

Extração de gelatina a partir das peles de cabeças de carpa comum

Gelatin extraction from skins of common carp heads

Roberto de Souza Gomes da Silva¹ Sidney Fernandes Bandeira¹ Fabiane Cristina Petry¹
Luiz Antonio de Almeida Pinto^{1*}

RESUMO

*Neste estudo, foi avaliada a extração de gelatina a partir de cabeças de carpa comum (*Cyprinus carpio*) provenientes da industrialização. Para tanto, foram estudados os efeitos da concentração alcalina, o tempo de tratamento e troca de solução alcalina na etapa de tratamento das cabeças de carpa. Foi utilizado um delineamento experimental em estrutura fatorial completa com três fatores em dois níveis de variação. Os fatores de estudo foram concentração de solução de NaOH (3-4 mol L⁻¹), tempo de tratamento (45-105 min) e troca de solução alcalina no tratamento, tendo como respostas rendimento em gelatina e força do gel. A condição mais adequada para se obter gelatina com bom rendimento (1,98%) e força do gel (240,3g) foi utilizando solução alcalina 3 mol L⁻¹, tratamento de 105 min e com troca de solução de NaOH.*

Palavras-chave: aproveitamento de resíduos, gelatina, peles de pescado, rejeitos de pescado.

ABSTRACT

*The aim of the present research was to study the gelatin extraction from skin of common carp heads (*Cyprinus carpio*). The effects of alkaline concentration, pre-treatment time and change of alkaline solution in pre-treatment step of carp heads were evaluated. It was used a complete experimental design with three factors and two variation levels. Pre-treatment time (45-105 min), concentration of alkaline solution (3-4 mol L⁻¹) and pre-treatment with change of alkaline solution were chosen as independent variable and gelatin yield and gel strength were the response variable. The best condition to obtain gelatin with good yield (1.98%) and gel strength (240.3g) was using alkaline solution 3 mol L⁻¹, pre-treatment time of 105 min and with one change of NaOH solution.*

Key words: common carp, fish skins, fish waste, gelatin.

INTRODUÇÃO

No Brasil, muitas pisciculturas utilizam carpa comum. Diversas razões contribuem para que a carpa comum seja considerada um excelente peixe para pisciculturas e explicam a sua distribuição por todo o planeta: tolera baixos níveis de oxigênio dissolvido na água; reproduz-se facilmente em cativeiro; tolera as práticas de manejo para recria e propagação; apresenta grande tolerância a variações de temperatura (de 4°C até 35°C); é espécie onívora que aceita e converte bem os mais variados tipos de alimentos de origem animal ou vegetal; adapta-se bem a sistemas de produção baseados na reciclagem de subprodutos agropecuários (ECHEVENGUÁ et al., 2008).

Os rejeitos gerados durante o processamento da carpa (peles, cabeças, espinhaços, nadadeiras e vísceras) podem totalizar 60% da matéria-prima, sendo que para a carpa comum, somente as cabeças representam aproximadamente 22% da matéria-prima (KOŁODZIEJSKA et al., 2008; ECHEVENGUÁ et al., 2008). Em busca de alternativas viáveis para aproveitar rejeitos de pescados, vários produtos podem ser obtidos, a exemplo da produção de hidrolisados protéicos e extração de colágeno e gelatina, aumentando o faturamento das empresas e reduzindo problema ambiental (BANDEIRA, 2009; KLOMKLAO et al., 2007). Existem poucos estudos relatados sobre a extração de gelatina a partir de cabeças de pescados.

¹Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rua Engenheiro Alfredo Huch, 475, 96201-900, Rio Grande, RS, Brasil. E-mail: dqmpinto@furg.br. *Autor para correspondência.

ARNESEN & GILDBERG (2006) e LIU et al. (2008) estudaram o processo de extração da gelatina de cabeça de bacalhau e bagre, respectivamente. No entanto, nenhuma informação sobre gelatinas a partir de cabeça de carpa e suas propriedades tem sido relatado.

A gelatina é uma proteína derivada da hidrólise parcial do colágeno animal, contido em ossos e peles, principalmente de suínos e bovinos (YANG et al., 2007). A conversão do colágeno em gelatina pode ser obtida através do aquecimento do colágeno, em meio ácido ou alcalino. Gelatinas obtidas por tratamento ácido são designadas do tipo A, enquanto que as do tipo B são as obtidas por tratamento alcalino (WARDS & COURTS, 1977). O processo produtivo de obtenção da gelatina consiste de três etapas: tratamento da matéria-prima, extração da gelatina e purificação/secagem (KARIM & BHAT, 2008).

As propriedades funcionais das gelatinas são dependentes das suas propriedades físico-químicas e estruturais, que serão determinantes para definir sua aplicabilidade (WARDS & COURTS, 1977). A qualidade de uma gelatina é determinada por parâmetros como rigidez do gel, viscosidade, capacidade de intumescência (PARDI et al., 1996). A força do gel é a principal propriedade da gelatina e esta característica determina seu valor comercial (CHO et al., 2004).

Este trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da concentração alcalina, tempo de tratamento e troca de solução alcalina no processo de extração de gelatina das peles de cabeças de carpa comum (*Cyprinus carpio*).

MATERIAL E MÉTODOS

Matéria-prima

As cabeças de carpa foram obtidas de piscicultores da cidade de Roca Sales-RS descartadas na industrialização. O transporte do material coletado

foi feito em caixas térmicas com gelo até o Laboratório de Operações Unitárias da Escola de Química e Alimentos (EQA), da Universidade Federal do Rio Grande (FURG). Posteriormente, foram acondicionadas em embalagens plásticas e freezer, armazenados a -18°C.

O preparo das amostras foi realizado segundo ARNESEN & GILDBERG (2006). As cabeças de carpa comum foram moídas (5mm), lavadas com água (1:6 p/v) a 4°C por 10min e centrifugadas a 7000×g por 5min para eliminação do excesso de água.

Tratamento das amostras e extração da gelatina

As cabeças moídas de carpa foram submetidas ao tratamento alcalino, com adição de água destilada (1:1 p/v) e ajuste de pH para 11, utilizando solução de NaOH 3 e 4mol L⁻¹.

Nos processos sem troca de solução alcalina, a matéria-prima permaneceu em solução alcalina por um período de 45min e 105min (dependendo do experimento da matriz do planejamento apresentada na tabela 1), e o material tratado foi centrifugado a 4000×g por 15min. Após, o precipitado foi suspenso em água destilada (1:1 p/v), ajustando-se o pH em 2, com solução de HCl 3mol L⁻¹, por 15min. O material então foi centrifugado a 4000×g por 15min.

Nos processos envolvendo troca de solução alcalina, a solução foi removida por centrifugação após 15min. Em seguida, foi feita a renovação da solução alcalina com adição de água destilada (1:1 p/v), ajustando-se novamente o pH em 11 com solução de NaOH 3 e 4mol L⁻¹. Nesse tratamento, o material permaneceu em solução nos tempos necessários para complementar os valores da matriz do planejamento experimental (Tabela 1) e, após esse período, foi centrifugado a 4000×g por 15min. O tratamento com solução de HCl 3mol L⁻¹ deste processo seguiu-se como descrito no tratamento sem troca de solução alcalina.

Tabela 1 - Matriz do planejamento fatorial da etapa de tratamento das cabeças moídas de carpa nas formas codificadas e não-codificadas.

Exp (n ^o)	CA (mol L ⁻¹)	t (min)	TS	RG (%)*	FG (g)*
1	3 (-1)	45 (-1)	Sem (-1)	2,27 ± 0,04	215,7 ± 4,1
2	4 (1)	45 (-1)	Sem (-1)	2,02 ± 0,06	268,6 ± 6,2
3	3 (-1)	105 (1)	Sem (-1)	1,63 ± 0,09	298,7 ± 6,8
4	4 (1)	105 (1)	Sem (-1)	1,49 ± 0,08	250,7 ± 6,6
5	3 (-1)	45 (-1)	Com (1)	1,66 ± 0,06	248,9 ± 3,8
6	4 (1)	45 (-1)	Com (1)	1,61 ± 0,07	277,4 ± 6,3
7	3 (-1)	105 (1)	Com (1)	1,98 ± 0,06	240,3 ± 6,3
8	4 (1)	105 (1)	Com (1)	1,69 ± 0,08	182,8 ± 5,4

Exp=experimento; CA=concentração alcalina; t= tempo de tratamento da matéria prima; TS=troca de solução alcalina; RG=rendimento em gelatina; FG=força do gel; *Média ± erro padrão (para três repetições).

O processo de extração da gelatina das amostras tratadas foi realizado com adição de água destilada (1:1 p/v) a 52°C, em banho termostático, por período de 2h e pH ajustado em 4 com HCl 3mol L⁻¹. O recolhimento do sobrenadante (solução de gelatina) foi realizado após centrifugação a 4000×g por 15min. A solução de gelatina foi filtrada em funil de Büchner com papel filtro Whatman n.4.

Composição química das amostras

As composições centesimais das cabeças moídas e das cabeças intumescidas foram determinadas em triplicata, segundo metodologias AOAC (1995). A umidade foi determinada pelo método gravimétrico (n.950.46) em estufa a 105°C. O teor de proteína bruta foi determinado através do teor de N-total pelo método de Kjeldahl (n.928.08), utilizando o fator de multiplicação de 6,25. O teor de lipídios, pelo método de Soxhlet (n° 960.39) e o teor de cinzas por método gravimétrico (n.920.153) em mufla a 500-600°C.

Caracterização das soluções de gelatina

Rendimento em gelatina

Para determinação do rendimento, foi utilizado o método descrito por YANG et al. (2007) com o rendimento calculado segundo a Equação 1.

$$RG = \frac{C_g \cdot V_s}{m_c} \quad (1)$$

em que RG é o rendimento em gelatina (g_{gelatina}/100 g_{cabeças}), C_g a concentração de proteínas da solução de gelatina (g mL⁻¹), V_s o volume da solução de gelatina extraída (mL) e m_c a massa inicial da cabeça moída (g). Força do gel

A força do gel foi determinada baseando-se na metodologia aplicada por YANG et al. (2007) e as determinações foram feitas com três repetições.

Análise estatística

Os fatores de estudo foram concentração alcalina (X₁), tempo de tratamento (X₂) e troca de solução de NaOH (X₃), utilizados na etapa de tratamento das cabeças moídas de carpa. Os valores dos níveis estudados foram determinados a partir de ensaios preliminares e de valores apresentados na literatura (BANDEIRA, 2009; ARNESEN & GILDBERG, 2006), e estão apresentados na tabela 1 em suas formas codificadas e não-codificadas, para o nível de significância de 95%.

Os experimentos foram realizados em réplicas e as respostas analisadas foram o rendimento em gelatina (RG) e força do gel (FG).

A análise estatística foi realizada com o auxílio do software Statistica® 6.0 (Statsoft, USA), aplicando a metodologia do planejamento fatorial completo, utilizando os três fatores de estudo, com os seus dois valores. Os modelos estatísticos teóricos representados pelas equações obtidas para cada resposta foram na forma polinomial, considerando os efeitos principais dos fatores de estudo e seus efeitos de interação de primeira ordem, conforme apresentado na Equação 2 (BOX et al., 1978).

$$Y = A + BX_1 + CX_2 + DX_3 + EX_1X_2 + FX_1X_3 + GX_2X_3 + HX_1X_2X_3 \quad (2)$$

em que Y é a resposta considerada no valor real, X₁, X₂ e X₃ são os fatores de estudo na forma codificada, A, B, C, D, E, F, G, H coeficientes de ajuste.

Através dos modelos estatísticos, foram construídos os cubos de respostas, utilizando o software Statistica® 6.0. Os cubos são as representações gráficas dos valores teóricos calculados pelos modelos, sendo estes posicionados nos vértices, e as arestas dos cubos representam os fatores de estudos com seus níveis na forma codificada (BOX et al., 1978).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Composição química das amostras

As cabeças moídas de carpa apresentaram 75,6±1,6% de umidade, proteínas 9,9±0,5%, lipídios 3,8±0,6% e cinzas 9,1±0,8%. A composição química para as cabeças intumescidas foi: umidade 57,7±1,4%, proteínas 17,4±0,6%, lipídios 1,7±0,2% e cinzas 22,1±1,2%.

O teor de proteínas das cabeças intumescidas (17,4% para uma massa em torno de 180g) representa a máxima produção possível de gelatina que pode ser extraída das cabeças. Mesmo com a redução da quantidade total de proteínas, as cabeças intumescidas apresentaram aumento percentual de proteínas em função da menor umidade do material, o que eleva o teor dos outros componentes.

Enquanto o teor de lipídios das cabeças intumescidas mostrou uma redução em relação ao teor inicial das cabeças moídas, em função da eficiência na remoção deste componente durante a etapa dos tratamentos, o teor de cinzas foi aumentado em função da redução de umidade no material.

Análise estatística dos resultados

Os valores de rendimento em gelatina das peles das cabeças (Tabela 1) permaneceram entre 1,50 a 2,3% de gelatina. Segundo a literatura, o rendimento de extração de gelatina de pescado (6%) é inferior ao

da gelatina de mamíferos (19%) (JAMILAH & HARVINDER, 2002). De acordo com KARIM & BHAT (2008), o processo de extração da gelatina depende dos parâmetros do processo (temperatura, tempo e pH), do tratamento e da quantidade de colágeno na matéria-prima.

A força do gel está na faixa de 50 a 300g para gelatina de mamíferos, PARDI et al. (1996). No entanto, segundo KARIM & BHAT (2008) para gelatina de pescado, o valor típico pode chegar a 270g. Os valores de força do gel (Tabela 1) ficaram dentro da faixa citada por KARIM & BHAT (2008). A propriedade de força do gel é afetada por muitos fatores, tais como a massa molar, concentração da solução de gelatina, tempo e temperatura de maturação do gel e pH (KASANKALA et al., 2007).

Pode-se observar, na tabela 2, referente à análise de variância (ANOVA) das respostas consideradas, que, para o rendimento em gelatina, todos os efeitos principais e a interação entre o tempo de tratamento e o tratamento com ou sem troca de solução de NaOH (X_2X_3) foram significativos ao nível de 95% ($P \leq 0,05$). Para a força do gel, considerando o mesmo nível de significância de 95% ($P \leq 0,05$), apenas as variáveis concentração alcalina (X_1) e a interação desta variável com o tratamento com ou sem troca de

NaOH (X_1X_3) não produziram um efeito significativo na resposta.

Os modelos teórico-estatísticos representados pelas equações 3 e 4 foram obtidos a partir das análises de regressão para as respostas rendimento em gelatina (Y_{RG}) e força do gel (Y_{FG}), considerando apenas os efeitos principais e suas interações na forma codificada, os quais foram significativos na análise ao nível de 95% ($P \leq 0,05$).

$$Y_{RG} = 1,79 - 0,18X_1 - 0,19X_2 - 0,12X_3 + 0,39X_2X_3 \quad (3)$$

$$Y_{FG} = 247,9 - 4,76X_2 - 10,53X_3 - 23,37X_1X_2 - 21,03X_2X_3 \quad (4)$$

Rendimento em gelatina e força do gel

Os cubos de resposta para o rendimento em gelatina e força do gel estão representados pela figuras 1a e 1b, respectivamente, das gelatinas obtidas da extração das peles das cabeças de carpa. Os valores nos vértices representam os valores teóricos calculados pelo modelo estatístico representado pelas Equações 3 e 4 e, nas arestas, estão representados os níveis codificados dos fatores de estudo.

A figura 1a mostra que o maior rendimento em gelatina foi obtido com tratamento sem troca de solução de NaOH (-1), em menor tempo de tratamento

Tabela 2 - ANOVA para a resposta rendimento e força do gel das gelatinas obtidas da extração das peles de cabeças de carpa.

Rendimento em gelatina					
Variável	SQ	GL	QM	F	P
X_1	0,133225	1	0,133225	13,950	0,0057
X_2	0,148225	1	0,148225	15,521	0,0043
X_3	0,055225	1	0,055225	5,783	0,0428
X_1X_2	0,004225	1	0,004225	0,442	0,5246
X_1X_3	0,000625	1	0,000625	0,065	0,8045
X_2X_3	0,616225	1	0,616225	64,526	<0,0001
Falta de ajuste	0,030625	1	0,030625	3,207	0,1111
Erro puro	0,076400	8	0,009550		
Total	1,064775	15			$R^2=89,9\%$
-----Força do gel-----					
Variável	SQ	GL	QM	F	P
X_1	145,81	1	145,806	2,202	0,1761
X_2	361,95	1	361,951	5,467	0,0475
X_3	1774,52	1	1774,516	26,805	0,0008
X_1X_2	8737,58	1	8737,576	131,986	< 0,0001
X_1X_3	288,15	1	288,151	4,353	0,0704
X_2X_3	7077,02	1	7077,016	106,903	< 0,0001
Falta de ajuste	55,13	1	55,131	0,833	0,3881
Erro puro	529,61	8	66,201		
Total	18969,75	15			$R^2=96,9\%$

SQ=soma quadrática; GL=graus de liberdade; QM=quadrado médio; F=valor da estatística do teste; P=significância.

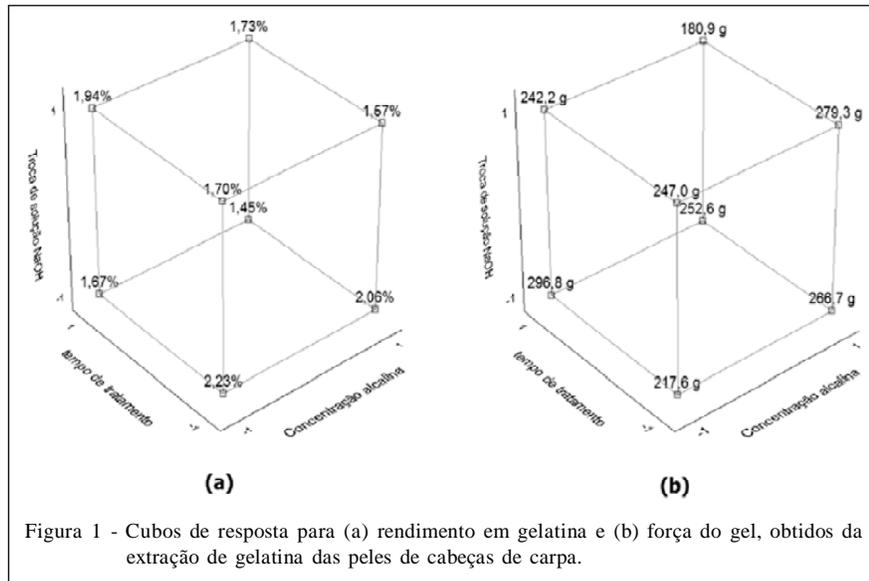


Figura 1 - Cubos de resposta para (a) rendimento em gelatina e (b) força do gel, obtidos da extração de gelatina das peles de cabeças de carpa.

(-1) e menor concentração alcalina (-1). O uso de menores concentrações de solução alcalina no tratamento das cabeças provocou aumento do volume final do material tratado e, por isso, pode ter favorecido maior dissolução do colágeno na forma de gelatina. Isso pode explicar o comportamento dos menores rendimentos nas condições aplicadas para maiores tempos de tratamento, já que, em tempos prolongados, a hidrólise das moléculas de colágeno é maior, sendo estas descartadas junto com o sobrenadante do tratamento após a centrifugação. De acordo com COLE (2010), as peles de pescados não possuem tantas ligações químicas, não havendo necessidade de um tratamento alcalino intenso e longo.

Analisando a figura 1b, é possível estabelecer a melhor faixa de trabalho quando se deseja extrair gelatinas mais rígidas. Os resultados mostram que a melhor condição se dá ao se trabalhar com maior tempo de tratamento (+1), menor concentração alcalina (-1) e tratamento sem realização de troca de solução de NaOH (-1). Na condição mencionada, foi possível obter força do gel na faixa de 300g. No entanto, nessa condição de tratamento, o rendimento é baixo. O valor para a força do gel foi superior aos encontrados por YANG et al. (2007) e ALFARO (2008), que obtiveram valores de 225 e 221g em gelatinas extraídas de peles de bagre e peles de tilápia, respectivamente. As características de temperatura da gelatina e do colágeno de peles de peixe refletem a temperatura do habitat natural do peixe. As gelatinas de peixes de água fria possuem menor conteúdo de aminoácidos (prolina e hidroxiprolina) que as gelatinas de peixes tropicais, e, portanto, apresentam melhores propriedades reológicas (BUENO, 2008).

Através das figuras 1a e 1b, pôde-se constatar que, para obtenção de gelatina que apresente bom rendimento e boa propriedade física, a condição mais adequada foi quando se utilizou menor concentração alcalina (-1), maior tempo de tratamento (+1) e troca de solução de NaOH no tratamento (+1), que corresponde ao experimento 7 da tabela 1.

CONCLUSÃO

Para o rendimento em gelatina, todos os efeitos principais e a interação entre o tempo e o tratamento com troca de solução alcalina foram significativos ao nível de 95% ($P \leq 0,05$). Para a força do gel, considerando o mesmo nível de significância, apenas as variáveis concentração alcalina e a interação desta variável com o tratamento com troca de solução alcalina não produziram um efeito significativo na resposta ($P > 0,05$).

A condição mais adequada para extração de gelatina das peles de cabeças de carpa comum foi obtida na concentração de solução alcalina 3 mol L^{-1} , tempo de tratamento de 105min e com troca de solução alcalina. Nessa condição, os valores encontrados foram rendimento de 1,98% e força do gel de 240,3.

REFERÊNCIAS

ALFARO, A.T. **Otimização das condições de extração e caracterização da gelatina de pele de tilápia (*Oreochromis urolepis hornorum*)**. 2008. 130f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Pelotas, RS.

- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of AOAC international**. 16.ed. Arlington, 1995. 1025p.
- ARNESEN, J.A.; GILDBERG, A. Extraction of muscle proteins and gelatine from cod head. **Process Biochemistry**, v.41, n.3, p.697-700, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2005.09.001>>. Acesso em: 14 dez. 2009. doi: 10.1016/j.procbio.2005.09.001.
- BANDEIRA, S.F. **Extração e caracterização da gelatina obtida de cabeças de carpa (*Aristichthys mobilis*)**. 2009. 72f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande, RS.
- BOX, G.E.P. et al. **Statistics for experimenters: an introduction to design, data analysis, and model building**. New York : Wiley & Sons, 1978. 530p.
- BUENO, C.M.M. **Extração e caracterização de gelatina de pele de tilápia e aplicação como agente encapsulante de óleo de salmão em micropartículas obtidas por coacervação complexa**. 2008. 133f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) - Universidade Estadual de Campinas, SP.
- CHO, S.M. et al. Processing optimization and functional properties of gelatin from shark (*Isurus oxyrinchus*) cartilage. **Food Hydrocolloids**, v.18, n.4, p.575-579, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2003.10.001>>. Acesso em: 06 jan. 2010. doi: 10.1016/j.procbio.2005.09.001.
- COLE, C.G.B. **Gelatin food science**. Disponível em: <<http://www.gelatin.co.za>>. Online. Acesso em: 18 jan. 2010.
- ECHEVENGUÁ, M.M. et al. Qualidade da polpa da carpa Húngara transportada viva ou no gelo. **Ciência Rural**, v.38, n.7, p.2004-2010, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000700032>. Acesso em: 08 jan. 2010. doi: 10.1590/S0103-84782008000700032.
- JAMILAH, B.; HARVINDER, K.G. Properties of gelatins from of fish – Black tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and red tilapia (*Oreochromis nilotica*). **Food Chemistry**, v.77, n.1, p.81-84, 2002. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00328-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00328-4)>. Acesso em: 12 out. 2009. doi: 10.1016/S0308-8146(01)00328-4.
- KARIM, A.A.; BHAT, R. Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. **Food Hydrocolloids**, v.23, n. 3, p.563-576, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.07.002>>. Acesso em: 07 out. 2009. doi: 10.1016/j.foodhyd.2008.07.002.
- KASANKALA, L.M. et al. Optimization of gelatine extraction from grass carp (*Catenopharyngodon idella*) fish by response surface methodology. **Bioresource Technology**, v.98, n.17, p.3338-3343, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2006.03.019>>. Acesso em: 07 out. 2009. doi: 10.1016/j.biortech.2006.03.019.
- KLOMGLAO, S. et al. Purification and characterization of trypsins from the spleen of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). **Food Chemistry**, v.100, n.4, p.1580-1589, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.01.001>>. Acesso em: 07 out. 2009. doi: 10.1016/j.foodchem.2006.01.001.
- KOŁODZIEJSKA, I. et al. Effect of extracting time and temperature on yield of gelatin from different fish offal. **Food Chemistry**, v.107, n.2, p.700-706, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.08.071>>. Acesso em: 07 out. 2009. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.08.071.
- PARDI, M.C. et al. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. Goiânia: CEGRAF/EDUF, 1996. V2.
- YANG, H. et al. 2-Step optimization of the extraction and subsequent physical properties of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) skin gelatin. **Food Chemistry and Toxicology**, v.72, n.4, p.188-195, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00319.x>>. Acesso em: 21 nov. 2009. doi: 10.1111/j.1750-3841.2007.00319.x.
- WARDS, A.G.; COURTS, A. **The science and technology of gelatin**. New York: Academic, 1977. 580p.