGGAGCTGGAACAGGATGAACAGTCTACCCCC ACTCGCTGGAAACCTCGCACATGCAGGAGCCTCCGTCGACTTGGCCATCTTCTCCCTACACCTCGCA GGTGTCTCTTCTATTCTGGGGGCTATCAACTTTATTACAACAATTATCAACATAAAACCCCTGCCATT TCTCAGTATCAGACACCCTTATTTGTGTGGGCCGTCCTGATTACAGCAGTCTACTACTACTATCACTA CCCGTGTAGCTGCTGGCATTACAATACTTTAACTGATCGTAACTAAACACAACCTTCTTCGACCC GGCAGGCGGGGAGATCCAATTCTTTACCAGCACTTATTC |
| <i>Miichthys miui</i> | CCTCTATCTAGTTTTTCGGTGCATGGGCCGGAATAGTAGGCACAGCCCTGAGTCTCCTTATTCGAGCAG AACTAAGTCAACCCGGCTCACTCCTTGGGGACGACCAAATCTTTAATGTAATTGTTACAGCACATGCC TTCGTCATAATTTCTTTATAGTAATGCCGTTATAATCGGAGGGTTCGGAAACTGACTTGTACCCTTA ATGATCGGCGCCCCGATATGGCATTCCCCGAATGAATAACATAAGTTTCTGACTCCTTCCCCCTCT TTCCCTCTACTCCTGACTTCGTCAGGGGTTGAGGCAGGGGCTGGGACAGGATGAACAGTCTACCCCC CACTTGCTGGAAACCTTGCACATGCAGGGGCCCTCCGTCGACTTGGCCATCTTTTCCCTTCACTCGCA GGTGTTCCTCAATTCTAGGTGCCATCAACTTTATTACAACATTTATCAACATAAAACCCCCAGCCATC TCCCAGTACCAGACACCCTTATTCGTATGGGCCGTCCTGATCACAGCAGTCTCCTCCTGCTCTCACT CCCTGTCTTAGCTGCCGGCATTACAATACTTCTAACAGACCGTAACCTAAACACAACCTTCTTCGACC CCGACGGCGGAGGCGACCCCATCCTTTACCAACATTTATTC |

DNA barcode 염기서열
DNA barcode 염기서열 확정을 위해 추출한 표준 어류의 미토콘드리아 cytochrome *c* oxidase subunit I 유전자를

증폭한 후 ABI 3730XL (Applied Biosystems, USA)를 이용하여 염기서열을 분석하였다. 염기서열 분석으로 얻어진 양방향 서열은 SeqMan program (DNASTAR Inc, USA)

을 사용하여 종 판별에 특이적인 655 bp를 선정하여 DNA barcode 염기서열로 하였다(Table 3).

종 판별 염기서열 분석

PCR 증폭산물의 전기영동 결과 약 600-700 bp에서 single band가 확인되었을 경우 Accuprep PCR Purification Kit (Bioneer)을 이용하여 제조사의 매뉴얼에 따라 DNA를 정제하였다. 염기서열 분석은 (주)바이오니아에 의뢰하여 분석하였으며, 분석된 양방향의 염기서열은 BioEdit (version 7.0.5, www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.htm) 프로그램을 이용하여 정리하였다. 정리된 염기서열을 미국 국가 생물 공학센터 (NCBI, National Center for Biotechnology Information)에서 제공하는 BLAST Search (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 프로그램을 이용하여 참조기, 부세, 보구치, 민어 DNA barcode information과 미국 국가 생물 공학센터(NCBI)에 등록된 각각 어류의 유전자 염기서열과 비교하였다. 분석결과 97% 이상의 염기서열 상동성(identity)을 나타내는 종을 원재료의 종으로 판별하였다²⁶⁾.

Results and Discussion

DNA barcode information

PCR 증폭에 사용된 DNA barcode primer set는 Handy 등이 제시한 염기서열에 universal primer M13F (-20), M13R (-20)을 포함하여 제작하였다¹⁴⁾. 유전자 증폭 대상인 mitochondrial DNA의 COX I (cytochrome c oxidase subunit I) 유전자 영역은 염기서열 구성에 관한 연구가 활발히 이루어져 동물의 종 판별에 다양하게 활용되고 있다^{14,26,27)}. 종 특이적으로 선정된 DNA barcode 염기서열을 미국 국가 생물 공학 센터(NCBI)에 등록된 각각 어류의 유전자 염기서열과 상동성을 비교하였다. 판정 기준은 Paul 등의 보고에 따라 97% 이상의 유전자 염기서열 상동성을 나타냈을 경우 동일 종 어류로 판단하였다²⁶⁾. DNA barcode information과 primer set의 진위판별 정확성을 확인한 결과 모든 primer set에서 PCR 증폭이 확인되었으며(Fig. 1), NCBI에 등록된 각각 어류의 유전자 염기서열과 비교하였을 때 참조기 100%, 부세 100%, 보구치 100%, 민어 100%

의 상동성을 나타내어 실험에 사용된 DNA barcode information과 primer set의 정확성을 확인하였다(Table 4). 따라서 본 연구에서 사용된 DNA barcode information과 primer set은 참조기, 부세, 보구치, 민어를 원재료로 사용한 수산가공품의 어종판별에 적합한 것으로 판단되었다.

시중 유통 중인 민어과 수산가공식품 진위판별

DNA barcode를 이용한 민어과 수산가공식품의 어종판별 실험결과는 Table 5에 나타내었다. 참조기를 원재료로 표시한 제품의 염기서열과 DNA barcode를 비교한 결과 8건 모두 참조기(*L. polyactis*)로 동정 되었고, 부세로 표시된 12건의 제품은 부세(*L. crocea*)로, 민어로 표시된 9건의 제품은 민어(*Miichthys miui*)로 동정 되었다. 원재료를 백조기로 표시한 3건의 제품은 보구치(*Pennahia argentata*)로 동정 되었는데 시장에서 일반적으로 지칭되는 백조기의 표준명칭이 보구치(*Pennahia argentata*)인 점을 감안하

M N 1 2 3 4

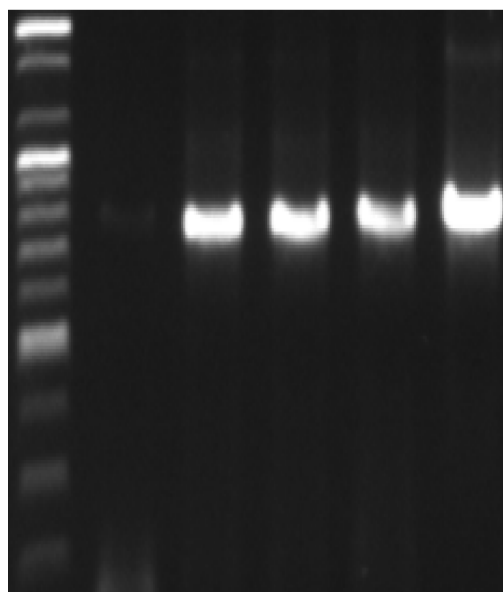


Fig. 1. Amplification results of DNA barcode marker sets. M: 100 bp size maker, N: Negative control, 1: *Larimichthys polyactis*, 2: *Larimichthys crocea*, 3: *Pennahia argentata*, 4: *Miichthys miui*.

Table 4. The sequence comparison of DNA barcode information with NCBI information

| Sequence information of DNA barcode | Identified species | | |
|-------------------------------------|------------------------------|-------------------------------|---------------|
| | Sequence information of NCBI | | |
| | Identity (%) | Species | Accession No. |
| <i>Larimichthys polyactis</i> | 99.85 | <i>Larimichthys polyactis</i> | MF004321 |
| <i>Larimichthys crocea</i> | 100 | <i>Larimichthys crocea</i> | MK843680 |
| <i>Pennahia argentata</i> | 99.82 | <i>Pennahia argentata</i> | KU944122 |
| <i>Miichthys miui</i> | 100 | <i>Miichthys miui</i> | MK560626 |

Table 5. Species identification results based on sequence information of DNA barcode and NCBI

| No. | Raw material ^a | Identified species | | | | | Labeling compliance |
|-----|-----------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|---------------|---------------------|
| | | Sequence information of DNA barcode | | Sequence information of NCBI | | | |
| | | Identity (%) | Species | Identity (%) | Species | Accession No. | |
| M1 | <i>Larimichthys polyactis</i> | 99.68 | <i>Larimichthys polyactis</i> | 100 | <i>Larimichthys polyactis</i> | MF004321 | C ^b |
| M2 | <i>Larimichthys polyactis</i> | 99.35 | <i>Larimichthys polyactis</i> | 99.84 | <i>Larimichthys polyactis</i> | DQ107815 | C |
| M3 | <i>Larimichthys polyactis</i> | 100 | <i>Larimichthys polyactis</i> | 100 | <i>Larimichthys polyactis</i> | MG574439 | C |
| M4 | <i>Larimichthys polyactis</i> | 99.85 | <i>Larimichthys polyactis</i> | 100 | <i>Larimichthys polyactis</i> | MG574439 | C |
| M5 | <i>Larimichthys polyactis</i> | 99.66 | <i>Larimichthys polyactis</i> | 99.8 | <i>Larimichthys polyactis</i> | MG574439 | C |
| M6 | <i>Larimichthys polyactis</i> | 99.81 | <i>Larimichthys polyactis</i> | 100 | <i>Larimichthys polyactis</i> | MG574439 | C |
| M7 | <i>Larimichthys polyactis</i> | 99.41 | <i>Larimichthys polyactis</i> | 100 | <i>Larimichthys polyactis</i> | HQ385790 | C |
| M8 | <i>Larimichthys polyactis</i> | 99.24 | <i>Larimichthys polyactis</i> | 100 | <i>Larimichthys polyactis</i> | JN250635 | C |
| M9 | <i>Larimichthys crocea</i> | 100 | <i>Larimichthys crocea</i> | 100 | <i>Larimichthys crocea</i> | MK843680 | C |
| M10 | <i>Larimichthys crocea</i> | 100 | <i>Larimichthys crocea</i> | 100 | <i>Larimichthys crocea</i> | MK843680 | C |
| M11 | <i>Larimichthys crocea</i> | 100 | <i>Larimichthys crocea</i> | 100 | <i>Larimichthys crocea</i> | MK843680 | C |
| M12 | <i>Larimichthys crocea</i> | 100 | <i>Larimichthys crocea</i> | 100 | <i>Larimichthys crocea</i> | MK843680 | C |
| M13 | <i>Larimichthys crocea</i> | 100 | <i>Larimichthys crocea</i> | 100 | <i>Larimichthys crocea</i> | MK843680 | C |
| M14 | <i>Larimichthys crocea</i> | 100 | <i>Larimichthys crocea</i> | 100 | <i>Larimichthys crocea</i> | MK843680 | C |
| M15 | <i>Larimichthys crocea</i> | 100 | <i>Larimichthys crocea</i> | 100 | <i>Larimichthys crocea</i> | MK843680 | C |
| M16 | <i>Larimichthys crocea</i> | 99.8 | <i>Larimichthys crocea</i> | 100 | <i>Larimichthys crocea</i> | KY371646 | C |
| M17 | <i>Larimichthys crocea</i> | 99.78 | <i>Larimichthys crocea</i> | 100 | <i>Larimichthys crocea</i> | KY371646 | C |
| M18 | <i>Larimichthys crocea</i> | 99.77 | <i>Larimichthys crocea</i> | 99.77 | <i>Larimichthys crocea</i> | MK843680 | C |
| M19 | <i>Larimichthys crocea</i> | 100 | <i>Larimichthys crocea</i> | 100 | <i>Larimichthys crocea</i> | MK843680 | C |
| M20 | <i>Larimichthys crocea</i> | 100 | <i>Larimichthys crocea</i> | 100 | <i>Larimichthys crocea</i> | MK843680 | C |
| M21 | <i>Silver croker</i> ^c | 99.69 | <i>Pennahia argentata</i> | 99.8 | <i>Pennahia argentata</i> | MG574464 | C |
| M22 | <i>Silver croker</i> | 100 | <i>Pennahia argentata</i> | 100 | <i>Pennahia argentata</i> | KU944122 | C |
| M23 | <i>Silver croker</i> | 100 | <i>Pennahia argentata</i> | 99.8 | <i>Pennahia argentata</i> | KU944122 | C |
| M24 | <i>Miichthys miiuy</i> | 100 | <i>Miichthys miiuy</i> | 100 | <i>Miichthys miiuy</i> | MK560626 | C |
| M25 | <i>Miichthys miiuy</i> | 100 | <i>Miichthys miiuy</i> | 100 | <i>Miichthys miiuy</i> | MK560626 | C |
| M26 | <i>Miichthys miiuy</i> | 100 | <i>Miichthys miiuy</i> | 100 | <i>Miichthys miiuy</i> | MK560626 | C |
| M27 | <i>Miichthys miiuy</i> | 100 | <i>Miichthys miiuy</i> | 100 | <i>Miichthys miiuy</i> | MK560626 | C |
| M28 | <i>Miichthys miiuy</i> | 100 | <i>Miichthys miiuy</i> | 100 | <i>Miichthys miiuy</i> | MK560626 | C |
| M29 | <i>Miichthys miiuy</i> | 99.45 | <i>Miichthys miiuy</i> | 99.45 | <i>Miichthys miiuy</i> | MK560626 | C |
| M30 | <i>Miichthys miiuy</i> | 100 | <i>Miichthys miiuy</i> | 100 | <i>Miichthys miiuy</i> | MK560626 | C |
| M31 | <i>Miichthys miiuy</i> | 100 | <i>Miichthys miiuy</i> | 100 | <i>Miichthys miiuy</i> | MK560626 | C |
| M32 | <i>Miichthys miiuy</i> | 99.26 | <i>Miichthys miiuy</i> | 99.26 | <i>Miichthys miiuy</i> | MK560626 | C |

^aRaw materials and origin were declared in the labels of commercial products.

^bC represent compliance. Identified species were compared with the raw materials declared in the label of commercial product.

^cThe scientific name of silver croker is *Pennahia argentata*.

여 원재료를 백조기로 표시하였어도 보구치로 판정하였다. 판정결과 시중 유통 중인 참조기, 부세, 보구치, 민어의 위변조 사례는 나타나지 않았으나, 원재료명에 백조기로만 표기하고 표준명인 보구치를 사용하지 않아 소비자의 혼

란을 야기 할 수 있을 것으로 판단되었다.

본 연구 결과 민어과 수산가공품의 위변조 사례는 나타나지 않았지만, Yu 등의 두족류 제품의 원재료 모니터링 연구결과 불일치율 37%, 국내 대형 초밥 뷔페 수산물 원

재료 모니터링 연구결과 불일치율 27%로 보고^{28,29)}되었다. 따라서 수산가공품의 위변조를 예방하기 위해 Multiplex PCR, Real-time PCR, Ultra-fast PCR 시험법보다 노동력과 실험 시간이 짧은 DNA barcode 시험법 개발이 필요하다 하겠다. 또한, 수산가공품 원재료명 표시에 식품공전에 등재된 표준명을 사용하지 않고 일반명을 사용하여 소비자에게 혼란을 야기하고 있다. 따라서 소비자에게 정확한 정보를 제공하기 위해 수산가공품 원재료명 표시에 일반명과 더불어 표준명 또는 학명을 함께 표시하여야 할 것으로 판단되었다.

Acknowledgement

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

국문요약

본 연구에서는 민어과 수산물의 표준시료 DNA 염기서열을 분석한 후 DNA barcode 염기서열을 확정하고 검증한 후 시중 유통 중인 민어과 수산가공식품의 위변조 현황을 조사하였다. 표준시료의 미토콘드리아 cytochrome c oxidase subunit I 유전자를 증폭한 후 증폭된 PCR 산물의 염기서열을 분석하였다. 분석결과 종 판별에 특이적인 655 bp를 선정하여 DNA barcode 염기서열로 하였다. DNA barcode information과 primer set을 이용한 진위판별 정확성을 확인한 결과 PCR 증폭은 모두 확인되었다. NCBI에 등록된 각각 어류의 유전자 염기서열과 비교하였을 때 참조기 100%, 부세 100%, 보구치 100%, 민어 100%의 상동성을 나타내어 실험에 사용된 DNA barcode information과 primer set의 정확성을 확인하였다. DNA barcode 시험법을 이용해 시중 유통되는 민어과 수산가공품 32건에 대해 조사한 결과 위변조 사례는 나타나지 않았다. 그러나 식품공전에 등재된 보구치 대신 백조기라는 일반명이 사용되고 있어 소비자에게 혼란을 야기하고 있었다. 따라서 수산가공품 원재료 표시에 일반명과 더불어 표준명 또는 학명을 표시하여야 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>
 Ah-Hyeon Jo <https://orcid.org/0000-0001-7189-7837>
 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. Lin, X.M., Kim, K.S., Empirical Analysis on the Factors Affecting the Consumption of Aquatic Products in China Using Panel Data. *J. Fish. Bus. Adm.*, **44**(2), 019-033 (2013).
2. Ministry of Oceans and Fisheries, (2020, January 6) Korean annual seafood consumption is 58.4 kg, which is the highest amount among OECD countries. Retrieved from <http://www.mof.go.kr/article/view.do?articleKey=15063&boardKey=10&menuKey=376¤tPageNo=1>.
3. Ministry of Food and Drug Safety, 2019, Year book of imported food inspection. Cheongju, Korea.
4. Trend of Fisheries Import from FTA Partners, 2018, *Korean Maritime Institute*.
5. 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).
6. 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, H.K., Park, J.S., Kwon, W.K., Jang, Y.M., Shin, I.S., Lee, C.K., Park H.Y., Ha, S.C. and Jo, J.S., Studies on the separation and discrimination of the natural yellow pigment on croaker. *Kor. J. Food Sci. Technol.*, **34**, 762-769 (2002).
7. 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. and 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).
8. 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).
9. 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).
10. 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).

11. Kang, T.S., Development of four PCR-based methods to differentiate tilefish species (*Branchiostegus japonicus* and *B. albus*). *Food Chem.*, **271**, 1-8 (2019).
12. 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).
13. Kim, M.R., Kwon, K., 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).
14. Handy, S.M., Deeds, J.R., Ivanova, N.V., Hebert, P.D., Haner, R., Ormos, A., Yancy, H.F., A single-laboratory validated method for the generation of DNA barcodes for the identification of fish for regulatory compliance. *J. AOAC Int.*, **94(1)**, 201-210 (2011).
15. Noh, E.S., Lee, M.N., Kim, E.M., Park, J.Y., Noh, J.K., An, C.M., Kang, J.H., Development of a Multiplex PCR Assay for Rapid Identification of *Larimichthys polyactis*, *L. crocea*, *Atrobucca nibe*, and *Pseudotolithus elongates*. *J. Life Sci.*, **27(7)**, 746-753 (2017).
16. Lee, J.H., Seo, Y.I., Oh, T.Y. and Lee, D.W., Estimations on population ecological characteristics of small yellow croaker, *Larimichthys polyactis* by the drift gillnet fishery in Korean waters. *J. Korea Soc. Fish Tech.*, **49**, 440-448 (2013).
17. Xiao, Y., Zhang, Y., Gao, T., Yanagimoto, T., Yabe, M., Sakurai, Y., Genetic diversity in the mtDNA control region and population structure in the small yellow croaker *Larimichthys polyactis*. *Environ. Biol. Fish.*, **85**, 303-314 (2009).
18. Statistics Korea. Changes in catches of major fish species due to changes in climate (water temperature), (2020, October 16). Retrieved from http://kostat.go.kr/portal/korea/kor_nw/1/1/index.board?bmode=read&aSeq=368502&pageNo=28&rowNum=10&amSeq=&sTarget=title&sTxt=OECD.
19. Kang, D.Y., Jo, K.C., Lee, J.H., Kang, H.W., Kim, H.C., Kim, G.H., Annual reproductive cycle of wild female yellow croaker, *Larimichthys polyactis*. *J. Aquacul.*, **19**, 188-196 (2006).
20. Go, D.G., Regional brand strategy and regional activation by specific fishery product - The case of Brown Croaker. *TJOKI*, **27(4)**, 29-58 (2015).
21. Heu, M.S., Park, K.H., Kim, K.H., Kang, S.I., Choi, J.D., Kim, J.S., Sanitary quality characterization of commercial salted semi-dried Brown Croaker. *J Korean Soc Food Sci Nutr.*, **43(4)**, 584-591 (2014).
22. Park, Y.C., Jin, S.O., Lim, J.Y., Kim, K.H., Lee, J.H., Cho, T.Y., Lee, H.J., Han, S.B., Lee, S.J., Lee, K.H., Yoon, H.S., Application for identification of food raw materials by PCR using universal primer. *J. Food Hyg. Saf.*, **27(3)**, 317-324 (2012).
23. Cho, H., Kim, J.H., Lee, W.S., Jeong, W., Moon, H.B., Hwang, S.Y., Development of molecular detection kit for *Larimichthys crocea* and *Larimichthys polyactis*. *BioChip J.*, **8(2)**, 148-153 (2014).
24. Bingpeng, X., Heshan, L., Zhilan, Z., Chunguang, W., Yanguo, W., Jianjun, W., DNA barcoding for identification of fish species in the Taiwan Strait. *PLoS one*, **13(6)**, e0198109 (2018).
25. Rosas, U., Menendez, F., Cornejo, R., Canales, R., Velez-Zuazo, X. Fish DNA barcoding around large marine infrastructure for improved biodiversity assessment and monitoring. *Mitochondrial DNA Part A*, **29(8)**, 1174-1179 (2018).
26. Paul, D.N., Hebert, T., Ryan, G., The promise of DNA barcoding for taxonomy. *Syst. Biol.*, **54(5)**, 852-859 (2005).
27. Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., Vrijenhoek, R., DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.*, **3(5)**, 294-299 (1994).
28. Yu, Y.C., Hong, Y., 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(5)**, 502-507 (2019).
29. Kang, T.S., Monitoring of commercial products sold on sushi buffet restaurants in South Korea using DNA barcode information. *J. Food Hyg. Saf.*, **35(1)**, 45-50 (2020).