

## 견과류로부터 효율적인 DNA 추출 방법 비교

서승만<sup>1</sup> · 박샛별<sup>1</sup> · 김미주<sup>1</sup> · 김해영<sup>1,\*</sup>  
<sup>1</sup>경희대학교 생명자원과학연구원 식품생명공학과

### Comparison of methods of DNA extraction from tree nuts

Seung-Man Suh<sup>1</sup>, Saet-Byul Park<sup>1</sup>, Mi-Ju Kim<sup>1</sup>, and Hae-Yeong Kim<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Institute of Life Sciences & Resources, Department of Food Science and Biotechnology, Kyung Hee University

**Abstract** This study aimed to explore efficient DNA extraction methods using tree nuts. Four different DNA extraction procedures, including silica membrane method, modified silica method, cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) method, and modified CTAB method were examined for their relative efficiency in extracting DNA from pistachio, pine nut, almond, hazelnut, cashew nut, walnut, and peanut. The quality and quantity of the extracted DNA were subsequently assessed by spectrometric measurements, gel electrophoresis, and PCR amplifications. CTAB method was the most appropriate one for extracting DNA from pine nut, cashew nut, pistachio, and peanut. However, it could be replaced by the silica membrane method for walnut and modified CTAB method for almond and hazelnut.

**Keywords:** cetyltrimethylammonium bromide, DNA extraction, PCR, silica, tree nuts

## 서 론

견과류는 단백질과 비타민, 지방이 풍부하게 함유되어 있고, 특히 불포화지방산의 양이 많이 포함되어 있기 때문에 심혈관질환에 효과적인 식품으로 알려져 있다(Kim 등, 2000). 이러한 효능들이 발견되면서 견과류 판매 시장과 초콜릿, 유제품 등의 가공식품 시장도 성장하고 있고, 2013년 관세청의 보도자료에 따르면 주요 견과류의 수입량은 2003년보다 7배 이상 증가했다고 보도한 바 있다(Korea Customs Service, 2013). 그러나, 건강을 위해 견과류를 섭취하는 사람들이 있는 반면 견과류는 민감한 사람들에게 알레르기를 유발하는 식품으로도 잘 알려져 있다(Crespo 등, 2006). 견과류로 인해 발생하는 알레르기는 구강에 발생하는 경우가 많지만, 아나필락시스와 같은 치명적인 반응이 발생할 수 있기 때문에 가공식품 등에서 견과류를 신속하게 검출할 수 있는 분석방법이 필요하다(Suzanne 등, 2003).

최근 분자생물학적 방법으로 식품을 분석하는데 가장 많이 사용되는 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)법은 정확도와 민감도가 뛰어나고, 분석시간이 짧다는 장점이 있다(Holzhauser 등, 2000; Lee 등, 2009; Park 등, 2013). PCR 반응에서 정확하고 재현성 있는 결과를 얻기 위해서는 우선적으로 순수한 DNA의 분리 및 정제가 필요하다(Di Pinto 등, 2007). DNA 추출은 SDS, CTAB 등과 같은 계면활성제로 세포벽을 파괴하고, 이

소프로판올 등으로 DNA를 침전시켜 정제하는 세틸트라이메틸 암모늄 브로마이드(cetyltrimethyl-ammonium bromide, CTAB)법과 DNA를 실리카 막에 부착시켜 농축하는 실리카 막 법이 있으며, 대부분 상업적으로 판매하는 키트들을 사용하고 있다. 또한 PCR 반응의 저해 작용을 하는 것으로 알려져 있는 탄수화물, 지방산, 페놀화합물 등을 효과적으로 제거할 수 있는 DNA 추출방법을 확립하는 것이 중요하다(Iniesto 등, 2013; Shin 등, 2016). 이런 이유로 시료의 종류나 구성성분에 따라 변형된 DNA 추출방법이 사용되고 있다(Di Pinto 등, 2007; Shin 등, 2016; Verbylaite 등, 2010). 지방, 단백질이 많은 시료들은 클로로폼이나 페놀을 첨가하여 불순물을 침전시켜 효율적으로 DNA를 분리할 수 있다고 보고된 바 있다(Chapela 등, 2007; Kehrmeier 등, 1996; Volossiuk 등, 1995). 식물성 시료의 경우 PCR 반응의 저해제로 잘 알려진 폴리페놀 화합물들이 많이 포함되어 있기 때문에 폴리비닐 폴리피롤리돈(polyvinyl-pyrrolidone, PVP)나 베타메르캅토에탄올(beta-mercaptoethanol)을 첨가하여 DNA를 분리하는 방법이 사용되고 있다(Rohland과 Hofreiter, 2007; Sghaier 등, 2005). Herman 등(2003)과 Koppel 등(2010)은 땅콩과 헤이즐넛을 대상으로 하였고, Garino 등(2016)은 잣을 대상으로 실리카 막 법을 사용하여 DNA를 추출하였다. Engel 등(2009)은 피스타치오 너트, 아몬드, 헤이즐넛, 캐슈너트, 호두, 땅콩, 피칸 너트, 브라질넛/너트 등에서 변형된 CTAB법을 사용하여 DNA를 추출하였다. Costa 등(2015)은 아몬드와 헤이즐넛을 대상으로 7가지 방법을 통해 DNA를 추출하였다. 견과류의 종류에 따라 다양한 추출방법이 사용되고 있으며 명확한 추출법이 확립되지 않기 때문에, 식품분석을 위한 효율적인 DNA 추출법 선정이 필요한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 견과류 DNA를 효율적으로 추출할 수 있는 방법을 선별하기 위해 7종(피스타치오 너트, 잣, 아몬드, 헤이즐넛, 캐슈너트, 호두, 땅콩)에 대하여, 4가지 방법을 통해 DNA를 추출하고 식물 내 채유전자에 대해 PCR을 수행하여 DNA의 추출 효율을 비교하였다.

\*Corresponding author: Hae-Yeong Kim, Institute of Life Sciences & Resources, Department of Food Science & Biotechnology, Kyung-Hee University, Yongin 17104, Korea  
Tel: +82-31-201-2660  
Fax: +82-31-204-8116  
E-mail: hykim@khu.ac.kr  
Received February 25, 2018; revised June 6, 2018;  
accepted June 14, 2018

## 재료 및 방법

### 재료

본 연구에서 사용된 견과류 7종(피스타치오 너트, 잣, 아몬드, 헤이즐넛, 캐슈너트, 호두, 땅콩)은 경기도 수원시내의 대형 마트에서 구매하였다. 피스타치오 너트와 캐슈너트는 열처리된 시료를 사용하였고, 이를 제외한 각 시료는 건조되거나 조리되지 않은 제품을 사용하였다. 액체질소를 사용하여 균질화한 후 실험에 사용하기 전까지  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서 보관하였다.

### DNA 추출

DNA의 추출에는 실리카 막(silica membrane)을 활용한 Qiagen (Hilden, Germany)사의 DNeasy plant mini kit (QM)를 이용한 방법, 지방 성분을 제거하기 위해 QM법에 클로로폼을 추가한 방법(MQ)을 사용하였다. 또한 DNA를 침전하여 분리하는 CTAB 또는 CT법(Meyer, 1999), CT법을 실리카법과 혼합한 Mini CTAB (MC)법(Dover과 Lee, 2007; Koppel 등, 2010)을 사용하였다. DNA 추출에는 총 800 mg의 시료를 사용하였다. QM법은 제조사에서 제공하는 방법에 따라 진행하였다. MQ법에서는 DNeasy Mini Spin Column에 용액을 넣기 전에 클로로폼을 500  $\mu\text{L}$  첨가하여 13,000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 상층액을 사용하였다. CT법과 MC법은 참고문헌에 게시되어 있는 방법을 사용하였으며, MC법의 경우 이소프로판올을 처리하지 않고, 상층액을 사용하여 Qiagen사의 DNeasy Mini Spin Column을 사용하여 정제하였다. 4가지 방법 모두 총 200  $\mu\text{L}$ 의 DNA를 얻을 수 있었다. DNA의 농도와 순도는 UV/VIS 분광광도계(Mecasys, Daejeon, Korea)를 사용하여 측정하였다. 추출된 DNA (50 ng/ $\mu\text{L}$ )는 1% 아가로스 젤에 각각 2  $\mu\text{L}$ 를 전기영동하였다.

### 통계분석

각 방법간의 차이를 비교하기 위해 통계처리를 실시하였다. 모든 시료에 대하여 3회 반복 추출하였으며, 각 자료는 평균과 표준오차로 나타내었다. 4가지 방법으로 추출한 DNA의 농도는 통계처리 프로그램인 SAS (Statistical analysis program) software version 8 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 이용하여 95%

유의수준에서 평균값과 표준편차를 단칸의 다중검정 시험으로 각 방법간의 유의적인 차이를 확인하였다.

### PCR 조건

추출방법에 따른 PCR 증폭 유무를 확인하기 위해 식물 내재 유전자 및 각 견과류를 특이적으로 증폭하는 프라이머(Table 1)를 대상으로 Ex Taq DNA polymerase (TaKaRa, Tokyo, Japan)를 사용하여 PCR을 진행하였으며, 반응물의 조성은 다음과 같다. 10x Ex Taq buffer 2.5  $\mu\text{L}$ , dNTP 200  $\mu\text{M}$ , forward 및 reverse primer 각각 400 nM, Ex Taq polymerase 0.5 U, 주형 DNA 10 ng을 사용하여 반응액이 총 25  $\mu\text{L}$ 가 되도록 조성하였다. 식물 내재 유전자를 대상으로 한 PCR은 GeneAtlas (ASTEC, Fukuoka, Japan)을 이용하여  $94^{\circ}\text{C}$ 에서 5분간 최초 변성 후,  $94^{\circ}\text{C}$ 에서 30초,  $60^{\circ}\text{C}$ 에서 30초,  $72^{\circ}\text{C}$ 에서 30초의 과정을 35회 반복하고,  $72^{\circ}\text{C}$ 에서 7분 동안 최종 신장하였다. 각 견과류를 대상으로 실시한 PCR은  $95^{\circ}\text{C}$ 에서 10분간 최초 변성 후,  $94^{\circ}\text{C}$ 에서 30초,  $58-63^{\circ}\text{C}$ 에서 30초,  $72^{\circ}\text{C}$ 에서 30초의 과정을 35회 반복하고,  $72^{\circ}\text{C}$ 에서 7분 동안 최종 신장하였다(Table 1). PCR 반응의 증폭 결과는 2% 아가로스 젤에서 전기영동을 수행하였다.

## 결과 및 고찰

### DNA 추출 방법 비교

4가지 추출방법을 통해 견과류로부터 DNA를 추출하였다. DNA의 농도 및 순도와 식물 내재 유전자 및 각 견과류에 특이적인 유전자를 통한 증폭 정도로 효율성을 판단하였다. 먼저 추출한 DNA를 같은 양으로 1% 아가로스 젤에 전기영동한 결과, 7개의 견과류에서 4가지 방법을 사용하여 추출한 DNA 모두 2 kb 이상의 거대한 DNA분자를 확인할 수 있었다(Fig. 1). 캐슈너트의 경우 1차 가공으로 DNA가 분해, 파괴되어 DNA의 형상이 흐리게 나타난 것으로 생각된다. CT법을 사용하여 피스타치오 너트, 아몬드, 땅콩에서 DNA를 추출하였을 때, 밴드의 밝기가 QM, MQ, MC법보다 낮게 확인되었다.

4가지 추출법을 이용하여 각각의 시료 800 mg의 DNA를 추출하였으며, 순도는 각 방법간의 차이를 보이지 않았다. 각 시료의

Table 1. Primer information

Target	Primer name	Sequence (5'-3')	Product size (bp)	Annealing temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )	Reference
Pistachio	Pis-F Pis-R	ATCTGCCTTCGCATTCCTCATCCTG TTGGCTCTTCTGGACCTCCTGTT	173	58	Cheng <i>et al.</i> , 2016
Pine nut	Pin-F Pin-R	CCTCGTCCAACCTTTTATTCC AAACTGGCGATCAGAAGCTTGA	161	63	Garino <i>et al.</i> , 2016
Almond	Prd5-1F Prd5-1R	GGTTGTTGCAGCATACTTGTGGC GCTCCAACAGAGCCAAGGATGTCC	90	63	Costa <i>et al.</i> , 2012
Hazelnut	Haz-1F Haz-R	TCTTGAAGAGCATCAGCAAGTACC CATCGGAGTGTCCAAGAGGTAG	137	58	Cheng <i>et al.</i> , 2016
Cashew nut	Cashew-F Cashew-R	AACAGCCAGTGAATTGCC AACGCCAGAGTTGTGAAG	146	58	Cheng <i>et al.</i> , 2016
Walnut	Wal-F Wal-R	GATCTATATTGTTGGAAAATGTAG GGTTAGAATCATTAGTGGAAATCAG	120	63	Yano <i>et al.</i> , 2007
Peanut	Pea-F Pea-R	CCATATGATCGGAGAGGC TTGAGGCAAGTTCCTGAG	194	58	Cheng <i>et al.</i> , 2016
Plant	18S-F 18S-R	TGTTGGCCTTCGGATCGGAGTA GCTTTCGCAGTTGTTCTGCTTTCA	111	60	Mano <i>et al.</i> , 2009

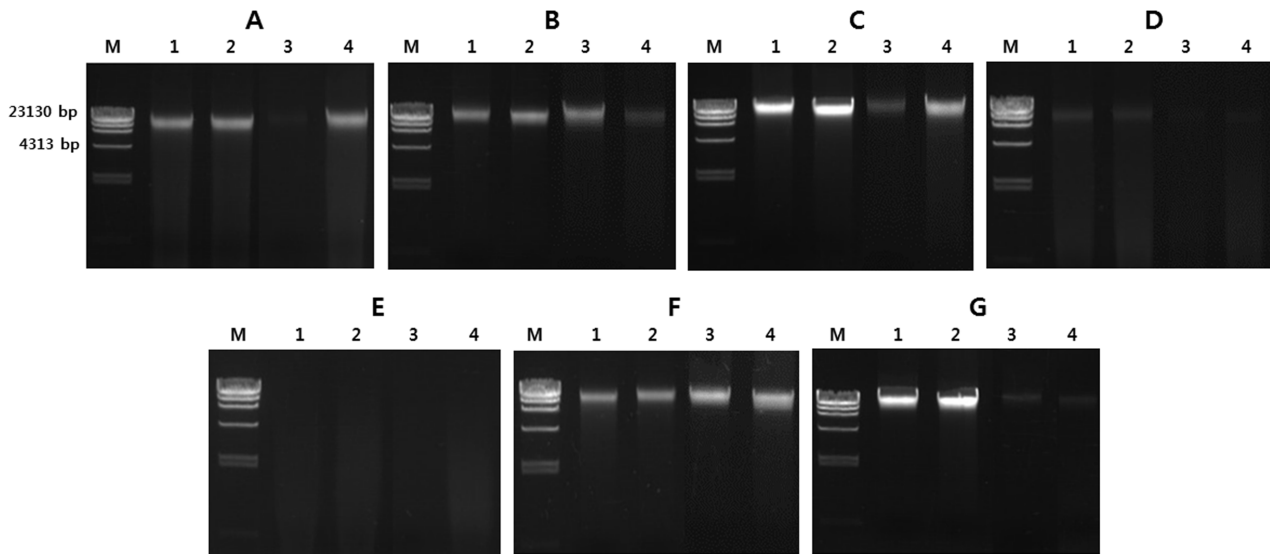


Fig. 1. Agarose gel electrophoresis of genomic DNA extracted from pistachio (A), pine nut (B), almond (C), hazelnut (D), cashew nut (E), walnut (F) and peanut (G) by four methods. Lane M, Lambda DNA/Hind III marker; lane 1, QM; lane 2, MQ; lane 3, CT; lane 4, MC

Table 2. Purity and content of DNA extracted from 800 mg of tree nuts by four extraction methods

(ng/μL)	Pistachio				Pine nut				Almond				Hazelnut			
	Purity	Min	Max	Mean <sup>1)±SD<sup>2)</sup></sup>	Purity	Min	Max	Mean±SD	Purity	Min	Max	Mean±SD	Purity	Min	Max	Mean±SD
QM	1.6	29.5	58.5	41.1±15.3 <sup>c</sup>	1.7	234.8	295.0	262.6±30.4 <sup>b</sup>	1.6	20.5	38.5	26.9±10.1 <sup>b</sup>	1.6	27.2	44.5	34.6±8.9 <sup>c</sup>
MQ	1.6	50.0	55.0	52.3±3.1 <sup>c</sup>	1.7	182.5	294.0	247.7±58.1 <sup>b</sup>	1.6	13.9	34.5	22.9±10.6 <sup>b</sup>	1.7	16.7	41.8	27.3±13.0 <sup>c</sup>
CT	1.8	358.0	386.8	375.9±15.6 <sup>a</sup>	1.7	685.0	836.0	786.4±87.8 <sup>a</sup>	1.7	53.0	135.0	84.3±44.3 <sup>a</sup>	1.7	54.5	110.0	83.4±27.8 <sup>a</sup>
MC	1.8	67.0	121.5	98.5±28.2 <sup>b</sup>	1.6	227.0	303.5	258.2±40.2 <sup>b</sup>	1.7	26.5	61.0	40.2±18.3 <sup>b</sup>	1.6	30.3	61.2	47.3±15.7 <sup>b</sup>

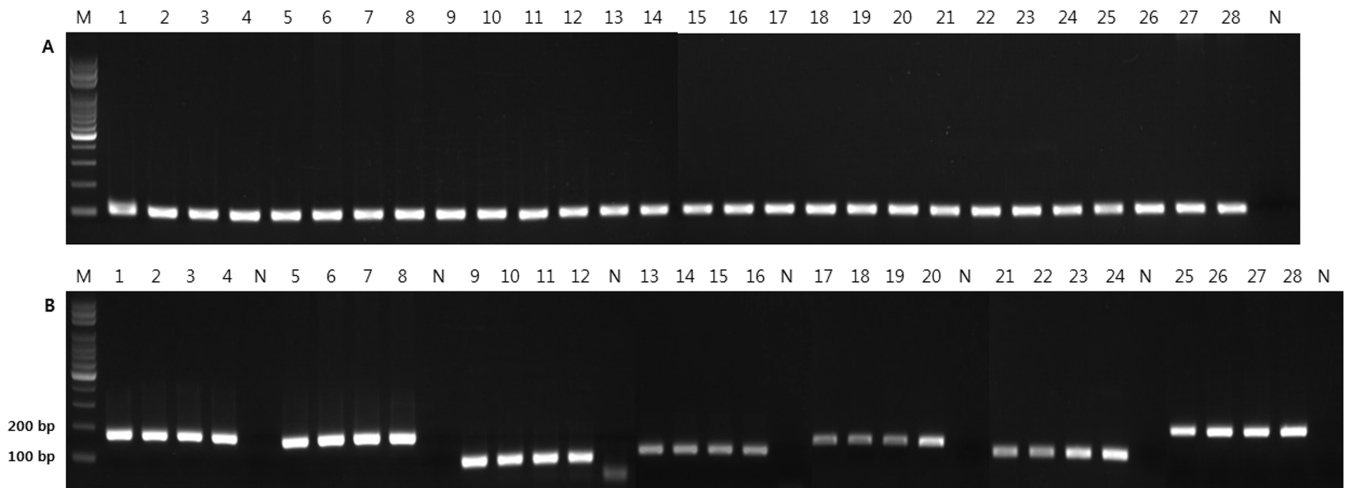
(ng/μL)	Cashew nut				Walnut				Peanut			
	Purity	Min	Max	Mean±SD	Purity	Min	Max	Mean±SD	Purity	Min	Max	Mean±SD
QM	1.5	14.9	22.0	17.7±3.8 <sup>c</sup>	1.4	100.2	148.0	128.2±25.0 <sup>b</sup>	1.7	170.3	225.0	198.6±27.4 <sup>b</sup>
MQ	1.6	14.1	36.0	21.9±12.2 <sup>c</sup>	1.4	57.2	97.0	78.4±20.1 <sup>c</sup>	1.7	108.0	172.0	153.7±39.8 <sup>c</sup>
CT	1.9	329.0	442.0	402.3±63.6 <sup>a</sup>	1.8	146.3	228.0	174.2±46.6 <sup>a</sup>	1.7	437.0	585.0	522.3±76.6 <sup>a</sup>
MC	1.6	8.0	35.0	24.56±14.5 <sup>b</sup>	1.5	39.3	48.5	45.1±5.0 <sup>d</sup>	1.8	72.5	139.0	102.3±33.8 <sup>d</sup>

<sup>1)</sup>Values for each sample with different superscript letters differ significantly ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple-range test.  
<sup>2)</sup>Standard deviation

농도를 측정된 결과 피스타치오 너트는 29.5-386.8 ng/μL, 잣은 182.5-836 ng/μL, 아몬드 13.9-135 ng/μL, 헤이즐넛은 16.7-110 ng/μL, 캐슈너트는 8-442 ng/μL, 호두는 39.3-228 ng/μL, 땅콩은 72.5-585 ng/μL로 측정되었다(Table 2). 던킨의 다중검정 시험으로 방법간의 차이를 비교한 결과 CT법으로 추출한 경우 모든 시료에서 시료 사용량에 비해 가장 많은 양의 DNA를 얻을 수 있었다. 호두와 땅콩을 제외한 시료들은 MC법을 사용하였을 때 CT법 다음으로 많은 양의 DNA가 추출되었으며, 피스타치오 너트, 헤이즐넛, 캐슈너트에서 QM, MQ법과 유의적인 차이가 있는 것으로 나타났다. 호두와 땅콩은 QM법이 CT법 다음으로 많은 양의 DNA가 추출되었다. 견과류를 대상으로 유전자 분석법을 사용한 기존의 연구와 비교했을 때, PVP를 첨가하거나 본 연구에서 사용되지 않은 상업적 키트들보다 CT법이 더 효율적으로 추출된 것을 확인할 수 있었다(Engel 등, 2009; Garino 등, 2016; Herman 등, 2003; Koppel 등, 2010; Sghaier 등, 2005). 그러나, DNA 추출에 2일 정도가 소요되는 CT법은 2-4시간이 소요되는 다른 3가지 추출법에 비해 수배이상 시간이 오래 걸린다는 한계

점이 있고, 유기용매를 사용한다는 단점이 있다. 다만 각 방법간 추출된 DNA 양의 차이가 큰 잣, 캐슈너트, 피스타치오 너트, 땅콩의 시료는 CT법이 가장 효율적인 추출법으로 판단되며, 호두, 헤이즐넛, 아몬드의 시료는 MC법 및 QM법이 CT법을 대체할 수 있을 것으로 판단된다.

견과류의 경우 지방산, 탄수화물, 페놀화합물 등 PCR반응의 저해 요소로 작용할 수 있는 물질들이 많이 함유되어있기 때문에 PCR을 통한 유전자 분석법 결과에 영향을 미칠 수 있다. DNA 추출방법에 따라 PCR 저해 요소들의 잔존여부를 판단하기 위해 4가지 방법으로 추출된 DNA들을 식물 내재유전자를 통해 PCR 분석을 실시하였다. 식물 내재 유전자의 경우 추출 방법에 관계 없이 모두 유사한 크기에서 증폭산물을 확인할 수 있었다. 견과류에 특이적인 유전자의 경우 모두 예상되는 크기에서 증폭산물을 확인할 수 있었다(Fig. 2). 본 연구에서 사용된 4가지 추출방법 모두 PCR반응의 저해/억제 요소를 효과적으로 제거하였으므로, 추출 시간 및 추출된 DNA 양을 대상으로 효율적인 견과류 추출법을 선택할 수 있을 것으로 판단된다.



**Fig. 2. Agarose gel electrophoresis of PCR product.** (A): Plant endogenous gene, (B): Tree nut specific genes. Lane M, 100 bp DNA ladder; lanes 1-4, Pistachio extracted by QM method, MQ method, CT method, MC method; lanes 5-8, Pine nut; lanes 9-12, Almond; lanes 13-16, Hazel nut; lanes 17-20, Cashew nut; lanes 21-24, Walnut; lanes 25-28, Peanut; lane N, no template

## 요 약

본 연구에서는 견과류로부터 식품 분석에 사용될 DNA를 4가지 방법으로 추출하고 그 효율을 비교하였다. 동일한 양의 시료를 사용하여 추출된 DNA의 양은 CTAB법이 가장 우수한 것으로 확인되었지만, 추출 시간이 수배이상 오래 걸리고 유기용매를 사용한다는 한계점이 있다. 다른 방법들과 DNA 추출 양의 차이가 큰 잣, 캐슈너트, 피스타치오 너트, 땅콩의 시료는 CTAB법이 가장 효율적인 방법으로 판단되며, 호두, 헤이즐넛, 아몬드 시료는 변형 CTAB법과 실리카 막법이 CTAB법을 대체할 수 있을 것으로 판단된다. 추출된 DNA를 식물 내재유전자 및 각 견과류에 특이적인 유전자를 사용하여 PCR을 진행하였으며, 모든 추출 방법에서 DNA가 정상적으로 증폭되는 것을 확인하였다.

## 감사의 글

본 연구는 식품의약품안전평가원(16163실용연003)에 의해 지원되었으며 이에 감사 드립니다.

## References

- Chapela MJ, Sotelo CG, Perez-Martin RI. Comparison of DNA extraction methods from muscle of canned tuna for species identification. *Food Control* 18: 1211-1215 (2007)
- Cheng F, Wu J, Zhang J, Pan A, Quan S, Zhang D, Kim HY, Li X, Zhou S, Yang L. Development and inter-laboratory transfer of a decaplex polymerase chain reaction assay combined with capillary electrophoresis for the simultaneous detection of ten food allergens. *Food Chem.* 199: 799-808 (2016)
- Costa J, Mafra I, Oliverira BPP. High resolution melting analysis as a new approach to detect almond DNA encoding for Pru du 5 allergen in foods. *Food Chem.* 133: 1062-1069 (2012)
- Costa J, Melo VS, Santos CG, Oliveira BPP, Mafra I. Tracing tree nut allergen in chocolate: A comparison of DNA extraction protocols. *Food Chem.* 187: 469-476 (2015)
- Crespo JF, James JM, Fernandez-Rodriguez C, Rodriguez J. Food allergy: nuts and tree nuts. *Brit. J. Nutr.* 96: 95-102 (2006)
- Di Pinto A, Forte VT, Tantillo G. A comparison of DNA extraction methods for food analysis. *Food Control* 18: 76-80 (2007)
- Dover S, Lee D. Development of sensitive crop-specific polymerase chain reaction assays using 5S DNA: applications in food traceability. *J. Agr. Food Chem.* 55: 4640-4644 (2007)
- Engel KH, Demmel A, Ehlert A, Hupfer C, Busch U. Simultaneous detection of DNA from ten food allergens by ligation-dependent probe amplification. *Food Addit. Contam.* 26: 409-418 (2009)
- Garino C, De Paolis A, Coisson JD, Bianchi DM, Decastelli L, Arlorio M. Sensitive and specific detection of pine nut (*Pinus* spp.) by real-time PCR in complex food products. *Food Chem.* 194: 980-985 (2016)
- Herman L, De Block J, Viane R. Detection of hazelnut DNA traces in chocolate by PCR. *Int. J. Food Sci. Tech.* 38: 633-640 (2003)
- Holzhauser T, Strphan O, Vieths S. Polymerase chain reaction (PCR) for detection of potentially allergenic hazelnut residues in complex food matrices. *Eur. Food Res. Technol.* 211: 360-365 (2000)
- Iniesto E, Jimenez A, Prieto N, Cabanillas B, Burbano C, Pedrosa MM, Rodriguez J, Muzquiz M, Crespo JF, Cuadrado C. Real Time PCR to detect hazelnut allergen coding sequences in processed foods. *Food Chem.* 138: 1976-1981 (2013)
- Kehrmeyer SR, Applegate BM, Pinkart HC. Combined lipid/DNA extraction method for environmental samples. *J. Microbiol. Meth.* 25: 153-163 (1996)
- Kim JN, Cho DH, Kim YM. Studies on the physicochemical properties of natural and imitation nuts. *Korean J. Food Nutr.* 13: 235-241 (2000)
- Koppel R, Dvorak V, Zimmerli F. Two tetraplex real-time PCR for the detection and quantification of DNA from eight allergens in food. *Eur. Food Res. Technol.* 230: 367-374 (2010)
- Korea Customs Service. Major Nuts Import Trends in the Last 10 Years. Available from: [http://customs.go.kr/kcshome/cop/bbs/selectBoard.do;jsessionid=WTtvX20GpjkMypjKM67GRNTy5hfRV8gQ2X3bM2J1JhbP4Kpz5mDP!-2132147754?bbsId=BBSMSTR\\_1018&nttId=2266&layoutMenuNo=16222&siteId=mokpo&searchCtgry=&searchCnd=&searchWrd=&bcode=&pcode=&recordCountPerPage=10](http://customs.go.kr/kcshome/cop/bbs/selectBoard.do;jsessionid=WTtvX20GpjkMypjKM67GRNTy5hfRV8gQ2X3bM2J1JhbP4Kpz5mDP!-2132147754?bbsId=BBSMSTR_1018&nttId=2266&layoutMenuNo=16222&siteId=mokpo&searchCtgry=&searchCnd=&searchWrd=&bcode=&pcode=&recordCountPerPage=10) Accessed Jan. 25, 2013.
- Lee SJ, Yoon HY, Hong KW. A PCR method for rapid detection of peanut ingredients in food. *Korean J. Food Sci. Technol.* 41: 350-353 (2009)
- Mano J, Shigemitsu N, Futo S, Akiyama H, Teshima R, Hino A, Furui S, Kitta K. Real-time PCR array a universal platform for the detection of genetically modified crops and its application in identifying unapproved genetically modified crops in japan. *J. Agr. Food Chem.* 57: 26-37 (2009)
- Meyer R. Development and application of DNA analytical methods for the detection of GMOs in food. *Food Control.* 10: 391-399 (1999)
- Park YC, Kim MR, Shin JH, Kim KH, Lee JH, Cho TY, Lee HJ, Lee SJ, Han SB. Development of PCR method for rapid detec-

- tion of allergic materials in foods. J. Food Hyg. Saf. 28: 124-129 (2013)
- Rohland N, Hofreiter M. Comparison and optimization of ancient DNA extraction. BioTechniques 42: 343-352 (2007)
- Sghaier Z, Ferchichi A, Mohamed C. Genomic DNA extraction method from pearl millet (*Pennisetum glaucum*) leaves. Afr. J. Biotechnol. 4: 862-866 (2005)
- Shin KS, Woo JH, Lim MH, Lee JH. Comparison of the efficiency of different DNA extraction methods on livestock feeds and those raw materials. J. Korean Soc. Int. Agr. 28: 243-251 (2016)
- Suzanne ST, Sarah SC, Shridhar KS, Kenneth HR. Tree nut allergy. Curr. Allergy Asthm. R. 3: 54-61 (2003)
- Verbylaite R, Beisys P, Rimas V, Kuusiene S. Comparison of ten DNA extraction protocols from wood of european aspen (*Populus tremula* L.). Balt. For. 16: 35-42 (2010)
- Volossiuk T, Robb EJ, Nazar RN. Direct DNA Extraction for PCR-Mediated Assays of Soil Organisms. Appl. Environ. Microb. 61: 3972-3976 (1995)
- Yano T, Sakai Y, Uchida K, Nakao Y, Ishihata K, Nakano S, Yamada T, Sakai S, Urisu A, Akiyama H, Maitani T. Detection of walnut residues in processed foods by polymerase chain reaction. Biosci. Biotechnol. Biochem. 71: 1793-1796 (2007)