



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0103255
(43) 공개일자 2024년07월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 30/72 (2006.01) G01N 30/88 (2006.01)
G01N 33/02 (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 30/7206 (2013.01)
G01N 33/02 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-0185260
(22) 출원일자 2022년12월27일
심사청구일자 2022년12월27일
기술이전 희망 : 기술양도

(71) 출원인
국립부경대학교 산학협력단
부산광역시 남구 용소로 45, 부경대학교내 (대연동)
(72) 발명자
양지영
부산광역시 남구 수영로 345, 106동 1701호
신지영
부산광역시 남구 유엔로 46, 102동 106호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
위병갑

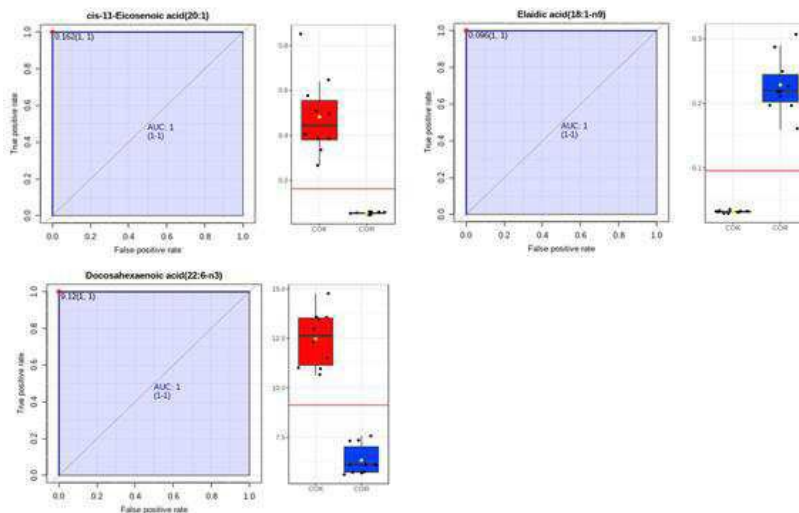
전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 대게의 원산지 판별용 바이오 마커 조성물

(57) 요약

본 발명은 대게(*Chionoecetes opilio*)의 지방산을 포함하는, 대게 원산지 판별용 조성물을 제공하는 것으로서, 대게 원산지별 비표적 분석(Untargeted analysis)을 통해 각 국내산 또는 러시아산의 원산지별 대게에서 포함된 지방산을 분석하였다. 또한, 원산지별 지방산인 시스-11-에이코사엔산(*cis*-11-eicosaenoic acid), 엘라이딘산(*aidic acid*) 및 도코사헥사엔산(*docosahexaenoic acid*)을 선정하였고, 선정된 지방산 중 도코사헥사엔산(*docosahexaenoic acid*)이 원산지 판별에 가장 적합한 지방산인 것을 확인하여, 도코사헥사엔산(*docosahexaenoic acid*)의 비율을 설정한 결과, 대게의 원산지를 효과적으로 판별할 수 있음을 확인하여, 이와 관련된 사업에 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

G01N 2030/8809 (2013.01)

(72) 발명자

양준호

부산광역시 남구 수영로 276-1, 901호

김현석

부산광역시 부산진구 가야대로 450, 104동 3401호

심이강

경상남도 진주시 초장로14번길 29, 202동 1901호

차은지

충청북도 청주시 흥덕구 오송읍 오송생명3로 31, 103동 1512호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1525012939

과제번호 202004252

부처명 해양수산부

과제관리(전문)기관명 해양수산과학기술진흥원

연구사업명 수산생물 원산지 판별기술 및 현장단속 키트개발

연구과제명 수산생물 원산지 판별기술 및 현장단속 키트개발

기 여 율 1/1

과제수행기관명 부경대학교산학협력단

연구기간 2020.05.07 ~ 2023.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

대게(*Chionoecetes opilio*)의 지방산을 포함하는, 대게 원산지 판별용 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 지방산은 시스-11-에이코사에노산(cis-11-eicosaenoic acid), 엘라이딘산(aidic acid) 및 도코사헥사엔산(docosahexaenoic acid)으로 이루어진 군에서 선택된 1개 이상인 것인, 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 원산지는 국내산 또는 러시아산인 것인, 조성물.

청구항 4

제 2항에 있어서,

상기 지방산을 다변량 통계 분석한 것인, 조성물.

청구항 5

제 4항에 있어서,

상기 다변량 통계 분석은 PCA analysis, HCA analysis, OPLS-DA 및 ROC analysis으로 이루어진 군에서 선택된 1개 이상인 것인, 조성물.

청구항 6

제 1항에 조성물을 포함하는, 대게 원산지 판별 키트.

청구항 7

분석하고자 하는 대게의 지방산을 분석하는 단계;

상기 대게의 국내산 지방산과 러시아산 지방산을 비교하는 단계;를 포함하는, 대게 원산지 판별 방법.

청구항 8

제 7항에 있어서,

상기 지방산은 시스-11-에이코사에노산(cis-11-eicosaenoic acid), 엘라이딘산(aidic acid) 및 도코사헥사엔산(docosahexaenoic acid)인 것인, 방법.

청구항 9

제 7항에 있어서,

상기 지방산이 도코사헥사엔산(docosahexaenoic acid)일 때, 도코사헥사엔산(docosahexaenoic acid)의 19.546% 전체 지방산 함량 대비 비율기준으로 이상이면 국내산으로, 미만이면 러시아산으로 판별하는 것인, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명의 목적은 대게의 원산지 판별용 바이오 마커 조성물을 제공하는 것이다.

배경 기술

[0002] 최근 원재료를 값싼 다른 원료로 속여 판매하거나, 표시사항을 허위로 기재하는 등의 식품 불량 판매 사례가 있다[*Food Eng. Prog.*, 18(4), 419- 426. (2014)]. 식품 불량은 식품의 생산, 제조, 유통 그리고 판매까지 모든 단계에서 법을 위반한 제품으로, 최근에는 국민에게 불안감을 주는 식품을 의미한다. 이러한 불법 식품 유통은 국민의 건강을 위협할 뿐만 아니라 식품유통 질서를 어지럽히고 있다. 특히, 이중 혼합 식품이나 불법 식품의 경우 가공시 외관이나 관능적인 방법으로 원재료의 판별이 어려워 가공 후에도 원재료 판별이 가능한 과학적인 판별법이 필요하다. 원재료 판별법에는 단백질 분석법, 이화학적 분석법 및 유전자 분석법 등이 있다[*J. Life Sci.*, 27(11), 1331-1339. (2017)], 이와 같은 단백질을 이용한 판별법은 열처리 및 건조시 단백질이 쉽게 분해될 수 있고, 단백질 변성에 의해 감수성이 떨어진다는 단점이 있어 가공식품에 적합하지 않다. 이화학적 분석법에는 고속 액체 크로마토그래피(High Performance Liquid Chromatography, HPLC), 가스 크로마토그래피(Gas Chromatography, GC) 등이 있다[*J. Food Sci. Technol.*, 51(3), 295-299. (2019)]. 크로마토그래피를 이용한 판별법은 특정 물질의 정량 및 정성이 가능하지만 실험 방법이 복잡하고, 고가의 장비를 사용해야한다는 단점이 있다. 반면, 유전자 분석법을 이용한 판별법은 단백질 기반의 판별법보다 특이성 및 감도가 높고, 단백질보다 열에 강하여 가공 처리된 시료에서 보다 안정적인 결과를 얻을 수 있다[*Journal of agricultural and food chemistry*, 49(3), 1175-1179.(2001)]. 유전자 분석법의 일종인 중합효소 연쇄반응(Polymerase Chain Reaction, PCR)은 일부 유전자를 증폭시키는 방법으로 신속성, 특이도, 민감도, 간편성 등이 우수하여 식품원료 동정에 이용되고 있다.

[0003] 식품 원료의 원산지를 판별하는 기술로는 형광분석기를 이용한 무기질 분석, 전자코를 이용한 분석법, 지방산 분석 등이 있지만, 농축산물에 한하여 판별법이 개발되어있다. 수산물의 경우 이화학적 방법으로 CE-MS, LC-MS 등으로 대사체 분석을 통해 지리적 차이에 대한 분석 사례가 있지만, 대사산물 특성상 매우 민감하여 실험 검체를 회수하는 과정에서 실험적 오차가 발생할 수 있으며, 많은 검체를 분석하기 위해서는 많은 비용이 요구되는 단점이 있다. 이화학 분석으로 방사선 동위원소 분석법이 대표적이라고는 하나 분석 시료를 냉동 보관할 시 시간이 경과함에 따라 결과가 다른 양상을 나타낼 수 있다는 단점이 있으며, 아미노산 및 무기질의 경우 유의한 차이가 나타나지 않는다는 연구보고가 대부분이다. 이에 반해, 지방산의 경우 수산물의 먹이에 따라 지방산 조성의 차이가 있다는 연구보고가 있다. 이를 이용하여 분석된 지방산을 단변량 및 다변량 통계분석을 통해 원산지가 다른 두 그룹 간의 차이를 나타낼 수 있는 지방산 성분을 선별할 수 있다.

[0004] 대게는 세계적으로 널리 즐겨 이용되는 수산물 중의 하나이다. 갑각류에 속하며, 다양한 나라에 걸쳐 분포하고 있으며, 생산국의 주요 수산물 수입원으로 각광받고 있다. 대게는 북태평양의 베링해, 오토츠크해, 바렌트 해에 걸쳐 서식하고 있고, 한국, 러시아, 일본 캐나다 및 유럽 지역에서 서식하고 있다. 지속적인 생산과 대게의 보존을 위하여 생산국에서는 갑각이 9cm 이상인 수컷만 어획이 가능하도록 무분별한 어획을 금지하고 있다. 한국에서 유통되고 있는 대게는 국내에서 어획되는 것과 러시아산으로 구분되어 진다. 한국에서는 대게의 생산 지역이 한정적이며 동해지역에서 주로 생산이 된다. 남쪽의 포항에서부터는 북쪽의 울진과 동해 지역에서 생산된다. 특히, 중간 지점에 속하는 영덕에서 대게의 생산과 판매가 활발하게 이루어진다. 러시아 지역에서는 대게는 계절별 어획이 가능한 지역에 따라 차이가 존재하지만, 대부분 프리모리예지역, 사할린지역, 캄차카 반도 지역의 오토츠크해의 대게가 수입이 되고 있다. 한국에서 생산되는 대게의 경우 금어기가 4~10월까지로 4계절 신선한 활대게를 섭취할 수가 없어 금어기 기간동안은 러시아산 대게를 소비하고 있다.

[0005] 따라서, 본 발명자들은 원산지별 대게들의 GC/MS를 이용한 지방산을 분석 하고, 이를 대게의 원산지 판별용 바이오마커로 이용한 결과, 국내산 및 러시아산 원산지 판별에 효과적임을 확인하여, 본 발명을 완성 시켰다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명의 목적은 대게(*Chionoecetes opilio*)의 지방산을 포함하는, 대게 원산지 판별용 조성물을 제공하는 것이다.

[0007] 또한, 본 발명의 목적은 상기 조성물을 포함하는, 대게 원산지 판별 키트를 제공하는 것이다.

[0008] 아울러, 본 발명의 목적은 분석하고자 하는 대게의 지방산을 분석하는 단계;

[0009] 상기 대게의 국내산 지방산과 러시아산 지방산을 비교하는 단계;를 포함하는, 대게 원산지 판별 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0010] 본 발명은 대게(*Chionoecetes opilio*)의 지방산을 포함하는, 대게 원산지 판별용 조성물을 제공한다.

[0011] 또한, 본 발명은 상기 조성물을 포함하는, 대게 원산지 판별 키트를 제공한다.

[0012] 아울러, 본 발명은 분석하고자 하는 대게의 지방산을 분석하는 단계;

[0013] 상기 대게의 국내산 지방산과 러시아산 지방산을 비교하는 단계;를 포함하는, 대게 원산지 판별 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0014] 본 발명은 대게(*Chionoecetes opilio*)의 지방산을 포함하는, 대게 원산지 판별용 조성물을 제공하는 것으로서, 대게 원산지별 비표적 분석(Untargeted analysis)을 통해 각 국내산 또는 러시아산의 원산지별 대게에서 포함된 지방산을 분석하였다. 또한, 원산지별 지방산인 시스-11-에이코사에노산(cis-11-eicosaenoic acid), 엘라이딘산(aidic acid) 및 도코사헥사엔산(docosaheaxaenoic acid)을 선정하였고, 선정된 지방산 중 도코사헥사엔산(docosaheaxaenoic acid)이 원산지 판별에 가장 적합한 지방산인 것을 확인하여, 도코사헥사엔산(docosaheaxaenoic acid)의 비율을 설정한 결과, 대게의 원산지를 효과적으로 판별할 수 있음을 확인하여, 이와 관련된 사업에 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0015] 도 1은 국내산 대게 또는 러시아산 원산지별 대게의 겉모습을 나타낸 도이다.

(A:국내산, B:러시아산)

도 2는 국내산 대게 또는 러시아산 대게의 지방산 분석을 다변량 통계분석(ROC curve) 값으로 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0016] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 구현예로 본 발명을 상세히 설명하기로 한다. 다만, 하기 구현예의 예는 본 발명에 대한 예시로 제시되는 것으로, 당업자에게 주지 저명한 기술 또는 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명을 생략할 수 있고, 이에 의해 본 발명이 제한되지는 않는다. 본 발명은 후술하는 특허청구범위의 기재 및 그로부터 해석되는 균등 범주 내에서 다양한 변형 및 응용이 가능하다.

[0017] 또한, 본 명세서에서 사용되는 용어(terminology)들은 본 발명의 바람직한 실시예를 적절히 표현하기 위해 사용된 용어들로서, 이는 사용자, 운용자의 의도 또는 본 발명이 속하는 분야의 관례 등에 따라 달라질 수 있다. 따라서 본 용어들에 대한 정의는 본 명세서 전반에 걸친 내용을 토대로 내려져야 할 것이다. 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 “포함” 한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.

[0018] 본 발명은 대게(*Chionoecetes opilio*)의 지방산을 포함하는, 대게 원산지 판별용 조성물을 제공한다.

[0019] 일 실시예에 있어서, 상기 지방산은 시스-11-에이코사에노산(cis-11-eicosaenoic acid), 엘라이딘산(aidic acid) 및 도코사헥사엔산(docosaheaxaenoic acid)으로 이루어진 군에서 선택된 1개 이상인 것이나, 이에 제한되지 않는다.

[0020] 도코사헥사엔산(docosaheaxaenoic acid)는 불포화지방산으로 지방산 사슬내에 6개의 이중결합을 포함하고 있고, 이렇게 불포화된 지방산 사슬의 경우, 포화지방에 비하여 산패에 불리하다는 특징을 가지고 있으므로 잘 보관된 시료일지라도 그 성분이 산화되어 함량의 변화 가능성이 있기 때문에 장기간 보관하는 것은 함량의 변화를 초래한다.

[0021] 일 실시예에 있어서, 상기 원산지는 국내산 또는 러시아산인 것이나, 이에 제한되지 않는다.

[0022] 일 실시예에 있어서, 상기 지방산을 다변량 통계 분석한 것이나, 이에 제한되지 않는다.

- [0023] 일 실시예에 있어서, 상기 다변량 통계 분석은 PCA analysis, HCA analysis, OPLS-DA 및 ROC analysis으로 이루어진 군에서 선택된 1개 이상인 것이나, 이에 제한되지 않는다.
- [0024] 일 구현예에 있어서, 상기 조성물을 포함하는, 대게 원산지 판별 키트를 제공한다.
- [0025] 일 구현예에 있어서, 분석하고자 하는 대게의 지방산을 분석하는 단계;
- [0026] 상기 대게의 국내산 지방산과 러시아산 지방산을 비교하는 단계;를 포함하는, 대게 원산지 판별 방법을 제공한다.
- [0027] 일 실시예에 있어서, 상기 지방산은 시스-11-에이코사에노산(cis-11-eicosaenoic acid), 엘라이딘산(aidic acid) 및 도코사헥사엔산(docosahexaenoic acid)인 것이나, 이에 제한되지 않는다.
- [0028] 일 실시예에 있어서, 상기 지방산이 도코사헥사엔산(docosahexaenoic acid)일 때, 도코사헥사엔산(docosahexaenoic acid)의 19.546% 전체 지방산 함량 대비 비율기준으로 이상이면 국내산으로, 미만이면 러시아산으로 판별하는 것일 수 있다.
- [0030] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 자세히 설명한다. 다만, 상기 실시예 및 실험예는 본 발명에 대한 예시로 제시되는 것으로, 당업자에게 주지 저명한 기술 또는 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명을 생략할 수 있고, 이에 의해 본 발명이 제한되지는 않는다. 본 발명은 후술하는 특허청구범위의 기재 및 그로부터 해석되는 균등 범주 내에서 다양한 변형 및 응용이 가능하다.

[0032] **준비예 1. 원산지 판별용 대게**

[0033] 표준시료로 사용된 국내산 대게와 러시아산 대게를 올진 강구항에서 구매하였다. 시료는 모두 형태학적으로 판별이 완료된 시료를 사용하였다. 표준시료와 모니터링 시료의 경우 구입 후 다리의 조직을 채취해 동결건조 한 후, 진공포장상태로 -80℃에서 보관하였다(도 1).

[0035] **실시예 1. 지방산 분석 방법**

[0036] 지방산의 분석은 [식품공전 제8.2.1.5.4 지방산 나. 제2법]에 의하여 분석을 진행하였다. 식품 중 지방 및 지방산을 산분해 및 염기분해하여 에테르로 추출하고 트리플루오로보란메탄올 용액으로 지방산을 메틸 에스테르화하여 가스크로마토그래프로 분석하였다. 개별 지방산의 함량 및 대표적인 지방산의 함을 계산하여 포화지방, 단일불포화지방, 다중불포화지방 함량을 분석하였다. 장치는 기체크로마토그래피 : 불꽃이온검출기 (Flame Ionization Detector, FID)를 사용하였고, 그 조건은 하기 표 1과 같았다.

표 1

[0037] 기기모델명	SHIMADZU GC-2010
Column	SUPELCO SP-2560(100m x 0.25mm x 0.25μm)
캐리어가스, 유량, 검출기	N ₂ , 0.94 mL/min, FID
주입량, 주입부온도, 검출기온도	1.0 μL, 225 °C, 285 °C
오븐온도, Split Ratio	100°C(4min)→3.5°C/min→200°C(2min)→2°C/min→240°C(14min), 50.0

[0039] **실시예 2. 원산지별 대게의 판별 후보 물질 선정**

[0040] 원산지별 대게의 지방산 분석을 하기위해, 준비예 1에 준비된 국내산과 러시아산의 대게를 10개체씩 확보하여 GC/MS분석을 통해 각 원산지별 대게의 포함되어 있는 지방산에 대한 분석을 진행하였고, 비표적 분석(Untargeted analysis)를 통해서 각 개체에 포함되어 있는 대사체 물질에 대한 분석 진행하였고, Library를 바탕으로 물질의 종류를 확인하였다.

[0041] 그 결과, 다변량 분석을 통해서 확인된 물질이 얼마나 각각의 원산지가 판별이 되는지에 대한 여부를 판단하고, 각각의 원산지 판별을 할 수 있는 물질을 통계학적으로 구분하여 지방산 중 시스-11-에이코사에노산(cis-11-eicosaenoic acid), 엘라이딘산(aidic acid) 및 도코사헥사엔산(docosaheaxaenoic acid)의 원산지별 대계의 함량에 있어서 원산지를 판별할 수치를 확인하여, 시스-11-에이코사에노산(cis-11-eicosaenoic acid), 엘라이딘산(aidic acid) 및 도코사헥사엔산(docosaheaxaenoic acid)이 대계의 원산지를 판별 가능한 후보물질로 설정하였다.

[0043] 실시예 3. 다변량 통계 분석

[0044] 위 실시예 1의 대계의 원산지 판별 가능한 지방산들을 다변량 분석을 통해 각각의 원산지 판별을 할 수 있는 지방산을 통계학적으로 선정하였다.

[0045] 대계를 원산지별에 따른 시스-11-에이코사에노산(cis-11-eicosaenoic acid), 엘라이딘산(aidic acid) 및 도코사헥사엔산(docosaheaxaenoic acid)의 ROC curve 값을 확인하여, 실험과 통계처리 결과를 통해 대계의 지방산중 도코사헥사엔산(docosaheaxaenoic acid)이 대계 원산지 판별에 가장 적합한 지방산인 것을 확인하였다.

[0046] 따라서, 도 2와 같이, 신선한 대계의 도코사헥사엔산(docosaheaxaenoic acid)의 함량이 전체 지방산의 함량을 100으로 하여 각 지방산의 함량을 백분율로 표시한 경우 도코사헥사엔산(docosaheaxanoic acid)의 비율이 19.546% 전체 지방산 함량 대비 이상일 경우 국내산으로, 미만이면 러시아산으로 판별 가능한 것을 확인하였다.

[0048] 이제까지 본 발명에 대하여 그 실시예를 들었다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구 범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

도면1



도면2

