

질량분석기가 연결된 전자코를 사용한 쇠고기의 원산지 판별

임채란 · 손희진 · 홍은정 · 노봉수*

서울여자대학교 식품공학과

Discrimination of Geographical Origin of Beef Using Electronic Nose Based on Mass Spectrometer

Chae-Lan Lim, Hee-Jin Son, Eun-Jeung Hong, and Bong Soo Noh*

Department of Food Science and Technology, Seoul Women's University

Abstract In this study, the geographical origin of beef was studied using an electronic nose based on mass spectrometer. Domestic beef was compared with the imported beef from New Zealand and Australia. Each sample was analyzed, and discriminant function analysis was used utilized for the discrimination of geographical origin. The R^2 and F-value of discriminant function analysis (DFA) were 0.4317 and 14.18, respectively when the samples were separated by geographical origin. The R^2 and F-value of DFA were 0.8960 and 22.98, respectively when the samples were separated by part of beef.

Key words: mass spectrometer, electronic nose, beef, geographical origin

서론

최근 소비자들의 식품안전에 대한 욕구는 크나 광우병의 위험을 직접 확인하기에는 한계가 있는 상황에서 유통 중인 수입육이나 젓소육이 한우로 둔갑하여 판매되는 경우 유통질서가 망가지는 것은 물론 축산농가에도 막대한 피해가 미치게 될 것이다. 따라서 유통질서를 바로 잡기 위해서 산지에 따라 발생하는 품질의 차이를 효율적으로 구분할 수 있는 원산지 식별법이 요구되고 있다.

기존의 한우육과 젓소육을 구별하는 방법으로는 면역학적 방법, 조직학적 방법, 전기영동법, 지질분석법, random amplified polymorphic DNA 등이 이용되었다. 최근 유전자 수준의 염기변이에 근거를 둔 유전자 감식기법을 활용하여 개체간의 유전적 차이로 인한 한우육과 젓소육 혹은 수입육의 구별 방법을 개발하기 위한 연구가 많이 수행되었다(1-7).

유통 단계에서 한우 및 젓소를 구분하기 위한 유전자 표지가 제한적으로 활용되고 있으나(8) 원산지의 이력 정보를 제공하기에는 한계가 있다. 따라서 유럽에서는 원산지로부터 개체 식별이 가능한 소만을 도축하거나 이동될 수 있도록 귀표착용이 의무적인 제도로 마련되어 있다(9). 그럼에도 불구하고 유럽에서도 의도적이지 않게 소의 개체 식별체계(귀표)의 오류 등의 원인으로 도축 후에 원산지 정보가 차단되는 한계가 있다. 따라서 완벽한 원산지 정보의 진위가 어려움에 따라 유전자 감식 기법 도입을 통한 원산지 정보의 진위 여부 확인을 위한 제도가 추진, 검토되

고 있으며(10), 유전자 수준의 염기변이에 근거를 둔 유전자 감식기법이 활용되고 있다. 초위성체 DNA의 개체별 유전자형 발현 현상을 이용한 유전자 감식은 한우의 특이적인 유전양상에 근거한 표지유전자(genetic marker)를 활용하여 한우집단의 개체식별 체계도입을 통하여 원산지를 추적 검증하고자 한 것이다(3).

또한, 모색에 발견되는 유전자의 DNA marker를 이용하여 쇠고기 품종을 판별하기도 하였고(11), 시중 음식점에서 한우로 유통되는 쇠고기의 DNA를 추출하여 real time PCR을 통해서 모색 유전자의 유전자 형(T-type, C-type, C/T type)을 분석하여 한우육과 젓소육 및 수입육을 구분하는데 활용하였다(12). 한편 한우에서 발견되는 염기서열인 GTG의 두 번째 guanine 염기 하나가 결여된 single nucleotide polymorphism(SNP)의 존재가 확인되었으나 이를 위한 DNA 염기서열 분석은 힘들고 많은 시간이 소요되는 단점을 안고 있다. 따라서 한우에서의 melanocortin 1 receptor 유전자 중 guanine 염기 하나가 결실되어 발생하는 SNP를 검출하기 위하여 제한 효소를 사용하지 않고 특이 primer를 제작하여 MAS-PCR 방법을 통한 한우와 젓소고기를 신속히 판별하는 방법이 고안되었다(13).

원산지를 판별하기 위해 capillary electrophoresis(14)를 사용한 경우 울무에서 82%의 예측율을 보여 주었으며 capillary electrophoresis와 근적외선 분광 분석기를 함께 이용한 경우 황기를 97%까지 판별함으로써 확률을 높일 수 있었다(15). 이외에도 low field NMR을 이용한 참깨(16), 근적외선 분광광도법을 이용한 참깨(17), 송이버섯(18) 등이 식별된 바 있다.

이와 같은 방법들은 여러 단계의 전처리 과정을 요구하고 있으며 신속한 분석을 요하는 현장에서의 사용에 한계를 내포하고 있으므로 이러한 문제점을 해결할 수 있는 방안으로 전자코에 의한 원산지 판별을 생각할 수 있다. 별도의 전처리 과정이 없이 신속하게 측정할 수 있는 전자코는 시료에 함유된 휘발성분들에 대한 정보를 바탕으로 패턴 분석하여 원산지를 판별할 수 있다. 전자코를 이용하여 원산지를 판별한 예로는 conducting polymer

*Corresponding author: Bong Soo Noh, Department of Food Science and Technology, Seoul Women's University, Seoul 139-774, Korea
Tel: 82-2-970-5636
Fax: 82-2-970-5977
E-mail: bsnoh@swu.ac.kr
Received September 8, 2008; revised November 6, 2008;
accepted November 6, 2008

센서와 metal oxide 센서를 함께 이용하여 인삼, 마늘, 당근(19), 인삼(20), 흑미(21)를 구분한 것이 있으며 영지, 참깨, 칩 등의 특용작물(22) 등에 12개의 conducting polymer 센서만 사용하여 원산지 판별에 필요한 자료를 얻어 학습시킨 후 이를 바탕으로 미지의 시료에 대하여 원산지 판별을 수행한 것도 있다. 이러한 작업을 통하여 약 85% 이상의 높은 확률로 해당 작물들의 원산지가 판별된 바 있다. 또 GC를 바탕으로 한 전자코 시스템에 surface acoustic wave 센서가 연결된 경우, 당귀(23), 천궁(24) 등의 frequency pattern이 원산지에 따라 뚜렷하게 차이를 보여 원산지 판별이 수행된 바 있다.

전자코를 이용하여 한우 등심육의 냉장 저장 중 향기 패턴 분석을 통해 저장 기간에 따른 품질의 차이를 선별하기도 하였으며(25), 육류식품에 있어 식육의 상태를 검사하거나(26), 진공포장육의 변질 등에 전자코가 활용된 바 있다(27). 따라서 쇠고기의 원산지를 판별하는데 필요한 품질 특성을 전자코를 사용할 수 있다고 여겨지며 그 가능성을 검토하고자 하였다.

전자코의 센서를 교체하거나 매번 다량의 시료로서 data base를 구축하면서 미지 시료를 검증해야 하는 문제점을 최소화하고자 mass spectrometer를 바탕으로 한 전자코 시스템을 도입하고자 하였다. Saevels 등(28)은 식품의 품질 관리를 위해 저장 중 사과에서 발생하는 휘발성분을 관찰하기 위하여 질량분석기가 연결된 전자코 시스템의 가능성을 제시한 바 있으며 Noh 등(29)은 mass spectrometer를 바탕으로 한 전자코를 사용하여 참당귀의 원산지 판별을 시행하였는데 96.4%의 높은 정확도를 보여준 바 있다.

본 연구의 목적은 신속하고 객관적인 분석 방법의 원산지 판별을 위하여 mass spectrometer를 바탕으로 한 전자코를 활용하며, 한 개체가 두 개 이상의 집단 중에서 어느 집단에 속할 것 인지를 예측하는 판별함수분석(discriminant function analysis, DFA)을 통하여 쇠고기의 품질 특성을 토대로 수입산과 국내산 쇠고기의 원산지를 판별가능성을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

시료

쇠고기는 Table 1과 같이 국내산(5종), 뉴질랜드산(4종), 호주산(6종) 쇠고기를 부위별로 홈에버(Seoul, Korea)에서 구입 확보하였다. 쇠고기는 3 g씩 10 mL 샘플병(Pharma Fix., Chemmea, Slovakia)에 넣고 PTFE/silicone 뚜껑을 닫은 후 시료로 사용하였다.

Table. 1 The information of 15 beef products used in this study

| Cuts of beef | Geographical origin | | |
|--------------|---------------------|-------------|-----------|
| | Domestic beef | New Zealand | Australia |
| Tenderloin | | | aas |
| Striploin | | kck | |
| Blade | Top blade | | abc |
| | Top round | kwd | nwd |
| Inside | Eye round | | nhd |
| | | ksd | |
| Rump | | | |
| Flank | Mountain chain | kyg | nyg |
| | Thin flank | kcm | |
| Shank | | kst | |
| | Boneless short rib | | agb |
| Rib | Rib eye roll | | agg |
| | Hanging tender | | atc |

전자코에 의한 분석

샘플병에 넣은 쇠고기는 실험 직전 4°C의 항온 tray holder에 놓아두었으며, 실험 시 샘플병을 60°C에서 8분 동안 가온하여 생성되는 기체상의 휘발성 화합물을 tenax가 충전된 inside needle direct extraction(INDEX) syringe를 사용하여 10분 stroke하여 농축한 후 자동시료채취기가 연결된 전자코(SMART Nose300, SMART Nose, Marin-Epagnier, Switzerland)로 분석하였다. 이 전자코는 질량분석기(Quadrupole Mass Spectrometer, Balzers Instruments, Liechtenstein, Switzerland)가 연결되어 있으며 휘발성 물질을 70 eV에서 이온화시켜 180초 동안 생성된 이온물질을 사중극자(quadrupole) 질량 필터를 거친 후 특정 질량 범위(10-160 amu)에 속하는 물질을 정수단위로 측정하였다.

실험분석 초기에 공기 시료를 대조구로 사용하여 6번 반복하여 시행하였고 시료는 3번 반복을 실시하였다.

통계분석

각기 다른 channel의 intensity는 matrix 형태로 기록되었으며 이온화되어 얻어진 분자들의 질량별 검출량과 그 분포정도를 통계 처리하여 판별함수분석을 하였다. 이때 사용된 소프트웨어는 SMART nose statistical analysis software를 사용하였다.

결과 및 고찰

질량분석기가 연결된 전자코 시스템으로 분석한 쇠고기의 질량스펙트럼은 Fig. 1과 같다. 각 시료별로 ion current 값으로 나타낸 질량의 분포가 차이가 남을 알 수 있으며, 얻어진 이온화된 질량 스펙트럼 중에서 4종류의 질량(31, 44, 56, 92 amu)을 선택하여 나라별로 DFA를 수행한 결과 Fig. 2와 같다. 그림에서 보는 바와 같이 각 나라별로 산지에 따라 어느 정도 원산지 판별이 이루어지고 있음을 알 수 있다. Fig. 2에서의 DFA1의 R²값은 0.4317, F값은 14.18이고 DFA2의 R²값은 0.3012, F값은 8.05로 나타났다. R²값이 1에 가까울수록 혹은 F값이 무한대에 가까울수록 이상적으로 구별이 뚜렷하여 진다고 볼 수 있는데 일부가 중첩되어 판별된 것으로 나타났다.

Fig. 3은 각 부위별로 15개의 그룹으로 나누어 분석을 한 것인데 각 시료간의 그룹별 분리는 매우 높게 나타났다. DFA1의 R²값은 0.8960, F값은 22.98이고 DFA2의 R²값은 0.7995, F값은 10.63이며 DFA3의 R²값은 0.4872, F값은 2.53으로 나타났다. 뉴질랜드산은 그룹(nyg, nwd, nhd)을 형성하여 호주산이나 국내산과는 뚜렷하게 구별되었다. 호주산의 일부(awd, abc, agb)는 국내산과 호주산과 뚜렷하게 구분이 되고 있는데 반하여 호주산의 또 다른 일부(aas, atc, agg)는 국내산과 중첩되어 비슷한 양상을 보이는 것으로 나타나 원산지별로 판별이 되지 않았다.

이러한 이유는 국내산으로 판매되는 쇠고기 중에는 호주에서 송아지를 데리고 와서 국내에서 6개월간 성숙시킨 경우 일부 국내산으로 판매할 수 있도록 허용이 된지라 이에 대한 구별이 명확하지 못하기 때문에 나타난 것으로 사료된다. 따라서 이와 같은 시료에 대하여 좀 더 정확하게 시료를 확보하여 판별할 수 있는 방법을 검토하여야 할 것으로 생각되며, 유전자 검식의 경우에서도 이와 같은 경우 판별은 문제가 있으리라 예상된다.

쇠고기 시료 분석에서의 어려운 점은 시료 채취에 있다. 품종에 따라 또는 산지에 따라 고기마다 지방성분의 분포가 균일하지 않아 이들 시료를 채취함에 있어 균일한 시료를 선택하는데 한계가 있다고 여겨졌다. 따라서 이를 극복하기 위하여 보다 많은 양의 시료 분석이 요구되었다. 이런 문제는 전자코 실험뿐만

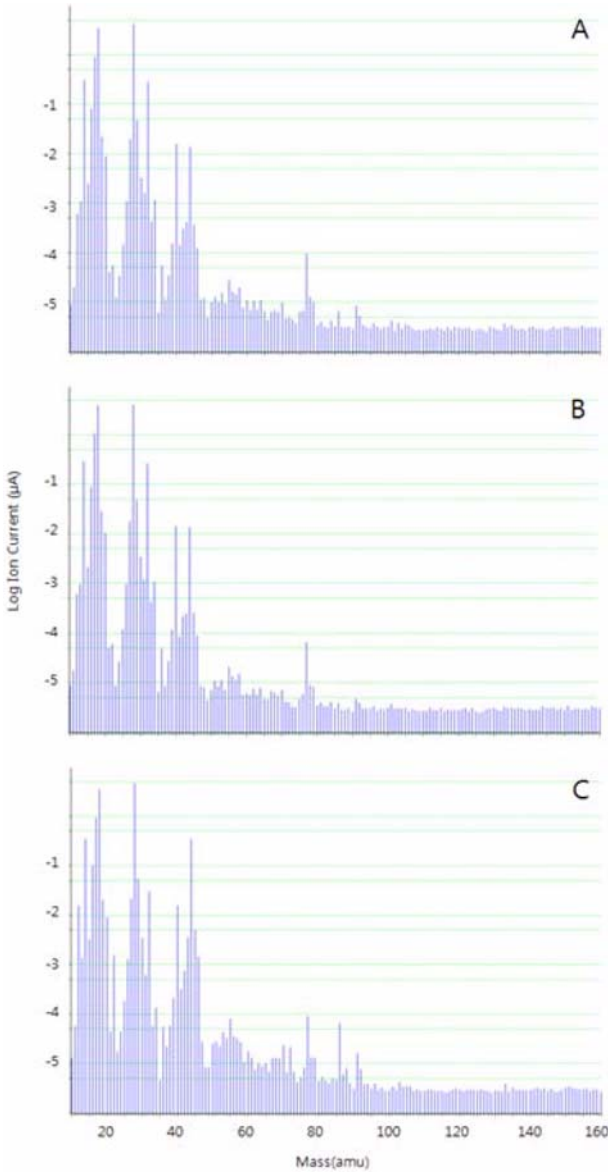


Fig. 1. Bargraph raw data of mass spectrometer based on electronic nose for beef. A, kwd; B, nwd; C, awd

아니라 어떤 분석 실험에서도 마찬가지로 판단되며 본 실험에서는 mass spectrometer를 바탕으로 한 전자코 시스템의 사용 가능성을 판별하는 것으로 향후 이와 같은 문제는 극복되어야 할 것으로 여겨진다.

시료의 보관 상태도 영향을 미칠 수 있을 것으로 보여진다. 냉동인지, 냉장상태로 유통된 것인지를 확인할 수 없으나 일반적으로 냉동 상태로 취급하고 있어 냉동 상태를 녹여서 판매되는 것이라고 가정하였다.

본 실험에 사용된 INDEX syringe의 경우 다양한 packing 물질을 needle 내부에 흡착시킨 시스템을 사용하여 선택의 가능성을 좀 더 확대할 수 있을 것으로 예상할 수 있으며 이는 보다 더 좋은 결과를 초래할 것으로 기대되는 바 질량분석기를 바탕으로 한 전자코를 활용하여 쇠고기 같은 식품재료의 원산지 여부를 판별하는 데에도 활용도가 높을 것으로 기대된다.

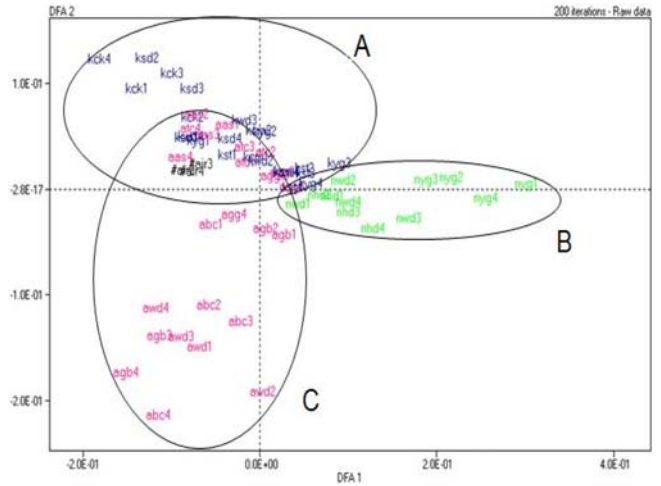


Fig. 2. DFA plot of grouped beef samples in 3 groups with air. It was separated by geographical origin using electronic nose based on mass spectrometer. A, Domestic beef; B, New Zealand; C, Australia

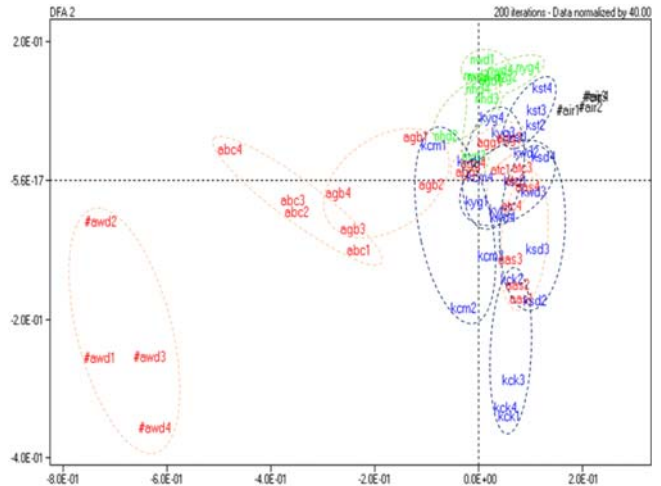


Fig. 3. DFA plot of grouped part of beef samples in 15 groups with air. It was separated by part of beef using electronic nose based on mass spectrometer. Kxx, Domestic beef; Nxx, New Zealand; Axx, Australia

요 약

수입산과 국내산 쇠고기의 원산지를 판별가능성을 검토하고자 mass spectrometer를 바탕으로 한 전자코를 활용하여 국내산 한우, 호주산, 뉴질랜드산 쇠고기를 부위별로 측정하였다. 쇠고기의 질량스펙트럼을 토대로 나라별 판별함수분석을 수행한 결과 나라별로 산지에 따라 어느 정도 원산지 판별이 이루어졌으며 DFA1의 R²값은 0.4317, F값은 14.18이고 DFA2의 R²값은 0.3012, F값은 8.05로 나타났다. 각 부위별로 15개의 그룹으로 나누어 분석을 한 결과, 각 시료간의 그룹별 분리는 매우 높게 나타났다. DFA1의 R²값은 0.8960, F값은 22.98이고 DFA2의 R²값은 0.7995, F값은 10.63 그리고 DFA3의 R²값은 0.4872, F값은 2.53으로 나타났다. 뉴질랜드산의 경우 부위에 관계없이 한 그룹을 형성하여 호주산이나 국내산 한우와는 구별이 뚜렷하였으나 호주산의 일

부는 국내산 한우와 중첩되어서 커다란 차이를 보여주지 않았다.

감사의 글

본 연구는 2008년도 서울여자대학교 교내학술특별연구비에 의해 수행되었음을 감사드립니다.

문 헌

1. Chung ER, Kim WT, Kim YS, Lee JK, Han SK. Sequence and genetic variation of mitochondrial DNA D-loop region in Korean cattle. *Korean J. Anim. Sci.* 44: 181-190 (2002)
2. Han SH, Park SH, Lee JL, Kim IJ, Kim CK, Lee SB, Kwon MS, Kim JB. Development of a new method for distinguishing Korean cattle meat from imported Holstein meat using RFLP of DNA (II). *Korean J. Anim. Sci.* 35: 329-334 (1993)
3. Lee HK, Jeon GJ, Kong HS, Oh JD, Choi IS, Kim CD, Jo CY, Yoon DH, Shin HD, Lee JH. Application of DNA test for individual traceability in *hanwoo* (Korean cattle). *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* 24: 8-14 (2004)
4. Min BR, Han JY, Lee M. The identification of beef breeds (Korean cattle beef, Holstein beef and imported beef) using random amplified polymeric DNAs. *Korean J. Anim. Sci.* 37: 651-660 (1995)
5. Min JS, Min BR, Han JY, Lee M. The identification of species of meat (Korean cattle beef, deer meat, sheep meat, and goat meat) using random amplified polymeric DNAs. *Korean J. Anim. Sci.* 38: 231-238 (1996)
6. Ser JH, Hong JB, Chung YH, Kim MN. Genetic comparison and hygienical test between Korean native beef and imported beef available in the market. *J. Food Hyg. Safety* 13: 388-393 (1998)
7. Shin WJ, Shen XJ, Zheng ZY, Kim JW, Lee JH, Yeo JS. Genetic characteristics for *hanwoo*, Yanbian yellow cattle and Wagyu using DNA markers. *Korean J. Anim. Sci.* 41: 405-410 (1999)
8. Kim KS, Eum JH, Choi CB. Genetic diversity of Korean cattle using microsatellite analysis. *Korean J. Anim. Sci. Technol.* 43: 599-608 (2001)
9. Seo KS, Cho YM, Lee HK. Development of network system for the application of HACCP in livestock production stage. *Agroinformatics J.* 1: 1-4 (2000)
10. Lee HK. Traceability of geographical origin of *hanwoo* using BT and IT method. *Monthly Hanwoo* 45: 86-97 (2003)
11. Chung ER, Chung KY. Identification of beef breed using DNA marker. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* 24: 355-360 (2004)
12. Kim JM, Nam YS, Choi JH, Lee MA, Jeong JU, Kim CJ. Identification of *hanwoo* (Korean native cattle) beef in restaurants using real time PCR. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* 25: 203-209 (2005)
13. Koh BRA. Rapid differentiation of *hanwoo* and Holstein meat using multiplex allele specific polymerase chain reaction protocols. *Korean J. Vet. Res.* 45: 351-357 (2005)
14. Rhyu MR, Kim EY, Kim SS. Identification of cultivate sites for Job's using capillary electrophoresis. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34: 787-791 (2002)
15. Kim EY, Kim JH, Lee NY, Kim SJ, Rhyu MR. Discrimination of geographical origin for astragalus root by capillary electrophoresis and near-infrared spectroscopy. *Korean J. Food Sci. Technol.* 35: 818-824 (2003)
16. Rho JH, Lee SM. Discrimination of geographical origin sesame seeds by low field NMR. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34: 1062-1066 (2002)
17. Kim YS, Scotter C, Voyiagis M, Hall M. Potential NIR spectroscopy discriminating the geographical origin of sesame oil. *Food Sci Biotechnol.* 7: 18-22 (1998)
18. Lee NY, Bae HR, Noh BS. Discrimination of geographical origin mushroom using near infrared spectroscopy. *Korean J. Food Sci. Technol.* 38: 835-837 (2006)
19. Noh BS, Ko JW. Discrimination of the habitat for agricultural products by using electronic nose. *Food Eng. Prog.* 1: 103-106 (1997)
20. Noh BS, Ko JW, Kim SY. Use of conducting polymer sensor and metal oxide sensor of electronic nose on discrimination of the habitat for ginseng. *J. Nat. Sci. Ins. Seoul Women's University* 9: 81-84 (1997)
21. Cho YS, Han KY, Kim SJ, Noh BS. Application of electronic nose in discrimination of the habitat for black rice. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34: 136-139 (2002)
22. Noh BS, Ko JW, Kim SY, Kim SJ. Application of electronic nose discrimination of the habitat for special agricultural products. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 1051-1057 (1998)
23. Noh BS, Oh SY, Kim SJ. Pattern analysis of volatile components for domestic and imported *Angelica nakai* using the electronic nose. *Korean J. Food Sci. Technol.* 35: 144-148 (2003)
24. Noh BS, Oh SY. Analysis of volatile components for domestic and imported *Cnidium officinale* using GC based on SAW sensor. *Korean J. Food Sci. Technol.* 35: 994-997 (2003)
25. Lee SK, Kim JY, Lim YS. Aroma pattern analysis of *hanwoo* beef using electronic nose during refrigerated storage. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* 24: 260-265 (2004)
26. Hall M. Assistance of electronic nose at meat inspection. *Svensk-Veterinartidning* 49(8/9): 375-378 (1997)
27. Blixt Y, Borch E. Using electronic nose for determining the spoilage of vacuum-packaged beef. *Int. J. Food Microbiol.* 46: 123-134 (1999)
28. Saevels S, Lammertyn J, Berna AZ, Veraverbeke EA, Natale CD, Nicolai BM. An electronic nose and a mass spectrometry based electronic nose for assessing apple quality during shelf life. *Postharvest Biol. Tec.* 31: 9-19 (2004)
29. Noh BS, Youn AR, Lee NY. Application of MS-based electronic nose for discrimination of *Angelicae gigantis* Radix. *Food Sci. Biotechnol.* 14: 537-539 (2005)