

넙치(*Paralichthys olivaceus*) 및 가다랑어(*Katsuwonus pelamis*) 알로부터 알칼리 가용화과정을 통해 회수한 알칼리 불용성획분의 이화학적 성분특성

윤인성¹ · 강상인^{1,2} · 박선영^{1,2} · 차장우^{1,2} · 김도엽^{1,2} · 김진수^{1,2} · 허민수^{1,3*}

¹경상대학교 수산식품산업화 기술지원센터, ²경상대학교 해양식품생의학과/해양산업연구소, ³경상대학교 식품영양학과/해양산업연구소

Physicochemical Properties of Alkaline-insoluble Fractions Recovered from Bastard Halibut *Paralichthys olivaceus* and Skipjack Tuna *Katsuwonus pelamis* roes by Alkaline Solubilization

In Seong Yoon¹, Sang In Kang^{1,2}, Sun Young Park^{1,2}, Jang Woo Cha^{1,2}, Do Yeub Kim^{1,2}, Jin-Soo Kim^{1,2} and Min Soo Heu^{1,3*}

¹Research Center for Industrial Development of Seafood, Gyeongsang National University, Tongyeong 53064, Korea

²Department of Seafood and Aquaculture Science/Institute of Marine Industry, Gyeongsang National University, Tongyeong 53064, Korea

³Department of Food and Nutrition/Institute of Marine Industry, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

This study investigated the food and nutritional characteristics of alkaline-insoluble fractions (AIFs) recovered from bastard halibut *Paralichthys olivaceus* (BH) and skipjack tuna *Katsuwonus pelamis* (ST) roes using the alkaline solubilization. The moisture content of AIFs ranged from 4.8% to 12.8%, and ST provided significantly better yields (9.5 for STAIF-11 and 7.1 g/100 g roe for STAIF-12) than did BH ($P < 0.05$). The protein content of AIFs ranged from 71.7% to 79.2%, with the highest level yielded by STAIF-11 (6.8 g/100 g roe). The crude fat content of AIFs was 10.9-14.3% and the mineral content was 0.7-3.4%. The major mineral components of AIFs were sulfur, sodium, potassium, and phosphorus. Color values showed that BH AIFs were significantly brighter than ST AIFs. Total contents of essential amino acids were significantly higher in ST AIFs (47.5-49.5%) than in BH AIFs. The major essential amino acids found in AIFs from both sources were Val, Leu, Lys, and Arg. Therefore, AIFs were significantly superior to whole BH roe in terms of physicochemical and nutritional status, and we identified species-specific differences between BH and ST. Protein is a major component of AIFs recovered from fish roes, which suggests that they have potential for use as a protein source.

Key words: Alkaline insoluble fraction, Physicochemical properties, Fish roes, Bastard halibut, Skipjack tuna

서론

우리나라의 대표 양식어류인 넙치(BH, bastard halibut *Paralichthys olivaceus*)는 우리나라와 일본을 포함하여 생선회(sashimi 또는 raw fillet slice)를 즐겨 섭취하는 지역이나 나라의 소비자들이 선호하고 있는 어류이며, 우리나라 전체 양식산 어류의 50% 이상을 차지하고 있다. 특히, 제주특별자치도의

넙치생산량은 2016년 기준으로 전국 생산량(41,620 M/T)의 62.7% 이상을 생산하고 있다(MOF, 2017). 또한 원양어획 어류로서 대표적인 통조림 가공원료인 가다랑어(ST, skipjack tuna *Katsuwonus pelamis*)는 영양적인 면과 기호적인 면에서 세계에서 널리 소비되는 어류로서 우리나라 및 일본에서는 초밥 또는 회 등 생식용으로 섭취하고 있기도 하다(Lee et al., 2016b). 2016년에는 가다랑어의 어업생산량은 약 24.4만톤으로 이 중

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2018.0230>



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.

Korean J Fish Aquat Sci 51(3) 230-237, June 2018

Received 26 April 2018; Revised 19 May 2018; Accepted 28 May 2018

*Corresponding author: Tel: +82. 55. 772. 1440 Fax: +82. 55. 772. 1430

E-mail address: minsheu@gnu.ac.kr

의 5.9만톤 정도가 통조림으로 가공되고 있으며, 전체 통조림 가공품의 약 60%를 차지하는 다소비 어류이다(MOF, 2017).

유엔식량농업기구(Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO) 통계에 따르면, 2015년에는 어획량 9,370만 톤과 양식 생산량 1억 600만 톤을 합쳐 약 2억 톤의 어업생산량을 기록하였으며(FAO, 2015), 최근 10년간(2007-2016년) 우리나라의 총 어획량은 327만톤 수준이었다(MOF, 2017). 그러나 이들 수산물의 가공 시 발생하는 비가식 가공부산물은 머리, 껍질, frame, 비늘, 내장, 알 등으로 총 어류 생산량의 약 30-60%를 차지한다(Narsing Rao, 2014; Klomklao and Benjakul, 2016).

이러한 가공부산물 중에서 어류 알(fish roe)은 단백질(Sikorski, 1994) 및 필수지방산(Mahmoud et al., 2008)이 풍부한 고 영양성의 식품 재자원이지만, 연어나 철갑상어 알의 캐비어(caviar), 명란 등 수산가공품으로서 직접적인 이용은 매우 한정적이다. 따라서 이들 가공부산물의 영양적 가치는 가식부와 유사하고, 특히 해양생물자원의 단백질 급원으로서 잠재력을 지니고 있다. 그러나 이를 활용하고자 하는 노력을 하지 않는다면, 폐기물 또는 저부가가치 부산물로 폐기되어 추가적인 폐기물 처리 및 환경 문제를 야기하게 된다. 수산가공 부산물로부터 단백질을 회수하는 것은 폐기물 관리와 관련된 심각한 우려를 경감시킬 뿐만 아니라, 산업 응용을 위한 새로운 저비용 단백질을 생산할 수 있기 때문에 매우 중요하다(Heu et al., 2006; Kang et al., 2007; Kang et al., 2015; Kim et al., 2015; Lee et al., 2016).

한편, 수산가공부산물로부터 단백질자원의 회수와 이용에 관하여는 효소(Kim et al., 2014) 및 저해제(Lee et al., 2016a), 콜라겐 및 젤라틴(Kim et al., 2009; Heu et al., 2010; Lee et al., 2016b)과 같은 유용성분, 단백질 농축물(Lee et al., 2016a; Binsi et al., 2017), 분리물(isolate; Lee et al., 2016c), 효소 가수분해물(Noh et al., 2013; Intarasirisawat et al., 2014)의 제조 및 식품기능성(Park et al., 2016; Binsi et al., 2017;), 항산화성 그리고 이의 생리활성(Heu et al., 2009; Intarasirisawat et al., 2014)에 대하여 연구가 이루어졌다.

이들 연구에서 적용한 단백질 회수를 위한 주요 공정에는 추출(Lee et al., 2016b), 건조(Binsi et al., 2017), 가열처리(Lee et al., 2016a), 단백질의 용해도 특성을 이용한 산/알칼리 가용화 및 침전(Lee et al., 2016c) 등을 포함하고 있다. 특히, 알칼리 가용화공정은 가공부산물 원료의 지방, 내인성 효소의 불활성화 및 비 콜라겐성 단백질인 가용성 단백질을 제거할 목적으로 사용하여, 불용성의 잔사로부터 collagen이나 gelatin을 회수하는데 응용하고 있으며, 이와 달리 등전점 가용화/침전(ISP, isoelectric solubilization/precipitation) 공정은 다양한 원료로부터 산/알칼리를 이용하여 단백질 성분을 가용화한 후(불용성 잔사가 발생), 가용화 용액에 대하여 등전점 부근으로의 단백질을 침전시켜 회수하는 방법이다(Nolsoe and Underland, 2009; Lee et al., 2016c; Alvarez et al., 2018). 그러나 원료의 단백질

성분은 사용하는 산 또는 알칼리의 농도와 사용량에 따라 가용화 공정 중에 30-60% 정도가 가용화 되고, 나머지 부분은 불용성의 잔사로 남게 된다(Nolsoe and Underland, 2009; Lee et al., 2016c). 따라서 이 연구에서는 대부분 식품소재로 이용되지 못하는 어류 알에 대한 선행연구(Heu et al., 2006; Lee et al., 2016c)를 바탕으로, ISP공정을 통해 단백질 분리물의 제조 과정에서 동시에 회수되는 잔사인 알칼리 불용성 획분(AIFs, alkaline insoluble fractions)의 이화학적 분석을 통하여 단백질 강화 소재 또는 식품가공소재로서의 이용 가능성을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

넙치(BH, *Paralichthys olivaceus*)는 통영시 소재 수산시장에서 살아있는 채로 구입하여, 실험실로 운반한 후, 알을 적출하여 실험에 사용하였으며, 가다랑어(ST, *Katsuwonus pelamis*) 알은 동원산업(Dongwon F&B Co. Ltd., Changwon, Korea)으로부터 동결상태로 분양을 받아 사용하였다. 이 알들은 실험에 사용하기 전까지 polyethylene bag에 밀봉상태로 -70℃에서 보관하였다.

알칼리 불용성 획분(AIF, alkaline insoluble fraction)의 회수

어류 알로부터 AIF의 회수는 Lee et al. (2016b)의 단백질 분리물 회수공정 중의 알칼리 가용화 과정에 따라 제조하였다. 즉, 동결된 알 100 g에 대하여 6배량(w/v)의 탈 이온수를 첨가하여 균질기(Polytron® PT 1200E, Kinematica AG, Luzern, Switzerland)로 균질화(12,500 rpm, 3 min)한 다음, 2 N NaOH을 사용하여 각각 pH 11과 12로 조절하였다. 이어서 알칼리 가용화(4℃ for 1 h)과정을 거친 다음, 원심분리를 실시하였다(Supra 22K, Hanil Science Industrial Co., Ltd., Incheon, Korea, 12,000 g, 4℃, 30 min). 이때 얻어진 원심분리 잔사는 동결건조를 통해 분말화하고, 알칼리 불용성 획분으로서 각각 BHAIF-11, BHAIF-12, STAIF-11 그리고 STAIF-12로 표시하여, 일반성분 및 영양성분의 분석에 사용하였다.

일반성분

어류 알로부터 회수한 AIFs의 일반성분은 AOAC 방법(AOAC, 2005)에 따라 수분(No. 950.46), 조회분(No. 920.153), 조단백질(No. 928.08) 및 조지방 함량(No. 960.39)을 분석하여 100 g 시료에 대한 백분율(%)로 나타내었다.

무기질

AIFs의 무기질 함량은 유도결합플라즈마분석기(ICP, inductively coupled plasma optical emission spectrophotometer, Optima 4300 DV, Perkin Elmer, Shelton, CT, USA)로 분석

하였다. 즉, 테프론 분해용기에 1 g의 시료를 담아 10 mL의 중금속 분석용 고순도 70% (v/v) 질산을 가해 시료가 완전히 분해될 때까지 hot plate에서 가열하였다. 가열 분해한 시료에 5 mL의 2% 질산을 가하고, 여과지(Advantec No. 2, Toyo Roshi Kaisha, Ltd., Tokyo, Japan)를 사용하여 여과한 다음, 2% 질산으로 최종 100 mL로 정용하여, 이를 분석에 사용하였다. 무기질의 농도 (mg/100 g sample)는 100 g의 시료에 대한 mg으로 환산하여 나타내었다.

총 아미노산

각 시료(20 mg)에 2.5 mL의 6 N HCl과 혼합한 후, 110°C의 heating block (HF21; Yamoto Science Co, Tokyo, Japan)에서 24 h동안 가수분해를 실시하였다. 시료의 산가수분해물은 glass filter를 장착한 감압여과장치(Aspirator A-3S, EYELA, Tokyo, Japan)로 여과하고, 4.2 N NaOH를 사용하여 pH 2.2로 조정된 다음, sodium citrate 완충액(pH 2.2)으로 정용(50 mL)하여 분석용 시료로 사용하였다. 아미노산 분석기(model 6300; Biochrom 30, Biochrom Ltd., Cambridge, UK)로 총 아미노산 함량을 분석하였으며, 분석 결과는 100 g 단백질에 대한 개별 아미노산의 조성비(%)로 나타내었다.

전기영동

시료의 단백질 분자량 분포는 Laemmli (1970)의 방법에 따라 sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)로 측정하였다. 즉, 분석용 시료는 10 mg의 시료에 1 mL의 2% β-mercaptoethanol과 2% SDS를 함유하는 8 M urea 용액을 가하여 용해시킨 다음, SDS-PAGE 시료조제용 완충액과 4:1 (v/v) 비율로 혼합한 후, 100°C에서 3 min 동안 가열하여 조제하였다. 10% Mini-PROTEAN® TGX™ Precast gel (Bio-Rad Lab., Inc., California, USA)에 이렇게 준비한 시료(20 µg 단백질)를 주입하고, Mini-PROTEAN® Tetra cell (Bio-Rad Lab. Inc., California, USA)에 장착한 다음, 일정한 전류(10 mA per gel)를 통하게 하여 전기영동을 실시하였다. 단백질의 분자량 분포는 Precision Plus Protein™ standards (10-250 K, Bio-Rad Lab., Inc., California, USA)를 사용하여 분자량 분포를 확인하였다.

색차(Hunter's color)

AIFs의 색차는 명도(L, lightness), 적색도(a, redness), 갈색도(b, brownness)에 대해 직시색차계(ZE-2000, Nippon Denshoku Industries Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였으며, 색차를 측정 전에 보정용 white plate (L=96.92, a= -0.38, b=0.64)를 이용하여 보정하였다. 또한 백색도는 다음 식으로부터 구하였다.

$$\text{Whiteness} = 100 \sqrt{(100-L)^2 + a^2 + b^2}$$

결과 및 고찰

일반성분

넙치(BH)와 가다랑어(ST) 알로부터 알칼리 가용화공정을 통해 회수한 알칼리 불용성획분(AIFs)의 수율 및 일반성분은 Table 1에 나타내었다. 100 g의 어류 알에 대해 알칼리 가용화 조건(pH 11 및 pH 12)에 따라 회수한 AIFs의 수율은 넙치의 경우, BHAIF-11과 BHAIF-12는 3.5 및 3.7 g이었으며, 가다랑어의 경우 STAIF-11과 STAIF-12는 9.5 및 7.1 g으로 나타나, ST가 BH에 비해 약 1.91-2.71배정도 높은 수준이었다. 또한 단백질 수율에 있어서도 STAIFs (5.6-6.8 g)가 BHAIFs (2.6-2.7 g)에 비하여 우수하였다. 이는 본 실험의 알칼리 가용화공정에서 넙치 알이 가다랑어 알보다 쉽게 용해되는 것을 의미하였다. 한편, 가용화 pH 조건(pH 11 및 12)에서의 회수율에서의 차이는 BH의 경우는 인정되지 않았으나, ST는 유의적인 차이가 있는 것으로 나타나(P<0.05), pH 12에서 보다 많은 알 단백질이 용해되는 것을 확인 할 수 있었다. AIFs의 일반성분은 수분 4.8-12.8%, 조단백질 71.7-79.2%, 조지방 10.9-14.3% 그리고 조회분 0.7-3.4% 범위를 나타내었으며, pH 처리조건에 따라 유의적인 차이가 인정되었으나, 이는 수분함량의 차이에 기인하였다. 넙치 및 가다랑어 알에서 회수한 AIFs는 70%이상의 단백질을 함유하고 있어 단백질 강화소재로서 이용가능성이 있을 것으로 판단되었다. Lee et al. (2016c)은 황다랑어 알의 RAI (roe alkaline insolubles)의 회수율은 5.9-7.1 g/100 g roe라고 하였으며, pH 11에서의 회수율이 pH 12에서 보다 높아, 본 실험의 STAIFs의 결과와 유사하였다.

알칼리 가용화공정은 대상 가공부산물 원료로부터 지방, 내인성 효소의 불활성화 및 가용성 단백질을 제거하고, 불용성의

Table 1. Yield and proximate composition of alkaline insoluble fractions (AIFs) recovered from bastard halibut *Paralichthys olivaceus* and skipjack tuna *Katsuwonus pelamis* roe by alkaline solubilization

| Sample | BHAIF-11 | BHAIF-12 | STAIF-11 | STAIF-12 |
|--------------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|
| Yield ¹ (g) | 3.5 ^c | 3.7 ^c | 9.5 ^a | 7.1 ^b |
| Protein yield ² (g) | 2.6 ^c | 2.7 ^c | 6.8 ^a | 5.6 ^b |
| Moisture (%) | 12.8±1.4 ^a | 10.3±0.7 ^b | 8.6±0.5 ^b | 4.8±1.6 ^c |
| Protein (%) | 74.0±0.7 ^b | 73.4±0.5 ^b | 71.7±0.4 ^c | 79.2±0.3 ^a |
| Lipid (%) | 10.9±2.8 ^b | 13.9±1.3 ^{ab} | 13.6±0.9 ^{ab} | 14.3±0.7 ^a |
| Ash (%) | 0.7±0.8 ^c | 2.4±0.3 ^b | 3.4±0.1 ^a | 2.0±0.2 ^b |

¹Yield is weight (g) of each samples obtained from 100 g roe. ²Protein yield (g)=yield×protein (%). BH, bastard halibut; ST, skipjack tuna; AIF-11 and AIF-12, alkaline insoluble fractions after alkaline solubilization at pH 11 and 12 respectively. Data is given as mean values±SD (n=3). Means with different superscripts within the same row are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test.

잔사인 collagen이나 gelatin을 회수하는데 주로 응용되고 있으며(Kim et al., 1997; Kim et al., 2009; Heu et al., 2010; Lee et al., 2016b), 어류 알에는 11% albumin, 75% ovoglobulin 그리고 13% collagen이 함유되어 있어(Sikorski, 1994), 이 실험의 AIFs의 단백질성분은 콜라겐성 단백질일 것으로 판단되었으며, 다음의 아미노산 조성 및 전기영동 분석을 통하여 확인하고자 하였다.

무기질

필수 무기질의 주요 기능은 골격 구조, 콜로이드 시스템의 유지 및 산-염기 평형조절, 그리고 호르몬, 효소 및 효소 활성제의 중요한 구성인자이다(Belitz et al., 2001). 또한 수산식품자원의 무기질 성분의 변화는 계절적 요인, 생물학적 차이, 어획 지역, 가공 방법, 어종 및 환경 조건(염분, 온도 및 오염 물질)과 밀접하게 관련되어있다(Alasalvar et al., 2002). 넙치 및 가다랑어알로부터 회수한 AIFs의 무기질의 조성은 Table 2에 나타내었다. AIFs의 주요 무기질들은 황(S, 473.3-601.6 mg/100 g), 소듐(Na, 56.8-340.7 mg/100 g), 포타슘(K, 12.6-62.3 mg/100 g), 그리고 칼슘(Ca, 25.6-29.1 mg/100 g)이었다. Heu et al. (2006)은 명태, 가다랑어 및 황다랑어 알의 주요 무기질은 인, 포타슘, 칼슘이라고 보고하였으며, Lee et al. (2016a)은 황다랑어 알 농축분말(992 mg/100 g)과 egg white (1341 mg/100 g)에는 황 함량이 가장 많다고 보고한 바 있다. 또한 Beklit et al. (2009)은 연어 알의 황 함량(165-244 mg/100 g)은 이 실험결과와 비교해서 낮은 수준이었다. 어종간의 유의적인 차이를 보이는 무기질은 포타슘, 소듐, 아연 및 인이 ST에서 높았으며, BH에서는 마그네슘이었다($P<0.05$). pH 처리조건에 따른 BHAIF-12는 마그네슘, 철분, 인의 함량이, STAIF-12는 소듐, 마그네슘, 칼슘함

Table 2. Mineral contents (mg/100 g sample) of alkaline insoluble fractions (AIFs) recovered from bastard halibut *Paralichthys olivaceus* and skipjack tuna *Katsuwonus pelamis* roe by alkaline solubilization

| Sample | BHAIF-11 | BHAIF-12 | STAIF-11 | STAIF-12 |
|--------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| K | 20.3±3.1 ^b | 12.6±2.0 ^c | 62.3±4.9 ^a | 59.6±3.7 ^a |
| Na | 56.8±1.1 ^c | 58.8±1.5 ^c | 228.1±3.7 ^b | 340.7±5.8 ^a |
| Mg | 30.0±0.5 ^b | 40.1±1.0 ^a | 18.1±0.3 ^d | 22.4±0.3 ^c |
| Zn | 1.0±0.0 ^b | 7.6±0.1 ^a | 25.5±0.2 ^d | 20.5±0.2 ^c |
| Ca | 26.1±0.5 ^b | 25.6±2.7 ^b | 25.6±0.6 ^b | 29.1±0.1 ^a |
| Fe | 5.2±0.3 ^c | 6.0±0.2 ^b | 8.0±0.1 ^a | 4.8±0.1 ^d |
| P | 19.4±0.8 ^c | 28.1±1.5 ^b | 32.4±0.5 ^a | 29.3±2.4 ^b |
| S | 492.6±58.0 ^b | 498.3±25.9 ^b | 601.6±70.9 ^a | 473.3±25.0 ^b |

BH, bastard halibut; ST, skipjack tuna; AIF-11 and AIF-12, alkaline insoluble fractions after alkaline solubilization at pH 11 and 12 respectively. Data is given as mean values±SD (n=3). Means with different superscripts within the same row are significantly different at $P<0.05$ by Duncan's multiple range test.

량이 pH 11처리조건에서의 이들 무기질함량에 비해 유의적으로 높은 경향이였다($P<0.05$). 또한 넙치(BHAIF-12)와 가다랑어(STAIF-11)의 조회분(Table 1) 및 무기질함량의 결과(Table 2)를 통해, 어중에 따른 pH 처리조건에 있어서의 차이도 확인되었다. 이러한 차이는 무기질이온, 양성 전해질로서 단백질 및 아미노산의 조성 그리고 pH 처리조건에 따른 수소이온농도의 변화들로 인한 차이에서 기인하는 것으로 추정되었다. 또한 황다랑어 알(Lee et al., 2016c)로부터 회수한 알칼리 불용성단백질에는 포타슘, 소듐, 마그네슘 및 칼슘함량이 높은 반면에, 이어서 산을 가하여 등전점부근에서 단백질을 침전하여 회수한 단백질 분리물에는 이들 무기질이 현저히 감소하여, 알칼리 및 산 처리공정에 따른 pH 변화로 하전을 띤 단백질 및 무기질이동이 일어남을 시사한다고 보고하였다. 따라서 어류 알에서 회수한 AIFs의 상대적으로 높은 칼슘, 마그네슘 그리고 칼륨은 사료나 무기질 강화소재로서의 잠재적인 자원이 될 수 있을 것으로 판단되었다.

색차 및 백색도

Table 3은 BHAIFs 및 STAIFs의 색차에 대한 결과를 나타낸 것이다. 먼저, 넙치 및 가다랑어 알의 동결건조 분말의 명도를 나타내는 L값은 각각 74.3 및 59.2로서 가다랑어 알이 넙치에 비해 어두운(짙은)색을 띠는 것으로 확인이 되었다. BHAIF-11과 12의 L값은 각각 53.8 및 61.5이었으며, STAIF-11과 12는 각각 54.2 및 58.3로서, BH가 ST에 비하여, pH 처리조건에 있어서는 pH 12에서의 처리가 pH 11에 비하여 상대적으로 밝은 것으로 확인되었다. 적색도(a, redness; -a, greenness)에 있어서는 BHAIFs는 1.8-2.0 그리고 STAIFs는 6.2-7.8로서 백색육 어류인 BH보다 적색육 어류인 ST에서 높은 값을 나타내었다. 이는 높은 적색도는 최종제품에 존재하는 heme 단백질의 침착에 기인하며(Kristinsson et al., 2005), pH 처리별 색도의 차이는 어류 알에 분포하는 heme 단백질이 알칼리 가용화에 의

Table 3. Hunter colour values and whiteness of alkaline insoluble fractions (AIFs) recovered from bastard halibut *Paralichthys olivaceus* and skipjack tuna *Katsuwonus pelamis* roe by alkaline solubilization

| Sample | BHAIF-11 | BHAIF-12 | STAIF-11 | STAIF-12 |
|-----------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| L* | 53.8±0.9 ^c | 61.5±0.3 ^a | 54.2±0.2 ^c | 58.3±0.1 ^b |
| a* | 2.0±0.1 ^c | 1.8±0.1 ^d | 7.8±0.1 ^a | 6.2±0.0 ^b |
| b* | 11.3±0.2 ^c | 9.8±0.0 ^d | 20.0±0.0 ^a | 19.5±0.1 ^b |
| ΔE | 44.3±0.8 ^b | 36.5±0.3 ^c | 47.5±0.2 ^a | 43.5±0.1 ^b |
| Whiteness | 52.5±0.8 ^c | 60.3±0.3 ^a | 49.4±0.2 ^d | 53.5±0.1 ^b |

BH, bastard halibut; ST, skipjack tuna; AIF-11 and AIF-12, alkaline insoluble fractions after alkaline solubilization at pH 11 and 12 respectively. Data is given as mean values±SD (n=3). Means with different superscripts within the same row are significantly different at $P<0.05$ by Duncan's multiple range test..

한 분획효과에 기인하는 것으로 추정되었다(Lee et al., 2016c). 또한 갈색도(b, brownness; -b, blueness)의 경우, BHAIFs는 9.8-11.3 그리고 STAIFs는 19.5-20.0이었으며, ST가 BH에 비하여 높은 값을 나타내어 상대적으로 짙은 갈색을 띠는 것으로 확인되었다. 이상의 색차 값으로부터 산출한 AIFs의 백색도(whiteness)는 각각 52.5 (BHAIF-11)와 60.3 (BHAIF-12), 49.4 (STAIF-11) 및 53.5 (STAIF-12)이었으며, 어종 및 pH 처리조건에 따른 유의적인 차이를 나타내어 BH가 ST에 비하여, 그리고 pH 12조건이 pH 11에 비하여 높은 백색도를 나타내었다($P < 0.05$). 이상의 색차와 관련한 결과를 토대로 BHAIFs는 갈색 그리고 STAIFs는 상대적으로 보다 짙은 갈색분말인 것으로 확인 할 수 있었다. Sathivel et al. (2009)은 메기 알의 가용성 단백질분말이 밝은 노란색($L^* = 71.7$; $a^* = 3.9$; $b^* = 28.8$)을 띠다고 하였으며, Lee et al. (2016c)의 황다랑어 알의 알카리 불용성 획분의 색차와 백색도는 본 실험의 가다랑어의 결과와 유사하였으며, 다소 짙은 갈색을 띠었다고 하였다. Lone et al. (2015)는 어류 단백질분리물의 색과 백색도는 결체조직의 정도에 따라 L 값을 증가시키고, 지질의 존재는 b값에 영향을 미치며, a값에 영향을 주는 heme 단백질의 침착 및 헤모글로빈의 변성과 산화로 인해 최종제품의 색은 황갈색이 된다고 하였다.

아미노산 조성

넙치(BH)와 가다랑어(ST) 알로부터 알칼리 가용화공정으로 회수한 AIFs의 총 아미노산 조성(g/100 g 단백질, %)에 대한 분석결과는 Table 4와 같다. AIFs의 단백질 함량은 건조중량(g/100 g protein, dry basis)으로 각각 86.5 (BHAIF-11), 81.9 (BHAIF-12), 80.9 (STAIF-11) 그리고 82.9 (STAIF-12)이었다. AIFs의 주요 아미노산(6% 이상)은 BH의 경우, 필수아미노산(EAAs)에서 Arg, 비필수 아미노산(NEAAs)에서 Asp, Glu, Pro, Gly 및 Ala이었고, ST의 경우, 필수아미노산에서 Val, Leu, Lys 및 Arg, 그리고 비필수 아미노산에서는 Asp, Glu, Pro 및 Ala으로 백색육 어류인 BH와 적색육 어류인 ST 간에는 주요 아미노산으로서 Val, Leu 및 Gly의 조성에 있어서 두드러진 차이가 있음이 확인 되었다($P < 0.05$). BH (32.7-33.7%)와 ST (47.5-49.5%)의 TEAAs 함량에는 유의적인 차이를 나타내었으나($P < 0.05$), pH 처리조건 (pH 11 및 12)에 따른 차이가 인정되지 않았다($P > 0.05$). 그러나 BHAIFs (0.49-0.51)와 STAIFs (0.90-0.98)의 TEAAs/TNEAAs의 비율에 있어서는 ST가 BH에 비하여 월등히 높은 것으로 나타나 단백질 영양적인 측면에서는 ST가 월등히 우수하였다. 이는 알칼리 가용화공정 중에 BH는 ST에 비하여 가용성의 단백질성분이 다량 용해되었음을 시사하고, 가용성단백질에는 필수아미노산이 많이 함유되어 있다는 사실을 의미하기도 하였다. 한편, 맛, 용해도, 거품성 및 유화능과 같은 식품기능성에 영향을 주는 소수성 아미노산 조성은 각각 56.5-57.6% (BH) 및 45.6-45.7% (ST)의 범위에서 BH의 소수성 아미노산 조성이 높았으며, 어종간의 유의적

Table 4. Amino acid composition (g/100 g protein) of alkaline insoluble fractions (AIFs) recovered from bastard halibut *Paralichthys olivaceus* and skipjack tuna *Katsuwonus pelamis* roe by alkaline solubilization

| Amino acid | BHAIF-11 | BHAIF-12 | STAIF-11 | STAIF-12 |
|----------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Protein content (%) ¹ | 86.5 | 81.9 | 80.9 | 82.9 |
| Thr | 3.3 ^b | 3.3 ^b | 5.0 ^a | 5.0 ^a |
| Val ² | 3.3 ^b | 3.1 ^b | 6.8 ^a | 6.6 ^a |
| Met ² | 2.4 ^{ab} | 2.2 ^b | 2.7 ^a | 2.6 ^a |
| ILe ² | 2.1 ^c | 1.9 ^c | 5.1 ^a | 4.6 ^b |
| Leu ² | 3.8 ^c | 3.6 ^c | 8.2 ^a | 7.8 ^b |
| Phe ² | 2.8 ^b | 2.7 ^b | 4.7 ^a | 4.5 ^a |
| His | 2.7 ^b | 2.5 ^b | 3.3 ^a | 3.3 ^a |
| Lys | 4.6 ^c | 4.3 ^c | 7.2 ^a | 6.8 ^b |
| Arg | 8.7 ^{ab} | 9.0 ^a | 6.5 ^c | 6.5 ^c |
| TEAAs (%) | 33.7 ^b | 32.7 ^b | 49.5 ^a | 47.5 ^a |
| Asp | 7.3 ^b | 7.2 ^b | 8.9 ^a | 8.7 ^a |
| Ser | 4.7 ^{bc} | 5.0 ^b | 5.5 ^{ab} | 5.8 ^c |
| Glu | 10.8 ^b | 10.6 ^b | 13.1 ^a | 13.1 ^a |
| Pro ² | 10.6 ^a | 10.8 ^a | 6.7 ^c | 8.0 ^b |
| Gly ² | 21.6 ^b | 22.7 ^a | 5.2 ^c | 5.5 ^c |
| Ala ² | 9.9 ^b | 10.5 ^a | 6.2 ^c | 6.1 ^c |
| Cys | 0.4 ^b | 0.4 ^b | 1.3 ^a | 1.5 ^a |
| Tyr | 1.0 ^b | 0.2 ^c | 3.5 ^a | 3.9 ^a |
| TNEAAs (%) | 66.3 ^a | 67.3 ^a | 50.5 ^b | 52.5 ^b |
| Total (%) | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 |
| TEAAs/TNEAAs | 0.51 | 0.49 | 0.98 | 0.90 |
| THAAs (%) | 56.5 | 57.6 | 45.6 | 45.7 |

¹Based on dry basis. ²Hydrophobic amino acid. TEAAs, total essential amino acids; TNEAAs, total non essential amino acids; THAAs, total hydrophobic amino acids. BH, bastard halibut; ST, skipjack tuna; AIF-11 and AIF-12, alkaline insoluble fractions after alkaline solubilization at pH 11 and 12 respectively.

인 차이도 인정되었다. 특히, 소수성 아미노산으로서 collagen의 주요 구성 아미노산인 Pro, Gly 및 Ala의 함량조성은 각각 42-44% (BHAIFs) 그리고 18-19% (STAIFs)를 차지하였으며, 넙치 껍질 collagen (Heu et al., 2010), 조피볼락 껍질 collagen (Kim et al., 2009) 그리고 flying squid, yellowfin sole, red cod, cod 및 Alaska pollock 껍질 gelatin (Kim et al., 1997), Nile tilapia 껍질 collagen (Sun et al., 2017)의 이들 아미노산들이 총 아미노산함량의 50-57% 정도를 차지한다고 보고한 바 있어, BHAIFs에는 콜라겐성 단백질(collagenous protein)이 STAIFs에 비해 2배정도 많이 분포하고 있는 것으로 확인되

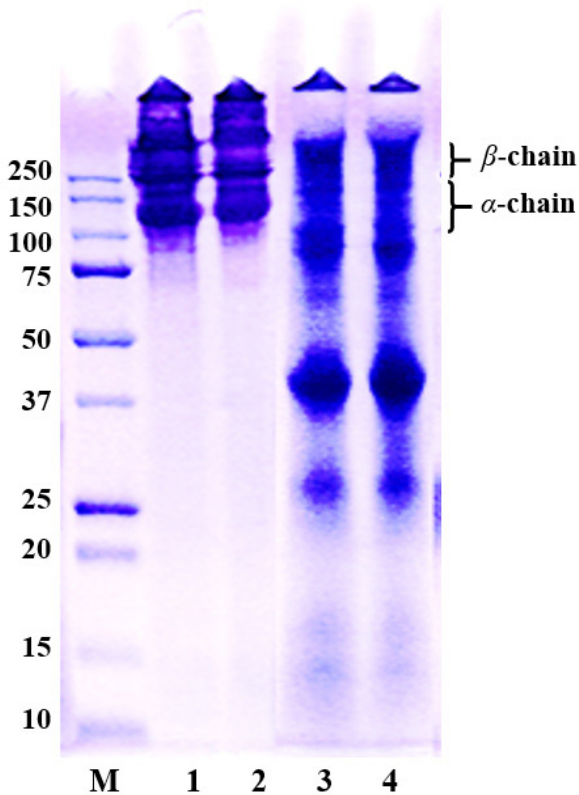


Fig. 1. SDS-PAGE patterns of alkaline insoluble fractions (AIFs) recovered from bastard halibut *Paralichthys olivaceus* and skipjack tuna *Katsuwonus pelamis* roe by alkaline solubilization. M, protein marker; Lane 1-2, BHAIF-11 and 12 respectively; Lane 3-4, STAIF-11 and 12 respectively.

었다. 황다랑어 알(Lee et al., 2016c)과 알칼리 불용성획분들의 Pro, Gly 및 Ala 함량조성은 17.6% 및 19.8-20.5%로서 이 실험의 ST와 유사하였으며, 또한 명태, 가다랑어 및 황다랑어 알의 이들 아미노산 조성비는 17% 내외(Heu et al., 2006)라고 하여, 어류 알로부터 회수한 단백질 획분들의 특정아미노산들의 조성 차이로 인해 알칼리 가용화공정을 통한 분획효과가 인정되었다(Lee et al., 2016c). 이러한 아미노산 조성에서의 차이가 식품기능성, 항산화특성 그리고 ACE 저해활성에도 영향을 미치며, 소수성 및 친수성 아미노산은 수중 유적형 emulsion의 계면활성제로서 작용하여 emulsion의 안정성에 기여하게 된다(Li et al., 2004; Mahmoodani et al., 2014).

단백질 분자량 분포(SDS-PAGE)

넙치(BH)와 가다랑어(ST) 알로부터 알칼리 가용화공정을 통해 회수한 AIFs의 SDS-PAGE에 의한 단백질분자량 분포는 Fig. 1에 나타내었다.

BHAIFs의 단백질분포(Lane 2 및 3)는 250 kDa이상에서 1

개, 250 kDa에서 1개 150-100 kDa범위에서 1개의 진한 단백질밴드가 관찰되었다. BHAIF-11 (Lane 2)과 BHAIF-12 (Lane 3)는 각각 pH 11과 12에서 알칼리 가용화공정을 통해 회수한 불용성 단백질로서, 이들 간에는 pH 처리조건에 따른 단백질 밴드의 분포에는 거의 차이가 없는 것으로 확인되었다. Sikorski (1994)의 보고에 따르면, 어류 알에는 75% ovo-globulin, 13% collagen 그리고 11% albumin이 함유되어 있고, 어류 껍질에서 회수한 collagen/gelatin의 구성단백질에는 250 K (γ -chain)이상에서, 205 kDa (β -chain)와 116 kDa (α -chain)의 subunit가 분포하였으며(Kim et al., 1997; Kim et al., 2009; Heu et al., 2010; Sun et al., 2017), 이들의 SDS-PAGE 패턴의 비교를 통해 BHAIFs의 단백질분포와 거의 일치하였다. 따라서 아미노산 조성(Table 4)과 전기영동 분석결과를 통해 BHAIFs에는 구성단백질의 대부분이 collagen의 구성 subunit인 것으로 최종확인 되었다.

한편, STAIFs의 단백질분포(Lane 4와 5)에 있어서는 BHAIFs와 같이 collagen 구성 subunit로서 250 kDa이상, 250-150 kDa, 150-100 kDa 그리고 100-75 kDa범위에서 밴드를 형성하지 않았으나 단백질분포가 확인되었으며, 37 K, 25 kDa 및 15 kDa 부근에서 각각 1개의 밴드가 관찰되었다. 아울러 100-75 kDa 범위에서 관찰된 단백질 밴드는 skipjack, tongol 및 bonito roes 그리고 egg yolk에서 확인된 97 kDa의 단백질 분자량을 갖는 vitellin like protein, 50-37 kDa범위와 15 kDa 부근의 단백질 밴드는 각각 actin, troponin-T 및 myosin light chain (MLC)으로 추정되었다(Intarasirisawat et al., 2011). BH와 마찬가지로 pH 처리조건에 따른 차이는 거의 없는 것으로 관찰되었으나, BH와 ST 어종 간 AIFs의 단백질분포에서는 확연한 차이를 나타내어, 아미노산 조성(Table 4)간의 차이가 반영된 결과라고 판단되었다. 또한 STAIFs는 황다랑어 알(Lee et al., 2016a)과 이의 알칼리 불용성획분(Lee et al., 2016c)의 SDS-PAGE 패턴은 유사어종으로서 비슷한 단백질분포를 나타낸 것을 확인되었으며, 일반성분, 무기질, 아미노산 조성에 있어서도 유사한 경향이였다.

따라서 본 연구를 통하여, 넙치 및 가다랑어 알로부터 알칼리 가용화공정을 통해 회수한 알칼리 불용성획분의 단백질수율은 각각 14.3-14.8 g/100 g protein (BH) 그리고 29.5-34.2 g/100g protein (ST)을 나타내어, 넙치 알이 보다 많이 알칼리가용화에 의해 용해되는 것이 확인되어 분획효과가 인정되었다. 무기질에 있어서는 갈슘, 칼륨, 마그네슘이 영양적인 측면에서 기대할 수 있었으며, 아미노산 조성에 따르면, 영양적인 측면에서는 필수 아미노산과 비필수 아미노산의 비율이 이상적인 가다랑어의 STAIFs가 넙치보다 월등히 우수하였고, 반면에 콜라겐/젤라틴의 주요 구성아미노산인 Gly, Pro 및 Ala 함량이 높은 넙치의 BHAIFs가 식품가공, 항산화 및 건강기능성 가공원료로서의 이용가능성이 있을 것으로 기대되었다. 한편 아미노산 조성과 함께 SDS-PAGE 패턴에서는 이들 알칼리 불용성획분은

collagenous protein획분으로 확인되었으며, 따라서 앞으로의 연구에서는 이들 collagenous protein획분의 식품기능성, 항산화 및 건강기능성에 대한 연구가 진행되어야 할 것이다.

사 사

이 논문은 2016년 해양수산부 재원으로 한국해양과학기술진흥원의 지원을 받아 수행된 연구의 일부임(수산식품산업기술개발사업의 해역별 특성을 고려한 전통수산가공식품 개발 및 상품화).

References

- Alasalvar C, Taylor KDA, Zubcov E, Shahidi F and Alexis M. 2002. Differentiation of cultured and wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*): total lipid content, fatty acid and trace mineral composition. *Food Chem* 79, 145-50. [https://doi.org/10.1016/s0308-8146\(02\)00122-x](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(02)00122-x).
- Alvarez C, Lelu P, Lynch SA and Tiwari BK. 2018. Optimised protein recovery from mackerel whole fish by using sequential acid/alkaline isoelectric solubilization precipitation (ISP) extraction assisted by ultrasound. *LWT-Food Sci Technol* 88, 210-216. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.09.045>.
- AOAC. 2005. Official Method of Analysis. 18th ed. Association of Official Chemists, Gaithersburg, U.S.A.
- Bekhit A, Morton JD, Dawson CO, Zhao JH and Lee HYY. 2009. Impact of maturity on the physicochemical and biochemical properties of chinook salmon roe. *Food Chem* 117, 318-325. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.009>.
- Belitz HD, Grosch W and Schieberle P. 2001. *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*. In: ISBN 978-3-540-73202-0. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York, NY, U.S.A.
- Binsi PK, Natasha N, Sarkar PC, Ashraf PM, George N and Ravishankar CN. 2017. Structural, functional and in vitro digestion characteristics of spray dried fish roe powder stabilised with gum arabic. *Food Chem* 221, 1698-1708. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.116>.
- FAO (Food and Agriculture Organization). 2015. Global aquaculture production (fish stat). Retrieved from <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-captureproduction/en> on Apr 24, 2018.
- Heu MS, Ji SG, Koo JG, Kwon JS, Han BW, Kim JG, Kim HJ and Kim JS. 2009. Improvement on Yield and Functional Properties of Autoclave-Treated Salmon Frame Extracts using Commercial Enzymes. *Korean J Fish Aquat Sci* 42, 537-544. <https://doi.org/10.5657/kfas.2009.42.6.537>.
- Heu MS, Kim HS, Jung SC, Park CH, Park HJ, Yeum DM, Park HS, Kim CG and Kim JS. 2006. Food component characteristics of skipjack (*Katsuwonus pelamis*) and yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) roes. *J Korean Fish Soc* 39, 1-8. <https://doi.org/10.5657/kfas.2006.39.1.001>.
- Heu MS, Lee JH, Kim HJ, Jee SJ, Lee JS, Jeon YJ, Shahidi F and Kim JS. 2010. Characterization of acid-and pepsin-soluble collagens from flatfish skin. *Food Sci Biotechnol* 19, 27-33. <https://doi.org/10.1007/s10068-010-0004-3>.
- Intarasirisawat R, Benjakul S, Visessanguan W. 2011. Chemical compositions of the roes from skipjack, tongol and bonito. *Food Chem* 124, 1328-1334. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.076>.
- Intarasirisawat R, Benjakul S, Visessanguan W and Wu J. 2014. Effects of skipjack roe protein hydrolysate on properties and oxidative stability of fish emulsion sausage. *LWT-Food Sci Technol* 58, 280-286. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.02.036>.
- Kang KT, Heu MS, Jee SJ, Lee JH, Kim HS and Kim JS. 2007. Food component characteristics of tuna livers. *Food Sci Biotechnol* 16, 367-373.
- Kang SI, Heu MS, Choi BD, Kim KH, Kim YJ and Kim JS. 2015. Investigation of food quality characterization of processing by-product (frame muscle) from the sea rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Korean J Fish Aquat Sci* 48, 26-35. <https://doi.org/10.5657/kfas.2015.0026>.
- Kim HJ, Jee SJ, Yoon MS, Youn MH, Kang KT, Lee DH, Heu MS and Kim JS. 2009. Characterization of acid-and pepsin-soluble collagens from rockfish *Sebastes schlegeli* skin. *Korean J Fish Aquat Sci* 12, 6-15. <https://doi.org/10.5657/kfas.2009.12.1.006>.
- Kim HJ, Lee HJ, Park SH, Jeon YJ, Kim JS and Heu MS. 2015. Recovery and Fractionation of Serine Protease Inhibitors from Bastard Halibut *Paralichthys olivaceus* Roe. *Korean J Fish Aquat Sci* 48, 178-186. <https://doi.org/10.5657/kfas.2015.0178>.
- Kim JS, Kim JG and Cho SY. 1997. Screening for the raw material of gelatin from the skins of some pelagic fishes and squid. *Korean J Fish Aquat Sci* 30, 55-61.
- Kim JS, Kim MJ, Kim KH, Kang SI, Park SH, Lee HJ and Heu MS. 2014. Debittering of enzymatic hydrolysate using exopeptidase active fractions from the Argentina shortfin squid *Illex argentinus* hepatopancreas. *Korean J Fish Aquat Sci* 47, 135-143. <https://doi.org/10.5657/kfas.2014.0135>.
- Klomklao S and Benjakul S. 2016. Utilization of tuna processing byproducts: Protein hydrolysate from skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) viscera. *J Food Process Preserv* 41, e12970. <http://dx.doi.org/10.1111/jfpp.12970>.
- Kristinsson HG, Theodore AE, Demir N and Ingadottir B. 2005. A comparative study between acid-and alkali-aided processing and surimiprocessing for the recovery of proteins from channel catfish muscle. *J Food Sci* 70, C298-C306. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb07177.x>.
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227, 680-685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>.
- Lee HJ, Kim HJ, Park SH, Yoon IS, Lee GW, Kim YJ, Kim

- JS and Heu MS. 2016a. Recovery of serine protease inhibitor from fish roes by polyethylene glycol precipitation. *Fish Aquat Sci* 19, 25. <https://doi.org/10.1186/s41240-016-0016-x>.
- Lee HJ, Park SH, Yoon IS, Lee GW, Kim JS and Heu MS. 2016b. Chemical composition of protein concentrate prepared from yellowfin tuna *Thunnus albacores* roe by cook-dried process. *Fish Aquat Sci* 19:12. <https://doi.org/10.1186/s41240-016-0012-1>.
- Lee HJ, Lee GW, Yoon IS, Park SH, Park SY, Kim JS, Heu MS. 2016c. Preparation and characterization of protein isolate from yellowfin tuna *Thunnus albacores* roe by isoelectric solubilization/precipitation process. *Fish Aquat Sci* 19, 14:1-10. <http://dx.doi.org/10.1186/S41240-016-0014-Z>.
- Lee JK, Kang SI, Kim YJ, Kim MJ, Heu MS, Choi BD and Kim JS. 2016. Comparison of collagen characteristics of sea- and freshwater-rainbow trout skin. *Food Sci Biotechnol* 25, 131-136. <https://doi.org/10.1007/s10068-016-0020-z>.
- Li GH, Le GW, Shi YH and Shrestha S. 2004. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins and their physiological and pharmacological effects. *Nutr Res* 24, 469-486. [https://doi.org/10.1016/s0271-5317\(04\)00058-2](https://doi.org/10.1016/s0271-5317(04)00058-2).
- Lone DA, Wani NA, Wani IA, and Masoodi FA. 2015. Physico-chemical and functional properties of rainbow trout fish protein isolate. *Int Food Res J* 22, 1112-1116. <https://doi.org/10.19046/abp.v02i02.01>.
- Mahmoodani F, Ghassem M, Babji AS, Yusop SM and Khosrokhavar R. 2014. ACE inhibitory activity of pangasius catfish (*Pangasius sutchi*) skin and bone gelatin hydrolysate. *J Food Sci Technol* 51, 1847-1856. <http://dx.doi.org/10.1007/s13197-012-0742-8>.
- Mahmoud KA, Linder M, Fanni J and Parmentier M. 2008. Characterisation of the lipid fractions obtained by proteolytic and chemical extractions from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) roe. *Process Biochem* 43, 376-383. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2008.01.011>.
- MOF (Ministry of Ocean and Fisheries). 2017. Yearbook of marine resource. Retrieved from <http://www.mof.go.kr/article/view.do?articleKey=18346&boardKey=32&menuKey=396¤tPageNo=1> on Apr 24, 2018.
- Narsing Rao G. 2014. Physico-chemical, functional and antioxidant properties of roe protein concentrates from *Cyprinus carpio* and *Epinephelus tauvina*. *J Food Pharm Sci* 2, 15-22.
- Noh Y, Park KH, Lee JS, Kim HJ, Kim MJ, Kim KH, Kim JG, Heu MS and Kim JS. 2013. Improvement on Yield of Extracts from Byproducts of Alaska Pollock *Theragra chalcogramma* and Sea Tangle *Laminaria japonica* using Commercial Enzymes and Its Food Component Characterization. *Korean J Fish Aquat Sci* 46, 37-45. <https://doi.org/10.5657/kfas.2013.0037>.
- Nolsoe H and Undeland I. 2009. The acid and alkaline solubilization process for the isolation of muscle proteins: State of the Art. *Food Bioprocess Technol* 2, 1-27. <https://doi.org/10.1007/s11947-008-0088-4>.
- Park SH, Lee HJ, Yoon IS, Lee GW, Kim JS and Heu MS. 2016. Protein functionality of concentrates prepared from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) roe by cook-dried process. *Food Sci Biotechnol* 25, 1569-1575. <http://dx.doi.org/10.1007/s10068-016-0242-0>.
- Sathivel S, Yin H, Bechtel PJ and King JM. 2009. Physical and nutritional properties of catfish roe spray dried protein powder and its application in an emulsion system. *J Food Eng* 95, 76-81. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.04.011>.
- Sikorski ZE. 1994. The contents of proteins and other nitrogenous compounds in marine animals. In: *Seafood proteins*. Sikorski ZE, Pan BS and Shahidi F eds. Chapman and Hall, New York, NY, U.S.A., 6-12.
- Sun L, Hou H, Li B and Zhang Y. 2017. Characterization of acid- and pepsin-soluble collagen extracted from the skin of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Int J Biol Macromol* 99, 8-14. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.02.057>.