

수산물의 콜레스테롤 분석을 위한 콜레스테롤 분석법 개선 및 검증

정소희 · 정유린 · 신혜영 · 김연계 · 윤나영*

국립수산과학원 식품위생가공과

Improvement and Verification of a Cholesterol Analytical Method to Analyze Cholesterol Content in Seafood

So Hee Jung, Yu Rin Jeong, Hye Young Shin, Yeon-Kye Kim and Na-Young Yoon*

Food Safety and Processing Research Division, National Institute of Fisheries Science, Busan 46083, Republic of Korea

Cholesterol is an essential component for maintaining health; however, excessive consumption can lead to diseases. Thus, continuous monitoring of cholesterol content is important in food research. The cholesterol analysis method used in Korea follows the Korean Food Standards Codex. As this method uses gas chromatography, derivatization of the sample is required, and analysis time is more than 30 min. Kim developed a new method using liquid chromatography; however saponification by the non-heat saponification method is insufficient. To address these limitations, a new cholesterol analysis method was developed and verified. The correlation coefficients for the cholesterol standard (STD) were maintained above 0.99. The limit of detection and limit of quantitation of cholesterol STD were 2.41 $\mu\text{g/mL}$ and 7.31 $\mu\text{g/mL}$, respectively. The accuracies for cholesterol were 92.21–99.02%. The developed analytical method was also verified using three standard reference materials, and their accuracies were 93.71–97.09%. In addition, the cholesterol content of fishes was analyzed, and the values were compared with those recorded by the United States Department of Agriculture. Our results suggest that this method could be used as a new analytical method for cholesterol in seafood.

Keywords: Cholesterol, Method validation, Seafood, UPLC

서론

콜레스테롤은 식물에는 없지만, 인간을 포함한 동물에는 존재하는 스테로이드 계열의 유기물질로, 몸을 형성하는 세포와 세포막을 구성하는 필수 성분이며(Kim et al., 2011), 비타민 D와 장기의 기능 및 상태를 정상으로 유지하는 스테로이드 호르몬을 합성하는 재료로 이용된다. 뿐만 아니라 음식물의 소화흡수에 필요한 담즙산의 원료로도 사용되는 등 체내에서 중요한 역할을 한다(Hanukoglu, 1992). 체내 대사에 필수 물질인 콜레스테롤은 체내에서 합성되지만, 적정량을 유지하기 위해서는 음식으로 추가 섭취해야 하는 영양소이다. 그러나 소득의 증가와 식습관의 변화로 육류를 포함한 동물성 식품의 소비가 증가하고, 식품산업의 발전으로 다양한 종류의 가공식품이 개발되면서 가공식품 소비 또한 급격히 증가하고 있다. 이들 식품에 다

량 함유되어 있는 포화지방과 콜레스테롤은 과잉 섭취 시 고지혈증과 동맥경화와 같은 심혈관계 질환을 유발할 수 있다(Kim et al., 2011). 2020 한국인 영양소 섭취기준(KMHW and the Korean Nutrition Society, 2020)에 따르면 우리나라 성인의 콜레스테롤 섭취 기준을 300 mg/day로 정하고 있고, 미국은 하루에 200–300 mg을 섭취할 것을 권장하고 있다(USCDC, 2012). 또한, 식품의약품안전처 영양표시 가이드라인(KMFDS, 2020)에서는 콜레스테롤을 가공식품에 의무적으로 표시해야 하는 9가지 영양성분 중 하나로 규정하고 있어, 콜레스테롤은 우리 건강을 유지하는 필수성분이지만, 과잉 섭취 시 건강에 부정적인 영향을 미칠 수 있으므로 식품에 함유된 콜레스테롤 함량을 지속적으로 모니터링할 필요가 있다. 특히, 새우, 조개, 오징어 등의 수산물에는 다량의 콜레스테롤이 함유되어 있는 것으로 알려져 있으며(Ackman and McLeod, 1988), 우리나라 연간 1인

*Corresponding author: Tel: +82. 51. 720. 2661 Fax: +82. 51. 720. 2669

E-mail address: dbssud@korea.kr



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2022.0218>

Korean J Fish Aquat Sci 55(2), 218-223, April 2022

Received 8 March 2022; Revised 14 April 2022; Accepted 19 April 2022

저자 직위: 정소희(연구원), 정유린(연구원), 신혜영(연구원), 김연계(연구관), 윤나영(연구사)

당 수산물 소비량은 1999년 30.7 kg에서 2012년 53.8 kg, 2019년 69.8 kg으로 20년 동안 약 127%가 증가함에 따라(Statistics KOREA, 2022) 국민의 건강 유지에 필요한 정보인 콜레스테롤 함량 등을 포함한 수산물 영양성분 데이터베이스를 구축하여 정보를 제공하는 것이 필요하다.

우리나라의 경우 식품에 함유되어 있는 콜레스테롤 함량 측정법은 식품공전(KMFDS, 2021)에 수록된 콜레스테롤 분석법을 공인된 분석법으로 사용하고 있으며, 이 방법에서는 기체 크로마토그래피(gas chromatography, GC)를 분석 기기로 이용한다. 일반적으로 GC를 사용하기 위해서는 비휘발성 물질을 휘발성화 물질로 전환하기 위한 유도체화 과정이 필요하다(Lee, 2018). 물질의 특성에 따라 여러가지 유도체화 방법(methylation, silyl derivatization, acetylation, esterification)을 선택할 수 있지만(Knapp, 1979), 콜레스테롤 분석에는 silyl법을 사용한다. Silyl 유도체화에 사용되는 시약은 methylation과 acetylation 시약에 비해 인체 독성은 적지만, 시간이 지나면 유도체 자체가 공기 중 수분에 의해 분해되기 때문에 빠른 시간 내 분석이 요구되며, 회수율이 불안정 할 수 있다(Lee, 2007). 뿐만 아니라, GC는 액체 크로마토그래피(liquid chromatography, LC)에 비해 기기 조작이 복잡하고, 분석 시간이 긴 단점이 있다. Kim (2011)은 LC를 이용한 유화 가공 식품의 콜레스테롤 분석법을 개발하였으나, 비가열검화법을 사용하기 때문에 유화 가공 식품이 아닌 경우 검화가 충분히 이루어지지 않는 문제점이 있는 것으로 알려져 있다.

본 연구에서는 기존의 식품공전 등의 콜레스테롤 분석법을 개선한 새로운 분석법에 대한 특이성, 직선성, 정확성, 정밀성 등의 분석수행지표를 평가하여 분석법을 검증하고, 수산물의 콜레스테롤 함량의 분석 및 비교를 통해 새로운 콜레스테롤 분석법의 신뢰성을 확보하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

콜레스테롤 분석을 위해 사용한 10종의 수산물은 2021년에 확보하였으며, 마루자주새우(*Crangon hakodatei*), 청어(*Clupea pallasii*), 대구(*Gadus macrorcephalus*)는 동해에서, 살오징어(*Todarodes pacificus*)와 문치가자미(*Pleuronectes yokohamae*)는 남해에서 국립수산물과학원 자원조사로 확보하였으며, 넙치(*Paralichthys olivaceus*), 조피볼락(*Sebastes schlegelii*)은 거제시, 송어(*Mugil cephalus*)는 하동군, 송어(*Oncorhynchus masou*)와 틸라피아(*Tilapia mossambica*)는 김해시의 양식장에서 각각 구입하여 사용하였다. 시료 종마다 10마리 이상 확보하여 비늘, 지느러미, 뼈, 내장, 껍질 등을 제거한 후, 가식부를 균질화하여 -80°C에서 보관 후 사용하였다.

본 연구에 사용한 콜레스테롤 표준품(5-Cholesten-3 β -ol, C-8503)은 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA), Potas-

sium hydroxide (KOH), Sodium sulfate anhydrous, 에탄올, 메탄올은 Merck (Darmstadt, Germany), 표준인증물질(standard reference material, SRM 1546a, 1549a 및 1845a)은 NIST (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA), 물은 J.T.Baker (Radnor, PA, USA), Isopropyl alcohol (IPA)은 Honeywell Burdick & Jackson (Muskegon, MI, USA), 톨루엔은 DUKSAN (Ansan, Korea)에서 각각 구입하였다.

시료 제조

콜레스테롤 표준물질을 농도가 1.0 mg/mL가 되도록 IPA에 녹여 표준원액으로 사용하였으며, 밸리레이션 항목에 맞도록 IPA로 희석하여 표준용액을 조제하였다. 시험용액 제조를 위하여 수산물 시료 및 표준인증물질 2.0 g에 에탄올 40 mL와 50% KOH 8 mL를 가한 후 85°C에서 60분간 검화하였다. 에탄올 60 mL를 넣고, 24시간 안정화 후, 톨루엔 100 mL를 넣고 진탕한 뒤, 1 M KOH를 넣어 분획하였다. 상층액을 취한 후, 0.5 M KOH를 넣고 분획하였다. 상층을 취한 후, 증류수로 3회 수세하고 여과하여 농축하였다(KMFDS, 2021). 최종 농축물은 IPA에 녹여 기기 분석용 시료로 사용하였다.

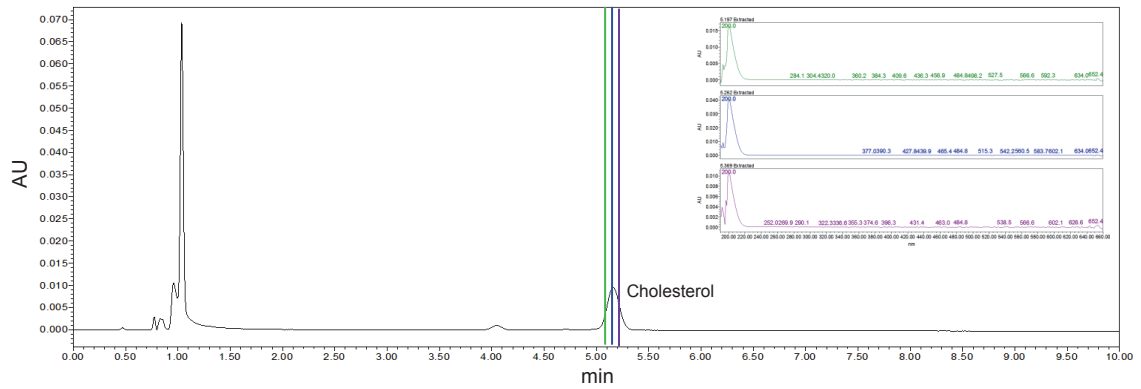
콜레스테롤 분석

콜레스테롤 분석은 C18 column (1.7 μ m, 2.1 \times 50 mm, Acquity UPLC BEH; Waters, Milford, MA, USA)을 사용하여 UPLC (ultra performance liquid chromatography; Acquity UPLC H-Class Plus; Waters)로 분석하였다. 이동상은 메탄올, 에탄올, 물을 4.5:4.5:1 비율로 혼합하여 isocratic으로 분석하였다. 검출파장은 210 nm (PDA Detector)를 사용하였고, 유속은 0.3 mL/min으로 설정하여 사용하였다(Kim, 2011).

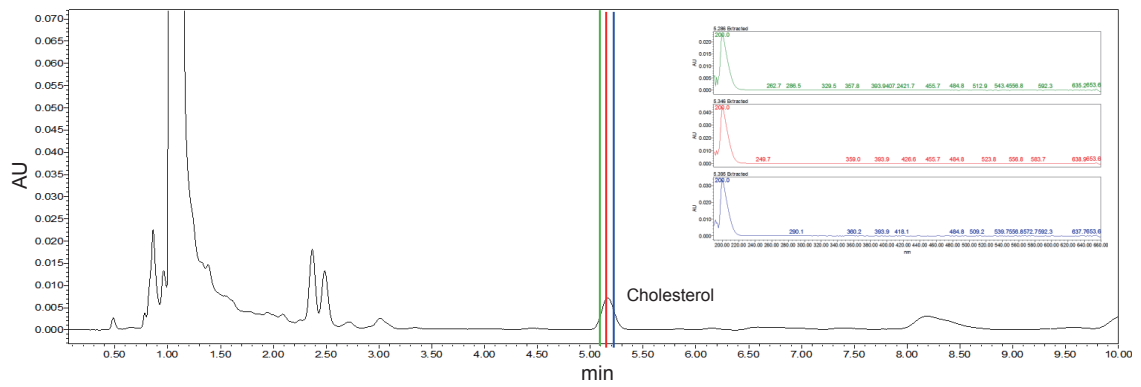
시험방법의 유효성 검증

콜레스테롤 분석법의 유효성 검증 방법은 다음과 같다. 특이성(selectivity)은 콜레스테롤 표준용액(100 μ g/mL)과 SRM 1546a, 청어, 틸라피아의 시험용액을 측정된 크로마토그램에서 콜레스테롤 피크 및 인근 물질의 피크의 머무름 시간(retention time)과 파장을 비교하였다. 콜레스테롤의 직선성은 표준용액을 단계적으로 희석하여 총 5개(0, 5, 10, 50 및 100 μ g/mL)의 농도로 조제하여 8회 반복하여 UPLC로 분석하였다. 표준용액의 농도와 면적을 변수로 검량선을 작성한 후, 상관계수 값으로 직선성의 유효성을 확인하였다. 정성한계(limit of detection, LOD) 및 정량한계(limit of quantitation, LOQ)는 검량선 기울기 평균 및 잔차의 표준오차를 이용하여 LOD는 표준오차를 평균으로 나눈 값에 3.3을 곱하여 계산하였으며, LOQ는 표준오차를 평균으로 나눈 값에 10을 곱하여 계산하였다(Cho et al., 2020). 분석법의 정밀도(precision)는 검량선을 바탕으로 LOQ 이상의 세가지 농도(10, 50 및 100 μ g/mL) 콜레스테롤 표준용액을 각각 3회 분석하여 일내정밀도(반복성, repeatability)를

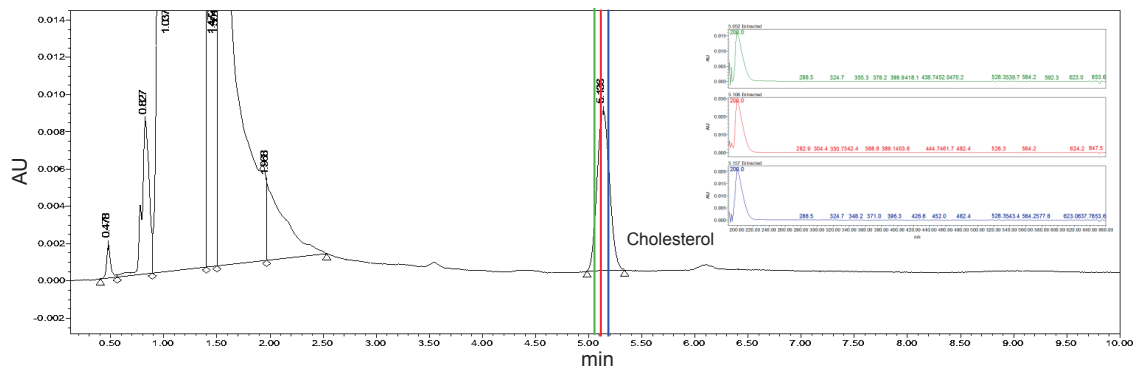
Cholesterol standard (100 µg/mL)



SRM1546a



Clupea pallasii (Pacific herring)



Tilapia mossambica (Tilapia)

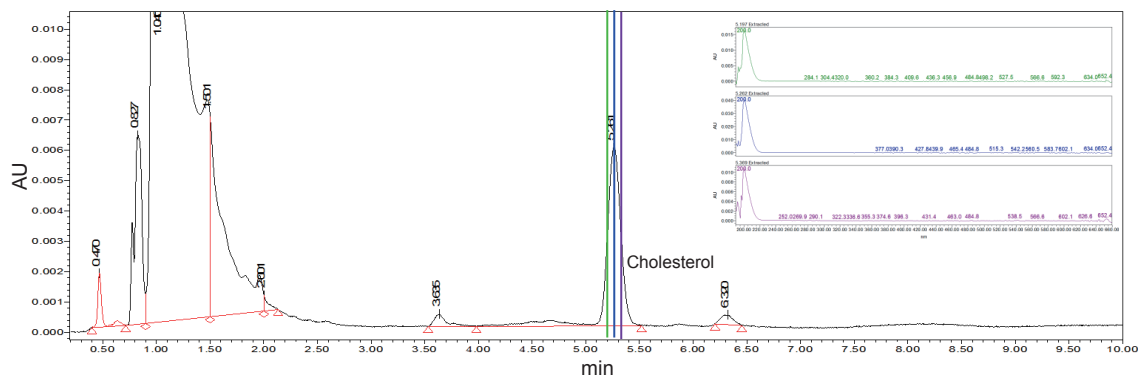


Fig. 1. Chromatograms of cholesterol standard, SRM 1546a, *Clupea pallasii* and *Tilapia mossambica* for specificity.

측정하였고, 조제한 표준용액을 1일 3회 반복, 3일간 분석하여 일간정밀도(재현성, reproducibility)를 측정하였다. 분석법의 유효화를 위하여 표준인증물질 3종(SRM1546a, SRM1549a 및 SRM1845a)의 콜레스테롤 인증 값을 근거로 평가하였다.

수산물의 콜레스테롤 함량 분석

검증한 분석법을 이용하여 수산물 10종의 콜레스테롤 함량을 분석하였다. 실험에 사용된 수산물은 미국 농무부(USDA, 2022)에서 제공하고 있는 수산물의 콜레스테롤 함량값과 비교할 수 있는 유사한 종으로 선정하였으며, 각 시료별로 3개의 시험용액을 제조하여 분석한 평균값을 가식부 100 g에 함유되어 있는 함량(mg)±표준편차로 나타내었다.

결과 및 고찰

시험방법의 유효성 검증

본 연구에서는 콜레스테롤 분석에 관한 시험방법의 유효성을 검증하였다. 특이성이란 불순물이 혼재되어 있는 상태에서 분석대상물질을 선택적으로 정확하게 측정할 수 있는 능력을 말한다(KMFDS, 2008). UPLC를 사용한 콜레스테롤 분석조건에서 콜레스테롤 피크는 5.1–5.2 min 사이에 검출되었으며, 동 시간대에 콜레스테롤 외에 나타나는 물질은 없는 것으로 확인되었다. 콜레스테롤 표준용액과 시험용액을 각각 분석하여 피크의 머무름 시간과 동 시간대에 측정된 파장이 일치하는 것을 확인하였다. 또한, 피크 최소 3곳의 스펙트럼을 비교하여 모두 동일함을 확인함으로써 시험용액 내 검출되는 성분이 콜레스테롤임을 확인하였고, 그 특이성을 입증하였다(Fig. 1). 이는

GC를 이용한 식품공전 분석법에서 검출되는 16–18 min 보다 10분 이상 빠른 시간 내에 콜레스테롤 피크가 검출되어 30분 이상 소요되는 기기분석 시간을 10분으로 단축할 수 있으며, 전처리에서 유도체화 과정을 생략할 수 있으므로 효율성을 높이고, 유도체화로 인한 시험용액의 불안정성을 개선할 수 있다(Lee, 2007).

직선성은 시료 내 분석물의 농도에 비례하는 결과를 얻기 위한 능력을 측정하는 것으로(Shirley and Michelle, 2010), 상관 계수(R²) 값이 1에 가까울수록 직선성을 가진다고 판정하고 있다(KMFDS, 2008). 실험 결과 5개의 농도 수준인 0–100 µg/mL 범위에서 8회 반복한 모든 검량선의 R²이 0.993–1.000 사이 값을 나타내어 신뢰성을 확인하였다. 8회 반복하여 얻은 농도별 면적을 평균하여 대표 검량선을 나타내었으며, 대표 검량선의 R²은 0.9999로, 수산물의 콜레스테롤 함량 분석에 활용하였다(Table 1).

LOD는 분석물의 검출이 가능한 최저 농도를 의미하며, LOQ는 정확하고 정밀하게 정량할 수 있는 가장 낮은 농도를 의미한다. 검량선 기울기 평균은 758.53이며, 잔차의 표준오차는 554.65이다. 이를 이용하여 구한 LOD는 2.41 µg/mL이었으며,

Table 1. Linearity, limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) of cholesterol standard (n=8)

Compounds	Range (µg/mL)	Regression equation	Linearity (R ²)
Cholesterol	0–100	Y=758.53x+167.66	0.9999
LOD (µg/mL)	2.41	LOQ (µg/mL)	7.31

Table 2. Accuracy, intra-day repeatability and inter-day reproducibility of a new cholesterol analytical method

(A) Accuracy and precision of cholesterol analytical method				
Concentration of standard (µg/mL)	Precision		RSD (%)	Accuracy (%)
	Tested value (µg/mL) ¹			
Intra-day (n=3)				
10	9.90±0.13		1.36	99.02
50	48.41±2.86		5.90	96.82
100	95.81±2.47		2.57	95.81
Inter-day (n=3)				
10	9.22±0.72		7.82	92.21
50	48.94±2.21		4.50	97.89
100	92.41±6.58		7.11	92.41
(B) Accuracy and precision of cholesterol analytical method by SRMs (n=3)				
SRM ²	Certified value (mg/100 g) ¹	Tested value (mg/100 g) ¹	RSD (%)	Accuracy (%)
SRM 1546a	71.70±2.20	69.49±2.13	3.06	96.92
SRM 1549a	98.10±7.10	91.93±1.80	1.96	93.71
SRM 1845a	1,767.00±29.00	1,715.65±28.45	1.66	97.09

¹Mean±standard deviation. ²SRM 1546a, Meat homogenate; SRM 1549a, Whole milk powder; SRM 1845a, Whole egg powder.

Table 3. Cholesterol contents of Korean fisheries comparison with values of USDA (2022)

Common name	Cholesterol (mg/100 g)±SD	Reference (USDA, 2022)	Common name	Cholesterol (mg/100 g)	RSD (%)
Common squid	242.24±42.67	Squid	Squid	233	1.94
Hakodate sand shrimp	157.70±3.66	Shrimp	Shrimp	161	1.04
Korean rockfish	54.97±0.58	Rockfish	Rockfish	50	4.73
Pacific herring	54.81±0.93	Herring	Herring	60	4.52
Bastard halibut	54.75±1.61	Flatfish	Flatfish	45	9.77
Flathead grey mullet	53.84±0.54	Mullet	Mullet	49	4.71
Pacific cod	53.63±4.11	Cod	Cod	47	6.59
Trout	53.29±0.82	Trout	Trout	58	4.23
Tilapia	48.17±3.11	Tilapia	Tilapia	50	1.29
Marbled sole	47.79±4.41	Halibut	Halibut	46	1.91

LOQ는 7.31 µg/mL로 나타났다(Table 1). 이는 식품공전법을 이용한 Moon et al. (2019)의 연구 결과보다 비교적 높은 값을 나타내었으나, 시료의 콜레스테롤 함량 표기를 'mg/100 g'으로 하고 있으며, 어류의 평균 콜레스테롤 함량이 20.8 mg/100g 이상임을 고려하였을 때, 본 시험법이 수산물 내 콜레스테롤 검출과 정량에 어려움이 없을 것으로 보인다(Jeong et al., 1998).

Jeong et al. (1998)의 연구 결과에 따르면 저서어 평균 콜레스테롤 함량이 20.8 mg/100 g, 표·중층 회유어 평균 콜레스테롤 함량이 45.5 mg/100 g임을 고려하였을 때, 시험용액을 10–100 µg/mL의 농도로 제조하여 분석한 결과에 희석배수를 적용하면 6–60 mg/100 g 범위의 콜레스테롤 함량 나타낼 수 있다. 이를 바탕으로 분석법의 정밀성과 정확도를 평가하기 위하여 10 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL의 농도의 시험용액을 제조하였으며, 이들의 일내정밀도는 상대표준편차(relative standard deviation, RSD)가 1.36–5.90로 나타났고, 일간정밀도는 RSD 값이 4.50–7.82의 범위로 나타났다. AOAC (2002) 분석법 검증 가이드라인에 따르면, 농도 수준이 1 mg/100 g 이상인 경우 일내정밀도는 6%, 일간정밀도는 11% 이하 수준으로 RSD를 허용하고 있으며, Dyson (1992)는 RSD 값이 10% 이하인 경우 정밀도가 우수한 것으로 정의하고 있어, 본 분석법이 허용범위 내에 포함되어 있어 우수한 정밀성을 확인하였다. 농도별 정확도는 10 µg/mL에서 99.02%, 50 µg/mL에서 96.82%, 100 µg/mL에서 95.81%로 나타나 90% 이상의 높은 정확도를 나타내었다(Table 2).

또한, 정확한 콜레스테롤 함량 정보를 알고 있는 표준인증물질 3종을 사용하여 유효성을 검증하였다. 표준인증물질을 3회 반복 측정된 결과, 평균 95.91%로 90% 이상의 높은 정확도를 나타내었으며, 표준인증물질 3종에 대한 RSD 값은 1.66–3.06 범위로 나타났다(Table 2). 표준품의 농도별 정확도와 표준인증물질의 정확도는 AOAC (2002) 가이드라인의 수용범위인 80–115% 내에 충족되므로 본 연구에서 제시한 분석법의 정확도가 우수함을 확인하였다.

수산물의 콜레스테롤 함량 분석 및 검증

검증한 콜레스테롤 분석법을 이용하여 미국 농무부(USDA, 2022)에서 콜레스테롤 함량정보를 제공하고 있는 수산물과 유사한 종(10종)을 분석하였다. 이들 수산물의 콜레스테롤 함량은 살오징어 242.24±42.67 mg/100 g, 마루자주새우 157.70±3.66 mg/100 g, 조피볼락 54.97±0.58 mg/100 g, 청어 54.81±0.93 mg/100 g, 넙치 54.75±1.61 mg/100 g, 송어 53.84±0.54 mg/100 g, 대구 53.63±4.11 mg/100 g, 송어 53.29±0.82 mg/100 g, 털라피어 48.17±3.11 mg/100 g, 문치가자미 47.79±4.41 mg/100 g의 순으로 나타났으며, 그 결과는 Table 3에 나타내었다. 수산물의 성분 조성이 먹이, 서식환경, 계절, 성숙도, 크기 등 다양한 체내·외 환경 조건에 따라 영향을 받는 점을 고려하면(Moon et al., 2012), USDA의 값과 분석값의 RSD가 10% 미만으로 나타나 유의미한 결과를 나타내었다.

따라서 본 연구에서 개발한 새로운 콜레스테롤 분석법을 검증하였으며, 이를 이용하여 수산물의 콜레스테롤 함량을 분석·검증함으로써, 본 분석법이 수산물의 콜레스테롤 분석 및 함량 정보를 제공하는데 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

사 사

이 논문은 국립수산물과학원 수산시험연구사업(R2022066)의 지원으로 수행된 연구이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

References

- Ackman RG and McLeod C. 1988. Total lipids and nutritionally important fatty acids of some Nova Scotia fish and shellfish food products. *Can Inst Food Sci Technol J* 21, 390-398. [https://doi.org/10.1016/S0315-5463\(88\)70974-8](https://doi.org/10.1016/S0315-5463(88)70974-8).
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2002. AOAC guidelines for single laboratory validation of chemical methods for dietary supplements and botanicals. AOAC,

- Gaithersburg, MD, U.S.A., 18-19.
- Cho SR, Kim DW, Yu HJ, Cho SH, Ryu A, Lee KJ and Mok JS. 2020. Validation of LC-MS/MS method for analysis of paralytic shellfish toxins in shellfish and tunicates. *Korean J Fish Aquat Sci* 53, 174-180. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2020.0174>.
- Dyson N. 1992. Chromatographic integration methods. *The Royal Society of Chemistry, Cambridge, U.K.*, 1-67, 87-156.
- Hanukoglu I. 1992. Steroidogenic enzymes: Structure, function, and role in regulation of steroid hormone biosynthesis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 43, 779-804. [https://doi.org/10.1016/0960-0760\(92\)90307-5](https://doi.org/10.1016/0960-0760(92)90307-5).
- Jeong BY, Choi BD and Lee JS. 1998. Proximate composition, cholesterol and α -Tocopherol content in 72 species of Korean fish. *J Korean Fish Soc* 31, 160-167.
- Kim JM, Park JM, Yoon TH, Leem DG, Yoon CY, Jeong JY, Jeong IS, Kwak BM and Ahn JH. 2011. Development of analysis method for cholesterol in infant formula by direct saponification. *Korean J Food Sci Anim Resour* 31, 944-951. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2011.31.6.944>.
- Kim JM. 2011. Development of analysis method for cholesterol in processed food. Ministry of Food and Drug Safety, Cheongju, Korea.
- KMFDS (Korean Ministry of Food and Drug Safety). 2008. Commentary for application of guidelines for validation of analysis methods such as pharmaceuticals. Korean Ministry of Food and Drug Safety, Cheongju, Korea.
- KMFDS (Korean Ministry of Food and Drug Safety). 2020. "Guidelines for nutrition labeling at a glance" complainant's guide. Korean Ministry of Food and Drug Safety, Korea.
- KMFDS (Korean Ministry of Food and Drug Safety). 2021. Korean food standards codex. Korean Ministry of Food and Drug Safety, Korea.
- KMHW (Korean Ministry of Health and Welfare) and the Korean Nutrition Society. 2020 Dietary reference intakes for Koreans: Energy and macronutrients. Korean Ministry of Health and Welfare and the Korean Nutrition Society, Sejong and Seoul, Korea.
- Knapp DR. 1979. Handbook of analytical derivatization reactions. John Wiley and Sons, Inc., New York, NY, U.S.A., 2-11.
- Lee. 2007. Simultaneous determination of free fatty acids using tert-butylidimethylsilyl derivatization by GC-EI/MS/SIM. M.S. Thesis, Kyung Hee University, Seoul, Korea.
- Lee. 2018. Technological advances and latest research trends in geology. Retrieved from <https://www.ibric.org/myboard/read.php?Board=report&id=2917> on Feb 3, 2022.
- Moon HG, Islam Md. A and Chun JY. 2019. Analysis of retinol, β -carotene, vitamin E, and cholesterol contents in steamed and braised dishes of the Korean diet. *Korean J Food Preserv* 26, 796-807. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2019.26.7.796>.
- Moon SK, Lee DS, Yoon HD, Kim YK, Yoon NY, Kim IS and Jeong BY. 2012. Proximate and fatty acid compositions of three species of imported and domestic freshwater fishes. *Korean J Fish Aquat Sci* 45, 612-618. <http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2012.0612>.
- Shirley B and Michelle C. 2010. Forensic applications of high performance liquid chromatography. CRC Press, Boca Raton, FL, U.S.A., 168-170.
- Statistics KOREA. 2022. Fishery production survey. Received from http://www.index.go.kr/potal/stts/idxMain/selectPoSttsIdxMainPrint.do?idx_cd=1317&board_cd=INDX_001 on Feb 21, 2022.
- USCDC (United States Center for Disease Control). 2012. National health and nutrition examination survey. United States Center for Disease Control, Atlanta, GA, U.S.A.
- USDA (United States Department of Agriculture). 2022. Component search. United States Department of Agriculture, Washington D.C., U.S.A. Retrieved from <https://fdc.nal.usda.gov/> on Feb 21, 2022.