



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0073145
(43) 공개일자 2013년07월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

G01N 33/12 (2006.01) G01N 27/62 (2006.01)

H01J 49/26 (2006.01) G01N 1/28 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2011-0140843

(22) 출원일자 2011년12월23일

심사청구일자 2011년12월23일

(71) 출원인

조선대학교산학협력단

광주광역시 동구 서석동 375 조선대학교 내

충북대학교 산학협력단

충청북도 청주시 흥덕구 내수동로 52 (개신동)

(72) 발명자

김경수

광주광역시 남구 진월동 삼익2차 201동 1505호

이순임

광주광역시 서구 풍암동 대주파크빌 201동 105호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이덕록

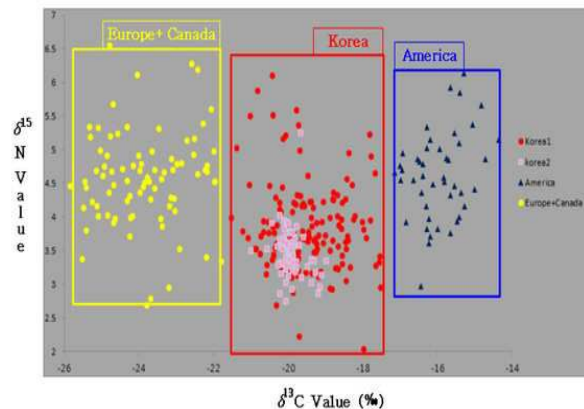
전체 청구항 수 : 총 4 항

(54) 발명의 명칭 탄소와 질소 동위원소 비율 분석에 의한 돈육의 원산지 판별방법

(57) 요약

본 발명은 탄소와 질소 동위원소 비율 분석에 의한 돼지고기의 원산지 판별방법에 관한 것으로 EA-IR/MS(Elemental Analyzer-Isotope Ratio/Mass Spectrometry)를 이용하여 동위원소 자연 존재비율 특성 분석과 실제 원산지 일치 여부를 탄소와 질소 안정동위원소 비율($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ -value ‰)로 분석함에 있어서 안전동위원소는 생체대사 조건 및 온도, 지역적 특성, 식이환경 등 다양한 조건에 따라 동위원소 분별 효과를 갖는 점을 고려하여 국내산 및 수입산 돈육 중 C, N 동위원소($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) 별 자연존재비율 분석 및 원산지별 δ -value ‰ 분석 실험에 의한 지역적 특성을 확인하고, 각 국가별 돼지고기 단백질의 안전동위원소 비율($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ -value ‰)차이를 이용하여 돼지고기 원산지판별을 확인하는 뛰어난 효과가 있다.

대표도 - 도4



(72) 발명자

김재성

광주광역시 남구 주월동 463-4

김관석

충청북도 청주시 흥덕구 사직동 푸르시오 캐슬아파트 406동 704호

정영철

강원도 철원군 김화읍 청양리 523-2

심성례

대전광역시 유성구 하기동 송림마을 301동 1703호

박수민

경기도 광명시 철산3동 한신아파트 107동 1603호

특허청구의 범위

청구항 1

돈육시료의 동위원소비율($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N-value } \%$)을 확인함을 특징으로 하는 돈육의 원산지 판별방법

청구항 2

돈육에서 지방부위를 분리제거 한 다음 수분을 제거하고, 동결건조한 다음 단백질 부분을 시료로 하여 자동원소 분석기에서 동위원소비율($\%$)을 확인하는 것을 특징으로 하는 돈육의 원산지 판별 방법

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 돈육시료의 수분제거는 단백질시료 10g을 100mL의 톨루엔(Toluene)을 가하여 상압에서 2 시간 공비증류함을 특징으로 하는 원산지 판별방법

청구항 4

제2항에 있어서, 상기 돈육시료의 동결건조는 2025℃에서 응축기 온도 -50℃, 압력 10mTor 에서 24시시간 동결 하여 돈육시료의 온도가 20℃인 것이 특징인 원산지 판별방법

명 세 서

기술분야

[0001] 본 발명은 돼지고기의 원산지판별방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 본 발명은 탄소와 질소 동위원소 비율 분석에 의한 돈육의 원산지 판별에 관한 것이다. 사회가 발전함에 따라 소비자들은 식품 기원에 대한 정보를 원하고 있으며, 이 정보는 식품 구매에 있어서 중요한 부분을 차지하고 있다. 하지만 판매자가 보다 높은 수익을 창출하기 위해 유통 과정 도중 사실과 다른 표기를 하는 부정유통이 증가하고 있으며, 이에 따라 유럽연합 및 각 국가에서는 상품의 부정 표기를 방지하기 위한 법이 제정되었다. 현재 원산지 판별 방법으로는 유기물 분석으로 판별하는 근적외선 분광법, x-선 형광 분석기, 전자코, Capillary electrophoresis, NMR 방법 그리고 무기물 분석을 통한 IPC법, 그리고 유전자를 이용한 방법, 동위원소 비율분석 등이 공지되어 있다.

[0003] 식품의 원산지를 밝히는데 사용되는 안전동위원소는 $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{18}\text{O}$, $\delta^2\text{H}$, $\delta^{34}\text{S}$, $\delta^{87}\text{Sr}$ 있으며, 그 중 산소와 수소의 동위원소비율은 기온, 습도, 바다와의 거리등과 밀접한 관계가 있으므로 생명체의 산소 동위원소비율을 통해 생산 지역의 위치를 추적할 수 있다. $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ 비율은 생명체의 먹이 섭취 환경이 밀접하게 반영되므로 $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ 분석을 통해 생명체의 식이적 차이에 의한 원산지를 판별할 수 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 본 발명의 목적은 이중 동위원소 비율분석을 이용하여 돈육의 원산지를 식별하여 음식점을 포함한 돼지고기판매점과 학교급식을 유통단계에서 원산지 허위표시 여부를 단속하는데 필요한 과학적이고 효율적인 돈육 식별 방법을 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

[0005] 본 발명의 상기 목적을 돈육을 수집하여 전처리하는 단계와; 살코기를 균질화하는 단계와; 돈육의 구성성분 중 탄소와 질소의 안전동위원소($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$)를 EA-IRMS기기로 분석하여 동위원소비율($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N-Value } \%$)을 확

인하여 돈육의 원산지를 판정하는 단계를 통하여 달성하였다.

발명의 효과

- [0006] 이상 설명한 바와 같이 본 발명에 EK라 이중 동위원소 $\delta^{13}\text{C}$ 와 $\delta^{15}\text{N}$ 를 이용하면 돈육의 원산지 판별을 용이하게 할 수있는 효과가 있고 돈육의 원산지 정보를 제공하는 뛰어난 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

- [0007] 도 1은 본 발명 탄소와 질소 동위원소 비율분석에 의한 돈육의 원산지 판별의 개략도이다.
- 도 2는 $\delta^{13}\text{C}$ 값의 그래프이다.
- 도 3은 $\delta^{15}\text{N}$ 값의 그래프이다.
- 도 4는 국내산 및 수입산 돼지고기의 탄소동위원소 비율분석 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0008] 본 발명에서는 국립농산물품질관리원에서 분양받은 돈육을 시료로 사용하였다. 지방부위를 분리제거한 후, azeotropic distillation 방법을 이용하여 수분을 제거한 살코기를 -72 냉동고에서 24시간 냉동하여 냉동된 시료를 동결건조기(Labconco 7754500, Labconco, Kansas, USA)의 shell에 넣고 실온(20-25)에서 응축기 온도 -50oC, 압력 10 mTor의 조건으로 24시간 동결 건조하였다.
- [0009] 자동원소분석기(Automated elemental analyzer, Eurovector 3000 Series)를 continuous flow-through inlet system-isotope ratio mass spectrometer(CF-IRMS, Isoprime)에 부착시켜 사용하였다. 돈육의 탄소동위원소 비율 분석은 EA/IRMS 분석기기를 사용하여 분석하였다. EA/IRMS 분석 조건은 Combustion furnace 온도는 1,050℃로 하였고, Reduction furnace 온도는 650℃로 하였으며, GC packed column oven은 115로 설정하였다. Column은 Reference capillary column은 L=1.5 m, I.D.(f)=100 mm, Sample capillary column은 L=2.5 m, I.D.(f)=75 mm으로 설정하였다. Run time은 385sec로 하였으며, carrier gas는 helium을 사용하여 유속은 115 mL/min으로 하였다.
- [0010] 균질화시킨 돈육의 탄소분석에는 약 0.1 을 N 분석에는 약 1 mg tin capsule에 넣고 압착, 밀봉하여 자동원소 분석기(Automated elemental analyzer, Eurovector 3000 Series)에 넣고 산화로 및 환원로의 온도를 각각 1,050 및 650로 하여 유기물을 완전 연소시킨 후 발생하는 CO₂와 N₂의 gas를 헬륨(He)을 유도기체로 사용하여 EA/IRMS에 주입하여 탄소와 질소 안정동위원소 비를 분석하였다. 동위원소 분석에 사용된 tin capsule 과 silver capsule은 EuroVector(Milan, Italy)로부터 구입하였으며, 분석에 사용된 가스는 모두 순도 99.999% 이상의 초고순도 가스를 사용하였다. 돈육의 안정동위원소인 탄소의 비율 값은 국제 표준물질(International standard material)에 대한 시료의 비율 값 변위를 천분율(‰)로 환산하여 δ 기호로 표기하였다.

[0011]
$$\Delta \text{‰} = \left(\left(\frac{R_{\text{sample}}}{R_{\text{std}}} \right) - 1 \right) \times 1000$$

[0012]
$$R = \left(\frac{{}^{13}\text{C}}{{}^{12}\text{C}} \right), \left(\frac{{}^{15}\text{N}}{{}^{14}\text{N}} \right)$$

- [0013] 이때 사용한 표준물질은 국제표준 기준물질로 PDB(PeeDee Belmnite)를 사용하였으며, 실제 분석에는 IAEA 인증 표준물질로 IAEA CH-6(sucrose, $\delta^{13}\text{C}=-10.40.2$)을 표준물질로 하여 동위원소의 비율을 구하였다. 질소는 표준 물질은 국제표준 기준물질로 대기 질소 air N₂를 사용하였으며, 실제 분석에는 IAEA 인증 표준물질로 IAEA-N1(ammonium sulfate, $\delta^{15}\text{N}=+0.40.2$)을 표준물질로 하여 동위원소의 비율을 구하였다. 분석의 정확성을 위해 reference 물질로 urea와 glutamate를 사용하였고, $\delta^{13}\text{C}$ 분석에는 urea 약 0.2 mg, glutamate 약 0.1mg을 사용하였다. $\delta^{15}\text{N}$ 분석에는 urea 약 0.2 mg, glutamate 약 0.5 mg을 사용하였다.

[0014] 이하. 본 발명의 구체적인 기술적 구성을 하기 실시예와 도면을 참고하여 설명한다.

[0015] **실험재료**

[0016] 본 발명에서는 국립농산물품질관리원에서 분양받은 돈육(국내산 95점, 수입산 99점)을 시료로 사용하였다. 지방 부위를 분리한 후, azeotropic distillation 방법을 이용하여 수분을 제거한 살코기를 -72 냉동고에서 24시간 냉동하여 냉동된 시료를 동결건조기(Labconco 7754500, Labconco, Kansas, USA)의 shell에 넣고 실온(25°C)에서 응축기 온도 -50°C, 압력 10 mTor의 조건으로 24시간 동결 건조하였다. 동결건조 후 시료의 실제온도는 201°C이었으며 국가별 시료 수집 현황은 아래[표 1]과 같다.

[0017] [표 1] 국가별 시료 수집현황

		국산	수입산	
지역 및 나라별 시료량	강원	5	네덜란드	8
	경기	12	덴마크	1
	경남	13	멕시코	1
	경북	16	미국	4
	서울	3	벨기에	12
	전남	15	스페인	4
	전북	9	오스트리아	14
	제주	5	칠레	29
	충남	12	캐나다	4
	충북	5	폴란드	6
			프랑스	10
			헝가리	6
		95	99	
합계		194개		
전처리 완료된 시료		194개		

[0018]

[0019] **시약**

[0020] 본 발명에 사용한 모든 시약은 특급시약으로 미국 Sigma사와 Fisher Scientific(USA)사로부터 구입하였으며, 유기용매의 탈수에 사용된 무수 Na₂SO₄는 650°C 회화로에서 24시간 태운 뒤 desiccator에서 방냉한 후 사용하였다.

[0021] **실험방법**

[0022] **Azeotropic distillation(공비증류법)을 이용한 증류공정**

[0023] 공비증류에 의한 시료 중의 수분을 분리 추출하기 위하여 리비히 냉각기, 정량장치 및 증류플라스크 등으로 구성된 장치를 사용하였다. 수분의 분리는 지방을 제거한 단백질 부분의 시료 10 g을 100mL의 Toluene을 가하여 상압에서 2시간 공비증류 하였다. [표 2] 이 방법에 의하여 탈수된 단백질 부위는 EA-IRMS 분석기기를 이용한 동위원소 $\delta^{13}\text{C}$ & $\delta^{15}\text{N}$ 분석에 사용하였으며, 증류액은 EA-IRMS로 동위원소 $\delta^2\text{H}$ $\delta^{18}\text{O}$ 의 δ -values %를 측정하기 위하여 -18에 보관 하였다.

[0024] [표 2] 톨루엔과 물의 비교

	MF	BP	SG	SP	SB
Toluene	C ₇ H ₈	110.6	0.87	2.4	0.051
Water	H ₂ O	100	1	9	100

¹⁾Molecular formula, ²⁾Boling point, ³⁾Specific gravity, ⁴⁾Solvent polarity, ⁵⁾Solubility

[0025]

[0026] **시료 준비**

[0027] 시료에 잔류한 유기용매를 완전히 제거하기 위해 감압농축방법을 사용하였다. 감압농축은 감압농축기(RE121, Buchi, Switzerland)를 사용하여 76mbar 압력 하에서 약 44로 가열하면서 잔류한 유기용매가 완전히 제거되어 시료가 화석화될 때까지 농축하였다. 120rpm의 속도로 회전시켰으며, 농축 후 시료에 묻은 지방을 세척하기 위해 일정량의 toluene에 행군 후 centrifugal evaporation system 을 이용하여 용매를 제거한뒤 80 dry oven에서 5시간 건조시킨 후 균질화하여 분석시료로 사용하였다.(도 1 및 표 3 ~ 표 4)

[0028] [표 3] 돈육의 원산지 판별 분석을 위한 전처리 및 기기분석시간

Process		Time	
Preparation	Azeotropic distillation	150 mins	Azeotropic apparatus
	Lyophilization	48 hrs	Freeze dryer
	Fat extraction	12 hrs	Soxhlet
	Homogenize	10 mins	Homogenizer
Analysis	Sampling	20 mins	0.1~1.0 mg in capsule
	Measure	C	10 mins
		H	30 mins
		O	30 mins
		N	10 mins
			EA-IRMS
Total		70 hrs	-

[0029]

[0030] [표 4] C, N($\delta^{13}\text{C}$ 와 $\delta^{15}\text{N}$)분석을 위한 EA-IRMS 기기 조건

Parameters	Operating conditions
Combustion furnace	1,050 ℃
Reduction furnace	650 ℃
GC packed column oven	115 ℃
Reference capillary column	L=1.5 m, I.D.(f)=100 mm
Sample capillary column	L=2.5 m, I.D.(f)=75 mm
Run time	385 sec
He carrier flow	115 ml/min

[0031]

[0032] C, N(¹³C & ¹⁵N) 동위원소 비율 분석

[0033] 자동원소분석기(Automated elemental analyzer, Eurovector 3000 Series)를 continuous flow-through inlet system-isotope ratio mass spectrometer(CF-IRMS, Isoprime)에 부착시켜 사용하였다. 돈육의 탄소동위원소 비율 분석은 EA/IRMS 분석기기를 사용하여 분석하였다. EA/IRMS 분석 조건은 상기 [표 4]와 같이 Combustion f650로 하였으며, GC packed column oven은 115로 설정하였다. Column은 Reference capillary column은 L=1.5 m, I.D.(f)=100 mm, Sample capillary column은 L=2.5 m, I.D.(f)=75 mm으로 설정하였다. Run time은 385sec로 하였으며, carrier gas는 helium을 사용하여 유속은 115 mL/min으로 하였다.

[0034] 균질화시킨 돈육의 탄소분석에는 약 0.1 을 N 분석에는 약 1 mg tin capsule에 넣고 압착, 밀봉하여 자동원소 분석기(Automated elemental analyzer, Eurovector 3000 Series)에 넣고 산화로 및 환원로의 온도를 각각 1,050 및 650로 하여 유기물을 완전 연소시킨 후 발생하는 CO₂와 N₂의 gas를 헬륨(He)을 유도기체로 사용하여 EA/IRMS에 주입하여 탄소와 질소 안정동위원소 비를 분석하였다. 동위원소 분석에 사용된 tin capsule 과 silver capsule은 EuroVector(Milan, Italy)로부터 구입하였으며, 분석에 사용된 가스는 모두 순도 99.999% 이상의 초고순도 가스를 사용하였다. 돈육의 안정동위원소인 탄소의 비율 값은 국제 표준물질(International standard material)에 대한 시료의 비율 값 변위를 천분율(‰)로 환산하여 기호 δ로 표기하였다.

[0035]
$$\text{Delta } \text{‰} = \left(\left(\frac{R_{\text{sample}}}{R_{\text{std}}} \right) - 1 \right) \times 1000$$

[0036]
$$R = ({}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C}), ({}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N})$$

[0037] 이때 사용한 표준물질은 국제표준 기준물질로 PDB(PeeDee Belmnite)를 사용하였으며, 실제 분석에는 IAEA 인증 표준물질로 IAEA CH-6(sucrose, δ¹³C=-10.4±0.2‰)을 표준물질로 하여 동위원소의 비율을 구하였다. 질소는 표준물질은 국제표준 기준물질로 대기 질소 air N₂를 사용하였으며, 실제 분석에는 IAEA 인증 표준물질로 IAEA-N1(ammonium sulfate, δ¹⁵N=+0.4±0.2‰)을 표준물질로 하여 동위원소의 비율을 구하였다. 분석의 정확성을 위해 reference 물질로 urea와 glutamate를 사용하였고, δ¹³C 분석에는 [도 2]와 같이 urea 약 0.2 mg, glutamate 약 0.1mg을 사용하였다. δ¹⁵N 분석에는 [도 3]과 같이 urea 약 0.2 mg, glutamate 약 0.5 mg을 사용하였다.

[0038] <실험결과>

[0039] C(δ¹³C) 동위원소 비율 분석결과

[0040] 생체 조직 내에서 생체의 대사방법, 생체의 먹이 섭취 환경 등에 의해 탄소 동위원소 분별 효과가 나타난다. 특히 광합성을 하는 식물의 경우 그 차이가 두드러지는데 이는 대사 과정에서 질량수 12값을 갖는 탄소가 질량수 13의 탄소보다 더 쉽게 반응을 하며, 식물체 내에는 질량수 13을 갖는 탄소가 보다 더 많이 잔존하게 되어 식물 조직 내에서는 대기 중 CO₂의 δ¹³C values보다 더 높은 값을 갖게 된다. 식물은 광합성 경로에 C₃, C₄ 그리고 CAM(crassulacean acid metabolism)식물 이렇게 3가지 종으로 분류하게 되는데 이들 또한 각각 다른 δ¹³C values을 갖게 된다. C₃식물의 경우 광합성 과정에서 대기중의 CO₂가 5탄당인 ribulose-biphospate에 의해 2분자의 C₃ 형태의 PGA(phosphoglyceric acid)가 형성되며, δ¹³C values은 -24-32를 갖는다. 대표적인 식물로는 콩, 감자, 야채와 같은 농작물이 포함된다. C₄식물의 경우 dicarboxylic acid 경로에서 CO₂는 phosphoenolpyruvate carboxylase에 의해 C₄화합물이 되어 유관속초로 유입 되면서 CO₂를 유관속초에 공급하고, 이 CO₂로 rubisco는 캘빈회로를 진행하게 된다. 이때 δ¹³C values은 -10-19‰을 갖으며, 주로 열대성 기원 식물이 대표적이며 잔디, 옥수수, 사탕수수등이 속한다. C₄ 식물은 C₃ 식물과 비교하여 풍부한 ¹³C가 존재하며,

CAM 식물의 경우 이 두 식물의 중간 형태를 보이며, $\delta^{13}\text{C}$ values는 -12-30‰을 갖는다. 따라서 동물이 섭취하는 C_3 식물과 C_4 식물의 $\delta^{13}\text{C}$ values가 동물의 $\delta^{13}\text{C}$ values에 반영된다.

[0041] 따라서 국내산 돼지고기의 $\delta^{13}\text{C}$ value의 경우 -19.24 ± 1.03 로 캐나다와 유럽지역의 -23.54 ± 1.24 보다 약 4 높고, 캐나다를 제외한 아메리카 지역의 -15.87 ± 0.66 보다는 약 4% 낮은 값을 나타내어 지역에 따른 차이를 확인할 수 있었다. $\delta^{13}\text{C}$ values는 섭취 환경과 밀접한 관계가 있으며, 주 섭취물인 C_3 식물과 C_4 식물의 탄소동위원소 비율 차이로 볼 때 지역별 돼지고기 탄소동위원소 비율은 돼지 사료에서 C_3 식물과 C_4 식물의 즉, 유럽지역의 양돈 농가에서는 주로 C_3 식물인 콩, 야채를 주로 사료로 사용하며, 아메리카의 경우는 옥수수, 수수를 사료로 사용하고, 국내 양돈의 경우 C_3 식물과 C_4 식물이 섞인 사료를 혼용하고 있어 $\delta^{13}\text{C}$ values는 중간 값을 갖는 것으로 사료된다.(도 4 및 표5 ~ 표8)

[0042] [표 5] 2010 국산시료(144개)

(unit : ‰)															
Sample	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	Sample	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	Sample	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	Sample	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	Sample	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	
No 1	-18.77	4.36	No 33	-19.18	3.10	No 65	-19.21	3.52	No 97	-20.65	3.92	No 129	-18.79	4.25	
No 2	-17.64	3.27	No 34	-18.86	3.98	No 66	-19.47	4.61	No 98	-18.78	4.24	No 130	-19.71	3.37	
No 3	-18.43	3.52	No 35	-18.56	3.95	No 67	-20.57	3.14	No 99	-20.89	3.52	No 131	-19.90	3.09	
No 4	-20.73	3.70	No 36	-19.68	4.89	No 68	-19.30	3.46	No 100	-20.38	3.42	No 132	-19.74	3.59	
No 5	-17.81	5.22	No 37	-17.77	4.98	No 69	-19.25	3.47	No 101	-19.74	3.32	No 133	-18.27	4.47	
No 6	-19.84	4.21	No 38	-19.58	4.19	No 70	-19.00	3.72	No 102	-20.30	3.59	No 134	-19.72	5.35	
No 7	-19.85	2.87	No 39	-19.12	3.18	No 71	-19.89	3.30	No 103	-20.42	3.36	No 135	-21.37	5.02	
No 8	-18.23	3.96	No 40	-20.37	3.75	No 72	-18.67	4.01	No 104	-19.62	3.67	No 136	-19.36	4.21	
No 9	-18.32	3.24	No 41	-18.20	4.01	No 73	-20.4	5.50	No 105	-20.56	3.27	No 137	-20.12	5.15	
No 10	-18.40	3.70	No 42	-20.38	3.43	No 74	-18.45	4.25	No 106	-19.87	4.06	No 138	-18.80	3.64	
No 11	-20.84	3.51	No 43	-18.86	2.93	No 75	-19.27	3.67	No 107	-19.08	3.92	No 139	-19.30	3.64	
No 12	-17.97	2.03	No 44	-18.44	3.04	No 76	-18.86	3.49	No 108	-19.96	3.37	No 140	-20.02	3.18	
No 13	-17.51	2.94	No 45	-19.83	3.25	No 77	-19.46	3.63	No 109	-21.06	3.68	No 141	-18.55	3.29	
No 14	-20.5	3.75	No 46	-20.65	3.77	No 78	-19.90	3.71	No 110	-19.71	3.48	No 142	-20.34	3.53	
No 15	-21.03	4.47	No 47	-17.89	3.68	No 79	-18.67	4.32	No 111	-21.21	3.78	No 143	-20.09	3.57	
No 16	-20.21	4.20	No 48	-18.73	3.23	No 80	-19.90	3.18	No 112	-19.42	3.69	No 144	-19.73	3.59	
No 17	-19.23	3.59	No 49	-20.21	4.11	No 81	-20.02	3.65	No 113	-19.32	4.13				
No 18	-21.52	3.98	No 50	-19.51	3.16	No 82	-19.61	3.78	No 114	-19.36	3.85				
No 19	-20.05	5.20	No 51	-19.70	2.21	No 83	-19.66	4.30	No 115	-20.15	4.43				
No 20	-19.74	3.11	No 52	-19.78	4.18	No 84	-18.64	3.87	No 116	-20.53	3.92				
No 21	-19.45	3.76	No 53	-20.43	3.92	No 85	-17.56	3.32	No 117	-21.02	5.49				
No 22	-18.46	3.61	No 54	-18.55	3.41	No 86	-19.05	3.60	No 118	-20.18	4.07				
No 23	-17.79	3.94	No 55	-19.75	4.32	No 87	-19.17	3.72	No 119	-19.84	3.74				
No 24	-18.41	4.56	No 56	-20.40	3.84	No 88	-18.66	3.55	No 120	-20.81	5.87				
No 25	-17.66	4.64	No 57	-19.23	3.90	No 89	-20.17	3.21	No 121	-18.36	4.94				
No 26	-19.51	3.65	No 58	-20.02	3.65	No 90	-20.48	4.45	No 122	-19.41	4.22				
No 27	-18.55	4.21	No 59	-18.66	3.22	No 91	-20.03	3.79	No 123	-19.77	5.58				
No 28	-19.56	4.15	No 60	-19.71	3.19	No 92	-18.38	3.64	No 124	-19.74	3.46				
No 29	-19.36	3.15	No 61	-20.29	3.86	No 93	-20.32	4.28	No 125	-20.41	6.09				
No 30	-18.00	3.92	No 62	-18.56	3.81	No 94	-20.73	3.44	No 126	-19.62	4.16				
No 31	-18.81	2.92	No 63	-17.54	3.40	No 95	-20.11	3.66	No 127	-19.04	4.22				
No 32	-17.96	3.80	No 64	-18.69	3.23	No 96	-19.38	3.98	No 128	-20.32	2.67				

[0043]

[0044] [표 6] 2011년 시료(85개)

(unit : ‰)

Sample		$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	Sample		$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	Sample		$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
CBNU-01	No 145	-20.10	3.65	CBNU-39	No 176	-19.94	3.77	CBNU-76	No 207	-19.92	3.50
CBNU-02	No 146	-19.67	5.25	CBNU-40	No 177	-19.66	3.10	CBNU-78	No 208	-19.83	3.19
CBNU-03	No 147	-20.01	3.76	CBNU-41	No 178	-20.24	4.03	CBNU-79	No 209	-19.78	3.34
CBNU-04	No 148	-20.17	3.55	CBNU-42	No 179	-19.98	3.47	CBNU-80	No 210	-19.71	3.60
CBNU-05	No 149	-19.84	3.60	CBNU-43	No 180	-19.98	3.54	CBNU-81	No 211	-19.78	3.34
CBNU-07	No 150	-20.12	3.69	CBNU-44	No 181	-19.89	3.55	CBNU-82	No 212	-19.89	3.76
CBNU-08	No 151	-20.24	3.66	CBNU-45	No 182	-20.22	3.33	CBNU-83	No 213	-19.87	3.43
CBNU-09	No 152	-20.31	3.56	CBNU-46	No 183	-19.78	3.87	CBNU-84	No 214	-19.91	2.93
CBNU-10	No 153	-20.01	3.53	CBNU-47	No 184	-19.74	3.58	CBNU-85	No 215	-20.05	3.28
CBNU-11	No 154	-19.91	3.76	CBNU-48	No 185	-20.16	3.52	CBNU-86	No 216	-21.01	3.51
CBNU-12	No 155	-20.14	3.69	CBNU-51	No 186	-20.06	3.61	CBNU-89	No 217	-19.78	3.33
CBNU-13	No 156	-20.45	3.92	CBNU-52	No 187	-20.23	2.86	CBNU-90	No 218	-20.08	3.03
CBNU-14	No 157	-20.00	3.48	CBNU-53	No 188	-19.61	3.70	CBNU-91	No 219	-19.38	3.03
CBNU-15	No 158	-20.12	3.95	CBNU-54	No 189	-19.97	3.38	CBNU-92	No 220	-19.50	3.26
CBNU-18	No 159	-20.10	3.64	CBNU-55	No 190	-19.84	3.69	CBNU-93	No 221	-19.00	3.35
CBNU-19	No 160	-20.05	3.93	CBNU-56	No 191	-20.12	3.82	CBNU-94	No 222	-19.39	3.37
CBNU-20	No 161	-20.07	3.42	CBNU-58	No 192	-20.21	3.16	CBNU-95	No 223	-19.32	3.35
CBNU-22	No 162	-20.00	3.92	CBNU-59	No 193	-20.09	3.30	CBNU-96	No 224	-19.11	3.14
CBNU-23	No 163	-20.01	3.61	CBNU-60	No 194	-20.14	3.65	CBNU-97	No 225	-19.21	2.87
CBNU-24	No 164	-20.06	3.76	CBNU-61	No 195	-19.99	3.12	CBNU-99	No 226	-19.16	2.97
CBNU-25	No 165	-19.96	3.80	CBNU-64	No 196	-19.92	3.45	CBNU-100	No 227	-19.29	3.18
CBNU-26	No 166	-19.84	3.71	CBNU-65	No 197	-20.08	3.23				
CBNU-28	No 167	-20.58	3.53	CBNU-66	No 198	-19.90	3.22				
CBNU-29	No 168	-20.08	2.75	CBNU-67	No 199	-20.16	3.53				
CBNU-31	No 169	-19.91	3.62	CBNU-68	No 200	-20.26	3.29				
CBNU-32	No 170	-20.01	3.45	CBNU-69	No 201	-19.94	3.49				
CBNU-33	No 171	-19.93	3.57	CBNU-70	No 202	-20.14	3.33				
CBNU-34	No 172	-20.14	3.30	CBNU-72	No 203	-19.92	3.27				
CBNU-35	No 173	-20.02	3.32	CBNU-73	No 204	-19.87	3.32				
CBNU-36	No 174	-20.09	3.64	CBNU-74	No 205	-20.07	3.24				
CBNU-38	No 175	-20.12	3.55	CBNU-75	No 206	-19.79	3.24				

[0045]

[0046] [표 7] 2010+2011 국외시료(유럽 + 캐나다)(85개)

(unit : ‰)								
Sample	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	Sample	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	Sample	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
Netherlands1	-25.83	4.46	Spain1	-22.84	4.79	France5	-22.16	4.67
Netherlands2	-22.98	4.78	Spain2	-22.22	4.69	France6	-24.55	5.23
Netherlands3	-26.43	4.09	Spain3	-23.14	4.28	France7	-25.08	5.32
Netherlands4	-23.88	4.44	Spain4	-23.97	4.68	France8	-25.31	5.33
Netherlands5	-24.24	4.31	Spain5	-25.03	4.98	France9	-23.38	4.55
Netherlands6	-25.44	4.52	Austria1	-24.83	4.02	France10	-23.05	4.26
Netherlands7	-25.11	4.16	Austria2	-23.76	4.58	France11	-21.78	3.33
Netherlands8	-23.97	4.36	Austria3	-24.31	4.53	Hungary1	-21.97	4.52
Netherlands9	-23.71	4.51	Austria4	-23.17	4.16	Hungary2	-22.51	5.16
Netherlands10	-23.93	5.38	Austria5	-22.16	4.75	Hungary3	-22.90	3.51
Netherlands11	-25.24	4.78	Austria6	-24.63	3.97	Hungary4	-25.07	4.01
Netherlands12	-25.51	4.22	Austria7	-23.41	3.97	Germany	-23.75	4.24
Netherlands13	-25.41	3.37	Austria8	-23.19	2.94	Canada1	-22.42	6.18
Netherlands14	-25.41	4.42	Austria9	-23.99	4.91	Canada2	-22.58	6.27
Belgium1	-24.14	4.75	Austria10	-24.71	4.67	Canada3	-21.99	4.97
Belgium2	-23.64	4.97	Austria11	-22.42	4.63	Canada4	-22.06	5.59
Belgium3	-22.53	4.92	Austria12	-23.32	4.66	Canada5	-24.30	5.33
Belgium4	-23.56	4.69	Austria13	-23.84	4.51	Canada6	-22.71	5.13
Belgium5	-24.66	3.9	Austria14	-25.47	4.13	Canada7	-24.02	6.11
Belgium6	-24.30	4.23	Austria15	-25.29	5.18			
Belgium7	-23.08	4.69	Poland1	-23.67	4.25			
Belgium8	-23.12	4.85	Poland2	-22.18	3.39			
Belgium9	-24.16	4.01	Poland3	-24.96	4.61			
Belgium10	-23.68	2.78	Poland4	-24.79	4.36			
Belgium11	-23.37	3.85	Poland5	-23.03	4.08			
Belgium12	-23.56	4.42	Poland6	-21.94	4.52			
Belgium13	-25.40	3.79	Poland7	-24.76	6.54			
Belgium14	-24.67	4.47	Poland8	-26.05	4.68			
Belgium15	-25.12	4.68	Poland9	-24.84	4.90			
Belgium16	-24.24	3.71	France1	-24.68	5.67			
Belgium17	-23.79	2.68	France2	-24.76	5.19			
Belgium18	-24.22	3.98	France3	-23.46	5.31			
Belgium19	-24.43	4.70	France4	-24.91	4.74			

[0047]

[0048] [표 8] 2010+2011 국외시료(아메리카)(47개)

Sample	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	Sample	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$		
Mexico1	-15.64	3.75	Chile19	-16.84	3.92		
USA1	-14.34	5.14	Chile20	-16.28	3.82		
USA2	-15.75	4.87	Chile21	-16.97	4.54		
USA3	-14.70	4.85	Chile22	-15.99	3.82		
USA4	-16.28	5.33	Chile23	-15.29	6.13		
USA5	-16.99	4.75	Chile24	-15.41	3.99		
USA6	-13.65	5.01	Chile25	-16.38	4.61		
USA7	-16.11	4.48	Chile26	-16.52	4.86		
USA8	-15.06	5.37	Chile27	-16.42	4.36		
USA9	-15.47	3.93	Chile28	-15.65	5.92		
USA10	-15.36	4.36	Chile29	-16.38	4.78		
Chile1	-15.94	5.00	Chile30	-16.18	5.14		
Chile2	-15.82	4.58	Chile31	-16.92	4.94		
Chile3	-15.27	4.15	Chile32	-16.22	3.96		
Chile4	-15.41	5.09	Chile33	-16.47	4.81		
Chile5	-16.94	4.69	Chile34	-17.14	4.65		
Chile6	-16.28	5.02	Chile35	-16.21	3.60		
Chile7	-16.43	2.97	Chile36	-13.16	5.34		
Chile8	-14.82	5.66					
Chile9	-15.80	4.52					
Chile10	-15.64	4.32					
Chile11	-16.19	3.7					
Chile12	-15.00	4.4					
Chile13	-16.64	4.54					
Chile14	-16.29	4.15					
Chile15	-15.53	4.45					
Chile16	-15.40	5.84					
Chile17	-15.69	4.84					
Chile18	-15.53	5.24					

[0049]

[0050] N($\delta^{15}\text{N}$) 동위원소 비율 분석결과

[0051] 생명체가 갖는 $\delta^{15}\text{N}$ values는 기후조건, 식습관 등 성장환경에 의해 차이를 보이며, 돼지와 같은 2차 소비자의 경우 $\delta^{15}\text{N}$ values에서 가장 큰 분별효과를 갖는 것은 식이 환경이다. 돼지의 사료는 크게 식물성 사료와 동물성 사료로 구분되며, 동물의 $\delta^{15}\text{N}$ values는 +3에서 +9‰로 -1에서 +6‰의 값을 갖는 식물에 비해 상대적으로 높은 값을 보인다. 따라서 동물성 사료와 식물성 사료의 배합비율에 따라 돼지고기의 질소 동위원소의 차이가 생기게 된다. 식물의 $\delta^{15}\text{N}$ values는 일반적으로 식물이 자라는 토양환경 및 기후조건에 따라 차이를 갖는다. 토양이 비옥한 지역의 식물의 경우 $\delta^{15}\text{N}$ values는 +5‰를 상회하여 나타내는 반면 척박한 지역에서 자란 식물은 이보다 낮은 0‰의 수준으로 토양의 비옥도는 질소 동위원소의 분별 효과를 나타내며, 일반적으로 식물의 $\delta^{15}\text{N}$ values는 -1에서 +6‰ 값을 갖는다. C_3 식물과 C_4 식물 사이에서 $\delta^{15}\text{N}$ values는 큰 차이를 보이지 않는데 이는 식물체 내의 체내 대사를 통해서 질소 동위원소의 분별효과가 나타나지 않음을 나타낸다.

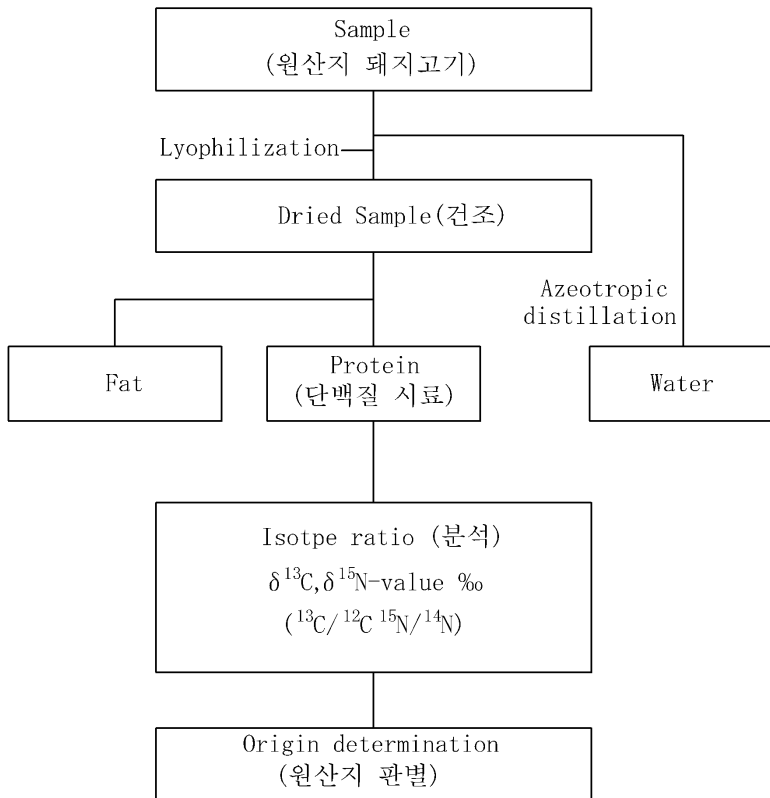
[0052] 따라서 각 지역별로 채취된 돼지고기에서 확인된 $\delta^{15}\text{N}$ values의 경우는 탄소와는 달리 1차 생산자인 식물에서 큰 차이를 보이지 않아 소비자인 돼지에서도 큰 차이는 확인 할 수 없었다. 하지만, 토양 비옥도에 따른 차이가 확인되므로, 각 지역에 따른 유의적 차이를 확인 할 수 있었다. 돼지고기의 $\delta^{15}\text{N}$ value는 국내산 3.72 ± 0.58 로 유럽지역의 4.51 ± 0.57 와 아메리카 지역의 4.74 ± 0.76 보다 약 1‰ 낮은 값을 나타내었으나 각 지역별로 큰 차이는 확인 할 수 없었다.(도 4 및 표5 ~ 표8)

[0053] C, N($\delta^{13}\text{C}$ & $\delta^{15}\text{N}$) 동위원소 비율 분석에 따른 돼지고기 지역별 특성 확인

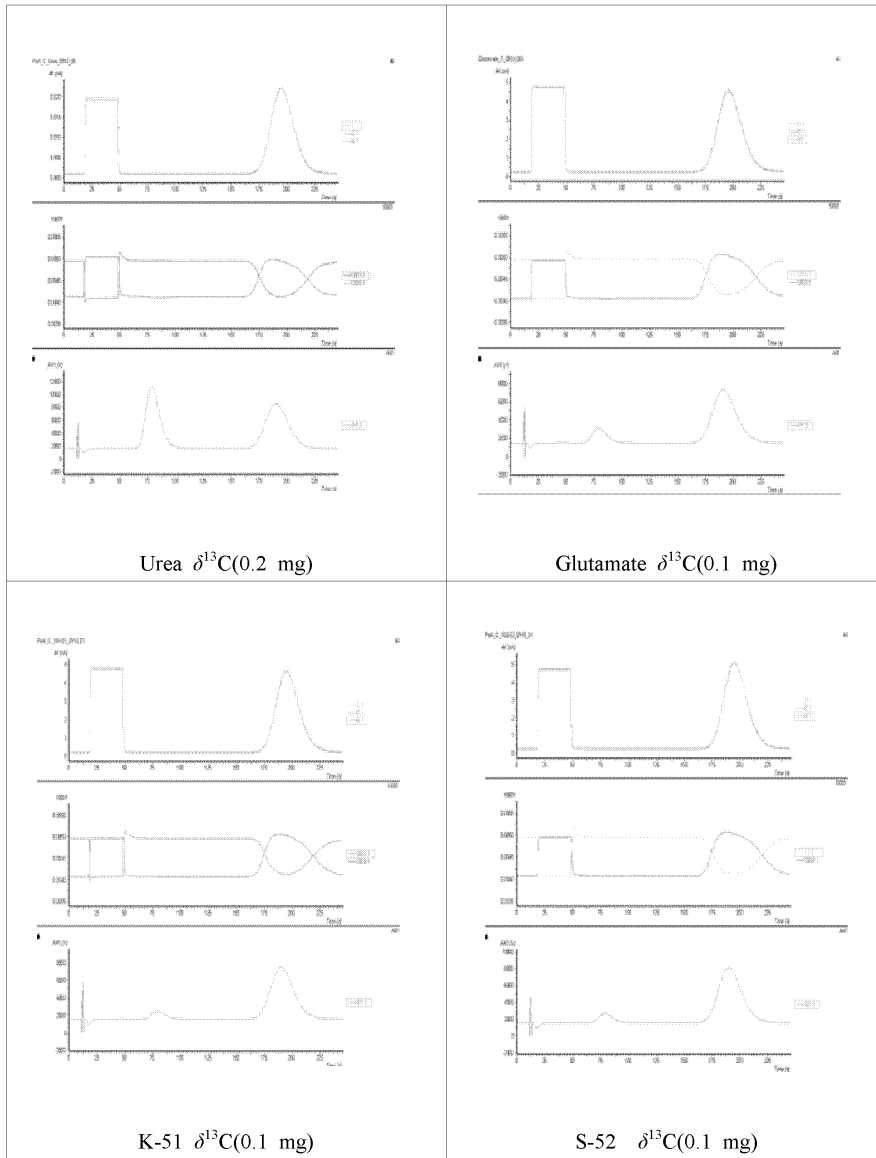
- [0054] 유기물을 구성하는 중요 구성요소인 탄소, 질소의 동위원소는 일반적으로 와인, 정유, 우유와 유제품, 그리고 꿀 등의 식품의 진위판별에 이용되고 있다. 대부분의 원소는 하나 이상의 안정동위원소로 구성되어 있으며, 탄소의 경우 두 개의 안정 동위원소 ^{12}C 와 ^{13}C , 질소의 경우 두 개의 안정 동위원소 ^{14}N 와 ^{15}N 로 구성되어 있다. 원소를 이루는 두 개의 안정 동위원소는 각각 무거운 원소와 가벼운 원소로 볼 수 있으며, 이의 비율 차이를 이용해 식품의 진위판별이 가능하다. 동위원소의 비율은 δ 값으로 표시되며, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 비율은 식이에 대한 정보를 알 수 있다. $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 비율은 식물의 광합성 과정에서 CO_2 고정에 의해 차이가 난다: Hatch&Slack cycle 은 C_4 식물로 -12/-14‰ 값을 갖고, Calvin cycle 나 C_3 식물의 ^{13}C 값은 -26-28‰ 값을 갖는다. 그 결과, 동물이 C_4 식물을 섭취하게 되면 ^{13}C 와 ^{12}C 의 비율이 영향을 받게 된다. $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ 의 비율은 지리에 대한 정보를 알 수 있다. 풍토와 토양의 상태는 $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ 에 영향을 줄 수 있으며 그 결과 자라는 식물에게도 영향을 준다. 토양이 비옥한 곳에서 자란 식물을 먹게 되면 ^{15}N 값이 증가 하게 되며, 질소 고정 식물은 비질소 고정 식물보다 낮은 $\delta^{15}\text{N}$ value를 갖는다. 결과적으로 동위원소 비율 $\delta^{13}\text{C}$ values와 $\delta^{15}\text{N}$ values를 이용하여 식이의 차이와 지리적 차이를 확인하여 돈육의 원산지를 판별하였다.
- [0055] 본 연구에서는 돼지고기의 수분과 지방을 제거하여 시료로 사용하였으며 그 결과, C동위원소 비율에 의한 원산지 판별은 그림 8.과 같이 France, Belgium, Spain, Hungary, Austria, Netherlands, Poland 등 유럽의 7개 국가는 $\delta^{13}\text{C}$ values 값이 -23.63 ± 1.23 으로 -22‰ 이상 90.32%, Chile, USA, Mexico, 등 캐나다를 제외한 아메리카 국가는 -15.87 ± 0.66 으로 -17‰ 이하 100%, Korea의 경우 -19.24 ± 1.03 으로 -17~-21‰ 94.73%의 정확도를 확인할 수 있었다. $\delta^{15}\text{N}$ 동위원소 비율은 국내산 3.72 ± 0.58 로 유럽지역의 4.51 ± 0.57 와 캐나다를 제외한 아메리카 지역의 4.62 ± 0.69 보다 약 1‰ 낮은 값을 나타내었으나 큰 차이를 볼 수 없었다.
- [0056] [도 4] 에서와 같이 $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ values의 2차원 그래프에서는 유럽지역 7개 국가 95.16%, 캐나다를 제외한 아메리카지역의 3개국 100%, 한국 94.73%이상의 지역별 차이를 확인할 수 있었다.
- [0057] 시료는 시중에 유통되는 돼지고기와 농산물 품질관리원이 수거한 국내산 95점과 수입산 99점을 사용하였다. 하지만 시료의 확보 과정에서 정확한 원산지의 판별이 어려워 분석결과에 오차범위를 높이는 것으로 사료된다.
- 산업상 이용가능성**
- [0058] 본 발명은 돼지고기 단백질의 안전동위원소 비율($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ -Value ‰)차이를 확인하여 원산지 판별을 제공하는 뛰어난 효과가 있으므로 농수산식품 산업상 매우 유용한 발명인 것이다.

도면

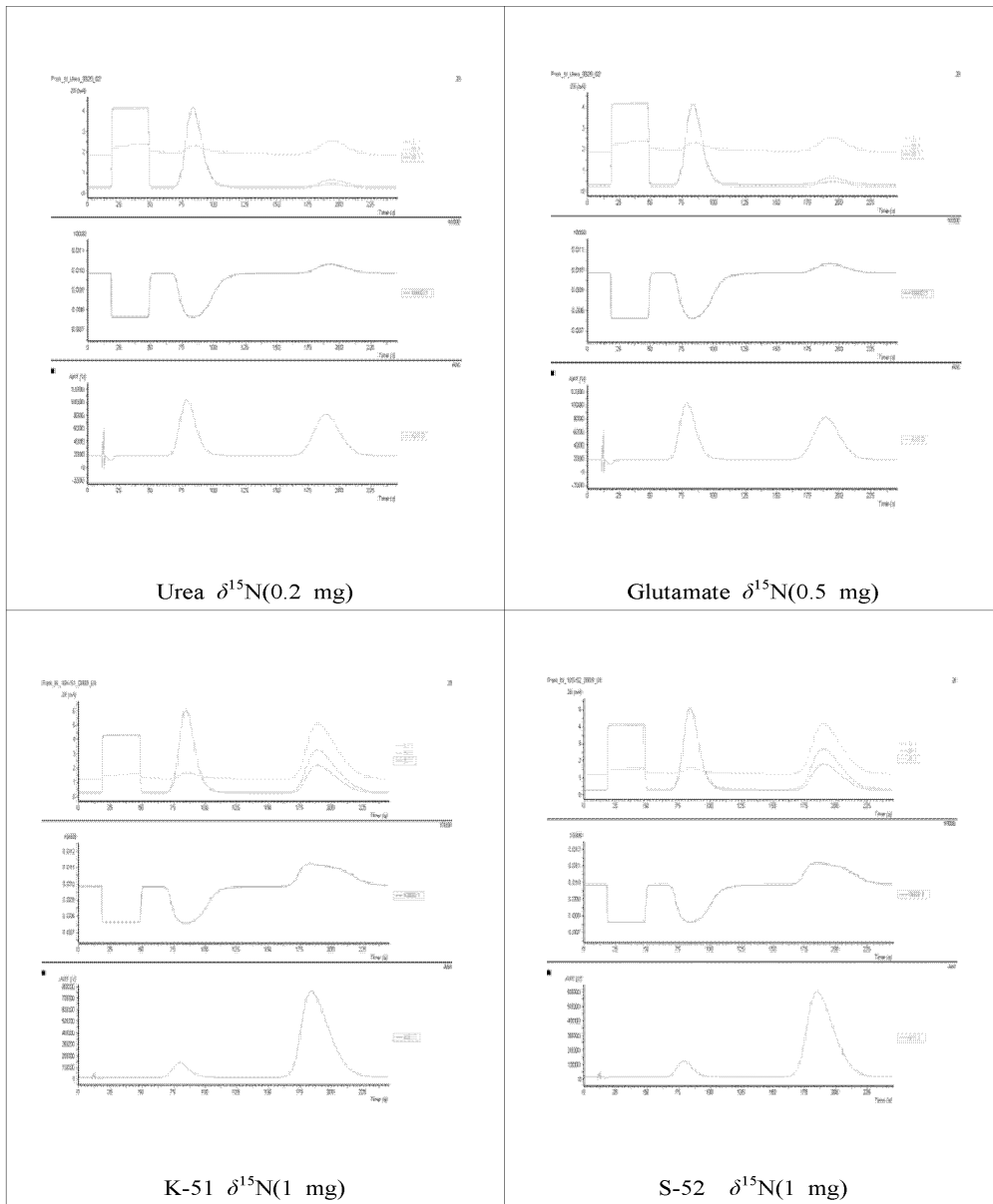
도면1



도면2



도면3



도면4

