

전분의 주원료 판별을 위한 유전자 분석법 개발 및 적용

박용춘* · 김미라 · 김용상 · 이호연 · 김규현 · 이재황 · 김재이 · 이상재 · 이화정

식품의약품안전처 식품의약품안전평가원 식품위해평가부 신중유해물질팀

Development and Application of DNA Analysis Method for Identificaion of Main Ingredients in Starch

Yong-Chjun Park*, Mi-Ra Kim, Yong-Sang Kim, Ho-Yeon Lee, Kyu-Heon Kim,
Jae-Hwang Lee, Jae-i Kim, Sang-Jae Lee, and Hwa-Jung Lee

*New Hazardous Substance Team, Food Safety Evaluation Department, National Institute of Food & Drug Safety
Evaluation, Ministry of Food & Drug Safety, 187 Osongsaeangmyeong2-ro, Osong-eup, Cheongwon-gun,
Chungcheongbuk-do 363-700, Korea*

(Received March 29, 2013/Revised April 18, 2013/Accepted May 29, 2013)

ABSTRACT - Identification of main ingredients in starches has been investigated using physicochemical analysis method mainly. However, physicochemical properties such as particle size have limitations in determining the differences among mixed starches. Therefore, we developed a molecular biological method to identify materials used in starch, as a sample, 11 kinds of starches including sweet potato starch, potato starch, corn starch, and tapioca starch. DNeasy plant mini kit, magnetic DNA purification system, and CTAB methods were used to extract DNA from samples. After gene extraction, whole genome amplification (WGA) was performed to amplify the extracted DNA. Species-specific primers were used as followings: *ib-286-F/ib-286-R* (105 bp), *Pss 01n-5'/Pss 01n-3'* (216 bp), *SS11b 3-5'/SS11b 3-3'* (114 bp), and *SSRY26-F/SSRY26-R* (121 bp) gene for sweet potato, potato, corn, and tapioca, respectively. In this study, we could confirm the main ingredients using WGA and PCR method.

Key words: DNA extraction, identification, starch

서 론

전분은 수많은 포도당 단위가 전분립 형태로 식물체 내에서 합성되는 탄수화물계의 고분자물질로서 그 종류에 따라 크기 및 모양이 다양하다. 구조는 기본적으로 아밀로오스와 아밀로펙틴의 α -글루칸으로서 아밀로오스는 오랫동안 글루코오스가 α -1,4결합만으로 된 직선상의 중합체로 생각해 왔으나 아밀로오스도 일부 α -1,6결합에 의한 가지 구조를 갖는 것으로 알려져 있다¹⁾. 이러한 아밀로오스와 아밀로펙틴의 함량비는 식물의 종류마다 고유한 값을 갖는다고 알려져 있다²⁾. 전분입자는 식물체 내에서 중심원상의 다층 구조로 존재하는데, 그 형태와 크기가 식

물의 종류와 부위에 따라 다르기 때문에 검경을 통한 전분 입자 출처의 감정이 가능할 수 있다³⁾. 전분은 자연계에서 가장 흔하게 존재하는 매우 잘 알려진 물질임에도 불구하고 종류별로 그 구조에 대하여는 일부 밝혀지긴 했지만 많은 연구가 진행되지는 않았다⁴⁾. 전분은 고구마, 감자, 옥수수, 소맥, 밀, 녹두, 도토리, 타피오카 등을 주원료로 제조하며 옥수수전분의 경우 원료, 정선, 침지, 조분쇄, 배아 분리, 마쇄, 사별, 원심분리, 세척, 여과, 건조 등의 공정에 의해 제조되며 경우에 따라 산가수분해 등 수율 증대를 위하여 아황산, 차아염소산나트륨 등의 처리를 하는 것으로 알려져 있다. 전분은 제빵, 당면 등 가공식품 제조에 사용되며 국내 소비량의 증가로 인하여 수입되는 수입량도 점차 증가하고 있는데 식품의약품안전청에서 발행한 수입식품등검사연보에 따르면 전분의 국내 수입량은 2011년도 기준 총 80,212,701 Kg (79,222,060\$)이며 이중 감자 전분이 51,466,350 Kg (44,470,579\$)으로 가장 많고 고구마 전분이 26,424,970 Kg (30,537,337\$), 기타전분은 2,321,381 Kg (4,214,144\$)이다⁵⁾. 그리고 2010년은 총 76,715,250 Kg

*Correspondence to: Yong-Chjun Park, New Hazardous Substance Team, Food Safety Evaluation Department, National Institute of Food & Drug Safety Evaluation, Ministry of Food & Drug Safety, 187 Osongsaeangmyeong2(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

(57,428,995\$)이며 감자전분은 49,231,210 Kg (32,457,201\$)으로 가장 많고 고구마전분 25,474,675 Kg (22,490,074\$), 기타전분 2,009,365 Kg (2,481,720\$)이다⁶⁾. 이는 2010년도보다 2011년에는 전분 수입량이 약 4.6% (3,497,451 Kg) 증가한 것이다. 전분의 주원료 중 타피오카의 경우 고구마, 감자 등에 비하여 비교적 가격이 낮아 이를 혼합하여 제조하여도 확인할 수 있는 방법이 개발되어있지 않다. 따라서 타피오카 전분이 혼합된 전분을 납품받아 당면 등 가공식품을 생산하는 식품제조업체에서는 원료관리가 매우 어려운 실정이다. 전분에 대한 연구로는 전분 종류별 이화학적 특성^{7,8)}, 품종에 따른 비교⁹⁾, 입자별 크기 및 형태^{4,7,8,10)} 등에 대한 연구가 주를 이루고 있다. 현재까지의 연구로는 단일 원료로부터 생산된 전분의 경우 입자의 크기 또는 형태의 차이점으로 어느 정도의 구별은 가능하나 원료가 혼합되어 있으면 명확하게 사용원료를 구분하기 어렵다. 최근에는 식품 중 사용원료확인을 위하여 유전자 분석에 대한 연구가 많이 이루어지고 있다. 유전자분석법에는 일반 프라이머(universal primer)를 이용하는 방법^{11,12,13)}과 종 특이 프라이머(species-specific primer)를 이용하는 방법^{14,15,16,17,18,19)}이 있다. 특히, Breton 등¹⁷⁾, Pafundo 등¹⁸⁾ 및 Testolin 등¹⁹⁾은 올리브 기름으로부터 유전자추출 및 PCR법을 이용하여 이종유(異種油)가 혼합되어 있는지를 확인할 수 있는 방법에 대한 연구를 수행하였다. 따라서 본 연구에서는 전분으로부터 유전자추출 및 종 특이 프라이머를 이용한 PCR법을 이용하여 전분 제조 시 사용된 원료를 확인할 수 있는 분석법을 개발하였다. 개발된 분석법은 의도적으로 값이 저렴한 재료를 혼합하여 제조된 전분을 판별하여 소비자의 알 권리를 보호하고 선의의 식품제조업체를 보호하는 등 식품안전관리에 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

재료 및 방법

시약 및 검체 구입

유전자증폭(Polymerase Chain Reaction, PCR)을 위한 프

라이머 및 *Taq* DNA polymerase는 바이오니아(Bioneer, Korea)에 의뢰하여 합성 또는 구매하였다. PCR 장비는 C1000 Touch™ Thermal cycler (Bio-RAD Laboratories, Inc. USA)을 사용하였으며, 유전자 추출에 사용된 CTAB (cetyl trimethyl ammonium bromide), SDS (sodium dodecyl sulfate), EDTA (ethylene diamine tetra acetic acid) 등의 시약은(Sigma-Aldrich®, USA)로부터 구입하였으며, 상업화 키트로는 DNeasy Plant mini 키트(Qiagen GmbH, Hilden, Germany) 및 Magnetic DNA Purification System for Food (Promega, USA)를 사용하였다. 추출 유전자의 증폭은 GenomePlex® Whole Genome Amplification (WGA) 키트 (Sigma-Aldrich®, USA)를 사용하였으며, WGA 후에는 AccuPrep® PCR Purification 키트(Bioneer, Korea)로 정제하였다. 시료로 사용된 전분류는 감자전분 3종, 고구마전분 3종, 옥수수전분 3종, 타피오카전분 2종으로 총 11종이며, 인터넷 또는 일반 마트에서 직접 구입하였으며, 주요 성분 등에 대하여는 Table 1에 명기하였다.

유전자 추출 및 WGA kit 사용

유전자추출은 Cetyl Trimethyl ammonium Bromide (CTAB)법, DNeasy plant mini 키트 또는 magnetic DNA purification system 키트를 사용하여 유전자를 추출하였다. CTAB법은 시료에 CTAB 완충용액을 가하고 균질화 한 뒤, 일정량을 취해 phenol:chloroform:isoamylalcohol (P:C:I) 용액을 가하여 원심분리 후 상등액을 취하고, chloroform:isoamylalcohol (C:I) 용액을 가하여 원심분리 후 상등액을 취해 이소프로판올로 농축하고 70% 에탄올로 세척 후 침전물을 멸균증류수에 녹였다²⁰⁾. 상용화된 유전자추출 키트를 사용한 경우에는 제조사에서 제공하는 추출법에 의거하여 추출하였으며, 단 최종 용출단계에서는 멸균증류수를 사용하여 용출하였다. 추출된 유전자는 증폭을 위하여 WGA kit를 사용하였으며 간단히 요약하면, WGA 과정은 fragmentation, OmniPlex library generation, PCR amplification의 총 3단계로 이루어진다. 시료로부터 추출된 소량의 DNA를 fragmentation 완충용액을 이용하여 무작위로 단

Table 1. List of starch samples used in this study

Items	main ingredient	composition	manufacture
S1	potato	potato starch 100%	D co.
S2	potato	potato starch 100%	S co.
S3	potato	potato starch 95%, others (wheat powder et al) 5%	J co.
S4	sweet potato	sweet potato starch 100%	Y co.
S5	sweet potato	sweet potato starch 100%	S co.
S6	sweet potato	sweet potato starch 95%, others (wheat powder et al) 5%	J co.
S7	corn	corn starch 100%	D co.
S8	corn	corn starch 100%	D co.
S9	corn	corn starch 95%, heated corn powder 5%	C co.
S10	tapioca	tapioca starch 100%	S co.
S11	tapioca	tapioca starch 89%, others (maltodextrin et al) 11%	E co.

Table 2. Sequences of species-specific primer used in this study

Items	primer	primer sequence(5' → 3')	length(bp)	remarks
potato	Pss 01n-5'	TGA CCT GGA CAC CAC AGT TAT	216	KFDA ²⁴⁾
	Pss 01n-3'	GTG GAT TTC AGG AGT TCT TCG A		
sweet potato	ib-286-F	AGC CAC TCC AAC AGC ACA TA	105	Buteler et al ²⁰⁾
	ib-286-R	GGT TTC CCA ATC AGC AAT TC		
corn	SSIIb 3-5'	CCA ATC CTT TGA CAT CTG CTC C	114	KFDA ²⁴⁾
	SSIIb 3-3'	GAT CAG CTT TGG GTC CGG A		
tapioca	SSRY26-F	TGC TAA TTG CAG GAA ATA GGA T	121	Mba et al ²¹⁾
	SSRY26-R	GCA GCT TTT TAG CAT AAC AAT CAA		
wheat	SFI11-Whe-F	GGT TCC GAG TTC TGC GGC G	127	KFDA ²³⁾
	SFI11-Whe-R	TGC CAC AGG ATC CCC ACT TGC		

편화를 시킨 후 작은 단편들을 PCR 증폭이 가능한 OmniPlex[®] Library 분자들로 전환시킨다. 그 후, OmniPlex[®] Library는 universal oligonucleotide 프라이머를 이용하여 유전자를 증폭하였다. 증폭된 유전자는 AccuPrep[®] PCR Purification 키트를 이용하여 최종적으로 정제하였다.

전분의 원료 확인을 위한 목표 유전자 및 프라이머

감자, 고구마, 옥수수, 타피오카 전분의 사용원료 확인을 위한 유전자 선정 및 프라이머는 기존에 수행되었던 연구결과를 활용하였다. 고구마의 경우 Buteler 등이 선정한 SSR (simple sequence repeat) 부위를 검출할 수 있는 ib-286-F/ib-286-R 프라이머²¹⁾, 타피오카의 경우 Mba 등이 선정한 SSR 부위를 검출할 수 있는 SSRY26-F/SSRY26-R 프라이머²²⁾, 밀은 식품의약품안전청에서 발간한 식품 중 사용원료 진위판별지침서(II)에 수록되어 있는 발아관련 유전자(germ germination)를 검출할 수 있는 SFI11-Whe-F/SFI11-Whe-R 프라이머²³⁾, 감자 및 옥수수의 경우 식품공전 중 유전자재조합식품 검출에 사용하는 내재유전자인 자당합성효소(potato sucrose synthase) 부위를 검출할 수 있는 Pss 01n-5'/Pss 01n-3' 프라이머 및 전분합성효소(starch synthase) 부위를 검출할 수 있는 SSIIb 3-5'/SSIIb 3-3' 프라이머²⁴⁾를 각각 사용하였으며, 프라이머에 대한 정보는 Table 2에 명기하였다.

Polymerase Chain Reaction (PCR) 반응액 조성 및 반응조건

PCR을 위한 반응액의 조성은 WGA 키트로 처리한 주형 DNA의 경우 50-100 ng, dNTPs 200 μ M, MgCl₂ 2.5 mM, 프라이머 각각 1 μ l (10 pmol/ μ l)이 되게 혼합하였으며, 최종 부피는 20 μ l로 하였다. 그리고 PCR의 재결합 온도 및 시간을 변경하면서 각각의 종 특이 프라이머에 적합한 조건을 선정하였다. 첫째, 고구마 판별(ib-286-F/ib-286-R)을 위한 PCR 반응조건은 94°C에서 5분 예비가열 후, 94°C 30초 변성, 55°C 30초 재결합, 72°C 30초 중합반응 등의 과정을 40회 반복하고 마지막에 72°C에서 5분

간 처리하였다. 둘째, 타피오카 판별(SSRY26-F/SSRY26-R)은 94°C에서 5분 예비가열 후, 94°C 60초 변성, 55°C 60초 재결합, 72°C 120초 중합반응 등의 과정을 35회 반복하고 마지막에 72°C에서 5분간 처리하였다. 셋째, 밀 판별(SFI11-Whe-F/SFI11-Whe-R)은 94°C에서 12분 예비가열 후, 94°C 30초 변성, 57°C 20초 재결합, 72°C 30초 중합반응 등의 과정을 35회 반복하고 마지막에 72°C에서 2분간 처리하였다. 그리고 옥수수 판별(SSIIb 3-5'/SSIIb 3-3') 및 감자판별(Pss 01n-5'/Pss 01n-3')은 95°C에서 10분 예비가열 후, 95°C 30초 변성, 60°C 30초 재결합, 72°C 30초 중합반응 등의 과정을 40회 반복하고 마지막에 72°C에서 7분간 처리하였다.

결과확인

최종산물의 확인은 반응액 5 μ l를 취하여 2% 아가로즈 젤로 100 V, 30분간 전기영동하고 EtBr로 염색(1 μ g/ml) 한 후 UV투영기를 이용하여 확인하였다.

결과 및 고찰

유전자추출 방법별 추출효율 비교 및 PCR 수행

전분으로부터 DNeasy Plant mini 키트, magnetic DNA purification system 및 CTAB 방법으로 유전자를 추출하였다. 상기 3가지 방법으로 추출된 유전자를 사용하여 PCR을 수행하려고 하였으나 추출량은 0.1-15.4 ng/ μ l로 주형 유전자로 사용하기에 충분하지 않아 WGA 키트를 이용하여 추출한 유전자를 증폭하였다(Table 3). WGA 키트를 사용한 결과 최대 365.3 ng/ μ l로 대부분의 경우에 증폭이 이루어졌다. PCR의 경우 최소 50 ng의 유전자가 필요하나 WGA 처리를 하지 않은 경우 농도가 낮은 경우에는 주형 유전자로 추출유전자의 5 μ l를 사용하였으며, WGA 처리 후에는 주형유전자가 50-100 ng/ μ l이 되도록 조정하여 사용하였다. WGA를 처리한 경우 시료 S3 및 S6의 경우에는 전분 이외의 밀가루 등이 5% 혼입되어 있어 증폭효율이 상대적으로 높은 것으로 추정된다(Table 3).

Table 3. DNA concentrations of before and after performing WGA (whole genome amplification) of DNA extracted by DNeasy plant mini kit, magnetic DNA purification system, and CTAB extraction method, respectively

Items	DNA concentration (ng/μL)					
	DNeasy plant mini kit		magnetic DNA purification system for food		CTAB method	
	before WGA	after WGA	before WGA	after WGA	before WGA	after WGA
S1	0.8	9.6	1.5	21.0	1.3	18.5
S2	0.3	9.7	1.3	10.7	0.1	19.0
S3	1.3	163.8	12.8	321.9	7.3	226.1
S4	0.2	7.0	6.8	17.7	0.1	29.6
S5	0.3	14.0	1.8	11.9	1.8	18.4
S6	1.1	62.7	15.4	365.3	4.1	208.4
S7	0.4	27.2	4.9	164.6	0.2	45.2
S8	0.7	11.4	2.4	19.7	0.1	10.3
S9	0.4	26.7	6.0	10.4	5.1	17.6
S10	0.7	39.7	5.3	54.2	1.6	67.8
S11	0.2	7.4	2.4	11.8	0.1	25.5

Table 4. PCR results of DNA extracted from starch sample using species-specific primer (potato, sweet potato, corn, tapioca, and wheat)

Items	primer	extraction method					
		DNeasy plant mini kit		magnetic DNA purification system		CTAB method	
		before WGA	after WGA	before WGA	after WGA	before WGA	after WGA
S1	potato	+	-	-	-	-	-
S2	potato	-	-	-	-	-	+
S3	potato	-	+	-	+	-	-
	wheat	+	+	+	+	+	+
S4	sweet potato	-	-	-	-	-	-
S5	sweet potato	+	+	+	+	+	+
S6	sweet potato	+	-	+	-	+	-
	wheat	+	+	+	+	+	+
S7	corn	-	-	-	-	-	+
S8	corn	-	-	-	+	-	+
S9	corn	-	+	+	+	-	-
S10	tapioca	-	-	-	-	-	+
S11	tapioca	-	+	+	+	-	-

감자 전분의 PCR 결과 분석

상기 방법으로 추출된 유전자를 이용하여 PCR을 실시한 결과 S1시료의 경우 감자유전자를 확인하기 어려웠으나, S2의 경우에는 CTAB법으로 추출 후 WGA 처리를 한

경우에는 감자유전자의 확인이 가능하였다(Table 4). 그리고 S3 시료의 경우 plant mini 키트 및 magnetic 키트로 추출한 경우에는 확인이 어렵지만 WGA 키트 처리 후에는 모두 감자유전자를 확인할 수 있었으며, 유전자 추출 방법과 관계없이 밀 유전자는 모두 검출되었다. 이는 감자전분에 비하여 손상이 적은 밀 유전자가 함유되어 있기 때문인 것으로 추정된다. 따라서 감자전분의 경우 plant mini 키트 또는 magnetic 키트로 추출하여 WGA를 처리하면 감자 유전자 확인이 용이할 것으로 판단된다(Fig. 1). 그러나 시료별 추출방법에 따른 PCR 반응결과의 차이점에 대하여 정확한 확인은 어려우나 제조사별 제조공정에 따른 차이점으로 추정된다.

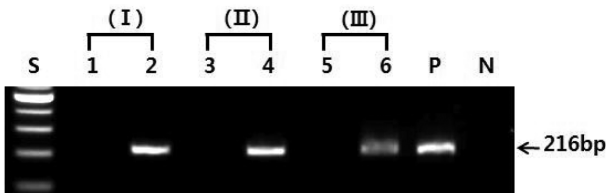


Fig. 1. Detection of potato gene from potato starch by PCR using potato-specific primer. Lane 1, 3, 5: DNA extracted from sample; Lane 2, 4, 6: DNA amplified using WGA kit after extraction; S: 100bp ladder; P: positive control (potato); N: no template control; Lane 1-4: sample S3; and Lane 5, 6: sample S2. The extracted methods were DNeasy Plant mini kit(I), Magnetic DNA purification system(II), and CTAB method kit(III).

고구마 전분의 PCR 결과 분석

상기 방법에 의하여 PCR을 실시한 결과 S4시료의 경우 모든 경우에 고구마 유전자를 확인하기 어려웠으나(Table

4), S5의 경우 추출방법 및 WGA 키트 처리와 관계없이 모두 고구마 유전자를 확인할 수 있었다. 그리고 S6 시료의 경우 추출 유전자는 PCR 산물이 확인되었으나, WGA 키트 처리 후에는 오히려 고구마 유전자 확인이 어려웠다. 이것은 추출유전자 중에 고구마 보다는 밀로부터 유래된 유전자가 다량 존재하여 WGA 키트를 처리한 경우 고구마 유전자보다 상대적으로 밀 유전자의 증폭이 크게 반응하여 오히려 WGA 처리가 적합하지 않은 것으로 추정된다 (Fig. 2). 또한 S4 및 S5의 PCR 반응결과의 차이점에 대하여 감자전분(S1, S2, S3)의 경우처럼 제조사별 제조공정에 따른 차이점으로 추정된다. 즉 고구마전분의 경우 유전자 추출방법에 의한 차이점보다 제조사별 차이점이 더 큰 것으로 확인되었다.

옥수수 전분 및 타피오카 전분의 PCR 결과 분석

옥수수 전분의 경우 PCR을 실시한 결과 S7 시료의 경우 CTAB 방법으로 추출 후 WGA 키트를 처리한 경우에만 PCR 산물을 확인하였다(Table 4). 또한, S8 시료의 경우에는 magnetic 키트 및 CTAB 방법으로 추출 후 WGA 키트 처리한 경우에 PCR 산물이 확인되었다. 그리고 S9 시료의 경우 plant mini 키트의 경우에는 WGA 키트 처리 후, magnetic 키트의 경우 WGA 키트 처리와 상관없이 모두 옥수수 유전자가 확인되었다. 따라서 옥수수전분에서 유전자 확인이 필요한 경우에는 추출방법을 CTAB 방법

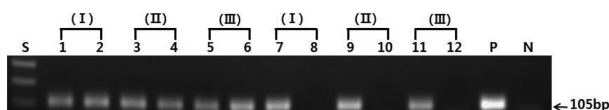


Fig. 2. Detection of sweet potato gene from sweet potato starch by PCR using sweet potato-specific primer. Lane 1, 3, 5, 7, 9, 11: DNA extracted from sample; Lane 2, 4, 6, 8, 10, 12: DNA amplified using WGA kit after extraction; S: 100bp ladder; P: positive control (sweet potato), N: no template control; Lane 1-6: sample S5, and Lane: 7-12: sample S6. The extracted methods were DNeasy Plant mini kit(I), Magnetic DNA purification system(II), and CTAB method kit(III).

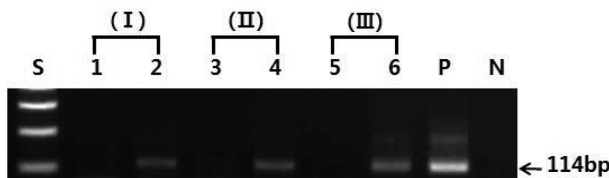


Fig. 3. Detection of corn gene from corn starch by PCR using corn-specific primer. Lane 1, 3, 5: DNA extracted from sample; Lane 2, 4, 6: DNA amplified using WGA kit after extraction; S: 100bp ladder; P: positive control (corn); N: no template control; Lane 1, 2: sample S9; and Lane: 3-6: sample S8. The extracted methods were DNeasy Plant mini kit(I), Magnetic DNA purification system(II), and CTAB method kit(III).

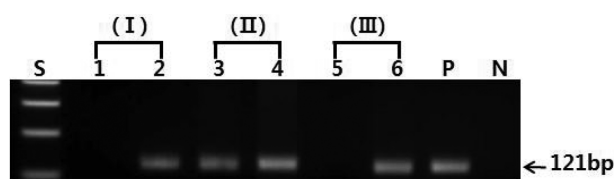


Fig. 4. Detection of tapioca gene from tapioca starch by PCR using tapioca-specific primer. Lane 1, 3, 5: DNA extracted from sample; Lane 2, 4, 6: DNA amplified using WGA kit after extraction; S: 100bp ladder; P: positive control (tapioca); N: no template control; Lane 1, 2: sample S11, and Lane 3-6: sample S10. The extracted methods were DNeasy Plant mini kit(I), Magnetic DNA purification system(II), and CTAB method kit(III).

보다 plant mini 키트 또는 magnetic 키트가 용이한 것으로 추정된다(Fig. 3). 타피오카전분의 경우 S10 및 S11의 경우 추출 유전자를 대상으로 PCR한 결과에서는 모두 타피오카 유전자를 확인하기 어려웠으나 WGA 키트를 처리한 경우 추출방법과 관계없이 모두 PCR 산물의 확인이 가능하였다(Fig. 4).

전분의 사용원료 확인에 적용성 검토

전분의 사용원료를 확인하는 방법은 전분의 크기, 형태 등으로 분류하는 방법이 연구되었다. 정 등⁴⁾에 의하면 감자전분의 입자크기는 70-52 μm , 고구마전분은 20-19 μm 등으로 크게 차이가 있지만 감자의 품종별로 보면 수입 감자는 39-27 μm , 대서품종의 경우 70-45 μm 로 매우 큰 폭의 차이점을 알 수 있다. 또한 고구마전분의 경우 올미, 진홍미, 황미 품종의 경우 20-19 μm , 신천미, 연미, 자미 품종의 경우 23-22 μm 로 나타난다. 즉 원료 및 품종에 대한 입자 크기의 다양성으로 인하여 명확하게 원료를 확인하기 어려우며 또한 상호 혼합되어 있는 경우에는 분류하는 것이 더욱 어렵다고 보고하고 있다. 또한 Mishra 등¹⁰⁾에 의하면 옥수수 전분은 입자크기가 3.6-14.3 μm , 감자전분은 14.3-53.6 μm , 타피오카전분은 7.1-25.0 μm 등으로 보고하였다. 즉, 연구자별로 동일한 원료를 사용한 경우에도 전분입자의 크기는 다양하게 보고하고 있어 전분의 사용원료를 명확하게 확인하기 어렵다. 따라서 본 연구에서는 이화학적인 분석법의 단점을 극복하기 위하여 유전학적인 방법을 시도하였다. 일반적인 가공식품은 선별, 분쇄, 혼합, 가열, 조미, 성형 등의 비교적 단순한 공정으로 제조되므로 식품원료로 사용되는 식물성 또는 동물성 원료의 조직 또는 세포에 존재하는 유전자의 파괴가 크게 나타나지 않는다. 그러나 제조과정 중 고열, 고압을 처리하거나 전분처럼 식품원료로부터 특정물질을 추출하는 공정에서 산가수분해의 수율 증대를 위하여 아황산, 차아염소산나트륨 등의 물질을 처리하면 최종 제품에는 유전자가 극미량 존재하거나 존재하여도 크기가 매우 작은 경우가 대부분이다. 따라서 전분으로부터 서로 다른 방법으로 유전자

를 추출하였으며 추출된 유전자만으로는 PCR을 수행하기 위한 주형유전자로 농도가 부족하여 WGA 키트를 처리하여 추출유전자의 양을 증가시켰다. 그 결과 대부분의 경우에서 WGA 키트를 처리한 경우에는 사용원료의 확인이 가능하였다. 따라서 본 연구에서 시도된 방법은 값싼 원료를 사용하여 제조된 전분을 혼합한 제품을 확인할 수 있는 방법을 제시함으로써 선의의 제조업체를 보호하고 소비자의 알 권리를 위한 식품안전관리에 활용이 가능할 것으로 기대된다.

감사의 말

본 연구는 식품의약품안전평가원 2013년도 연구개발사업지원비(13161소비자102)에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

요 약

전분의 사용원료를 확인하는 방법은 전분입자의 크기 또는 형태 등으로 분류하는 이화학적인 방법이 연구되었으나 원료별 또는 동일한 원료라도 품종에 따른 차이점으로 인하여 명확하게 확인하기 어려운 단점이 있어 유전자분 석법을 시도하였다. 시료는 고구마 전분, 감자 전분, 옥수수 전분 및 타피오카 전분 등 총 11종을 사용하였으며, 유전자추출은 DNeasy plant mini 키트, magnetic DNA purification system 및 CTAB 방법으로 하였으며 추출유전자의 증폭을 위하여 WGA 키트로 처리하였다. 그리고 고구마, 감자, 옥수수 및 타피오카 검출을 위한 유전자 부위는 SSR (simple sequence repeat, ib-286-F/ib-286-R), 자당합성효소 (potato sucrose synthase, Pss 01n-5'/Pss 01n-3'), 전분합성효소(starch synthase, SSIIb 3-5'/SSIIb 3-3') 및 SSR (SSRY26-F/SSRY26-R)를 각각 사용하였다. 그 결과 대부분의 경우 WGA를 처리한 경우에는 사용원료의 확인이 가능하였다.

참고문헌

1. Banks, W. and Greenwood, G.T.: Physicochemical studies on starches : Part XXXII. the incomplete β -amylolysis of amylose: a discussion of its cause and implications. *Stärke*, **19**, 197-205 (1967).
2. Kim, H.S., Lee, M.S. and Woo, J.W.: Retrogradation properties of waxy starches. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **20**, 794-800 (1988).
3. Park, Y.S.: Food Science and Food Chemistry. Hyoilmoon-wha Press, Seoul, Korea. pp. 55-61 (1999).
4. Jeong, J.I., Min, S.S., Nho, M.J., Park, Y.S. and Kim, J.K.: Study on the discrimination of starch in food and fine samples. *J. Kor. Soci. Forensic Sci.* **2**, 132-138 (2001).
5. Korea Food & Drug Administration: Yearbook of imported

- foods inspection. pp. 159 (2012).
6. Korea Food & Drug Administration: Yearbook of imported foods inspection. pp. 174 (2011).
7. Jung, S.H., Shin, G.J. and Choi, C.U.: Comparison of physicochemical properties of corn, sweet potato, potato, wheat and mungbean starches. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **23**, 272-275 (1991).
8. Cho, S.A. and Kim, S.K.: Particle size distribution, pasting pattern and texture of gel of acorn, mungbean, and buckwheat starches. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **32**, 1291-1297 (2000).
9. Cho, E.J., Kim, S.K. and Park, S.H.: Comparison of physicochemical properties of korean kidney bean starch according to varieties. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **30**, 787-793 (1998).
10. Mishra, S. and Rai, T.: Morphology and functional properties of corn, potato and tapioca starches. *Food Hydrocolloids*, **20**, 557-566 (2006).
11. 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. Biotech.* **3**, 294-299 (1994).
12. Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L. and deWaard, J.R.L.: Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. Lond. B.* **270**, 313-321 (2003).
13. 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. and Yoon H.S.: Application for identification of food raw materials by PCR using universal primer. *J. Fd. Hyg. Safety*, **27**, 317-324 (2012).
14. 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).
15. Park, Y.C., Lim, J.Y., Kim, M.R., Park, Y.E., Lim, J.D., Hwang, C.R., Kim, K.H., Lee, J.H., Cho, T.Y., Lee, H.J., Lee, S.J. and Han, S.B.: Identification of faulty red pepper powder containing seasoned red-pepper sauce. *J. Fd. Hyg. Safety*, **27**, 182-187 (2012).
16. Park, Y.C., Kim, M.R., Lim, J.Y., Park, Y.E., Shin, J.H., Hwang, C.R., Lim, J.D., Kim, K.H., Lee, J.H., Cho, T.Y., Lee, H.J. and Han, S.B.: A comparison of gene extraction methods for the Identification of raw materials from meat products. *J. Fd. Hyg. Safety*, **27**, 146-151 (2012).
17. Breton, C., Claux, D., Metton, I., Skorski, G. and Bervill,e A.: Comparative study of methods for DNA preparation from olive oil samples to identify cultivar SSR alleles in commercial oil samples: possible forensic application. *J. Agri. Food Chem.* **52**, 531-537 (2004).
18. Pafundo, S., Agrimonti, C., Maestri, E. and Marmiroli, N.: Applicability of SCAR markers to food genomics: olive oil traceability. *J. Agri. Food Chem.* **55**, 6052-6059 (2007).
19. Testolin, R. and Lain, O.: DNA extraction from olive oil and PCR amplification of microsatellite markers. *J. Food Sci.* **70**, 108-112 (2005).
20. Doyle, J.J. and Doyle, J.L.: A rapid isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissues. *Phytochem. Bulletin*, **19**, 11-15 (1987).

21. Buteler, M.I., Jarret, R.L. and LaBonte, D.R.: Sequence characterization of microsatellites in diploid and polyploid *Ipomoea*. *Theor Appl. Genet*, **99**, 123-132 (1999).
22. Mba, R.E.C., Stephenson, P., Edwards, K., Melzer, S., Nkumbira, J., Gullberg, U., Apel, K., Gale, M., Tohme, J. and Fregene, M.: Simple sequence repeat (SSR) markers survey of the cassava (*Manihot esculenta* Crantz) genome: towards an SSR-based molecular genetic map of cassava. *Theor Appl. Genet*, **102**, 21-31 (2001).
23. Korea Food and Drug Administration: Guideline for detection of adulterated food(II). Chungcheongbuk-do, Korea. pp. 57 (2012).
24. Korea Food and Drug Administration. Food Code(II). Chungcheongbuk-do, Korea. pp. 10-8-10 - 10-8-23 (2011).