

## 연화방법에 따른 기능성 식품 소재로서의 생선뼈의 특성

이윤미 · 최정욱 · 이민경 · 황혜정 · 정수진 · 남택정\*

부경대학교 수산과학연구소

### Characteristics of Fish Bone as the Functional Food Additives Produced with Different Softening Methods

Yoonmi Lee, Jeong Wook Choi, Hye Jung Hwang, Min Kyeong Lee, Su Jin Jeong and Taek Jeong Nam\*

Institute of Fisheries Sciences, Pukyong National University, Busan 46041, Korea

Fish bone-based calcium products are currently receiving much attention among high value-added industries involving calcium. Industrial processing of fish products yields unused fish parts including bones, which could be used as marine health foods to enhance the economic and environmental benefits of fish production. The ultimate goal of this study is to develop the high value-added fisheries products fortified with fish bones supplementing calcium. We here explored the physical and chemical softening methods of the fish bones to enhance texture of the fish products with a high degree of calcium absorption rates. The eluted calcium from the fish bone was quantified with the inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES). The characteristics of the softened fish bones were determined by the laser diffraction particle size analysis, texture profile analysis, and volatile organic compounds (VOCs) analysis. As the result, the optimized softening method of fish bone was established when *Theragra chalcogramma* bone was treated twice with the pressurized high temperature (110-120°C and 1.0-1.5 kg/cm<sup>2</sup>). The produced softened fish bone turned out to be suitable for the food additives with low particle sizes, low hardness values, and negligible VOCs responsible for the unpleasant flavors.

Key words: Fish bone calcium, Bone softening, Calcium-fortified surimi products

### 서론

칼슘은 생명체 구성과 활동에 필수적인 미네랄 성분으로 동물의 경우 뼈와 혈액을 생성하고 조정하는 주요 성분이며, 심장 정보전달 기능을 담당한다(McKenzie et al., 1998; Goldhaber, 2003). 특히 현대인의 식생활에서 생명체 활성 유지에 중요한 역할을 하는 원소로, 건강기능 식품이나 기타 탄력보강용 식품 첨가물 소재 등 다양한 용도로 개발되고 있다(Pennington and Young, 1991).

현재 칼슘 시장에서 가장 주목 받고 있는 고부가가치 산업은 생선 뼈를 이용한 칼슘 제품이다. 칼슘 건강기능식품 시장이 활성화된 일본의 경우, 칼슘제를 만들 때 사용되는 원료 가운데 생선 뼈 칼슘(어 골 칼슘)의 비중이 가장 높다고 보고 되었다. 이

러한 생선 뼈는 칼슘과 인이 2:1의 비율로 이루어져 있는데, 인체 뼈속 칼슘과 인의 비율 2:1-2.2:1과 상당히 유사하며, 이는 생선 뼈 칼슘이 이상적인 무기질 비율(칼슘:인)로 양질의 칼슘을 보충하여 뼈의 상당 부분을 강화할 수 있다. 특히 생선 뼈 칼슘은 골다공증의 위험을 낮추고 각종 성인병을 예방하는 것으로 보고 되었으며 역동으로 알려진 tilapia *Tilapia nilotica* 뼈를 가공하여 건강 보조 식품인 칼슘 캡슐로 시판 중이다(Techochatchawal et al., 2009). 어육제품 생산 시 불용부분(부산물)에 해당되는 뼈 부분을 산업적으로 재활용함으로써 경제적인 부분과 환경적인 측면을 고려한 수산 건강식품으로 이용 가능하다는 점에서 연구가치가 충분하다. 또한 현재 식품시장에서는 고등어, 삼치를 비롯한 생선 자체를 연화하는 방법(Gao, 2006), 뼈를 가는(milling) 방법 대한 연구(Yin and Park, 2014), 명태

\*Corresponding author: Tel: +82. 51. 726. 1011 Fax: +82. 51. 726. 1009

E-mail address: namtj@pknu.ac.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.2019.0631>

Korean J Fish Aquat Sci 52(6), 631-636, December 2019

Received 13 November 2019; Revised 3 December 2019; Accepted 13 December 2019

저자 직위: 이윤미(연구교수), 최정욱(연구교수), 이민경(연구원), 황혜정(연구교수), 정수진(연구원), 남택정(연구특임교수)

뼈와 연어 뼈를 섭취하여 칼슘 흡수량을 측정하는 방법(Malde et al., 2010) 등이 보고 되었으나, 생선 뼈만을 연화하여 식품에 첨가하여 기능성 식품의 소재로 개발하는 방법에 대한 보고는 거의 없다.

이를 바탕으로 본 연구에서는 생선 뼈를 어육(surimi) 등에 첨가하여 칼슘 함량 증가시키고, 생선 뼈가 식품에 첨가되었을 때 식감 및 풍미 향상에 관련한 연구를 시행하여 고부가가치 수산 식품 및 칼슘이 부족한 개인 맞춤형 기능성 식품 개발의 기반이 되는 연구를 진행하였다.

## 재료 및 방법

### 시료의 준비

본 실험에 사용한 조기(*Larimichthys polyactis*)와 명태(*Theragra chalcogramma*)는 2019년 5월에 부산 남천동에 위치한 해변시장에서 구입하였고, 실험군(n=5)을 수제한 후 뼈와 살을 분리 한 후 생선 뼈만을 취해 실험에 사용하였다. 조기와 명태의 가시 두께와 무게를 측정한 결과, 가시 두께는 평균 0.37 mm와 0.87 mm였으며, 무게는 7.81 g과 49.5g이었다.

### 생선 뼈의 화학적 연화

본 연구에 앞서, 예비실험을 통해 뼈 연화를 위한 화학적인 방법(Ishikawa et al., 1989)으로 산 첨가에 의한 연화 실험을 실시하였다. 1% 구연산, 10% acetic acid 및 10% HCl을 실험에 사용하였으며, 각각 1:3 (W/V) 희석비율로 하여 24시간 동안 4°C 냉장고에 방치하였다. 연화된 생선 뼈를 3차 증류수로 2번 세척하여 60°C에서 20분간 건조한 후 분쇄하여 본 실험에 사용하였다. 예비실험을 통해서 산(acid)가운데 10% acetic acid를 처리한 군에서 연화도가 가장 높게 나와 최종 실험법으로 선정하였다.

### 생선 뼈의 물리적 연화

물리적인 방법으로 고압멸균기(Autoclave, SallyGen, Korea)를 이용한 고온고압(110-120°C 및 1.0-1.5 kg/cm<sup>2</sup>)을 가하는 방법을 통해 생선 뼈 연화를 시도하였다(Zhang et al., 2016). 뼈와 살이 분리된 생선 뼈를 고압 멸균용 용기(SPL, autoclaving dish, 120×80 mm)에 담아 각각 1, 2회 압력을 가한 다음, 세척하여 60°C에서 20분간 건조한 후 분쇄하여 본 실험에 사용하였다(Table 1).

Table 1. Fish-bone softening conditions by physical and chemical methods

Softening Conditions		
A	10% acetic acid 24 h, 1:3 (W/V)	Dry and powder (oven) 140°C/30 min
P1	Pressure (autoclave - 1 time)	
P2	Pressure (autoclave - 2 times)	

### 칼슘추출

물리적인 방법 및 화학적인 방법을 통해 연화된 생선 뼈 칼슘 용출량을 확인하기 위하여 시료를 파우더 형태로 만든 다음 실험을 진행하였다. 각각의 건조 뼈 파우더 20 mg을 0.25 M acetic acid에 넣은 다음 48시간동안 80 rpm으로 shaking하였다. 산화반응이 끝나면 pH 7.0으로 중화시킨 다음 원심분리기(4000 rpm/5 min)를 이용하여 침전 시킨 후 상등액을 취하여 여과(Whatman No.2, GE Lifescience, Maidstone, Kent, UK)한 다음 5% 질산이 함유되도록 시료를 만들었다(Hemung and Sriutha, 2014). 본 시료를 유도 결합 플라즈마 분광 방출 분석기(Inductively coupled plasma optical emission spectrometer, ICP/OES, Optima 7300DV, Perkin Elmer Inc., Waltham, MA, USA)를 통해 방출된 칼슘 용출량을 확인하였다.

### 입도분포실험(Particle size distribution)

빛의 산란현상 중 회절(diffraction) 원리를 이용하여 물질의 입자 크기와 분포도를 동시에 측정하는 방법으로, 압력에 의한 뼈 입자 크기 및 분포도를 확인하였다. 시료 각각의 동일조건을 설정하기 위하여 모든 실험 군의 뼈 파우더를 체(pore size 1.0 mm)를 통과하는 시료(파우더)를 본 실험에 사용하여, 입도 분포 분석기(Laser diffraction particle size analyzer, Beckman Coulter Inc., Brea, CA, USA)를 통해 연화도에 따른 입자 크기를 확인하였다.

### 경도 실험(Hardness test)

식품의 물리적인 성질을 물성 분석기(texture analyzer; The Brookfield CT-3, Brookfield engineering, Middleboro, MA, USA)의 탐침을 이용하여 압축 test와 puncture test의 방법을 복합하여 TPA (texture profile analyzer)를 시행하여 기계적 텍스처를 측정할 수 있다. 본 실험에서는 생선 뼈 연화 정도를 알아보기 위하여 texture analyzer를 통해 경도실험을 실시하였다(Min et al., 2019). 데이터의 정확도를 위해 동일 부위 생선 뼈 조각을 샘플로 하여 크기와 무게(0.5 g)의 오차를 줄여 실험을 수행하였다.

### VOC 성분 측정(Volatile organic compounds, VOCs)

생선 뼈 함유 어육제품 개발을 위해 대기, 폐기물, 먹는 물 및 음식 등의 다양한 matrix에 함유되어 있는 휘발성 유기화합물과 냄새성분을 분석하는 정성 및 정량 방법을 이용하여 가열 조리 시 뼈 자체에서 생성되는 향을 측정하였다. 가열 시 생성되는 냄새성분의 포집을 위해 뼈 파우더를 각각 5 g씩 포집 용 갈색유리병에 넣어 입구를 막고 60°C incubator에서 10시간 동안 방치 했을 때 발생하는 향기성분(volatile organic compounds, VOCs)을 자동 열탈착기 GC/MS (gas chromatography-mass spectrometry; GC-MS with Automatic Thermal Desorber, Perkin Elmer, ATD650/ GC-MS model, GC & MS 2010 plus,

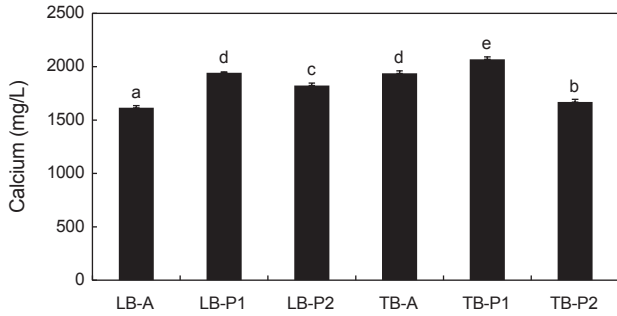


Fig. 1. Calcium elution amount according to the softening method. LB, *Larimichthys polyactis* bone; TB, *Theragra chalcogramma* bone; A, 10% acetic acid treatment; P1, Pressure 1 time; P2, Pressure 2 times. Each value is expressed as mean±SD in triplicate experiment. Values with different alphabets are significantly different at P<0.05 as analyzed by Duncan's multiple range test.

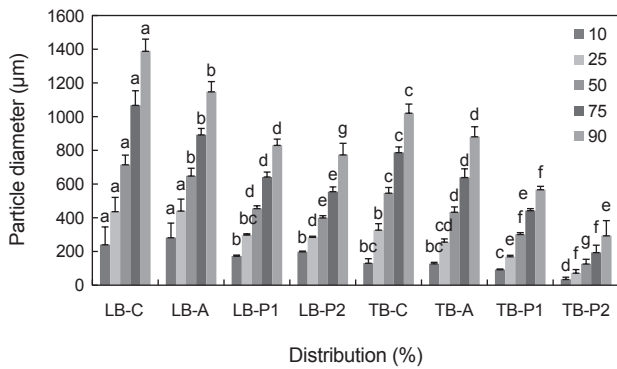


Fig. 2. Particle size distribution of fish bone with different softening method. LB, *Larimichthys polyactis* bone; TB, *Theragra chalcogramma* bone; C, Control, no treatment; A, 10% acetic acid treatment; P1, Pressure 1 time; P2, Pressure 2 times. Each value is expressed as mean±SD in triplicate experiment. Values with different alphabets are significantly different at P<0.05 as analyzed by Duncan's multiple range test.

Shimadzu, Kyoto, Japan)를 통해 성분 분석을 실시하였다.

통계 처리

모든 실험의 분석 결과는 각각의 군별로 평균과 표준편차 (mean±SD)로 나타내었으며, 반복 측정에 의한 ANOVA test로 검증한 후, Duncan's multiple range test를 통하여 P<0.05 수준에서 유의성을 비교하였다.

결과 및 고찰

10% acetic acid 및 고압 고온을 처리하여 물리화학적 방법으로 생산 뼈 연화 실험을 실시하여, 연화도를 확인하였다.

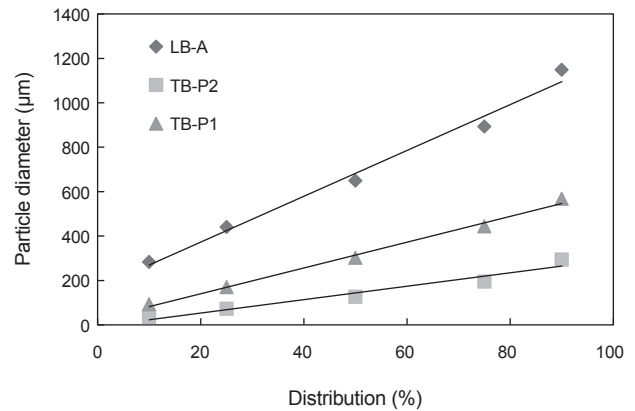


Fig. 3. Comparison of LB-A and TB-P's particle size distribution. LB-A, *Larimichthys polyactis* bone-10% acetic acid treatment; TB-P1, *Theragra chalcogramma* bone-Pressure 1 time; TB-P2, *Theragra chalcogramma* bone-Pressure 2 times.

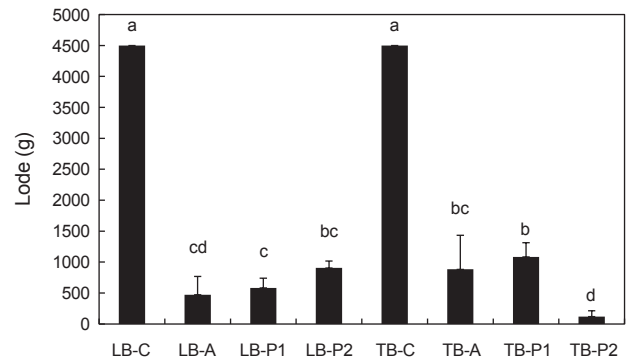


Fig. 4. Hardness result of fish bone with different softening method. LB, *Larimichthys polyactis* bone; TB, *Theragra chalcogramma* bone; C, Control, no treatment; A, 10% acetic acid treatment; P1, Pressure 1 time; P2, Pressure 2 times. Each value is expressed as mean±SD in triplicate experiment. Values with different alphabets are significantly different at P<0.05 as analyzed by Duncan's multiple range test.

칼슘 용출량

물리적인 방법 및 화학적인 연화 방법에 따른 칼슘 용출량 확인을 위해 고온 고압 1회 및 2회, 그리고 10% acetic acid 처리된 명태군(*T. chalcogramma* bone, TB)과 조기군(*L. polyactis* bone, LB)시료를 파우더 형태로 만든 다음 칼슘 용출량을 확인하였다. 그 결과 연화방법에 따른 명태군(TB)와 조기군(LB) 간의 칼슘 용출량은 유의적인 차이가 없었으나, 산을 처리한 군(LB-A와 TB-A)보다는 압력을 가한 군에서 칼슘량이 20%정도 높게 나왔으며, 압력을 2번 가한 군(LB-P2와 TB-P2)보다 1번 가한 군(LB-P1과 TB-P1)에서 10%정도 함량이 높았다(Fig. 1).

### 입도분포실험(Particle size distribution)

물리·화학적 방법을 통해 연화된 생선 뼈 입자 크기를 확인하였다. 생선 뼈는 무기성분이 대부분으로 식품에 첨가 시 식감에 영향을 주며, 뼈 입자가 작을수록 칼슘 함량과 식감이 높은 것으로 보고되었다(Mahnaz et al., 2017). 입자의 크기가 작을수록 연화도가 높은 것으로 확인할 수 있으며, 조기 뼈보다 명태 뼈의 입자가 더 작은 것으로 확인되었다. 연화방법에 따른 결과에 의하면 10% acetic acid 처리군(A) 보다는 압력을 가한 군(P1, P2)에서 particle size 분포도가 낮게 나왔으며 특히 압력을 두 번 가한 명태군(TB-P2)의 입자가 가장 낮았다(Fig. 2). 10% acetic acid를 처리한 조기군(LB-A)과 압력을 2번 가한 명태군(TB-P2)의 입도 분포도를 비교했을 때 TB-P2군에서 전체 파우더 가운데 상위 10%에 해당되는 입자가 평균 34.28  $\mu\text{M}$ 이며, LB-A는 282.3  $\mu\text{M}$ 로 동일 분포도 내에 입자 크기가 8배 이상 차이 나는 것으로 확인되었다. 또한 압력을 한 번 가한 명태 뼈(TB-P1)의 91.9  $\mu\text{M}$ 에 비하여 2배 이상 낮은 것으로 확인되

었다(Fig 3). 이는 TB-P2군을 식품에 첨가하여 칼슘 기능성 제품을 개발하는데 있어 가장 효율적인 것으로 판단된다. 실제로 입도 분포도를 이용한 연구는 가루를 사용하는 식품 첨가 군에서 식감 및 영양을 고려한 중요한 인자로 알려져 있으며(Kum et al., 1999; Choi et al., 2001), 입자의 크기에 따라서 밀가루나 콩가루 등을 첨가한 가공식품의 품질에 영향을 미치는 것으로 보고되었다(Kim et al., 1996).

### 경도 실험(Hardness test)

생선 뼈 경도 실험을 통해서 연화 정도를 확인한 결과는 Fig. 4와 같다. 무처리군(LB-C 과 TB-C)은 4500 g 이상으로 측정되어 가장 딱딱한 것으로 나타났으며, 대부분 군에서 연화방법에 따른 경도는 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다. 반면 TB-P2군에서는 생선 뼈 조각이 대부분 부서지는 현상을 보였으며, 경도 실험결과에서도 가장 낮은 값을 나타냈다.

Table 2. Detected VOCs list of TB-C by GC/MS

Peak no.	m/z	Height	Name
1	TIC	3304699	Carbon dioxide
2	TIC	364019	Acetaldehyde
3	TIC	3615160	Ethanol
4	TIC	2312309	Propanal
5	TIC	257267	Isobutanal
6	TIC	874575	2-Methylpentane
7	TIC	860528	Butanal
8	TIC	870289	2-Butanone
9	TIC	208184	3-Methylpentane
10	TIC	1137676	Hexane
11	TIC	679796	Methylcyclopentane
12	TIC	216961	Methylbutanal
13	TIC	547028	1-Penten-3-ol
14	TIC	438585	Pentanal
15	TIC	345989	Ethylfuran
16	TIC	260445	Heptane
17	TIC	752963	Methyl disulfide
18	TIC	422961	2,5-Dimethylhexane
19	TIC	892502	2-Methylheptane
20	TIC	1288201	Octane
21	TIC	745721	Hexamethyl-Cyclohexasiloxane
22	TIC	571699	Toluene
23	TIC	2303746	2,4-Dimethylheptane

VOCs, volatile organic compound; TB, *Theragra chalcogramma* bone; C, Control; GC-MS, gas chromatography-mass spectrometry.

Table 3. Detected VOCs list of TB-P2 by GC/MS

Peak no.	m/z	Height	Name
1	TIC	1328547	Carbon dioxide
2	TIC	80609	Acetaldehyde
3	TIC	1495697	Ethanol
4	TIC	459772	Propylene oxide
5	TIC	413518	Isopropyl Alcohol
6	TIC	349550	Trimethylsilanol
7	TIC	1324128	Acetic acid
8	TIC	116849	Methylcyclopentane
9	TIC	109492	Benzene
10	TIC	93043	1-Penten-3-ol
11	TIC	77970	Pentanal
12	TIC	121098	1-(2-Furanylmethyl)-1H-pyrrole
13	TIC	106292	4-Methyl-2-pentanone
14	TIC	133798	Methyl disulfide
15	TIC	238012	Toluene
16	TIC	195619	Dimethyldiethoxysilane
17	TIC	224222	Octane
18	TIC	2412517	Dimethylsiloxane cyclic trimer
19	TIC	3394706	Octamethyl-Cyclooctasiloxane
20	TIC	80104	Octamethyl-Cyclooctasiloxane
21	TIC	2829552	Dimethylsiloxane pentamer
22	TIC	1746192	7-Chloro-1,3-Dihydro-5-Phenyl-2H-1,4-Dibenzodiazepin-2-One TMS DE

VOCs, volatile organic compound; TB, *Theragra chalcogramma* bone; P2, Pressure 2 times; GC-MS, gas chromatography-mass spectrometry.

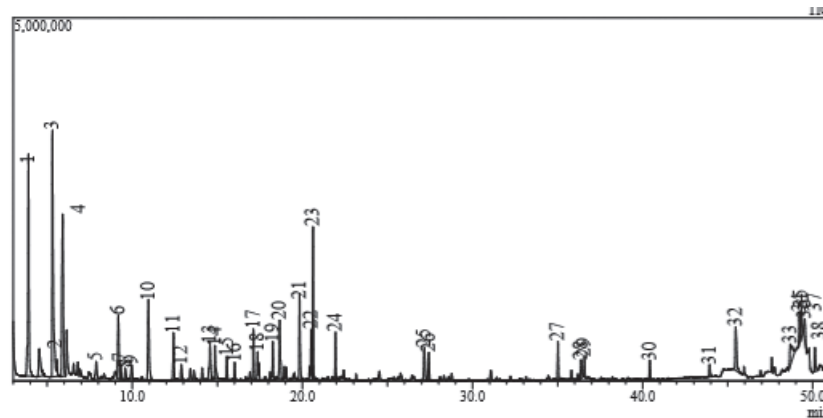


Fig. 5. Detected VOCs of TB-C by GC/MS. VOCs, volatile organic compound; TB, *Theragra chalcogramma* bone; C, Control; GC-MS, gas chromatography-mass spectrometry.

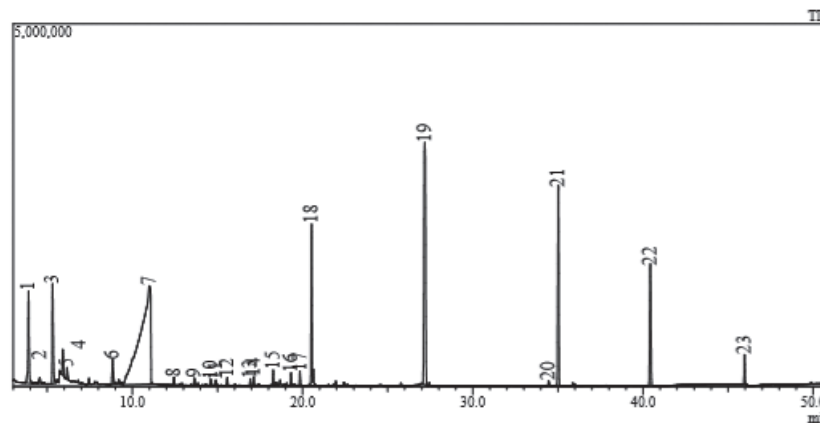


Fig. 6. Detected VOCs of TB-P2 by GC/MS. VOCs, volatile organic compound; TB, *Theragra chalcogramma* bone; C, Control; GC-MS, gas chromatography-mass spectrometry.

## VOCs 성분

생선 뼈를 가공 및 연구하여 칼슘강화 식품첨가 소재로 활용하는 것이 본 연구의 목표이며, 생선 뼈 자체가 식품에 첨가되었을 때 뼈 자체에서 생성되는 향을 통한 식감 및 풍미를 확인하기 위하여 전처리 과정을 거쳐 VOCs 함유성분 GC/MS를 통해 확인하였다(Fig. 5, Fig. 6). 모든 실험군에서 유해 물질 및 악취 성분은 검출되지 않았으며, 대부분 ethanol, 2,4-dimethylheptane과 같은 자연에서 유래한 향기 성분이 검출되었다(Table 2, Table 3). 위 결과를 바탕으로 생선 뼈를 첨가하여 기능성 식품 개발 시 생선 뼈 자체에서 생성되는 이취 등은 없는 것으로 나타났다.

국립농업과학원에서 실시한 제 9개정판 국가표준 식품 분석표 II (NIAS, 2016)에 따르면 원물 100 g당 함유하는 칼슘량은 조기 19 mg, 명태 109 mg으로 명태가 조기에 비해 약 6배 이상의 칼슘을 함유하고 있으며, 또한 본 실험의 입도분포실험결과

에서 명태 뼈의 입자가 조기 뼈의 입자보다 작았기 때문에 조기 뼈(LB) 보다 명태 뼈(TB)가 칼슘 기능성 제품 개발을 위해 어육(surimi)에 첨가하기 가장 적합한 생선이라고 판단된다.

생선 뼈를 연화하는 실험은 110-120°C에서 1.0-1.5 kg/cm<sup>2</sup> 압력을 2차례 가하는 고온 고압법이 가장 우수 하였으며, 압력 2회 처리한 생선 뼈(TB-P2)의 식감 및 산업성 등을 고려한 실험 결과에서도 생선 뼈를 연화했을 때 칼슘량은 약 1600-2000 ppm 이상으로 검출되며, 이는 생선 뼈를 연화하여도 처리 방법에 따른 칼슘 양에는 큰 변화가 없음을 시사한다. 어육 단백질에 영향을 미치는 pH를 확인한 결과 7.02로, 생선 뼈를 첨가 시 연육 섬유 단백질 변성에 영향을 미치지 않을 것으로 사료된다. 7주동안 매일 800 mg의 연어 뼈와 대구 뼈를 성인 남자 10명에게 먹었을 때 흡수율이 각각 21.9±1.7, 22.5±1.7%였으며, 요로결석 등의 건강이상은 보고되지 않았다(Malde et al., 2010). 또한 GC/MS를 통한 향기성분 확인 결과, 생선 뼈를 어육에 첨가했을 때 불쾌감을 유발하는 향기(냄새)성분이나 물리·화학적

인 방법을 통한 연화 과정에서도 유해성분은 없는 것으로 나타났다. 이상의 결과를 바탕으로 명태 뼈를 고압 처리하여 어육에 첨가하여 개인 맞춤형 고부가가치 수산가공식품 개발(노인 및 여성 맞춤형 칼슘 강화식품, 칼슘 증진 첨가 식품 등)에 응용하고자 한다.

## 사 사

이 논문은 2019년 해양수산부 재원으로 해양수산과학기술진흥원의 지원을 받아 수행된 연구임(미래수산식품연구센터).

## References

- Choi CR, Kim JO, Lee SK and Shin MS. 2001. Properties of fractions from waxy rice flour classified with particle size. *Food Sci Biotechnol* 10, 54-58.
- Gao H. 2006. Application of fracture mechanics concepts to hierarchical biomechanics of bone and bone-like materials. *Int J Fract* 138, 101-137.
- Goldhaber SB. 2003. Trace element risk assessment: essentiality vs toxicity. *Regul Toxicol Pharmacol* 38, 232-242.
- Hemung BO and Sriuttha M. 2014. Effect of tilapia bone calcium on qualities of tilapia sausage. *Kasetsart J Nat Sci* 48, 790-798.
- Isikawa M, Mori S, Watanabe H and Sakai Y. 1989. Softening of fish bone. II. Effect of acetic acid on softening rate and solubilization rate of organic matter from fish bone. *J Food Proce Preserv* 13, 123-132.
- Kum JS, Lee SH, Lee HY, Kim KH and Kim YI. 1999. Effects of different milling methods on physicochemical properties and products. *Korean J Food Sci Technol* 25, 546-551.
- Mahnaz N, Huda N and Ariffin F. 2017. Development of calcium supplement form fish bone wastes of yellowfin tuna *Thunnus albacares* and characterization of nutritional quality. *IFRJ* 24, 2419-2426.
- Malde MK, Bugel S, Kristensen M, Malde K, Graff IE and Pedersen JI. 2010. Calcium from salmon and cod bone is well absorbed in young healthy men: a double-blinded randomized crossover design. *Nutr Metab* 7, 1-14.
- McKenzie RC, Rafferty TS and Beckett GJ. 1998. Calcium: an essential element for immune function. *Immunol Today* 19, 342-345.
- Min JG, Jung WY, Lee HH and Lee WK. 2019. A new method for bone softening and texture enhancement of conger eel *Conger myriaster* Kabayaki. *J Food Nutri Res* 7, 255-260.
- NIAS (National Institute of Agricultural Sciences). 2016. Food sampling and food composition analysis for the 9<sup>th</sup> national standard food composition table II 9. NIAS, Wanju, Korea, 298-326.
- Pennington JA and Young BE. 1991. Total diet study nutritional elements. *J Am Diet Assoc* 91, 179-183.
- Techochatchawal K, N Therdthai and S Khotavivattana. 2009. Development of calcium supplement from the bone of Nile tilapia *Tilapia nilotica*. *AS J Food Ag-Ind* 2, 539-546.
- Yin T and Park JW. 2014. Effect of nano-scaled fish bone on the gelation properties of Alaska pollock surimi. *Food Chem* 150, 463-468.
- Zang J, Yin T, Xiong S, Li Y, Ikram U and Liu R. 2016. Thermal treatments affect breakage kinetics and calcium release of fish bone particles during high-energy wet ball milling. *J Food Eng* 183, 74-80.