pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 34, No. 5, pp. 502~507 (2019)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2019.34.5.502

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

Short communication

DNA 바코드를 이용한 국내 유통 두족류 제품의 원재료 모니터링 연구

유연철[1] · 홍예원[1] · 김정주[1] · 김형수[1]* · 강태선[2]*
[1]식품의약품안전처 식품의약품안전평가원 신종유해물질팀
[2]상지대학교 보건과학대학 식품영양학과

Monitoring of Commercial Cephalopod Products Sold on the South Korea Market using DNA Barcode Information

Yeon-Cheol Yu[1], Yewon Hong[1], Jung Ju Kim[1], Hyung Soo Kim[1]*, Tae Sun Kang[2]*
[1]New Hazardous Substance Team, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Cheongju, Korea
[2]Department of Food and Nutrition, College of Health Science, Sangji University, Wonju, Korea

(Received July 25, 2019/Revised August 31, 2019/Accepted September 17, 2019)

ABSTRACT - Cephalopods are one of the most important fishery resources in the world because of their desirable taste and nutritional value. In south Korea, one of the countries in which a large amount of seafood is consumed, cephalopods (e.g., octopus, squid, and cuttlefish) have an annual consumption rate of over 400,000 metric tons. In this study, octopus and squid products (n=28) sold on the market were monitored by analyzing sequences of DNA barcode markers (cytochrome *c* oxidase subunit I and 16S ribosomal RNA genes). For species identification, the NCBI BLAST database was screened with the sequences and analyzed as a query. In this BLAST search, twelve squid products showed 99-100% sequence identity to *Dosidicus gigas* (n=3) and *Todarodes pacificus* (n=9). In the case of the other 16 products that were declared using octopus as raw materials on the labels, six products were identified as *Cistopus taiwanicus* (n=1), *Amphioctopus marginatus* (n=1), *Scaeurgus unicirrhus* (n=1), and *Dosidicus gigas* (n=3). Monitoring results indicated that a significant percentage (37.5%) of mislabeling was present in octopus products sold on the South Korean market.

Key words : Cephalopod, DNA barcode, Food fruad, Species identification

두족류는 맛과 영양적 가치가 높아 세계적으로 중요한 수산자원 중 하나이다. 우리나라는 두족류를 연간 40만 톤 이상을 소비하는 국가로서, 한국수산무역협회(Korea Fishery Trade Association)에 따르면 최근 2017년까지 우리나라의 두족류 수입량은 계속해서 증가하고 있는 추세이다[1,2]. 국내에서 두족류는 종(예 문어, 한치, 오징어 등)에 따라 가격차가 있기 때문에 육안 구별이 어려운 가공식품을 중심으로 경제적 이득을 목적으로 원재료를 속여서 파는 사례가 보고되고 있다. 특히 두족류 중 오징어는 알레르기 유발물질로 분류되어 '식품 등의 표시기준'에 따라 함유된 양과 관계없이 원재료명을 표시하여야 한다[3]. 따라서 알레르기를 유발할 수 있는 원재료의 종(種)을 의도적으로 누락하거나 다른 종으로 표시하는 등의 식품 사기는 국민의 건강에 큰 위협이 될 수 있다. 실례로 2018년 오징어 빨판을 사용한 '자숙문어빨판제품'의 경우 알레르기 유발물질인 오징어가 표시되어 있지 않아 판매중단 및 회수조치가 내려진 바 있다[4,5].

생물의 종판별을 위해서는 DNA 바코드 분석 방법이 널리 활용되고 있다. 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)을 이용하여 16S ribosomal RNA (16S rRNA), cytochrome c oxidase subunit Ⅰ(COI), cytochrome b (cytb) 등의 표준화된 유전자의 염기서열(600-700 bp)을 분석하고, 염기서열 정보를 비교하여 생물종을 확인할 수 있다. 분석에 이용되는 미토콘드리아 DNA는 염기 복제 수 및

*Correspondence to: Tae Sun Kang, Department of Food and Nutrition, College of Health Science, Sangji University, Wonju, Gangwon-do, 26339, Korea
Tel: +82-33-738-7642, Fax: +82-43-738-7652
E-mail: missa1976@sangji.ac.kr
Hyung Soo Kim, New Hazardous Substance Team, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Cheongju, Chungcheongbuk-do 28159, Korea
Tel: +82-43-719-4452, Fax: +82-43-719-4450
E-mail: jungin98@korea.kr

염기 치환이 매우 높고, 염기서열 구성에 관한 방대한 정보가 밝혀져 있어 동물성 종판별에 활용되고 있다[6]. 미토콘드리아의 DNA 중 16S rRNA와 COI 유전자는 동물의 종판별을 위해 사용되는 DNA 바코드 마커로서, 이러한 유전자를 증폭 대상으로 하는 다양한 종류의 일반 프라이머(Universal primer)가 개발되어 수산물의 종판별 연구에 널리 활용되고 있다. 이러한 일반 프라이머 및 DNA 바코드 염기서열 정보는 두족류의 종판별, 초형아강(Coleoida) 판별 및 두족류 제품의 판별법 개발 등에 활발히 활용되어왔다[7-10].

본 연구에서는 DNA 바코드 정보 분석을 이용하여 육안구별이 어려운 문어 및 오징어 제품의 원재료 종판별 연구를 수행하였다. 이를 위해 국내에 유통 중인 28개 문어 및 오징어 가공제품에서 추출한 DNA 대상으로 16S rRNA 및 COI 유전자를 증폭하여 염기서열을 분석하였다. 분석된 염기서열을 미국국립보건원(NCBI) GenBank 데이터베이스에 등록되어 있는 생물종의 염기서열과 비교함으로써 사용 원재료의 모니터링을 실시하였다.

Materials and Methods

시료 전처리 및 DNA 추출

문어(*Octopus vulgaris*) 및 오징어(*Todarodes pacificus*) 종이 확인된 표준시료(certified reference)는 식품의약품안전처로부터 제공받았으며 DNA 바코드 마커 증폭을 위한 PCR 조건 확립 및 DNA 바코드 정보를 이용한 종판별의 양성대조군으로 사용하였다. 본 연구에서는 오징어와 문어를 원재료로 사용한 다양한 유형의 가공제품을 분석대상으로 사용하였다. 전체 28개 중 1차 가공제품(조미, 건조 등 단순가공)은 7개, 2차 가공제품(튀김, 젓갈, 양념 첨가 등 조리가공)은 21개였으며, 이들 제품에 관련된 정보(원재료명, 원산지, 가공유형 등)는 Table 1에 요약하였다. 검체의 가식 부위 25 mg을 DNA 추출에 이용하였으며 가공과정 중 가식 부위에 붙어있는 PCR 저해인자를 제거하기 위하여 70% Ethanol과 증류수를 이용하여 양념 및 부산물을 제거하였다. DNA의 추출은 DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Germany)를 이용하여 전처리된 가식부위를 대상으로 제조사의 매뉴얼에 따라 수행하였다. 추출된 DNA의 농도 및 순도는 NanoDrop 2000 (ThermoFisher Scientific, USA)을 사용하여 확인하였다.

DNA 바코드 PCR 및 염기서열 분석

두족류의 종판별을 위해 선행 연구를 참고하여 16S rRNA 및 COI 유전자를 목적 유전자로 선정하였으며, 바코드 마커의 증폭에 필요한 프라이머 세트 정보는 Table 2에 제시하였다[6,11,12]. Table 2에 요약된 각 프라이머 세트를 이용하여 Table 3에 요약된 증폭 조건에 따라 Thermal Cycler C1000 Touch (Bio-Rad, USA) 장비를 이용하여 중합효소연쇄반응(PCR)을 수행하였다. 반응액 조성은 AccuPower PCR PreMix (Bioneer, Korea)를 이용하여 10 μM의 정방향 및 역방향 프라이머를 각각 1 μL, 10 ng/μL 농도의 주형 DNA 1 μL를 첨가하였으며, 총 반응액이 부피가 20 μL가 되도록 멸균증류수를 첨가하였다. PCR 후 증폭산물은 Accuprep PCR Purification Kit (Bioneer)를 이용하여 제조

Table 1. Information of samples analyzed in this study

	Raw material[a]	Type of product	Country of origin[a]
R1	Octopus (certified reference)	Frozen	MFDS
R2	Squid (certified reference)	Frozen	MFDS
S1	Octopus	Seasoned	China
S2	Octopus	Sliced	Vietnam
S3	Octopus	Seasoned	China
S4	Octopus	Sliced	Pelagic fishery
S5	Octopus	Sliced	Mauritania
S6	Octopus	Chopped	Mauritania
S7	Octopus	Sliced	Mauritania
S8	Octopus	Seasoned	Mauritania
S9	Octopus	Seasoned	China
S10	Octopus	Sliced	China
S11	Octopus	Chopped	South Korea
S12	Octopus	Chopeed	Peru
S13	Octopus	Sliced	Peru
S14	Octopus	Seasoned	South Korea
S15	Octopus	Seasoned	South Korea
S16	Octopus	Sliced	South Korea
S17	Squid	Chopped	South Korea
S18	Squid	Sliced	Chile
S19	Squid	Seasoned	South Korea
S20	Squid	Chopped	South Korea
S21	Squid	Seasoned	Peru
S22	Squid	Seasoned	South Korea
S23	Squid	Seasoned	South Korea
S24	Squid	Seasoned	Peru
S25	Squid	Seasoned	South Korea
S26	Squid	Seasoned	South Korea
S27	Squid	Seasoned	South Korea
S28	Squid	Seasoned	South Korea

MFDS represents the Ministry of Food and Drug Safety.
[a] Raw materials and origin were declared in the labels of commercial products.

Table 2. Information of primer sets used in this study

Marker[a]	Primer set	Primer sequence (5' → 3')	Reference
16S rRNA	16Sar-L	CGCCTGTTTATCAAAAACAT	Palumbi SR. *et al*. 1996[16]
	16Sbr-H	CCGGTCTGAACTCAGATCACGT	
COI	LCO1490	GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG	Folmer *et al*. 1994[18]
	HCO2198	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA	
	FISHCO I LBC_ts	CACGACGTTGTAAAACGACTCAACYAATCAYAAAGATATYGGCAC	Handy *et al*. 2011[12]
	FISHCO I HBC_ts	GGATAACAATTTCACACAGGACTTCYGGGTGRCCRAARAATCA	
	VF2_t1	TGTAAAACGACGGCCAGTCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC	Ward *et al*. 2005[17]
	FishF2_t1	TGTAAAACGACGGCCAGTCGACTAATCATAAAGATATCGGCAC	
	FishR2_t1	CAGGAAACAGCTATGACACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA	
	FR1d_t1	CAGGAAACAGCTATGACACCTCAGGGTGTCCGAARAAYCARAA	Ivanova *et al*. 2007[19]

[a] 16S rRNA and COI represent 16S ribosomal RNA and cytochrome *c* oxidase subunit I genes, respectively.

사의 매뉴얼에 따라 정제하였다. 정제 후 염기서열의 분석은 ㈜바이오니아에 의뢰하여 수행하였다.

DNA 바코드 정보를 이용한 두족류의 종판별

분석된 바코드 마커의 염기서열(약 700 bp)은 BioEdit (version 7.0.5, USA) 프로그램을 이용하여 질적 점수(quality score)를 확인하였으며 질적 점수 20 이하의 염기서열은 분석에서 제외하였다[11]. 편집된 바코드 마커의 염기서열 정보는 미국국립보건원에서 제공하는 검색기능(BLAST Search)을 사용하여 분석하였으며, 98% 이상의 유사도(identity)를 보이는 종을 분석 검체에 사용한 원재료의 종으로 최종 판별하였다[12].

Results and Discussion

두족류 종판별을 위한 프라이머 세트 선정 및 바코드 마커의 증폭

수산물의 종판별에 널리 활용되는 4개의 프라이머 세트를 선정한 후 표준시료를 사용하여 각 프라이머 세트별 최적의 증폭조건을 확립하였다(Table 3). 최적의 PCR 증폭조건 확립 후 문어 및 오징어 제품에 사용된 원재료의 종판별을 위한 DNA 바코드 마커의 증폭효율을 비교하였다. Fig. 1에서 확인할 수 있듯이, '16Sar-L/16Sbr-H' 프라이머 세트 이용 시 28개 분석 검체 중 19개(68%) 검체에서, 'LCO1490/HCO2198' 프라이머 세트 이용 시 12개(43%) 검체에서 PCR 증폭산물이 생성되었다. 반면 'FISHCOILBC_ts/FISHCOIHBC_ts' 프라이머 세트 및 'VF2_t1/FishF2_t1/FishR2_t1/FR1d_t1' 프라이머 세트를 사용할 경우 분석 검체 중 3개(11%) 및 4개(14%) 검체에서 각각 PCR 증폭산물을 생성하여 최종 두족류 종판별 분석에서 제외하였다.

Fig. 1에서 확인할 수 있듯이, 두족류 종판별에 최종 선정된 '16Sar-L/16Sbr-H' 및 'LCO1490/HCO2198' 프라이머 세트는 제품 유형 별로 다른 증폭 효율을 보였다. '16Sar-L/16Sbr-H' 프라이머 세트로 증폭된 19개 검체 중 15개는 오징어(대왕오징어, 살오징어)가 원재료로 표기된 제품인 반면, 'LCO1490/HCO2198' 프라이머 세트로 증폭된 12개 검체 중 10개는 문어를 원재료로 표기한 제품이었다. 이러한 결과는 두족류를 사용한 제품의 원재료 판별 시 분석하려는 종에 적합한 바코드 마커 선택의 중요성을 시사한다. 또한 두족류에 대한 선행연구에서도 문어류(*O. vulgaris*, *Enteroctopus dofleini*, *Cistopus taiwanicus*,

Table 3. Optimal PCR conditions for amplification of DNA barcode markers

Step	16Sar-L, 16Sbr-H/ LCO1490, HCO2198			FISHCO I LBC_ts, FISHCO I HBC_ts			VF2_t1, FishF2_t1, FishR2_t1, FR1d_t1		
	Temp.	Time	Cycle	Temp.	Time	Cycle	Temp.	Time	Cycle
Predenaturation	96°C	3 min	1	94°C	2 min	1	94°C	2	1
Denaturation	96°C	20 s		94°C	30 s		94°C	30	
Annealing	53°C	20 s	35	55°C	40 s	35	52°C	40	35
Extension	72°C	1 min		72°C	1 min		72°C	1	
Final extension	72°C	10 min	1	72°C	10 min	1	72°C	10	1

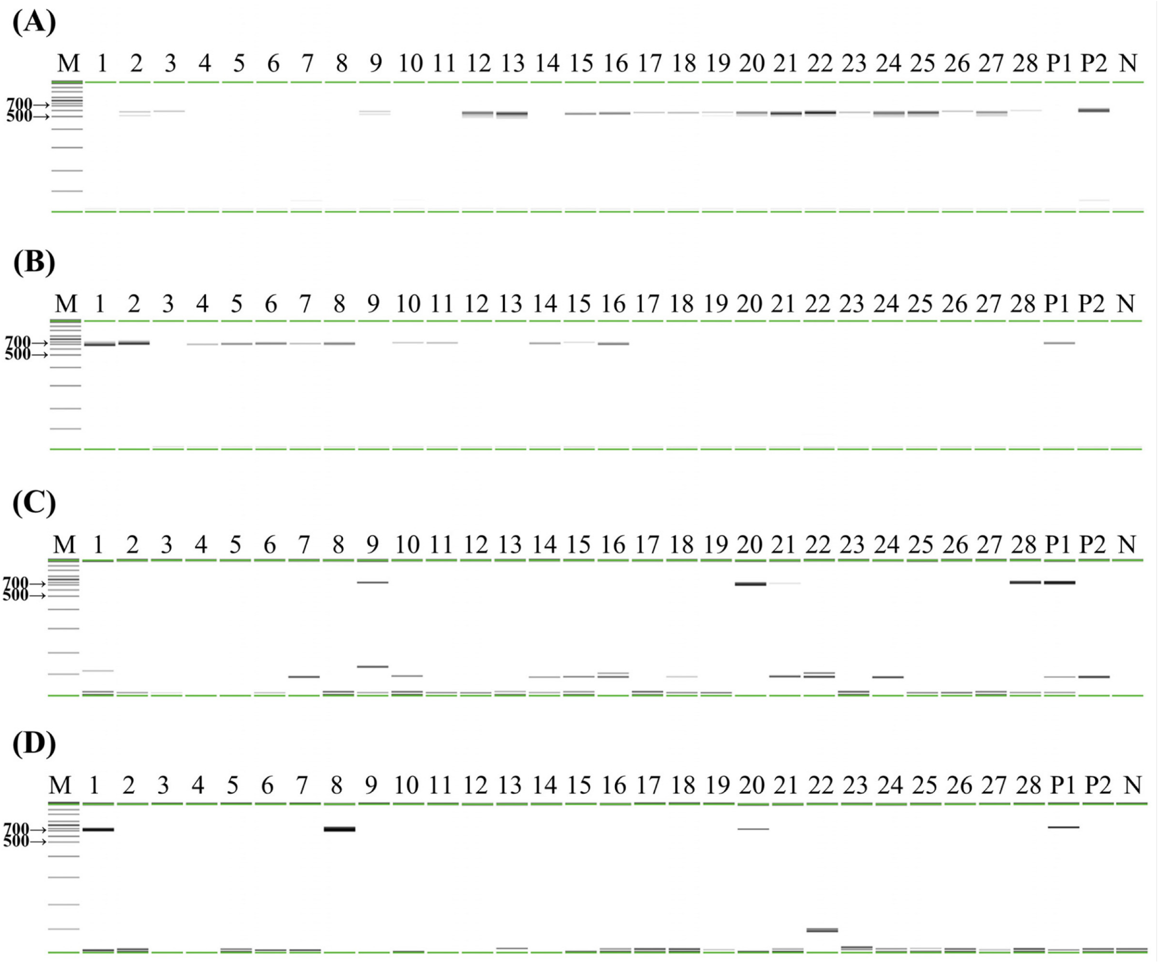

Fig. 1. Amplification results of DNA barcode markers using four primer sets. (A) 16Sar-L, 16Sbr-H, (B) LCO1490, HCO2198, (C) FISHCO I LBC_ts/FISHCO I HBC_ts, (D) VF2_t1, FishF2_t1, FishR2_t1, FR1d_t1, Lane M: size marker, Lanes 1-28: samples 1-28, Lane P1: positive control 1 (*Octopus vulgaris*), Lane P2: positive control 2 (*Todarodes pacificus*), Lane N: non-template control.

Amphioctopus marginatus, *Scaeurgus unicirrhus*)의 경우 COI 유전자가, 오징어류(*T. pacificus*, *Dosidicus gigas*)의 경우는 16S rRNA 유전자가 종판별을 위한 DNA 바코드로 적합한 것을 제시했다[8-10,13]. 따라서 본 연구에서 선정한 ‘16Sar-L/16Sbr-H’ 및 ‘LCO1490/HCO2198’ 프라이머 세트의 조합은 오징어 및 문어 제품에 사용된 원재료의 종판별에 있어 적합한 것으로 확인되었다.

바코드 마커 정보를 이용한 두족류 종판별

선정된 두 개의 프라이머 세트를 이용하여 얻은 PCR 증폭산물을 ‘DNA 바코드 PCR 및 염기서열 분석’ 항목에서 제시된 방법에 따라 정제 후 염기서열을 분석하였다. 질적 점수 기준 ‘20’을 적용하여 증폭된 염기서열의 양 말단을 포함하는 불확실 염기서열들을 편집한 후 미국국립보건원 GenBank 데이터베이스에 등록되어 있는 염기서열들과 비교·분석하였다. 유사도(identity, %)와 매칭 점수(match score)를 기준으로 PCR 증폭산물의 종을 판별하였다. 제품에 표시된 원재료명(문어, 오징어, 대왕오징어 등)과 염기서열 분석으로 동정된 학명의 일치 여부는 식품의 기준 및 규격(제2018-74호) 중 『(별표 1) 사용할 수 있는 원료 목록』에 제시된 학명을 기준으로 판단하였다. DNA 바코드 마커 정보를 이용한 원재료의 종판별 결과는 Table 4에 정리하였다. 표준시료로 사용한 문어 및 오징어는 *Octopus vulgaris* 및 *Todarodes pacificus* 종과 각각 100% 유사도를 나타내었다. 오징어를 원재료로 사용했다고 표시한 12개 제품의 경우 DNA 바코드 마커 분석결과 아메리카대왕오징어(*D. gigas*, n=3) 및 살오징어(*T. pacificus*, n=9) 종으로 동정되었다. 원재료를 문어(*O. vulgaris*, *E. dofleini*)로 표기한 16개 제품의 경우 10개 제품에서는 문어(*O. vulgaris*, *E. dofleini*) 종으로 동정된 반면, 6개 제품의 원재료는 대만주머니낙지(*C. taiwanicus*, n=1), 하이야주꾸미(*A. marginatus*, n=1), *S. unicirrhus* (n=1), 아메리카대왕오징어(*D. gigas*, n=3)로 동정되어 37.5%의 불일치율을 보였다. 또한 이 중 3건은 알레르기를 유발할 수 있는 오

Table 4. Species identification results based on sequence information of DNA barcode markers

No.	Primer set		Identified species			Labeling compliance[a]
	16Sar-L 16Sbr-H	LCO1490 HCO2198	Accession No.	Identity (%)	Species	
R1	-	+	LC121558	100	*Octopus vulgaris*	C
R2	+	-	AB240153	100	*Todarodes pacificus*	C
S1	-	+	KF017605	99	*Cistopus taiwanicus*	NC
S2	+	+	LC121544	100	*Amphioctopus marginatus*	NC
S3	+	-	HM104248	99	*Scaeurgus unicirrhus*	NC
S4	-	+	LC121558	100	*Octopus vulgaris*	C
S5	-	+	FN424379	99	*Octopus vulgaris*	C
S6	-	+	KC851954	100	*Octopus vulgaris*	C
S7	-	+	FN424379	100	*Octopus vulgaris*	C
S8	-	+	KJ605279	99	*Octopus vulgaris*	C
S9	+	-	AB635418	100	*Dosidicus gigas*	NC
S10	-	+	AB477017	100	*Enteroctopus dofleini*	C
S11	-	+	AB477017	100	*Enteroctopus dofleini*	C
S12	+	-	EU068697	99	*Dosidicus gigas*	NC
S13	+	-	EU068697	99	*Dosidicus gigas*	NC
S14	-	+	AB191107	100	*Enteroctopus dofleini*	C
S15	+	+	AB430536	99	*Enteroctopus dofleini*	C
S16	+	+	AB477017	100	*Enteroctopus dofleini*	C
S17	+	-	AB240153	100	*Todarodes pacificus*	C
S18	+	-	EU068697	99	*Dosidicus gigas*	C
S19	+	-	AB240153	100	*Todarodes pacificus*	C
S20	+	-	AB240153	100	*Todarodes pacificus*	C
S21	+	-	EU068697	99	*Dosidicus gigas*	C
S22	+	-	AB240153	100	*Todarodes pacificus*	C
S23	+	-	AB240153	99	*Todarodes pacificus*	C
S24	+	-	EU068697	100	*Dosidicus gigas*	C
S25	+	-	AB240153	100	*Todarodes pacificus*	C
S26	+	-	AB240153	100	*Todarodes pacificus*	C
S27	+	-	AB240153	99	*Todarodes pacificus*	C
S28	+	-	LC057375	100	*Todarodes pacificus*	C

+: detected, -: not detected
[a] Identified species were compared with the raw materials declared in the labels of commercial products (Table 1). C and NC represent compliance and non-compliance, respectively.

징어를 원재료로 사용한 것으로 분석되었다.

최근 수입 수산물의 증가와 함께 상대적으로 가격이 저렴한 하이야주꾸미(*A. marginatus*, 약 10,000원/kg)와 대만주머니낙지(*C. taiwanicus*, 약 10,000원/kg)를 낙지, 주꾸미, 문어 등으로 판매하는 사례, 대왕오징어를 가공하여 '가문어'라는 이름으로 판매하는 사례 등 경제적 이득을 목적으로 저가의 수입 원재료를 고가의 두족류 원재료로 표시하는 사례가 보고되고 있다[4,14,15]. 본 연구의 모니터링 결과 대만주머니낙지 및 하이야주꾸미는 육안으로 원재료의 진위 여부를 판별하기 어려운 다코야키, 문어초밥 등의 가공식품에서 동정되었다. 따라서 이러한 제품들은 문어(약 25,000원/kg)와의 가격차이 및 육안구별의 어려움 등을 이용하여 원재료명을 의도적으로 속인 것으로 판단된다. 또한 의도적으로 오징어를 사용한 문어 제품의 경우 소비자에게

금전적 손해뿐만 아니라 알레르기를 유발하여 건강상의 문제를 초래할 수 있다. 따라서 소비자의 알 권리 강화 및 건전한 유통 문화 정착을 위해 알레르기 유발 원재료 표시에 대한 주기적인 모니터링 연구가 필요하며, 본 연구 결과는 향후 모니터링 연구 및 관련 정책 지원을 위한 기초자료로 그 활용도가 높을 것으로 판단된다.

국문요약

본 연구는 국내에 유통되는 두족류 제품에 대한 모니터링을 수행하였다. 문어와 오징어로 표기되어 판매되는 28개 제품을 대상으로 DNA 바코드를 분석하여 원재료의 종을 동정하였다. DNA 바코드 증폭을 위하여 미토콘드리아의 16S ribosomal RNA 및 cytochrome c oxidase subunit I 유전자 부위를 증폭하는 두 종류의 프라이머 세트를 선정하였으며, 이를 이용하여 증폭된 PCR 산물의 염기서열을 분석하였다. 확보한 염기서열은 ‘BLAST Search’를 이용하여 미국국립보건원 GenBank에 등록되어있는 생물 종의 염기서열과 비교하여 유사도와 매칭 점수를 고려하여 최종 종을 동정하였다. 동정결과, 원재료를 오징어로 표기한 12개 제품은 아메리카대왕오징어(*Dosidicus gigas*, n=3), 살오징어(*Todarodes pacificus*, n=9) 종으로 확인되었다. 반면 문어를 원재료로 표기한 16개 제품의 경우, 6개 제품에서 대만주머니낙지(*Cistopus taiwanicus*, n=1), 하이야주꾸미(*Amphioctopus marginatus*, n=1), *Scaeurgus unicirrhus* (n=1), 아메리카대왕오징어(*Dosidicus gigas*, n=3)로 동정되어 표기된 원재료와 불일치하였으며, 이 중 3개의 제품은 알레르기 유발 원재료인 오징어가 사용되었음을 확인하였다.

Acknowledgement

본 연구는 2018년도 식품의약품안전처의 연구개발비(18161MFDS060)로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

References

1. Berger, E., Aquaculture of Octopus species: present status, problems and perspectives. *The Plymouth Student Scientist.*, **4**(1), 384-399 (2011).
2. Korea Fishery Trade Association: Statistics on imports and exports of seafood in the third quarter. 9-11 (2017).
3. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), 2016. Foods Labelling Standards, No. 2016-45, pp. 28.
4. Miyazawa, H., Fukamachi, H., Inagaki, Y., Reese, G., Daul, C.B., Lehrer, S.B., Sakaguchi, M., Identification of the first major allergen of a squid (*Todarodes pacificus*). *J. Allergy Clin. Immunol.*, **98**(5), 948-953 (1996).
5. Han, M.H., Stop selling Chinese processed products that deceive squid into octopus. Yonhap NEWS. Retrieved from https://www.yna.co.kr/view/AKR20180413128600017?input=1195m. Assessed April 13 (2018).
6. Hebert, P.D., Cywinska, A., Ball, S.L., Dewaard, J.R., Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. Biol. Sci.* **270**(1512), 313-321 (2003).
7. Braid, H.E., McBride, P.D., Bolstad, K.S., Molecular phylogenetic analysis of the squid family Mastigoteuthidae (Mollusca, Cephalopoda) based on three mitochondrial genes. *Hydrobiologia.* **725**(1), 145-164 (2014).
8. Braley, M., Goldsworthy, S.D., Page, B., Steer, M., Austin, J. J., Assessing morphological and DNA-based diet analysis techniques in a generalist predator, the arrow squid *Nototodarus gouldi. Mol. Ecol. Resour.,* **10**(3), 466-474 (2010).
9. Kim, H.S., Seo, Y.B., Choi, S.S., Kim, J.H., Shin, J.Y., Yang, J.Y., Kim, G.D., Development and validation of multiplex polymerase chain reaction to determine squid species based on 16s rRNA gene. *J. Food Hyg. Saf.*, **30**(1), 43-50 (2015).
10. Chung, I.Y., Seo, Y.B., Yang, J.Y., Kwon, K.S., Kim, G.D., Development and validation of quick and accurate Cephalopods grouping system in fishery products by real-time quantitative PCR based on mitochondrial DNA. *J. Food Hyg. Saf.*, **33**(4), 280-288 (2018).
11. Criscuolo, A., Brisse, S., AlienTrimmer: a tool to quickly and accurately trim off multiple short contaminant sequences from high-throughput sequencing reads. *Genomics*, 102(5-6), 500-506 (2013).
12. Handy, S.M., Deeds, J.R., Ivanova, N.V., Hebert, P.D., Hanner, R., Ormos, A., Yancy, H. F., Single laboratory validated method for DNA-barcoding for the species identification of fish. *J. AOAC Int.*, **94**(1), 201-210 (2011).
13. Dai, L., Zheng, X., Kong, L., Li, Q. I., DNA barcoding analysis of Coleoidea (Mollusca: Cephalopoda) from Chinese waters. *Mol. Ecol. Resour.*, **12**(3), 437-447 (2012).
14. Kim, B.D., Squid value marched high, soaring imports of Humboldt squid from South America. Financial NEWS. Retrieved from http://www.fnnews.com/news/201906111058332228. Assessed June 11 (2019).
15. Kim, H.J., Results of DNA testing of marine products are 1/3 origin false. Nocut NEWS. Retrieved from https://www.nocutnews.co.kr/news/5145288. Assessed May 3 (2019).
16. Palumbi, S.R., Nucleic acids II: the polymerase chain reaction. In: Hillis, D.M., Moritz, C., Mable, B.K. (Ed), Molecular Systematics. Sinauer & Associates, Massachusetts, pp. 205-247, (1996).
17. Ward, R.D., Zemlak, T.S., Innes, B.H., Last, P.R., Hebert, P.D.N., DNA barcoding Australia’s fish species. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, **360(1462)**, 1847-1857 (2005).
18. Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., Vrijenhoek, R., DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.*, **3(5)**, 294-299 (1994).
19. Ivanova, N.V., Zemlak, T.S., Hanner, R., Hebert, P.D.N., Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. *Mol. Ecol. Notes.*, **7(4)**, 544-548 (2007).