



Influencia de la temperatura y tiempo de extracción en la fuerza de gel y rendimiento de gelatina obtenida a partir de piel de tollo (*Mustelus mento*)

Influence of temperature and extraction time on gel strength and yield of gelatin from speckled smooth-hound skin (*Mustelus mento*)

Alberto Miano¹, Carmen Rojas², Gabriela Barraza^{2,3}

¹ Escuela de Ingeniería Agroindustrial y Comercio Exterior, Facultad de Ingeniería, Universidad César Vallejo, Av. Larco cuadra 17, Trujillo, Perú.

² Escuela de Ingeniería Agroindustrial, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Trujillo, Av. Juan Pablo II s/n, Ciudad Universitaria, Trujillo, Perú.

³ Escuela de Ingeniería en Industrias Alimentarias, Universidad Privada Antenor Orrego, Av. América Sur 3145 Monserrate, Trujillo, Perú.

Recibido 16 enero 2013. Aceptado 20 julio 2014.

Resumen

En el presente trabajo se determinaron los parámetros de temperatura y tiempo de extracción para obtener mayor rendimiento y fuerza de gel de gelatina a partir de piel de tollo (*Mustelus mento*) por hidrólisis alcalina. Se empleó el diseño compuesto central rotacional (DCCR) realizando en total 11 ensayos experimentales con temperaturas entre 60°C y 95°C, y tiempo de extracción entre 30 y 240 min. Se concluyó que a mayores tiempos de extracción se obtiene mayor rendimiento de gelatina y a menor temperatura de extracción mayor es la fuerza de gel. Para obtener mayor rendimiento (27% – 28%) y mayor fuerza de gel de gelatina (130 – 150g Bloom), se tendría que utilizar tiempos entre 220 y 240 minutos, y temperaturas entre 60 y 65°C.

Palabras clave: gelatina, tollo, fuerza de gel, Bloom.

Abstract

In the present study was determined the parameters of temperature and extraction time to achieve higher yield and gel strength of gelatin from speckled smooth-hound skin (*Mustelus mento*) by alkaline hydrolysis. It was used the central composite rotational design (CCRD) with 11 experiments with temperatures between 60°C and 95°C and extraction time between 30 minutes and 240 min. It was concluded that with higher extraction times, higher yield percentage will get, and with lower extraction temperature, higher gel strength will get. For obtaining higher yield (27% – 28%) and greater gelatin gel strength (130 - 150g Bloom), we used 220 and 240 minutes, and temperatures between 60 and 65 °C.

Keywords: gelatin, speckled smooth-hound, gel strength, Bloom.

1. Introducción

La gelatina viene siendo extraída mayoritaria-mente a partir de piel de cerdo (46%), pieles de bovino (29,4%), huesos (23,1%) y otras fuentes (1,5%) (GME, 2008). Sin embargo, a pesar de que la gelatina tiene múltiples aplicaciones (espesante, emulsi-ficante, etc.), aún existen preocupaciones de parte de los consumidores con respecto a su origen (Asher, 1999). Esto se debe principalmente a las creencias religiosas (tanto el judaísmo

y el Islam prohíben el consumo de productos provenientes de cerdo, mientras que los hindúes del ganado vacuno), como la tendencia hacia el vegetarianismo en todo el mundo (Wilesmith *et al.*, 1991). Existe gran interés por parte del mercado europeo de sustituir la gelatina del ganado bovino por otras fuentes como la proveniente de recursos marinos debido a que no está asociado con riesgo de Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB) (Badii y Howell, 2006) y por razones

* Autor para correspondencia

E-mail: crojasp@unitru.edu.pe (C. Rojas).

religiosas (Gilsen y Ross-Murphy, 2000). Una alternativa para la obtención de gelatina es la derivada de pescado y aves de corral. El pescado es una fuente de gelatina pero su producción comercial es alrededor de 1% en el mundo (Jamilah y Harvinder, 2002). Se espera que en un futuro aumente la producción de gelatina procedente de esta materia prima, ante ello se debe investigar y buscar nuevas tecnologías para mejorar el bajo rendimiento y fuerza de gel del que actualmente se obtiene (Schrieber y Gareis, 2007). La obtención de gelatinas procedentes del colágeno de pescado tiene un gran impacto económico y social, debido principalmente a problemas de índole religiosa moral y de salud. Desde el punto de vista ambiental, el aprovechamiento de residuos hidrobiológicos mantendría los mares, ríos y lagunas con menor contaminación (Badii y Howell, 2006).

El procesamiento de los recursos pesqueros producen una gran biomasa residual como piel, huesos y aletas que generalmente es descartado aproximadamente 7,3 millones de toneladas por año en el mundo (Kelleher, 2005). La venta de pescado para el consumo humano directo en los mercados, producen aún más desechos que las empresas pesqueras, debido al ineficiente uso de esta materia prima, generándose 35% de desperdicios, que pueden ser destinados a la fabricación de ensilado (empleando vísceras) y gelatina (empleando pieles y huesos). Alrededor del 30% de ese subproducto está constituido de piel y hueso con alto contenido de colágeno (Muyonga *et al.*, 2004).

La extracción de gelatina a partir de diversas especies de pescado ha sido reportada por varios autores como Schrieber y Gareis (2007), Jamilah y Harvinder (2002) y Gudmundsson y Hafsteinsson (1997) quienes demostraron su viabilidad. En el Perú, el tollo (*Mustelus mento*) es un pez aprovechado en la culinaria y la piel actualmente no tiene ninguna transformación que genere valor agregado. Por este motivo, en el presente

trabajo de investigación se planteó determinar los parámetros de temperatura y tiempo de extracción para obtener mayor rendimiento y fuerza de gel de gelatina.

2. Material y métodos

Se empleó piel de tollo (*Mustelus mento*) proveniente de pescado fresco comprado en el mercado. Las pieles de tollo se lavaron con agua potable y se cortaron en cuadrados de 1cm de lado, se sometieron a pre tratamiento con una solución de Hidróxido de Sodio 0,1N en la proporción piel/solución de 1:3 (p/v) a temperatura de 10°C por 48 horas. Luego se lavaron con agua destilada y se neutralizaron con ácido clorhídrico 0,05N.

En la etapa de extracción se colocaron en un vaso de precipitación 150 g de piel pre tratadas, con agua destilada en la proporción 1:4 (p/v) y fueron expuestas a temperaturas que oscilaron entre 60°C a 95°C por tiempos 30 min a 240 min, según los tratamientos del diseño propuesto. Se filtró la suspensión y se obtuvo la parte líquida (gelatina en solución). Esta solución se congeló por 24 horas; el agua excedente se separó por descongelación a 20°C. Los geles de gelatina fueron colocadas en un secador por aire caliente a 60°C por 12 horas para obtener láminas de gelatina deshidratada. Se determinó la humedad y cenizas (AOAC, 2000) con los métodos 950.46 y 920.153 respectivamente en la piel de tollo y la gelatina extraída. Para la determinación del porcentaje de rendimiento se expresó los gramos de gelatina seca por cada 100 g de piel fresca limpia y para la determinación de la fuerza de gel se empleó el Gelómetro tipo Bloom (AOAC 948.21, 2006).

Se empleó el diseño rotacional central compuesto (DCCR) de segundo orden con resultados en superficies de respuesta. El planeamiento factorial fue del tipo $2k + 2*k + 3 pc = 11$ experimentos (pc: puntos centrales). En la Tabla 1 se muestran los niveles de las variables independientes (X_1 : tiempo de extracción en minutos; X_2 : temperatura en °C).

Tabla 1

Niveles de los factores estudiados

Variables	Niveles				
	-1,41	-1	0	1	1,41
X ₁	30	60,5	135	209,5	240
X ₂	60	65,1	77,5	89,9	95

Se construyeron modelos del tipo:

$$Y \approx \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{12} X_1 X_2$$

(Donde β_0 , β_1 , β_2 , β_{11} , β_{22} , y β_{12} : Coeficientes de regresión; Y: Respuesta, en función de los coeficientes significativos para cada respuesta (rendimiento y fuerza de gel). Luego, se realizó ANVA para los modelos y el cálculo de los coeficientes de determinación (R^2), pruebas que permiten validar estadísticamente los modelos. Finalmente, se generaron superficies de respuesta con el Software Statística 7.0, donde se buscaron las regiones de interés.

3. Resultados y discusión

Resultados experimentales de los tratamientos

A partir de piel de tollo, se obtuvo gelatina con diferentes rendimientos expresados en porcentaje y fuerza de gel (g Bloom), valores que se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2

Resultados experimentales de los ensayos realizados

Nº	Variables independientes		Variables dependientes	
	Tiempo (°C)	Temperatura (°C)	Rendimiento (%)	Fuerza de Gel (g)
	X ₁	X ₂	Y ₁	Y ₂
1	209,5	89,9	27,0	22,3
2	209,5	65,1	25,4	89,3
3	60,5	89,9	22,4	100,6
4	60,5	65,1	20,2	120,6
5	240,0	77,5	29,8	32,3
6	30,0	77,5	16,7	78,3
7	135,0	95,0	24,8	40,8
8	135,0	60,0	23,3	153,2
9	135,0	77,5	24,0	68,2
10	135,0	77,5	24,2	64,2
11	135,0	77,5	24,1	66,6

Se encontró humedad de 29,72 % + 2,2 y 3,98 % + 0,48 de contenido de cenizas. Con el tratamiento 5 (240 min a 77,5 °C)

se logró obtener mayor rendimiento. El tratamiento 8 (135 min a 60 °C) obtuvo un valor de fuerza de gel (153,2 g Bloom). Se demuestra que tiempos largos permiten obtener mayores rendimientos y bajas temperaturas de extracción permiten obtener gelatinas con mayor fuerza de gel. Los rendimientos en base seca encontrados en esta experiencia oscilan en el rango de 16,7% y 29,8%, valores bastante aceptables si consideramos que Rahman *et al.* (2008) reportaron rendimientos de 18% de gelatina extraída a partir de atún de aleta amarilla concluyendo que el rendimiento y calidad de la gelatina no sólo están influenciados por la especie o tejido del cual es extraída, sino también por el proceso de extracción. Mohtar *et al.* (2010), reportaron un rendimiento de 17,4% de gelatina extraída a partir de hoki (*Macruronus novaezelandiae*) a 49 °C por 60 min en solución de NaCl 0,75 M. Lo que no se especifica es si el rendimiento reportado es para gelatina purificada (decolorada y deodorizada) o gelatina bruta.

Los rendimientos de gelatina que han sido reportados varían entre las diferentes especies especialmente por el diferente contenido de colágeno en la composición de la piel y por el método de extracción empleado (Gómez-Guillén *et al.*, 2002; Jamilah y Harvinder, 2002; Muyonga *et al.*, 2004; Jongjareonrak *et al.*, 2006). También existe pérdida del colágeno a consecuencia de los sucesivos lavados a la piel y por desnaturalización insuficiente del colágeno soluble durante la extracción por el alto grado de entrecruzamiento de los enlaces covalentes que puede hacer decrecer la solubilidad del colágeno (Foegeding *et al.*, 1996).

Con respecto a la fuerza de gel, se obtuvieron valores entre 22,3 y 153,2 g Bloom que se pueden considerar valores razonablemente aceptables. La fuerza de gel es uno de los más importantes indicadores de calidad de gelatina, siendo su rango comercial entre 100 a 300 g Bloom, rango deseable para la industria y entre 250 a 260 g Bloom para su uso en la

industria alimentaria de yogurt, embutidos, gomitas, etc. (Holzer, 1996). Karim y Bhat (2009) y Gilsenan y Ross-Murphy (2000) establecieron que la mayoría de gelatinas extraídas de pescado presentan una fuerza de gel entre 0 y 270 g Bloom valores menores a la fuerza de gel que presentan la gelatina bovina y porcina (entre 200 y 240 g Bloom). Sin embargo, Cho *et al.* (2005) reportaron una fuerza de gel de 426 g Bloom a partir de gelatina extraída de atún de aleta amarilla. Gelatinas provenientes de especies de agua fría generalmente tienen valores de fuerza de gel menores y siendo el tollo un pez cartilaginoso de aguas frías, la gelatina extraída de esta especie no gelificaría bien a temperaturas mayores a 10 °C y presentaría baja fuerzas de gel (Norland, 1990); a diferencia de los peces de agua caliente que exhiben valores altos de fuerzas de gel muy cercanos a los de gelatina porcina (Gudmundsson y Hafsteinsson, 1997). La diferencia en la fuerza de gel podría atribuirse al menor contenido de prolina e hidroxiprolina encontrados en gelatina de pescado (16-18%) comparado con la gelatina proveniente de mamíferos (24%). Los diferentes orígenes de la materia prima y las condiciones de extracción también afectan la fuerza de gel debido a los cambios conformacionales del colágeno (Karim y Bhat, 2009). Esto ha sido también demostrado por Zhou *et al.* (2006) en el estudio que realizaron de extracción

de gelatina con diferentes concentraciones de hidróxido de sodio y ácido acético.

Modelado matemático

El análisis de regresión (Tabla 3) demuestra que para la variable rendimiento los coeficientes no fueron significativos ($p > 0,05$); mientras que los valores del coeficiente de determinación R^2 (91,34%) y R^2 -ajustado (82,68%) fueron superiores al 85 y 75% respectivamente.

El modelo de regresión encontrado para el rendimiento sigue la siguiente ecuación:

$$Y_1 = 10,06 + 0,079 X_1 - 0,00007 X_1^2 + 0,081 X_2 + 0,0001 X_2^2 - 0,0001 X_1 X_2$$

Donde Y_1 : porcentaje de rendimiento; X_1 : tiempo de extracción en minutos; y, X_2 : temperatura de extracción en °C.

Para el caso de la variable fuerza de gel sólo se reporta coeficientes de regresión significativos ($p < 0,05$) para intercepto, temperatura lineal y la temperatura cuadrática. Al eliminar los coeficientes de regresión no significativos, el valor de coeficiente de determinación disminuyó a 61,2%, por lo que se consideró presentar los coeficientes de regresión en su totalidad para aumentar la capacidad de predicción del modelo, obteniendo un coeficiente de determinación R^2 de 93,34% y un R^2 -ajustado de 86,68%. El modelo de regresión encontrado para la fuerza de gel siguió la siguiente ecuación:

$$Y_2 = 823,5 + 0,8755 X_1 - 0,0007 X_1^2 - 18,073 X_2 + 0,112 X_2^2 - 0,0127 X_1 X_2$$

Donde Y_2 : Fuerza de gel (g Bloom).

En la Tabla 4 se muestra el análisis de varianza de la regresión.

Tabla 3

Coefficientes de regresión para rendimiento y fuerza de gel en gelatina

Factor	Rendimiento (%)		Fuerza de gel (g Bloom)	
	Coefficientes	p	Coefficientes	p
Intercepto	10,06121	0,7033	823,51953	0,0215
(1)Tiempo (min)(L)	0,07971	0,2841	0,87552	0,2451
Tiempo (min)(Q)	-0,00007	0,5318	-0,00068	0,5565
(2)Temperatura (°C)(L)	0,08077	0,9002	-18,07328	0,0319
Temperatura (°C)(Q)	0,00001	0,9988	0,11167	0,0348
1L x 2L	-0,00016	0,8405	-0,01272	0,1579
R^2		0,9134		0,9334
R^2 ajustado		0,8268		0,8668

Tabla 4

Análisis de varianza para rendimiento y fuerza de gel

Variables	Fuente	SC	GL	CM	F	p
Rendimiento (%)	Regresión	105,654	5	21,131	10,550	0,011
	Residuos	10,015	5	2,003		
	Total	115,669	10			
Fuerza de gel (g)	Regresión	14054,384	5	2810,877	14,015	0,006
	Residuos	1002,801	5	200,560		
	Total	15057,185	10			

Tal como se observa, los modelos propuestos para rendimiento y fuerza de gel fueron significativo ($p < 0,05$), además presentaron coeficientes de determinación elevados de 91,34 y 93,34%, respectivamente. En las figuras 4 y 5 se presentan los diagramas de Pareto, empleados para evaluar el efecto de la temperatura y tiempo de extracción en el rendimiento y fuerza del gel de gelatina extraída a partir de piel de tollo respectivamente.

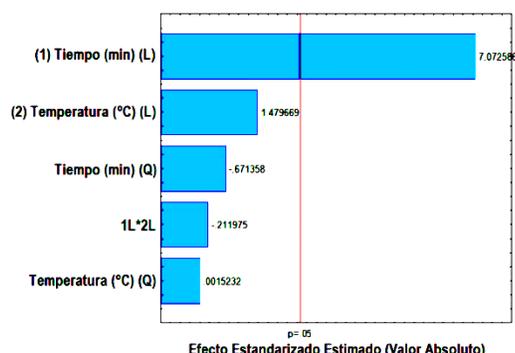


Figura 4. Efecto del tiempo y temperatura sobre el rendimiento de gelatina.

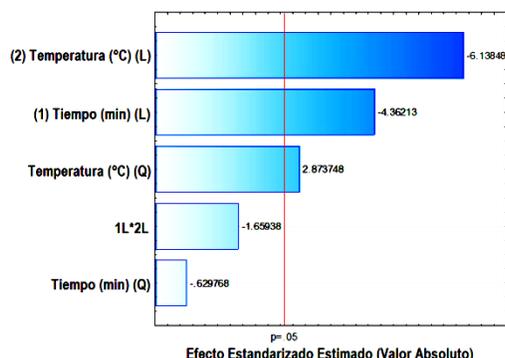


Figura 5. Efecto del tiempo y temperatura sobre la fuerza de gel.

Se observa que existe sólo un efecto lineal significativo del tiempo de extracción en el rendimiento de la gelatina extraída, efecto significativo lineal del tiempo y temperatura y cuadrático de la temperatura de extracción en la fuerza del gel de la gelatina extraída a partir de piel de tollo. En la Figura 6 se presenta superficie de contornos para la variable rendimiento, donde se observa que el rendimiento se incrementa al incrementarse el tiempo de extracción, mientras que el efecto de la temperatura es en menor cuantía.

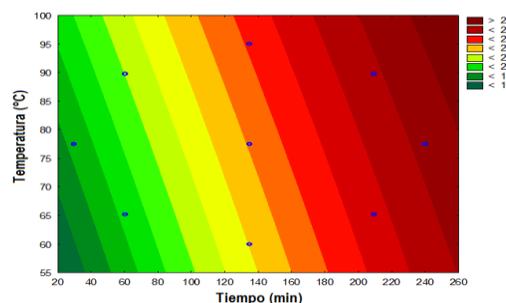


Figura 6. Superficie de contornos para la variable rendimiento.

En la Figura 7 se presenta la superficie de contornos para la variable fuerza de gel.

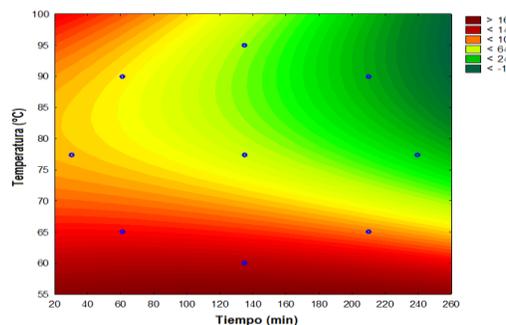


Figura 7. Superficie de contornos para la variable fuerza de gel.

Se observa que a bajas temperaturas se puede obtener una gelatina de alto Bloom sin que el tiempo le afecte, efecto similar se lograría a altas temperaturas, pero en tiempos cortos. Esto se puede explicar por lo mencionado por Djabourov *et al.*, (1993) quienes establecieron que las temperaturas mayores a 40 °C destruyen los puentes de hidrógeno y rompen muchos enlaces covalentes que ayudan a desestabilizar la triple hélice y convirtiéndola en gelatina soluble; pero las temperaturas mucho más altas (superiores a 80 °C) pueden romper demasiados enlaces, debilitando la fuerza de gel.

La superficie de contornos, muestra un leve incremento de la fuerza de gel a temperaturas mayores de 85 °C, lo cual puede contradecir lo dicho anteriormente. Sin embargo, según Intarasirisawat *et al.* (2007), algunas proteasas termoestables endógenas de la piel están involucradas en la degradación de las moléculas de gelatina (especialmente las cadenas α y β) durante el proceso de extracción a elevadas

temperaturas lo que contribuye a obtener gelatinas de bajo Bloom. Estas proteasas ayudan en la disminución de la fuerza de gel de la gelatina, pero las temperaturas superiores a 85°C comienzan a inactivar dichas enzimas, aumentando la probabilidad de obtener gelatinas de mayor Bloom.

Al realizar una superposición de gráficas de contornos (Figura 8), se observa que a tiempos entre 220 y 240 minutos, y temperaturas entre 60 y 65 °C (valores dentro de los rangos estudiados), se obtiene la zona óptima de operación, donde existe alto rendimiento y valores elevados de fuerza de gel. Karim y Bhat (2009), demostraron que el proceso de extracción realizado puede influenciar en la longitud de las cadenas polipeptídicas y propiedades funcionales de la gelatina. Esto dependería de los parámetros de proceso (temperatura, tiempo y pH), el pretratamiento que se haya efectuado y el acondicionamiento y la preservación que se le haya dado a la materia prima.

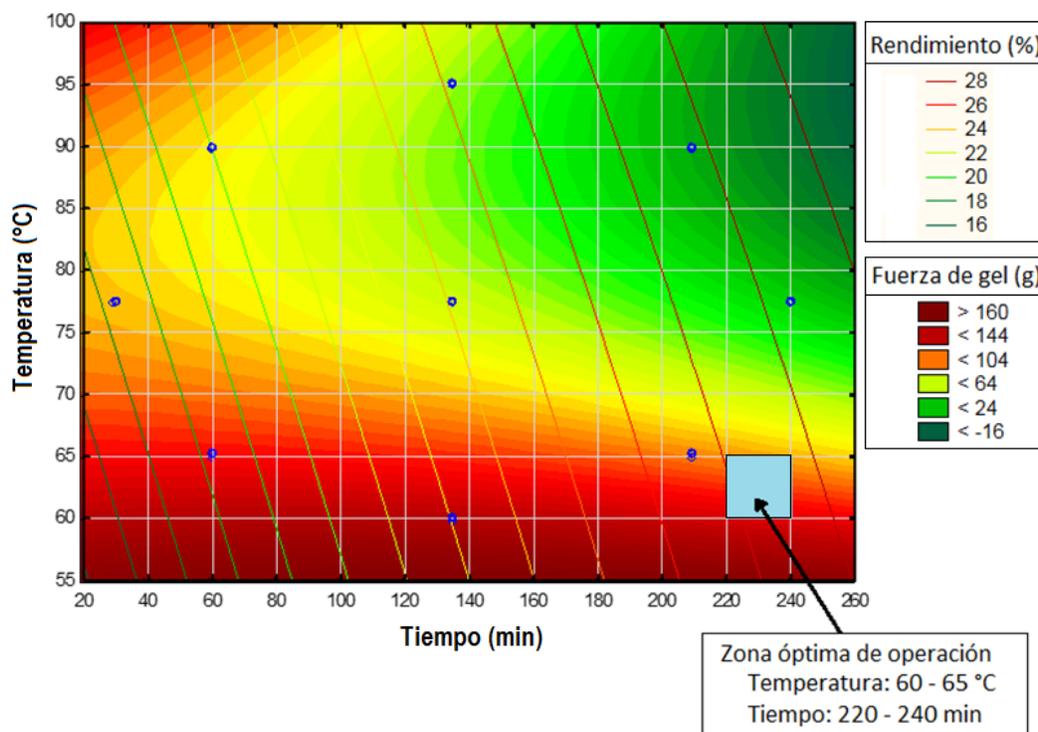


Figura 8. Superposición de gráficas de contornos.

Se ha demostrado en este estudio que existe influencia de tiempo y temperatura pero también se debe considerar que existen otros factores como los mencionados por Karim y Bhat (2009).

La gelatina obtenida en estas condiciones de extracción, presentó un contenido de cenizas promedio de $2,19 \pm 0,11$ %. Según la RTCR 9 (1956), el porcentaje de cenizas máximo que debe presentar la gelatina comestibles es del 2%. La gelatina que se extrajo tuvo un contenido superior debido probablemente, a la falta de desmineralización que reduce el contenido de cenizas.

Validación del modelo

Al determinar la zona óptima de operación por superposición de graficas de contornos: tiempo (220 - 240 min) y temperatura (60 - 65 °C) de extracción, se procedió a realizar la validación de los resultados, para lo cual se comparó los valores de rendimiento y fuerza del gel estimados con los modelos propuestos, con los valores experimentales de la gelatina extraída con los parámetros de tiempo y temperatura de la zona óptima, presentando un error menor al 10%, por lo que ambos modelos presentarían una buena capacidad de predicción y podrían ser empleados dentro del rango de parámetros de extracción establecidos en el presente trabajo de

investigación, puesto que presentan errores porcentuales entre 1,53% y 5,94% (Gutiérrez y De la Vara, 2009).

4. Conclusiones

Se encontró influencia de la temperatura y tiempo de extracción en el rendimiento y fuerza de gel de gelatina obtenida a partir de piel de tollo (*Mustelus mento*), donde a mayores tiempos de extracción mayor rendimiento de gelatina y a menor temperatura de extracción, mayor fue la fuerza de gel. Se obtuvo gelatina con una fuerza de gel entre 22,3 y 153,2 g Bloom y rendimientos de 16,7 y 29,8% en los diferentes ensayos realizados. De acuerdo a este estudio para obtener rendimiento entre 27 - 28% y mayor fuerza de gel (130 a 150 g Bloom) se debería utilizar los rangos de 220 y 240 minutos y, 60 y 65°C, respectivamente. Por lo tanto, se demuestra que utilizando los parámetros obtenidos de tiempo y temperatura hallados en la presente investigación, la piel de tollo (*Mustelus mento*) es una alternativa para obtener gelatina con fuerza de gel aceptable comercialmente para sustituir la gelatina de ganado bovino y porcino por la proveniente de recursos marinos.

Tabla 7

Validación de rendimiento y fuerza de gel

Variables independientes		Rendimiento (%)			Fuerza de gel (grados Bloom)		
Tiempo (min)	Temperatura (°C)	Experimental	Estimado	Error (%)	Experimental	Estimado	Error (%)
220	60,0	27,4	26,7	2,41	137,3	132,3	3,62
230	62,5	26,3	27,2	3,47	108,4	112,0	3,36
240	65,0	28,1	27,7	1,53	98,2	92,4	5,94

5. Referencias bibliográficas

AOAC. 2000. Official Methods of Analysis (17 th ed.) Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C.

AOAC. 2006. Official Methods of Analysis 925.10. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C.

Asher, D. 1999. The transmissible spongiform encephalopathy agents: concerns and responses of the United States regulatory agencies in maintaining the safety of biologics. Developments in Biological Standardization 100: 103-118.

Badii, F.; Howell, N.K. 2006. Fish gelatin: structure, gelling properties and interaction with egg albumen proteins. Food Hydrocolloid 20: 630-640.

- Cho, S.; Gu, Y.; Kim, S. 2005. Extraction optimization and physical properties of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) skin gelatin compared to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloids* 19: 221–229.
- Djabourov, M.; Lechaire, J.; Gaill, F. 1993. Structure and rheology of gelatin and collagen gels. *Biorheology* 30: 191–205.
- Foegeding, E.; Lanier, T.; Hultin, H. 1996. Characteristics of edible muscle tissues. In: Fennema, O.R. (Ed). *Food Chemistry*. Marcel Dekker, New York.
- Gómez-Guillén, M.C.; Turnay, J.; Fernández-Díaz, M.D.; Ulmo, N.; Lizarbe, M.; Montero, P. 2002. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. *Journal of Food Hydrocolloids* 16: 25-34.
- GME. 2008. Gelatin Manufacturers of Europe. <http://www.gelatine.org/>
- Gilsenan, P.M.; Ross-Murphy, S.B. 2000. Rheological characterization of gelatins from mammalian and marine sources. *Food Hydrocolloids* 14: 191-195.
- Gudmundsson, M.; Hafsteinsson, H. 1997. Gelatin from cod skins as affected by chemical treatments. *Journal of Food Science* 62: 37–47.
- Gutierrez, H.; De la Vara, R. 2009. *Control Estadístico de la Calidad y Seis Sigma Segunda edición*. Editorial McGraw-Hill. Interamericana Editores.
- Holzer, D. 1996. Gelatin production. US patent: 5,484,888.
- Intarasirisawat, R.; Benjakul, S.; Visessanguan, W.; Prodpran, T.; Tanaka, M.; Howell, N. 2007. Autolysis study of big eye snapper (*Priacanthus macracanthus*) skin and its effect on gelatin. *Food Hydrocolloids*, 21: 537–544.
- Jamilah, B.; Harvinder, K. 2002. Properties of gelatins from skins of fish-blacktilapia (*Oreochromis mossambicus*) and red tilapia (*Oreochromis nilotica*). *Food Chemistry* 77: 81–84.
- Jongjareonrak, A.; Benjakul, S.; Visessanguan, W.; Tanaka, M. 2006. Effects of plasticizers on the properties of edible films from skin gelatin of big eye snapper and brown stripe red snapper. *European Food Research Technology* 222: 229-235.
- Karim, A.; Bhat, R. 2009. Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloids* 23: 563-576.
- Kelleher, K. 2005. Discards in the world's marine fisheries. An update. *FAO Fisheries Technical Paper N 470* (pp. 131). Rome.
- Mohtar, N., Pereda, C.; Quek, S. 2010. Optimization of gelatine extraction from hoki (*Macruronus novaezelandiae*) skins and measurement of gel strength and SDS–PAGE. *Food Chemistry* 122: 307-313.
- Muyonga, J.; Cole, C.; Duodu, K. 2004. Extraction and physico-chemical characterization of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin. *Food Hydrocolloids* 18: 581–592.
- Norland, R. 1990. Fish gelatin. In M. N. Voight, & J. K. Botta (Eds.), *Advances in fisheries technology and biotechnology for increased profitability*. 325–333. Lancaster: Technomic Publishing Co.
- Rahman, M.; Al-Saidi, G.; Guizani, M. 2008. Thermal characterization of gelatin extracted from yellowfin tuna skin and commercial mammalian gelatin. *Food Chemistry* 108: 472-481.
- RTCR9. 1956. Norma general para gelatina comestible. *La Gaceta digital*. Diario oficial La Uruca, San José. Costa Rica.
- Schrieber, R.; Gareis, H. 2007. *Gelatin handbook. Theory and industrial practice*. Wiley-VCH, Germany.
- Wilesmith, J.; Ryan, J.; Atkinson, M. 1991. Bovine spongiform encephalopathy: epidemiological studies on the origin. *Veterinary Record* 128: 199–203.
- Zhou, P.; Mulvaney, S.; Regenstein, J. 2006. Properties of Alaskan Pollock skin gelatin: a comparison with Tilapia and pork skin gelatins. *Journal of Food Science* 71: C313-C321.