

DNA 바코드를 이용한 가정간편식 제품의 원재료 모니터링 연구

유연철¹ · 홍예원¹ · 김정주¹ · 이동호² · 김형수¹ · 문귀임¹ · 박은미^{1*}

¹식품의약품안전처 식품의약품안전평가원 신중유해물질팀

²식품의약품안전처 유해물질기준과

Monitoring of Raw Materials for Commercial Home Meal Replacement Products Using DNA Barcode Information

Yeon-Cheol Yu¹, Yewon Hong¹, Jung Ju Kim¹, Dong Ho Lee², Hyung Soo Kim¹, Guiim Moon¹, Eun Mi Park^{1*}

¹New Hazardous Substance Team, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Cheongju, Korea

²Residues and Contaminants Standard Division, Ministry of Food and Drug Safety, Cheongju, Korea

(Received March 24, 2020/Revised April 6, 2020/Accepted May 4, 2020)

ABSTRACT - In this study, we monitored the raw materials in home-meal replacement (HMR) products, which have shown more than 63% growth in market size for two years. A total of 89 HMR products were purchased and the DNA barcodes of 112 raw materials in the product samples were analyzed. In order to identify the raw material species, a primer set specific for the 16S ribosomal RNA region of each raw material species was amplified. The amplicon was purified and sequenced, and then used to perform a BLAST search provided by the National Institutes of Health (NIH). The species of the raw material was determined by comparing the nucleotide sequences of the species registered in GenBank with identity and match score. Twenty-four species and three genera were identified from 112 raw materials. Three genera were identified at the genus level because a large number of species belonging to the same genus exist within 98% of the identity criteria. The results of the determination were compared with the available raw materials suggested in the Korea Food Code to determine the Korean name and availability of the foods. Six non-listed species were determined to be edible according to information provided by influential domestic and foreign organizations.

Key words : Home meal replacement, DNA barcode, Species identification

1인 가구 증가, 여성의 경제활동 확대, 고령화 등 사회 구조의 변화는 산업 전 분야에 많은 영향을 끼쳤으며, 식품시장에도 많은 변화를 가져왔다. 식품시장은 편의성과 간편성이 갖춰진 먹거리인 ‘가정간편식(HMR, Home Meal Replacement)’이라는 새로운 시장을 형성하기에 이르렀다¹⁾. 가정간편식은 적은 시간과 노력을 들여 간편하게 음식을 준비하거나 섭취할 수 있도록 하는 모든 유형의 가정식 대체식품을 의미하며, 간편식, 편의식품으로 불리기도 한다²⁾.

가정간편식은 별도의 조리 없이 바로 섭취 가능한 음식 (RTE, Ready to Eat), 전자레인지나 뜨거운 물에 단시간 데운 후 섭취 가능한 제품(RTH, Ready to Heat), 장시간 데우거나 간단한 조리 과정을 거친 후 섭취 가능한 제품

(RTC, Ready to Cook), 손질이 다 된 식재료와 적절한 분량의 양념, 레시피가 동봉되어 직접 조리가 쉽게 만든 제품(RTP, Ready to Prepared)으로 분류할 수 있다³⁾. ‘가공식품 세분화시장 현황 보고서’에 따르면 가정간편식 시장규모는 2017년 2조7천421억원으로 2015년(1조6천823억원)과 비교해 63%나 성장하였으며, 2022년에는 약 5조원에 이를 것으로 전망되고 있다⁴⁾.

가정간편식 제품의 표시사항 정보는 소비자들의 구매의사결정에 중요한 영향을 미칠 수 있다⁵⁾. FTA (Free Trade Agreement) 등 교역확산에 따른 육안구별이 어려운 유사 식품원료의 수입이 증가와 더불어 경제적 이득을 목적으로 저렴한 식품원료 또는 가짜원료를 이용하여 불량식품을 제조하는 사례들이 종종 보고되고 있다⁶⁾. 실제로 민어 매운탕으로 판매하는 밀키트 안에 함께 제공되는 생선은 민어가 아닌 꼬마민어로 다른 생물 종이였으나, 품목명이 유사하거나, 절단 등의 단순가공을 거치면 구별이 어렵다

*Correspondence to: Eun Mi Park, New Hazardous Substance Team, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Cheongju, Chungbuk 28159, Korea

Tel: +82-43-719-4453, Fax: +82-43-719-4450

E-mail: empark0731@korea.kr

는 점을 이용하여 민어 제품으로 팔리는 사례가 있었다⁷⁾. 이처럼 의도적으로 소비자를 기만하는 사태를 방지하기 위하여 식품원료의 진위판별 연구 및 유통실태 조사 등을 통해 소비자에게 보다 정확한 정보 전달이 되어야 한다.

식품 원료의 종판별 분석은 다양한 방법으로 이루어지고 있다. 가장 기본적으로 육안으로 구별하는 형태학적인 방법이 널리 사용되고 있으나, 가정간편식에 사용되는 원료는 일정 부분 가공되어 육안으로 구별이 어렵다⁸⁾. 육안 구분 외에 이화학적인 방법을 이용하여 원료를 구별할 수 있으나 다양한 원료들이 섞이며 이마저도 어렵게 하는 경우가 대다수이다⁹⁾. 이에 따라 유전자 분석 방법이 널리 이용되고 있다. DNA는 가공을 거치더라도 비교적 보존이 잘 되기 때문에 가공식품의 원료 분석에 널리 이용되고 있다. 본 연구에서는 가정간편식에 여러 가지 식품원료 등이 사용될 수 있는 점을 고려하여 일반 프라이머(universal primer)를 이용한 식품원료 진위판별을 할 수 있는 DNA 바코드 분석 방법을 수행하였다. 종 특이 프라이머(species-specific primer)를 개발하여 종을 판별하는 방법과 달리 DNA 바코드 분석 방법은 일반 프라이머를 이용하기 때문에 종의 범위가 정해지지 않은 경우에 종을 판별하기 유리하다. DNA 바코드 분석 방법은 16S ribosomal RNA (16S rRNA), cytochrome c oxidase subunit I (COI), cytochrome b (Cytb) 등 종 보존력이 높은 미토콘드리아의 DNA를 증합효소연쇄 반응으로 증폭하고 방대하게 축적된 데이터베이스의 염기서열 정보와 비교하여 종을 확인한다¹⁰⁾. 위 방법은 작은 조직에도 다량 존재하는 미토콘드리아 DNA를 이용하여 적은

양의 샘플로도 분석이 가능하기 때문에 가정간편식 원료의 종 판별에 더욱 유리할 것으로 사료된다. 실제로 이와 같은 분석 방법은 다양한 수산물 분석에 이용되어 활발한 선행 연구가 수행된 바 있다¹¹⁻¹⁴⁾.

본 연구에서는 DNA 바코드 정보를 담은 유전자 중에서 COI, Cytb 등과 비교하여 다양한 종에 해상도가 높은 16S rRNA 바코드 유전자¹⁵⁻¹⁷⁾를 이용하여 가정간편식 원료 분석에 이용하였다. 112개 원료의 16S rRNA 유전자를 대상으로 증폭한 산물에서 염기서열을 확보하고 이를 미국국립보건원의 데이터베이스(National Center for Biotechnology Information GenBank)에 등록되어 있는 염기서열과 비교하여 그 종판별을 통해 유통실태를 조사하고자 하였다.

Materials and Methods

시료 전처리 및 DNA 추출

본 연구에서는 가정간편식의 단일원료로 구성된 재료를 분석대상으로 사용하였다. 시중에 유통되는 제품을 섭취 방법에 따라 다양한 유형으로 나누어 구입하여 ‘RTP (Ready to prepare)’ 23개, ‘RTE (Ready to eat)’ 4개, ‘RTC (Ready to cook)’ 13개, RTH (Ready to heat) 49개를 구입하여 총 89개 제품에 포함된 112개의 원료를 분석하였다. 이들 제품에 관련된 정보(표기 재료명, 원산지, 제품유형 등)는 표(Table 1)에 요약하였다. DNA 추출을 위해 원료의 25 mg 을 이용하였으며 가공 과정 중 첨가된 다양한 양념 또는 이물들을 제거하였고, PCR 저해인자 제거가 필요한 경우

Table 1. Information of samples analyzed in this study

	Raw materials (Korean)	Type of HMR ^a	Country of origin		Raw materials (Korean)	Type of HMR	Country of origin
S1	소	RTP ^c	US	S57	소고기	RTH	China
S2	소	RTP	US	S58	소고기	RTH	China
S3	소	RTP	US	S59	오리고기	RTH	China
S4	새우	RTP	Vietnam	S60	돼지발	RTH	Foreigner
S5	오징어	RTP	China	S61	돈피	RTH	Korea
S6	돼지	RTP	Korea	S62	돼지머리고기	RTH	Korea
S7	소	RTH ^d	- ^b	S63	돼지소창	RTH	Korea
S8	소	RTH	-	S64	닭발	RTH	Foreigner
S9	소	RTH	-	S65	곱창	RTH	Korea
S10	소	RTH	-	S66	돼지고기	RTH	Germany
S11	새우	RTC ^e	Vietnam	S67	소고기	RTH	USA
S12	소	RTH	USA	S68	무뼈닭발	RTH	Foreigner
S13	돼지	RTH	Foreigner	S69	돼지막창	RTH	Foreigner
S14	돼지	RTH	Foreigner	S70	돼지고기	RTH	USA
S15	돼지	RTC	Germany	S71	돼지곱창	RTH	Korea
S16	오징어	RTC	Korea	S72	돼지막창	RTH	USA

Table 1. (Continued) Information of samples analyzed in this study

	Raw materials (Korean)	Type of HMR ^a	Country of origin ^b		Raw materials (Korean)	Type of HMR	Country of origin
S17	오징어	RTC	Korea	S73	돼지오돌뼈	RTH	Korea
S18	돼지	RTH	USA	S74	돼지껍데기	RTH	Korea
S19	전복	RTH	Philippine	S75	돼지막창	RTH	Foreigner
S20	돼지	RTH	Korea	S76	돼지고기	RTH	Austria
S21	닭	RTH	Korea	S77	돼지오돌뼈	RTH	Korea
S22	돼지	RTH	Korea	S78	닭다리살	RTH	Brazil
S23	닭	RTH	Korea	S79	오징어	RTH	Austria
S24	아귀	RTH	China	S80	돼지	RTH	China
S25	주꾸미	RTH	Thailand	S81	볶은복어	RTH	Russia
S26	닭	RTH	Korea	S82	쇠고기	RTH	New Zealand
S27	돼지	RTH	USA	S83	소고기	RTP	USA
S28	장어	RTP	China	S84	소고기	RTP	US, Australia
S29	갑오징어	RTP	-	S85	소고기	RTP	USA
S30	간 새우	RTP	Vietnam	S86	갈치	RTP	Senegal
S31	통 새우	RTP	Vietnam	S87	가오리날개	RTP	USA
S32	새우	RTP	Vietnam	S88	우럭	RTP	Korea
S33	갑오징어	RTP	Vietnam	S89	소갈비	RTP	Foreigner
S34	홍다리얼룩새우	RTP	Vietnam	S90	전복	RTP	Korea
S35	흰다리새우	RTP	-	S91	연어	RTP	Chile
S36	절단꽃게	RTP	China	S92	새우	RTP	Vietnam
S37	문어	RTP	-	S93	명태알	RTP	Russia
S38	새우	RTP	Vietnam	S94	닭	RTP	Brazil
S39	돼지삼겹	RTH	Austria	S95	흰다리새우	RTP	India
S40	오징어	RTH	Chile	S96	닭	RTP	Korea
S41	소고기	RTH	Korea	S97	아귀	RTP	Korea, Brazil
S42	새우	RTH	Vietnam	S98	황태포	RTH	China
S43	닭가슴살	RTH	Korea	S99	소고기	RTH	Australia
S44	명란	RTC	US, Russia	S100	그릴드치킨	RTH	-
S45	명태곤이	RTC	Russia	S101	고등어	RTH	Norway
S46	오징어	RTC	Chile	S102	연어	RTH	USA
S47	오징어	RTC	Chile	S103	오리고기	RTH	China
S48	닭날개	RTC	Thailand	S104	소고기	RTH	Foreigner
S49	닭다리살	RTC	Thailand	S105	소양지	RTH	Foreigner
S50	닭고기살	RTC	Thailand	S106	오리고기	RTH	Korea
S51	새우	RTC	Vietnam	S107	홍어	RTE ^f	Argentina
S52	닭다리살	RTC	Thailand	S108	피뿔고등살	RTE	Turkey
S53	닭다리살	RTC	Thailand	S109	닭고기	RTE	-
S54	천엽	RTH	China	S110	새우	RTH	Vietnam
S55	오리간	RTH	China	S111	새우	RTH	Vietnam
S56	닭날개끝	RTH	China	S112	닭가슴살	RTH	Korea

^aHome Meal Replacement, ^bNot marked, ^cReady to Prepare, ^dReady to Heat, ^eReady to Cook, ^fReady to Eat.

증류수, 70% ethanol을 이용한 세척과정을 추가하였다. 전처리된 가식부위를 DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Hilden, Germany)를 이용하여 제조사의 매뉴얼에 따라 수행하여 DNA를 추출하였다. 추출된 DNA는 NanoDrop 2000 (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA)을 이용하여 농도와 순도를 확인하여 사용하였다.

DNA 바코드 PCR 및 염기서열 분석

다양한 종류의 원료 종을 판별하기 위해 발표된 문헌을 참고하여 16S rRNA 유전자를 목적 유전자로 선정하여, 바코드 마커의 증폭을 위한 프라이머 세트(Forward primer (16Sar-L): 5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3', Reverse primer (16Sbr-H): 5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACGT-3')를 합성하였다¹⁹⁾. 중합효소연쇄반응(PCR)을 수행하기 위해 프라이머 세트를 증폭 조건에 따라 Thermal Cycler C1000 Touch™ (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) 장비를 이용하였다. 증폭과정을 위해 AccuPower PCR PreMix (Bioneer, Daejeon, Korea)를 이용하여 10 ng/μL 농도의 주형 DNA 1 μL를 첨가하고 10 μM의 정방향 및 역방향 프라이머를 각각 1 μL씩 첨가하여 총 반응액 부피가 20 μL가 되도록 멸균 증류수를 첨가하였다. 반응조건은 96°C에서 3분간 pre-denaturation 한 후, 96°C에서 20초간 denaturation, 53°C에서 20초간 annealing, 72°C에서 1분간 extension을 하여 35 cycle을 반응시킨 뒤 72°C에서 10분간 final extension을 진행하였다. 증폭산물은 Accuprep PCR Purification Kit (Bioneer)를 이용하여 제조사의 매뉴얼에 따라 PCR 잔여물 및 불순물을 제거하였다. 염기서열의 분석은 정제된 DNA를 이용하여 (주)바이오니아에 의뢰하여 수행하였다.

DNA 바코드 정보를 이용한 가정간편식 원료의 종판별

분석된 바코드 마커의 염기서열(약 600 bp)은 품질 점수(Quality score)를 확인하여 20 이하의 염기서열은 BioEdit

(version 7.0.5, Ibis Therapeutics, Carlsbad, CA, USA) 프로그램을 이용하여 분석에서 제외하였다⁹⁾. 편집된 바코드 마커의 염기서열 정보는 미국국립보건원에서 제공하는 BLAST (Basic Local Alignment Search Tool)를 사용하여 분석하였으며, 98% 이상의 유사도(identity)를 보이며 높은 순위의 매치 점수(Match score)를 가지는 종을 분석 검체에 사용한 원재료의 종으로 최종 판별하였다¹⁸⁾.

Results

가정간편식 원료의 종판별을 위한 바코드 마커의 증폭

종 판별에 널리 활용되는 프라이머 세트를 활용하여 증폭조건(온도, 시간, 반복수)을 확립하였다. 확립된 증폭 조건을 활용하여 모든 검체에서 분석하기에 충분한 DNA 바코드 마커를 확보하였다. 이를 통해 '16Sar-L/16Sbr-H' 프라이머 세트가 여러 종류의 양념 및 이물질이 혼합되어 있는 가정간편식의 원료에 적합한 것을 확인하였다. 생성된 증폭산물은 정제 과정을 거쳐 가정간편식 원료 분석에 이용하였다.

바코드 마커 정보를 이용한 가정간편식 제품 원료의 종 판별

PCR 과정을 통하여 얻은 증폭산물의 염기서열 분석을 위해 위에 제시한 'DNA 바코드 PCR 및 염기서열 분석' 항목을 따라 진행하였다. 증폭된 염기서열의 양 말단에 존재하는 품질 점수 기준 '20' 이하의 불확실 염기서열들은 제거한 후 염기서열 비교를 위해 사용되었다. 데이터베이스는 미국국립보건원에서 제공하는 GenBank를 이용하였으며, 유사도(Identity, %)와 매치 점수(Match score)를 고려하여 종을 판별하였다. 원료로 사용된 다양한 종이 학명으로 판별되었으며, 이를 제품에 표시된 국명과의 일치 여부를 확인하기 위하여 식품의 기준 및 규격(제2019-57호) 중 「(별표 1) 사용할 수 있는 원료 목록」에 제시된 학명과 국명을 참고하여 표(Table 2)에 나타내었다. 소를

Table 2. Species identification results based on sequence information of DNA barcode markers

No.	Identified species			No.	Identified species		
	Accession No.	Identity (%)	Species		Accession No.	Identity (%)	Species
S1	MG837552.1	99.8	<i>Bos taurus</i>	S57	MG650115.1	100	<i>Bubalus bubalis</i> ^b
S2	MG837552.1	100	<i>Bos taurus</i>	S58	MG837552.1	100	<i>Bos taurus</i>
S3	MG837552.1	100	<i>Bos taurus</i>	S59	-	-	<i>Anas sp.</i> ^a
S4	KT596762.1	100	<i>Litopenaeus vannamei</i>	S60	KY964306.1	100	<i>Sus scrofa</i>
S5	AB635417.1	100	<i>Dosidicus gigas</i>	S61	MG250566.1	100	<i>Sus scrofa</i>
S6	MF183225.1	100	<i>Sus scrofa</i>	S62	KJ746666.1	99.39	<i>Sus scrofa</i>
S7	MG837552.1	100	<i>Bos taurus</i>	S63	KY964306.1	100	<i>Sus scrofa</i>
S8	MG837552.1	100	<i>Bos taurus</i>	S64	KM886937.1	99.81	<i>Gallus gallus</i>
S9	MH423743.1	100	<i>Bos taurus</i>	S65	KY964306.1	100	<i>Sus scrofa</i>

Table 2. (Continued) Species identification results based on sequence information of DNA barcode markers

No.	Identified species			No.	Identified species		
	Accession No.	Identity (%)	Species		Accession No.	Identity (%)	Species
S10	MG837552.1	100	<i>Bos taurus</i>	S66	MG837550.1	100	<i>Sus scrofa</i>
S11	KT596762.1	100	<i>Litopenaeus vannamei</i>	S67	MG837552.1	100	<i>Bos taurus</i>
S12	MG837552.1	100	<i>Bos taurus</i>	S68	MH732978.1	100	<i>Gallus gallus</i>
S13	MF183225.1	99.81	<i>Sus scrofa</i>	S69	KY964306.1	100	<i>Sus scrofa</i>
S14	MG837550.1	100	<i>Sus scrofa</i>	S70	MG837550.1	99.8	<i>Sus scrofa</i>
S15	MG837550.1	99.81	<i>Sus scrofa</i>	S71	MF183225.1	100	<i>Sus scrofa</i>
S16	LC121076.1	100	<i>Todarodes pacificus</i>	S72	MG837550.1	99.8	<i>Sus scrofa</i>
S17	LC121076.1	100	<i>Todarodes pacificus</i>	S73	MG250566.1	100	<i>Sus scrofa</i>
S18	MF183225.1	99.62	<i>Sus scrofa</i>	S74	KY964306.1	100	<i>Sus scrofa</i>
S19	GQ160681.1	99.8	<i>Haliotis asinina</i> ^b	S75	MF183225.1	99.6	<i>Sus scrofa</i>
S20	KY964306.1	100	<i>Sus scrofa</i>	S76	MF183225.1	99.6	<i>Sus scrofa</i>
S21	MH732978.1	100	<i>Gallus gallus</i>	S77	MF183225.1	99.6	<i>Sus scrofa</i>
S22	KY964306.1	100	<i>Sus scrofa</i>	S78	MH732978.1	100	<i>Gallus gallus</i>
S23	MH732978.1	100	<i>Gallus gallus</i>	S79	AB509451.1	99.78	<i>Ommastrephes bartramii</i> ^b
S24	KJ0200931.1	100	<i>Lophius litulon</i>	S80	MG837550.1	100	<i>Sus scrofa</i>
S25	LC121045.1	99.38	<i>Amphioctopus membranaceus</i> ^b	S81	MH018252.1	100	<i>Gadus chalcogrammus</i>
S26	MH732978.1	100	<i>Gallus gallus</i>	S82	MG837552.1	100	<i>Bos taurus</i>
S27	MF183225.1	100	<i>Sus scrofa</i>	S83	MG837552.1	100	<i>Bos taurus</i>
S28	KJ564217.1	100	<i>Anguillar rostrata</i>	S84	KJ709686.1	100	<i>Bos taurus</i>
S29	-	-	<i>Sepia sp.</i> ^a	S85	MG837552.1	100	<i>Bos taurus</i>
S30	HQ127458.1	100	<i>Litopenaeus vannamei</i>	S86	DQ532974.1	98.87	<i>Trichiurus lepturus</i>
S31	HQ127458.1	100	<i>Litopenaeus vannamei</i>	S87	-	-	<i>Bathyraja sp.</i> ^a
S32	KT596762.1	100	<i>Litopenaeus vannamei</i>	S88	-	-	<i>Sebastes sp.</i> ^a
S33	-	-	<i>Sepia sp.</i> ^a	S89	MG837552.1	100	<i>Bos taurus</i>
S34	AF217843.1	99.6	<i>Penaeus monodon</i>	S90	AY146392.1	100	<i>Haliotis discus</i>
S35	HQ127458.1	100	<i>Litopenaeus vannamei</i>	S91	KF792729.1	100	<i>Salmo salar</i>
S36	KU296927.1	99.8	<i>Portunus pelagicus</i>	S92	MF490230.1	100	<i>Litopenaeus vannamei</i>
S37	AB191280.1	100	<i>Octopus cyanea</i> ^b	S93	MH018252.1	100	<i>Gadus chalcogrammus</i>
S38	HQ127458.1	100	<i>Litopenaeus vannamei</i>	S94	MH732978.1	100	<i>Gallus gallus</i>
S39	MF183225.1	100	<i>Sus scrofa</i>	S95	MF490230.1	100	<i>Litopenaeus vannamei</i>
S40	EU068697.1	99.8	<i>Dosidicus gigas</i>	S96	MH732978.1	100	<i>Gallus gallus</i>
S41	MG837552.1	100	<i>Bos taurus</i>	S97	KJ020931.1	100	<i>Lophius litulon</i>
S42	HQ127458.1	100	<i>Litopenaeus vannamei</i>	S98	MH018252.1	100	<i>Gadus chalcogrammus</i>
S43	MH732978.1	100	<i>Gallus gallus</i>	S99	MG837552.1	100	<i>Bos taurus</i>
S44	MH018252.1	100	<i>Gadus chalcogrammus</i>	S100	MH732978.1	100	<i>Gallus gallus</i>
S45	MH018252.1	100	<i>Gadus chalcogrammus</i>	S101	KJ128897.1	100	<i>Scomber scombrus</i>
S46	EU068697.1	99.59	<i>Dosidicus gigas</i>	S102	AP010773.1	100	<i>Oncorhynchus keta</i>
S47	EU068697.1	99.59	<i>Dosidicus gigas</i>	S103	-	-	<i>Anas sp.</i> ^a
S48	MH732978.1	100	<i>Gallus gallus</i>	S104	MG837552.1	100	<i>Bos taurus</i>
S49	MH732978.1	100	<i>Gallus gallus</i>	S105	MG837552.1	100	<i>Bos taurus</i>
S50	MH732978.1	100	<i>Gallus gallus</i>	S106	-	-	<i>Anas sp.</i> ^a
S51	HQ127458.1	100	<i>Litopenaeus vannamei</i>	S107	KF648508.1	99.81	<i>Zearaja chilensis</i> ^b
S52	MH732978.1	100	<i>Gallus gallus</i>	S108	KM213962.1	99.78	<i>Rapana venosa</i>
S53	MH732978.1	100	<i>Gallus gallus</i>	S109	MH732978.1	100	<i>Gallus gallus</i>
S54	MG837552.1	100	<i>Bos taurus</i>	S110	MF490230.1	100	<i>Litopenaeus vannamei</i>
S55	-	-	<i>Anas sp.</i> ^a	S111	MF490230.1	100	<i>Litopenaeus vannamei</i>
S56	MH732978.1	100	<i>Gallus gallus</i>	S112	MH792978.1	100	<i>Gallus gallus</i>

^aTwo or more species with more than 98% identity in one genus.^bSpecies that are not listed in the Korea food code.

원료로 표기(소, 소갈비, 소고기, 소양지, 쇠고기, 천엽)한 18개 제품의 21개 원료 중 20개는 소(*Bos taurus*)로 판별되었으며, 1개는 물소(*Bubalus bubalis*)로 판별되었다. 물소로 판별된 원료는 중국에서 수입되는 '휘귀' 제품에 사용되었으며 중국산으로 표기되어 있었다. 돼지를 원료로 표기(곱창, 돈피, 돼지, 돼지고기, 돼지곱창, 돼지껍데기, 돼지막창, 돼지머리고기, 돼지발, 돼지삼겹, 돼지소창, 돼지오돌뼈)한 22개 제품의 25개 원료는 모두 돼지(*Sus scrofa*)로 판별되었다. 닭을 원료로 표기(그릴드치킨, 닭, 닭가슴살, 닭고기, 닭고기살, 닭날개, 닭날개갈, 닭다리살, 닭발, 무뼈닭발)한 18개 제품의 18개 원료는 모두 닭(*Gallus gallus*)으로 판별되었다. 오리를 원료로 표기(오리간, 오리고기) 4개 제품의 4개 원료는 오리속의 다수의 종과 98% 이상의 유사도를 보여 오리속(*Anas sp.*)으로 판별하였다. 이와 같은 결과는 해당 속에 대한 16S rRNA의 종 해상도가 비교적 낮은 것을 보여준다. 갑오징어를 원료로 표기(갑오징어)한 2개 제품의 2개 원료의 경우에도 16S rRNA의 *Sepia* 속에 대한 낮은 해상도로 인해 *Sepia stellifera*, *Sepia kobeensis* 두 개의 종이 98% 이상의 유사도를 보여 갑오징어속(*Sepia sp.*)으로 판별하였다. 새우를 원료로 표기(새우, 깎 새우, 통 새우, 홍다리얼룩새우, 흰다리새우)한 12개 제품의 14개 원료 중 13개는 흰다리새우(*Litopenaeus vannamei*)로 판별되었으며, 다른 1개의 원산지는 베트남으로 홍다리얼룩새우(*Penaeus monodon*)로 나타났다. 명태를 원료로 표기(명란, 명태곤이, 명태알, 황태포, 볶은 북어)한 4개 제품의 5개 원료는 모두 명태(*Gadus chalcogrammus*)로 판별되었다. 전복을 원료로 표기(전복)한 2개 제품의 2개 원료 중 1개는 *Haliotis asinina*로 판별되었으며, 다른 하나는 둥근전복(*Haliotis discus*)으로 판별되었다. 오징어를 원료로 표기(오징어)한 7개 제품의 7개 원료 중 2개는 살오징어(*Todarodes pacificus*)로 판별되었으며, 4개 원료는 아메리카대왕오징어(*Dosidicus gigas*)로, 나머지 1개는 *Ommastrephes bartramii*로 판별되었다. 아귀를 원료로 표기(아귀)한 2개 제품의 2개 원료는 모두 황아귀(*Lophius litulon*)로 판별되었다. 연어를 원료로 표기(연어)한 2개 제품의 1개 원료는 대서양연어(*Salmo salar*)로 판별되었으며, 1개 원료는 연어(*Oncorhynchus keta*)로 판별되었다. 주꾸미, 장어, 꽃게(절단꽃게), 문어, 갈치, 가오리(가오리날개), 우럭, 고등어, 홍어, 고등(피뿔고등살)을 원료로 표기한 제품은 각 1개 제품의 1개 원료였으며, 각각 남방주꾸미(*Amphioctopus membranaceus*), 북아메리카장어(*Anguilla rostrata*), 청색꽃게(*Portunus pelagicus*), 둥근무늬문어(*Octopus cyanea*), 갈치(*Trichiurus lepturus*), 저자가오리속(*Bathyraja sp.*), 볼락속(*Sebastes sp.*), 대서양고등어(*Scomber scombrus*), 노란코홍어(*Zearaja chilensis*), 피뿔고등(*Rapana venosa*)로 판별되었다. 저자가오리속과 볼락속의 경우 각각 16S rRNA의 *Bathyraja* 속과 *Sebastes*

속에 대한 낮은 해상도로 인해 다수의 종이 98% 이상의 유사도를 보여 각각 저자가오리속(*Bathyraja sp.*)과 볼락속(*Sebastes sp.*)으로 판별하였다.

판별된 27개의 종들 중 소(*Bos taurus*), 돼지(*Sus scrofa*), 닭(*Gallus gallus*), 오리(*Anas sp.*)는 축산물 위생관리법에 고시된 가축 종류에 해당하여 식용 가능한 종임을 확인하였다. 북아메리카 장어(*Anguilla rostrata*), 아메리카대왕오징어(*Dosidicus gigas*), 둥근전복(*Haliotis discus*), 흰다리새우(*Litopenaeus vannamei*), 황아귀(*Lophius litulon*), 연어(*Oncorhynchus keta*), 홍다리얼룩새우(*Penaeus monodon*), 청색꽃게(*Portunus pelagicus*), 피뿔고등(*Rapana venosa*), 대서양연어(*Salmo salar*), 대서양고등어(*Scomber scombrus*), 명태(*Gadus chalcogrammus*), 살오징어(*Todarodes pacificus*), 갈치(*Trichiurus lepturus*)는 식품의 기준 및 규격(제2019-57호) 중 「(별표 1) 사용할 수 있는 원료 목록」에서 국명을 비교하였으며 식품 사용이 가능함을 확인하였다. 명태의 경우 결과로 나온 학명(*Gadus chalcogrammus*)과 식품의 기준 및 규격에서 제시하는 학명(*Theragra chalcogrammus*)이 달랐으나, 국의 수산물 관련 유력 기관(Fishbase)에서 제시하는 정보에 따라 동의어임을 확인하였다²⁰.

Discussion

최근 급격하게 증가하는 1인 가구와 함께 사람들의 생활이 바쁜 생활 속 간소함과 간편함을 추구하며 가정간편식 사업이 빠르게 성장하고 있다. 식품 분야의 대기업들이 참여하며 가정간편식의 고급화를 꾀하는 브랜드화가 활발히 진행되고 있으며, 소비자들의 다양한 수요에 맞추어 기존과 다른 여러 가지 원료가 사용되는 제품을 출시해 구매자들의 기대에 부응하고 있다. 또한 해외 직구 등을 통하여 다른 나라에서 생산한 가정간편식을 쉽게 접할 수 있다.

따라서 본 연구에서는 소비자의 알 권리 증진 및 건전한 유통 문화 정착을 위해 다양한 원료의 종 판별에 유리한 DNA 바코드 분석 방법을 이용하여 연구를 진행하고자 하였다. DNA 바코드를 대상으로 증폭한 결과 112개의 모든 시료에서 분석에 충분한 DNA 증폭산물이 생성된 것을 확인할 수 있었다. 이는 다양한 방법으로 가공되며 여러 종류의 양념과 이물이 혼합되어 있는 가정간편식 원료의 16S rRNA 유전자 증폭에 본 연구에서 사용된 프라이머 세트가 적합함을 의미한다. 이러한 결과는 DNA 바코드 분석에 이용되는 미토콘드리아 DNA 중 16S rRNA 유전자의 넓은 활용성을 시사한다. 다양한 분야에서 종 판별을 수행한 선행연구에서 COI, Cytb, 16S rRNA의 활용도를 비교하였을 때 다른 바코드 마커보다 16S rRNA 유전자가 종 분화도와 종 보존력이 높으며 비교적 짧은 길이의 증폭산물을 생성하며, 프라이머가 결합하는 부위의

Table 3. Information on intake of species not listed in the Korea food code

Species	Data source	Database	Information	Contents
<i>Amphioctopus membranaceus</i> ²³⁾	Book	A pictorial book of cephalopods produced in Southeast Asia	Distribution	Southeast Asian tropical oceans, Indonesia and northern Australia from the Gulf of Thailand
<i>Haliotis asinina</i> ²⁴⁾	Website	Sealifebase	Human uses (Fisheries)	Commercial
<i>Octopus cyanea</i> ²⁵⁾	Book	A pictorial book of cephalopods produced in Southeast Asia	Distribution	From the east coast of Africa to Hawaii, from southern Japan to northern Japan, India and the Western Pacific in the tropics
<i>Ommastrephes bartramii</i> ²⁶⁾	Website	FAO ^b	Capture production	Capture production of <i>Ommastrephes bartramii</i> from 1997 to 2011.
<i>Zearaja chilensis</i> ²⁷⁾	Website	Fishbase	Distribution	Southeast Pacific and Southwest Atlantic
<i>Bubalus bubalis</i> ²⁸⁾	Paper	J. Food Sci. Technol. ^c	Meat consumption	A rapid method for authentication of Buffalo (<i>Bubalus bubalis</i>) meat by Alkaline Lysis method of DNA extraction and species specific polymerase chain reaction

^aMinistry of Food and Drug Safety.

^bFood and Agriculture Organization of the United Nations.

^cJournal of Food Science and Technology.

삽입, 결손과 같은 유전적 변이가 덜 다양하기 때문에 증폭 성공률이 더 높은 것을 확인하였다²¹⁾. 본 연구의 결과 역시 DNA 바코드의 표준으로서 적합성을 제시하고 있는 선행 연구와 일치하는 결과를 확인하였다. 본 연구를 통하여 112개의 원료 중 24개를 중 수준에서 판별하였으며, 3개를 속 수준에서 판별하였다. 다양한 생물에 대하여 종 판별을 수행한 선행 연구들을 살펴 볼 때, 본 연구에서 속 수준까지 판별된 종들은 해당 속의 판별 해상도가 높은 다른 유전자(COI, Cytb 등)를 대상으로 하는 프라이머를 이용하는 방법을 통해 분석이 가능할 것으로 사료된다²²⁾.

Amphioctopus membranaceus, *Bubalus bubalis*, *Haliotis asinina*, *Octopus cyanea*, *Ommastrephes bartramii*, *Zearaja chilensis*는 식용 가능 여부에 대한 정보는 「식품의 기준 및 규격(제2019-57호)」 중 「(별표 1) 사용할 수 있는 원료 목록」에서 제시한 대로 국제적으로 공인된 기구에서 어획량에 대한 정보를 확인하고, 식용 근거, 학명·이명 등을 확인하여 식품에 사용 가능한 원료의 근거로 참고하였다. 이에 대한 결과는 Table 3에 제시하였다. 세계 유통망이 보다 넓어지고, 가정간편식의 수요 증가와 함께 소비자들의 선호도가 다양해지며 기존에 「식품의 기준 및 규격」에 정보가 없던 다양한 종들이 국내에 수입되며 소비되기 시작한 것을 알 수 있다. 이에 따라 *Amphioctopus membranaceus*, *Haliotis asinina*, *Octopus cyanea*, *Ommastrephes bartramii*, *Zearaja chilensis* 은 위 분석 결과와 함께 식용 가능 근거를 제시하여 「식품의 기준 및 규격」에 등재할 필요가 있다. 아울러, 식품원료의 다양화와 유사 형태의 수산물 명칭 표시에 대한 오인·혼동을 방지하기 위하여, 최근 식품의약품안전처에서는 「식품등의 표

시기준」 고시의 개정(안)을 행정예고(식품의약품안전공고 제 2019-489호)하여, 식품원료의 명칭 규정을 명확화 하도록 하였다.²⁹⁾ 향후 관련 고시가 개정되고, 식품원료 진위판별에 대한 관련 연구가 지속되면, 식품원료의 명칭 등으로 인한 소비자의 경제적 불이익이 예방되고, 정확한 정보제공이 가능할 것으로 판단된다. DNA 바코드 분석법이 넓은 범위의 원료의 종 판별에 매우 유리한 것은 사실이나, 비혼합 원료에 대해 제한적으로 사용되고 염기서열 비교를 위한 데이터베이스에 의존적이며, DNA가 손상될 수 있는 가공을 거친 원료의 경우 분석이 어렵다는 단점이 있다. 이에 따라 최근 제시되는 메타바코딩을 포함하는 다양한 분석법에 대한 연구가 함께 이루어져야 한다.

본 연구는 DNA 바코드 분석법을 이용하여 소비가 급증하고 있는 가정간편식의 원료 분석법을 탐구하였으며, 다수의 종을 판별할 수 있는 것으로 판단된다. 이는 수입 원재료의 다양화에 따라 분석 대상 종을 특정해야 하는 종 특이 분석법의 한계를 극복할 수 있기 때문에 가정간편식 원료 판별에 더욱 적합한 것으로 확인되었다. 연구 결과, 기존에 자주 볼 수 없던 다양한 원재료들이 사용되고 있으나 시장명과 학명의 불일치로 소비자들의 알 권리가 충분히 확보되지 못하는 것을 확인할 수 있었다. 따라서 위 연구 결과들은 건전한 유통 시스템을 확보하고, 소비자들의 알 권리 확보를 위한 모니터링 연구 및 정책 지원의 기반으로 활용될 수 있을 것이다.

국문요약

본 연구는 최근 소비가 크게 증가하고 있는 가정간편식

의 원료에 대한 모니터링을 수행하였다. 다양한 유형의 가공간편식 제품을 구입하여 112개 원료의 DNA 바코드를 분석하였다. 원재료의 종을 동정하기 위하여 DNA 바코드 증폭에 주로 이용되는 미토콘드리아의 16S ribosomal RNA 유전자 부위를 증폭하는 프라이머 세트를 이용하였다. PCR 산물은 정제하여 염기서열을 분석한 후, 이를 이용하여 미국 국립보건원에서 제공하는 BLAST search를 수행하였다. GenBank에 등록되어 있는 종의 염기서열과 유사도(Identity)와 매치 점수(Match score)를 비교하여 원료의 종을 판별하였다. 112개의 원료에서 24개의 종(Species)과 3개의 속(Genus)을 동정하였다. 3개의 속은 Identity의 기준이 되는 98% 이내에 해당하는 종이 다수 존재하여 속 수준에서 판별하였다. 판별 결과를 「식품의 기준 및 규격(제2019-57호)」 중 「별표 1) 사용할 수 있는 원료 목록」에서 제시하는 사용 가능한 원료와 비교하여 국명 및 섭취 가능 여부를 판단하였으며, 등재되어 있지 않은 6개 종은 국제적으로 공인된 기구에서 어획량에 대한 정보를 확인하고, 식용 근거, 학명·이명 등을 확인하여 식용 가능 여부를 판단하였다.

References

1. Korea Agro-Fisheries & Food Trade Corporation, (2019, September, 4). Status of markets for processed food segments-Convenience food market. Retrieved from <https://www.atfis.or.kr/article/M001050000/view.do?articleId=3260&page=&searchKey=subject&search-String=%EA%B0%84%ED%8E%B8%EC%8B%9D&searchCategory=>
2. Park, M.H., Kwon, M.W., Nah, K., Study on repurchase intention of RTP HMR products - Focused on meal kit. *Jour. of KoCon. a.*, **19(2)**, 548-557 (2019).
3. Costa, A.I.A., Dekker, M., Beumer, R.R., Rombouts, F.M., Jongen, W.M., A consumer-oriented classification system for home meal replacements. *Food Qual. Prefer.*, **12(4)**, 229-242 (2001).
4. Korea Agro-Fisheries & Food Trade Corporation, (2019, September 5). Status of markets for processed food segments-Convenience food market. Retrieved from <https://www.atfis.or.kr/article/M001050000/view.do?articleId=3260&page=&searchKey=subject&search-String=%EA%B0%84%ED%8E%B8%EC%8B%9D&searchCategory=>
5. Ju, S.Y., Study on Importance-Performance Analysis Regarding Selective Attributes of Home Meal Replacement (HMR). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **41(11)**, 1639-1644 (2012).
6. Ministry of Food and Drug Safety, (2018, December 17). Identification study of food ingredients based on DNA barcode. Retrieved from <http://www.ndsl.kr/ndsl/search/detail/report/reportSearchResultDetail.do?cn=TRKO201900003455>
7. Hankyoreh, (2018, August 15). "Fooling tropical fish for Nibe croaker" E-Mart's 'Bracken Raw Fish Soup' fake controversy. Retrieved from <http://www.hani.co.kr/arti/economy/consumer/857691.html>
8. Shin, J., Park, J., Yang, J.Y., Current state of controlling marine food material. *Safe Food.*, **12(3)**, (2017).
9. Alomar, D., Gallo, C., Castaneda, M., Fuchslocher, R., Chemical and discriminant analysis of bovine meat by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Meat Sci.*, **63(4)**, 441-450 (2003).
10. Hebert, P.D., Cywinska, A., Ball, S.L., Dewaard, J.R., Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. Lond., B, Biol. Sci.*, **270(1512)**, 313-321 (2003).
11. Kim, H.S., Seo, Y.B., Choi, S.S., Kim, J.H., Shin, J.Y., Yang, J.Y., Kim, G.D., Development and validation of multiplex polymerase chain reaction to determine squid species based on 16s rRNA gene. *J. Food Hyg. Saf.*, **30(1)**, 43-50 (2015).
12. Chung, I.Y., Seo, Y.B., Yang, J.Y., Kwon, K.S., Kim, G.D., Development and validation of quick and accurate Cephalopods grouping system in fishery products by real-time quantitative PCR based on mitochondrial DNA. *J. Food Hyg. Saf.*, **33(4)**, 280-288 (2018).
13. U.S. Food & Drug Administration, (2019, September 4). Single laboratory validated method for DNA-barcoding for the species identification of fish. Retrieved from <https://www.fda.gov/food/dna-based-seafood-identification/single-laboratory-validated-method-dna-barcoding-species-identification-fish>
14. Dai, L., Zheng, X., Kong, L., Li, Q. I., DNA barcoding analysis of Coleoidea (Mollusca: Cephalopoda) from Chinese waters. *Mol. Ecol. Resour.*, **12(3)**, 437-447 (2012).
15. Sarri, C., Stamatis, C., Sarafidou, T., Galara, I., Godosopoulos, V., Kolovos, M., Mamuris, Z., A new set of 16S rRNA universal primers for identification of animal species. *Food Control.*, **43**, 35-41 (2014).
16. Zheng, L., He, J., Lin, Y., Cao, W., Zhang, W., 16S rRNA is a better choice than COI for DNA barcoding hydrozoans in the coastal waters of China. *Acta Oceanol Sin.*, **33(4)**, 55-76 (2014).
17. Sanchez, G., Tomano, S., Umino, T., Wakabayashi, T., Sakai, M., Evaluation of the 5' end of the 16S rRNA gene as a DNA barcode marker for the Cephalopoda. *Fisheries Sci.*, **82(2)**, 279-288 (2016).
18. 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).
19. Palumbi, S.R., 1996. *Molecular Systematics*, 2nd, Sunderland, MA, USA, pp. 205-247.
20. Palomares, M.L.D., Pauly, D., (2019, August 9). *Gadus chalcogrammus*. Retrieved from <https://www.fishbase.in/summary/318>
21. Vences, M., Thomas, M., Van der Meijden, A., Chiari, Y., Vieites, D. R., Comparative performance of the 16S rRNA gene in DNA barcoding of amphibians. *Front. Zool.*, **2(1)**, 5 (2005).
22. Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., Vrijenhoek, R., DNA primers for amplification of mitochondrial cyto-

- chromec oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.*, **3(5)**, 294-299 (1994).
23. Ministry of Food and Drug Safety, 2016. A pictorial book of cephalopods produced in Southeast Asia, Cheongju, Korea, pp. 95-96.
 24. Palomares, M.L.D., Pauly, D., (2019, August 10). *Haliotis asinina*. Retrieved from <https://www.sealifebase.ca/summary/Haliotis-asinina.html>
 25. Ministry of Food and Drug Safety, 2016. A pictorial book of cephalopods produced in Southeast Asia, Cheongju, Korea, pp. 113-114.
 26. Food and Agriculture Organization of the United Nations, (2019, August 14). FAO Capture production of *Ommastrephes bartramii*. Retrieved from https://www.sealifebase.ca/report/FAO/FAOCatchList.php?c_code=&areacode=&scientific=Ommastrephes+bartrami&english=&yc=00
 27. Palomares, M.L.D., Pauly, D., (2019, August 12). *Zearaja chilensis*. Retrieved from <https://www.fishbase.se/summary/51636>
 28. Girish, P.S., Haunshi, S., Vaithiyanathan, S., Rajitha, R., Ramakrishna, C., A rapid method for authentication of Buffalo (*Bubalus bubalis*) meat by alkaline lysis method of DNA extraction and species specific polymerase chain reaction. *J. Food Sci. Technol.*, **50(1)**, 141-146 (2013).
 29. Ministry of Food and Drug Safety, (2019, October, 24). Ministry of Food and Drug Safety Announcement No. 2019-489. Retrieved from https://www.mfds.go.kr/brd/m_209/view.do?seq=43181