

EFFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE TRANSGLUTAMINASA Y TIEMPO DE REACCIÓN EN LA ESTABILIDAD DE PRODUCTOS REESTRUCTURADOS

Effect of Concentration of TGm and Reaction Time on the Stability of Restructured Product

Enrique Márquez*, Erika Arévalo, Yasmina Barboza, Betty Benítez, Lisbeth Rangel y Anangelina Archile

Laboratorio de Investigación y Desarrollo en Nutrición, Escuela de Nutrición y Dietética, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela. Fax :7543220. E-mail: foodtech@cantv.net

RESUMEN

El propósito de esta investigación fue agregar transglutaminasa en la elaboración de productos cárnicos reestructurados crudos y medir su eficiencia en términos de mínima concentración y tiempos de reacción necesarios para lograr productos estables a temperatura de refrigeración. Carnes de ave y bovino fueron utilizadas en el ensayo para elaborar 2kg de cada uno de los productos a los cuales se les agregó por separado transglutaminasa, a concentraciones de 0,25; 0,5; 0,75 y 1%. Se dividieron en 4 porciones de 0,5 kg y se colocaron a 4°C durante los siguientes tiempos de reacción: 4; 8; 12 y 24 h. El experimento se repitió 7 veces. La eficiencia de la enzima se midió en función de la estabilidad que presentó el producto al ser rebanado a temperatura de refrigeración. Para ello se elaboró una escala donde se asignó un porcentaje de cohesión en función del número de grietas observadas en el producto al ser rebanado. Los resultados indicaron que al aumentar la concentración de la transglutaminasa aumentó ($P < 0,05$) la cohesión de las carnes y en consecuencia la estabilidad del producto final crudo. El mismo efecto se observó al aumentar el tiempo de reacción. La enzima resultó ser más eficiente con la carne de bovino que con la de ave. En conclusión, la adición de transglutaminasa es una alternativa para obtener productos reestructurados crudos que pueden ser ofrecidos a temperatura de refrigeración.

Palabras clave: Concentración de transglutaminasa, productos reestructurados, estabilidad, tiempo de reacción.

ABSTRACT

The purpose of this research was to determine the efficiency of the transglutaminase in terms of concentration and reaction time needed to obtain stable raw restructured products at refrigeration temperature. Bovine and poultry meat were used in the experiment to produce 2kg of each restructured product. Transglutaminase was added at 0.25; 0.5; 0.75 and 1% concentrations. Each restructured product was divided in 4 portions of 0.5kg and placed in refrigeration at the following reaction time 4; 8; 12 and 24 h. The experiment was repeated 7 time. The efficiency of the enzyme was determined as a function of the stability (cohesiveness) shown by the products when they were sliced at refrigeration temperature. Results indicated that as the enzyme concentration and reaction time increased, stability of the final products increased ($P < 0.05$). It also indicated that at the same enzyme concentration and reaction time restructured products formulated with bovine meat were more stable than those formulated with poultry meat. As a conclusion, addition of transglutaminase is an alternative to obtain stable raw restructured products stored at refrigeration temperature.

Key words: Transglutaminase concentration, restructured products, stability, reaction time.

INTRODUCCIÓN

Los productos cárnicos reestructurados tienen una alta demanda debido a su conveniencia y fácil utilización. Sin embargo, cuando el producto reestructurado es crudo, éste debe ofrecerse en forma congelada por su inestabilidad lo que representa una desventaja tanto económica, por el costo de congelación, como de rechazo por parte del consumidor.

Varias alternativas se han propuesto para mejorar la estabilidad de los productos reestructurados crudos. El uso de aglutinantes como alginatos, caseinatos, harina de soya, etc [10, 11, 13, 16, 20], y el uso de sales como el tripolifosfato [16, 18].

Últimamente, se ha propuesto la utilización de métodos biotecnológicos como es el caso de la utilización de enzimas como la transglutaminasa para mejorar la estabilidad de los productos reestructurados. La transglutaminasa (Nomenclatura: TG:EC 2.3.2.13) es un tipo de transferasa que cataliza la reacción de aciltransferencia entre los grupos γ -carboxiamida de los residuos glutámicos ligados a proteínas o péptidos y aminas primarias [2, 9, 19].

Existen dos tipos de TG, las calcio dependientes, las cuales se encuentran en hígado y plasma de mamíferos, en pescados y plantas; y las calcio independientes (TGM), producidas por la fermentación de algunos microorganismos como *Streptovercillum cinnamoneum* y *Streptovercillum moba-raense* [1, 2, 3, 8, 18, 26-29]. Estas últimas son las más utilizadas comercialmente.

Las TG se muestran activas en un rango de pH de 5 a 8, y a temperaturas que oscilan entre los 0° y 70°C [2, 14, 15]. La cohesión entre las moléculas de proteínas producidas por la acción de la enzima permite mejorar las propiedades funcionales (textura, capacidad de retención de agua, capacidad de formación de geles) de las mismas [5, 6, 7, 15, 24]. La habilidad que posee la TGM de unir las proteínas miofibrilares de las carnes es de suma importancia en la elaboración de productos cárnicos reestructurados ya que contribuye a darle estabilidad a los mismos sin necesidad de agregar altas cantidades de sales de cloruro de sodio o fosfatos [13, 17, 21-23].

Varias investigaciones se han realizado donde se reporta el efecto de las TGM con agregado de sales y aglutinantes sobre la estabilidad de productos reestructurados cocidos [4, 11]. El agregado de sales, aglutinantes y el cocimiento del producto final contribuyen a la formación de geles que ayudan a cohesionar y estabilizar los productos reestructurados cocidos. La utilización de TGM en la elaboración de productos reestructurados crudos amerita estudios sobre las cantidades a utilizar y el tiempo de reacción para lograr productos estables a temperaturas que deben mantenerse bajas por razones microbiológicas.

El propósito de esta investigación fue determinar el efecto de la concentración de la transglutaminasa microbiana y tiempo de reacción en la estabilidad de productos reestruc-

turados crudos tipo medallones elaborados con carnes de aves y bovino.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de la materia prima

Se utilizaron 56 Kg de carne de bovino y 56 Kg de carne de pollo. La carne de bovino (corte: pulpa negra, músculo: semimembranosus) se obtuvo de un supermercado de la localidad, mientras que la carne de pollo (pechuga) fue obtenida de una procesadora avícola del estado Zulia, Venezuela. A ambas se les determinó el pH utilizando un potenciómetro marca DeltaTRAK, modelo ISFET pH101(EUA). Luego se cortaron en trozos de 10 cm de largo $\times$ 5 cm de ancho con 0,5 cm de espesor aproximadamente (TABLA I).

La TGM se obtuvo de la empresa AJINOMOTO Co. (Paramus, NJ, EUA)

Elaboración de los productos reestructurados

Para la elaboración de los productos reestructurados se tomaron cuatro porciones (2 Kg c/u) de la carne, cortada en trozos, de bovino o de ave. A la primera porción se le agregó TGM al 0,25%, a la segunda al 0,5%, a la tercera al 0,75% y a la cuarta al 1% (TABLA II). Cada porción se mezcló a mano durante un minuto, y se dividió en 4 partes de 0,5 Kg c/u. Cada parte se embutió en tripas sintéticas de 12 cm de diámetro y se colocaron en refrigeración a 4° C hasta determinar su estabilidad a las 4; 8; 12 y 24 horas después del agregado de la enzima.

La estabilidad (cohesión) de los productos se midió de manera sensorial (visualmente) en función del número de grietas que presentaron al momento de ser rebanados. Para ello se elaboró una escala donde se le asignó a cada producto un porcentaje de cohesión en función del número de grietas observadas al ser rebanados. La cohesión se considera excelente (100%) si no se observaban grietas en la rebanada; buena (70 a 90%) si presentaban de 1 a 3 grietas; regular (40 a 60%) de 4 a 6 grietas, y mala (< 30%) por encima de 7 grietas (TABLA III).

Cada porción de 0,5 Kg se rebanó para obtener 5 medallones de 8 cm de diámetro y 2 cm de grosor cada uno. Se observó el número de grietas presentes en la rebanada y se le dió un porcentaje de cohesión, de acuerdo a la TABLA III.

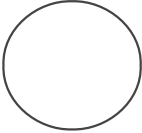
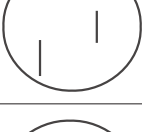
TABLA I
CARACTERÍSTICAS DE LAS CARNES UTILIZADAS / CHARACTERISTIC OF THE RAW MEAT USED

Especie	Corte	pH	Tamaño de la muestra
Ave	Pechuga	6,02	10 $\times$ 5 cm
Bovino	Pulpa Negra	5,80	10 $\times$ 5 cm

TABLA II
DISEÑO EXPERIMENTAL / EXPERIMENTAL DESIGN

Tiempo	Concentración de TGM			
	0,25%	0,5%	0,75%	1%
	Tipo de carne Res o Ave	Tipo de carne Res o Ave	Tipo de carne Res o Ave	Tipo de carne Res o Ave
4 horas	0,5 Kg	0,5 Kg	0,5 Kg	0,5 Kg
8 horas	0,5 Kg	0,5 Kg	0,5 Kg	0,5 Kg
12 horas	0,5 Kg	0,5 Kg	0,5 Kg	
24 horas	0,5 Kg	0,5 Kg	0,5 Kg	0,5 Kg

TABLA III
ESCALA DE COHESIÓN / COHESIVENESS SCALE

Nº de grietas	% de Cohesión	Estabilidad
0 	100%	Excelente
1 	90%	Buena
2 	80%	
3 	70%	
4 	60%	Regular
5 	50%	
6 	40%	
7 	30%	Mala
8 	20%	
9 	10%	

Análisis estadístico

El diseño consistió en un arreglo factorial 2×4×4, siendo los factores los siguientes: tipo de carne a 2 niveles (ave y bovino); concentración de la transglutaminasa a 4 niveles (0,25; 0,5; 0,75 y 1%); tiempo de reacción a 4 niveles (4; 8; 12 y 24 h). El experimento se repitió 7 veces. Cada muestra se analizó por triplicado. Los datos obtenidos fueron analizados utilizando el análisis de varianza (ANOVA) del programa SAS PROC GLM [25]. Cuando se detectó significancia con el ANOVA, las medias se compararon utilizando el procedimiento LSMEANS y Duncan. Las diferencias se aceptaron con un 5% de probabilidad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La TABLA IV muestra los valores promedios del porcentaje de cohesión (estabilidad) debido al tipo de carne, concen-

tración de TGM y tiempo de reacción. Los resultados indican que independientemente de la concentración y tiempo de reacción, la TGM es más eficiente con la carne de bovino que con la carne de ave. También se observó que al aumentar la concentración aumentó la cohesión significativamente ($P < 0,05$), independientemente del tipo de carne y tiempo de reacción. Finalmente se observó que al aumentar el tiempo de reacción aumentó la cohesión independientemente del tipo de carne y la concentración de TGM utilizada.

Cuando se midió la interacción entre los tres tratamientos, tipo de carne, concentración de TGM y tiempo de reacción (TABLA V y FIGS. 1 y 2) se observó que a las 4 h de reacción, con agregado de TGM al 1%, la estabilidad del producto elaborado con carne de bovino fue considerada como buena (cohesión > 70%), mientras que para el producto elaborado con carne de ave la estabilidad fue mala (cohesión = 52%) independientemente de la concentración de TGM utilizada. A las 8 h de reacción, la cohesión fue buena (74%) para los productos reestructurados con carne de bovino cuando se utilizó una concentración de TGM, igual a 0,75%; mientras que para los productos reestructurados elaborados con carne de ave se necesitó una concentración de 1% de TGM para obtener resultados similares. A las 12 h de reacción con 1% de TGM, la estabilidad fue excelente (cohesión 100%) para los productos elaborados con carne de bovino, mientras que se necesitó 24h para obtener los mismos resultados con los productos elaborados con carne de ave. Se observó también que para la carne de bovino la estabilidad fue excelente a las 24h de reacción con solo 0,75% de TGM, indicando que si se permite 24h de reacción no se requiere el agregado de 1% de TGM ya que 0,75% es suficiente para obtener los mismos resultados.

Diversas investigaciones han demostrado la eficiencia de la transglutaminasa microbiana (TGM) en producir enlaces entre los grupos α -carboxamida de los residuos glutámicos ligados a proteínas o péptidos y aminas primarias tal como la lisina ligada a otra proteína [2, 9, 19]. Kurth y Rogers [13], demostraron que la transglutaminasa fue capaz de establecer enlaces entre la miosina y proteínas no cárnicas como la proteína de soya, caseína y gluten en condiciones de 4 a 5°C y pH de 5,5 a 7,0. Killi [11], trabajando con productos reestructu-

TABLA IV

VALORES PROMEDIOS DEL PORCENTAJE DE COHESIÓN SEGÚN EL TIPO DE CARNE, CONCENTRACIÓN DE TGm Y TIEMPO DE REACCIÓN / MEAN VALUES FOR COHESIVENESS PERCENT BY TYPE OF MEAT, TGm CONCENTRATION AND REACTION TIME

Tipo de Carne		Concentración de TGm (%)				Tiempo de Reacción (h)			
Ave	Res	0,25	0,5	0,75	1	4	8	12	24
48,75 ^a	67,00 ^b	30,75 ^a	48,75 ^b	69,50 ^c	82,50 ^d	40,75 ^a	53,00 ^b	65,25 ^c	72,50 ^d

^{a,b,c,d} Medias en una misma fila y dentro de un mismo tratamiento con diferentes superíndice difieren significativamente.

TABLA V

VALORES PROMEDIO DEL PORCENTAJE DE COHESIÓN DE LOS PRODUCTOS REESTRUCTURADOS CRUDOS DE AVE Y BOVINO A DIFERENTES CONCENTRACIONES Y TIEMPOS DE REACCIÓN DE LA TGm / MEAN VALUES OF COHESIVENESS PERCENT OF RESTRUCTURED POULTRY AND BEEF RAW PRODUCTS BY DIFFERENT CONCENTRATION AND REACTION TIME OF THE TGm

Tiempo	Concentración de TGm							
	0,25%		0,5%		0,75%		1%	
	Tipo de carne		Tipo de carne		Tipo de carne		Tipo de carne	
	Ave	Res	Ave	Res	Ave	Res	Ave	Res
4 horas	14 ^g	32 ^{oq}	18 ^{egh}	44 ^{af}	42 ^{ft}	50 ^{aty}	52 ^a	74 ^b
8 horas	16 ^{gh}	42 ^{rfy}	38 ^{far}	50 ^{aty}	48 ^a	74 ^{bs}	76 ^{bs}	80 ^{mp}
12 horas	22 ^{gh}	46 ^{ry}	40 ^r	70 ^b	74 ^{bs}	92 ^{mp}	86 ^{cm}	92 ^p
24 horas	24 ^{ho}	50 ^{afy}	50 ^{aty}	80 ^{sc}	80 ^{sc}	100 ^p	100 ^p	100 ^p

Medias con diferentes superíndices difieren significativamente (P < 0,05).

La eficiencia se expresó en porcentaje de cohesión de la siguiente manera: Cuando el porcentaje de cohesión fue mayor de 70% la eficiencia se considero de buena a excelente. Por debajo de 70% la eficiencia fue de regular a mala.

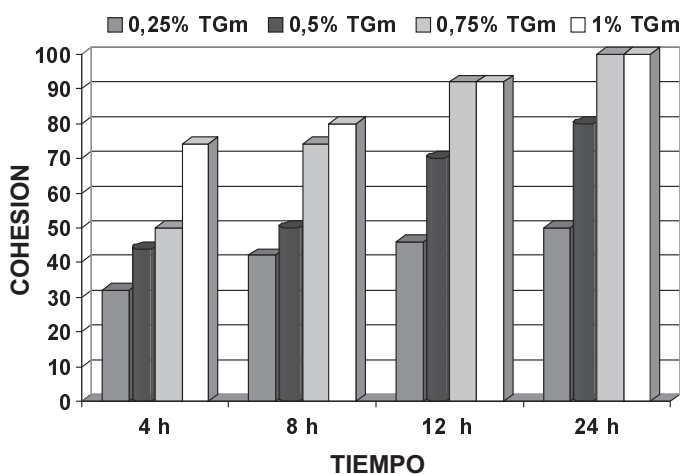


FIGURA 1. EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN Y TIEMPO DE REACCIÓN DE LA TGm EN LA COHESION DE PRODUCTOS REESTRUCTURADOS DE CARNE DE BOVINO / EFFECT OF CONCENTRATION AND REACTION TIME OF TGm ON THE COHESIVENESS OF RESTRUCTURED BEEF PRODUCTS.

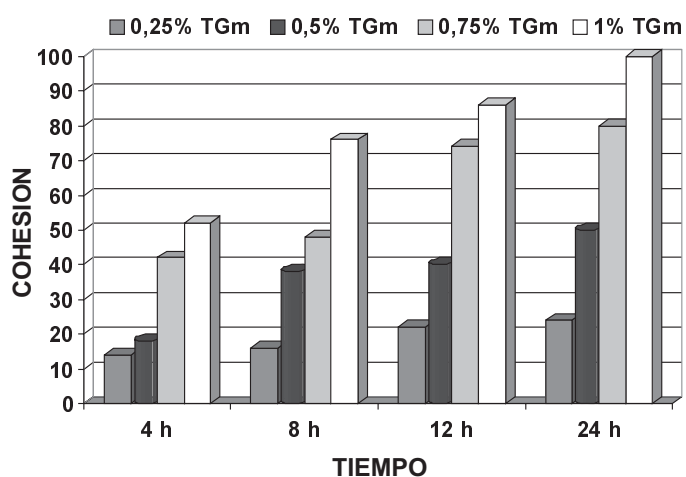


FIGURA 2. EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN Y TIEMPO DE ACCIÓN DE LA TGm EN LA COHESION DE PRODUCTOS REESTRUCTURADOS DE CARNE DE AVE / EFFECT OF CONCENTRATION AND REACTION TIME OF TGm ON THE COHESIVENESS OF RESTRUCTURED POULTRY PRODUCT.

rados cocidos, reportó que el agregado de TGm al 1% produjo enlaces entre las proteínas de la carne y que la estabilidad mejoraba si se agregaba caseinato de sodio. Resultados similares de la acción de la transglutaminasa fueron reportados por Tseng y col. [26], trabajando con albóndigas de carne de pollo. Kuraishi y col. [12], demostraron la efectividad de la adi-

ción de TGm para cohesionar fuertemente productos reestructurados crudos elaborados con carne de cerdo. En el presente estudio la acción de la transglutaminasa microbiana se midió en productos reestructurados crudos para evitar la interferencia que produce el efecto de la gelificación de las proteínas por el calor en la estabilidad del producto final.

A pesar de que las transglutaminasas comúnmente encontradas en hígado y sangre de bovino se diferencian de las transglutaminasas microbianas por ser el primer calcio dependiente, pudiera especularse que su conformación es más específica para las proteínas de bovino que para las de ave. Esto explicaría su mayor eficiencia en producir enlaces entre las proteínas de las carnes de bovino, comparado con la producción de enlaces entre las proteínas de la carne de ave.

CONCLUSIÓN

Al aumentar la concentración de la transglutaminasa aumenta la cohesión de las carnes y en consecuencia la estabilidad del producto final crudo. El mismo efecto se observó al aumentar el tiempo de reacción. La enzima es más eficiente para carne de bovino al compararla con la carne de ave.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AESCHLIMANN, D.; PAULSSON, M. Transglutaminase. Protein cross-linking enzyme in tissues and body fluids. **Thromb and Homeost.** 71: 402-415. 1994.
- [2] ANDO, H.; ADACHI, M.; UMEDA, K.; MATSUURA, A.; NONAKA, M.; UCHIO, R.; TANAKA, H.; MOTOKI, M. Purification and characteristics of a noval transglutaminase derived from microorganisms. **Agri. and Biol. Chem.** 53: 2613-2617. 1989.
- [3] ARAHI, H.; SEKI, N. Compression of reactivity of transglutaminase to various fish actomyosin. **Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.** 59: 711-716. 1993.
- [4] BIROL, K. Effects of microbial transglutaminase and sodium caseinate on quality of chicken döner kebab. **Meat. Sci.** 63: 417-421. 2003.
- [5] BAUER, N.; KOEHLER, P.; WIESER, H.; SCHIEBERLE, P. Studies on effects of microbial transglutaminase on gluten proteins of wheat, I. Biochemical Analysis. **Cereal. Chem.** 80(6):781-786. 2003.
- [6] BURSEY, R. Transglutaminase a cross-linking enzyme for meat and poultry. **Meat Industry Research Conferences Proceedings.** Chicago, EUA. Octubre 12-16. 45-50 pp. 1997.
- [7] FAERGEMAND, M.; OTTER, J.; OVIS, K. Emulsifying properties of milk proteins cross-linked with microbial transglutaminase. **Intern. Dairy J.** 8(8):715-723. 1998.
- [8] FOLK, J. Transglutamines. **Ann. Rev. Biochem.** 49: 517-531. 1980.
- [9] FOLK, J.; CHUNG, S. Molecular and catalytic properties of transglutaminase. **Adv in Enzymol.** 38:109-191. 1973.
- [10] HOZOVA, B.; JANCOVICOVA, J.; DODOK, L.; BUCHTVA, V.; STARUCH, L. Use of Transglutaminase for improvement of quality of pastry produced by frozen dough technology. **J. of Food Sci.** 20(6):215-222. 2002.
- [11] KILLI, B. Effect of microbial Transglutaminase and sodium caseinate on quality of chicken doner kebab. **Meat. Sci.** 63:417-421. 2003.
- [12] KURAISHI, C.; SAKAMOTO, T.; YAMAZAKI, K.; SUSA, V.; KUHARA, C.; SOEDA, T. Production of restructured meat using microbial transglutaminase without salt or cooking. **J. of Food Sci.** 62(3): 488-491. 1997.
- [13] KURTH, L.; ROGER, P. Transglutaminase catalyzed cross-linking of myosin to soy protein, Casein and Gluten. **J. of Food Sci.** 49:573-589. 1984.
- [14] MOTOKI, M.; NIO, N. Cross-Linking between different food proteins by transglutaminase. **J. of Food Sci.** 48:561-566. 1983.
- [15] MOTOKI, M.; SEGURO, K. Transglutaminase and its use for food processing. **Trends. in Food Sci. and Technol.** 9:204-210. 1998.
- [16] MUGURUMA, M.; TSURUOKA, K.; KATAYAMA, K.; ERWANTO, Y.; KAWAHARA, S.; YAMAUCHI, K.; SATHE, S.; SOEDA, T. Soybean and milk proteins modified by transglutaminase improve chicken sausage texture even at reduced levels of phosphate. **Meat. Sci.** 63(2):191-197. 2003.
- [17] NIELSEN, G.; PETERSEN, B.; MØLLER, A. Impact of salt, phosphate and temperature on the effect of a transglutaminase (F XIIIa) on the texture of restructured meat. **Meat. Sci.** 41(3): 293-299. 1995.
- [18] NOGUCHI, K.; SHIKAWA, K.; YOKOYAMA, K.; OHTSUKA, T.; NIO, N.; SUZUKI, E. Crystal structure of red sea bream transglutaminase. **T. Biol. Chem.** 276:12055-12059. 2001.
- [19] NONAKA, M.; MATSUURA, Y.; MOTOKI, M. Incorporation of Lysine and lysine dipeptides into alpha s1-casein by Ca (2+)-independent microbial transglutaminase. **Bio-sci. Biotech. Biochem.** 60:131-133. 1996.
- [20] PIETRASIK, Z. Binding and textural properties of beef gel processed with k-carrageenan, egg, albumin and microbial transglutaminase. **Meat. Sci.** 63(3):317-324. 2003.
- [21] RAMIREZ-SUAREZ, J.; XIONG, Y. Effect of transglutaminase induced cross-linking on gelation of myofibrillar/soy protein mixtures. **Meat. Sci.** 65(2):899-907. 2003.
- [22] RAMIREZ-SUAREZ, J.; XIONG, Y. Transglutaminase cross-linking of whey/myofibrillar protein and effects on protein gelation. **J. of Food Sci.** 67(8):2885-2891. 2002.

- [23] RAMÍREZ-SUAREZ, J.; XIONG, Y.; WANG, B. Transglutaminase cross-linking of bovine cardiac myofibrillar proteins and its effect on protein gelation. **J. of Muscle Food.** 12(2):85-96. 2001.
- [24] RUIZ-CARRASCAL, J.; REGENSTEIN, J. Emulsion stability and water uptake ability of chicken muscle protein as affected by microbial transglutaminase. **J. of Food Sci.** 67:734-739. 2002.
- [25] SEGURO, K.; KUMAZAWA, Y.; OHTSUKA, T.; TOIGUCHI, S.; MOTOKI, M. Microbial transglutaminase and glutamyl lysine crosslink effect on elastic properties of kamaboko gel. **J. of Food Sci.** 60:305-311. 1995.
- [26] TSENG, T.; LIU, D.; CHEM, M. Evaluation of transglutaminase on the quality low-salt chicken meat balls. **Meat Sci.** 55:427-431. 2000.
- [27] TAKEHANA, S.; WASHIZU, K.; ANDO, K.; KOIKEDA, S.; TAKEUCHI, K.; MATSUI, H.; MOTOKI, M.; TAKAGI, H. Chemical synthesis of the gene microbial transglutaminase from *Streptoverticillum* and its expression in *Escherichia coli*. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** 58: 88-92. 1994.
- [28] WASHIZU, K.; ANDO, K.; KOIKEDA, S.; HIROSE, S.; MATSUURA, A.; TAKAGI, H.; MOTOKI, M.; TAKEUCHI, K. Molecular cloning of the gene for microbial transglutaminase from *Streptoverticillum* and its expression in *Streptomyces Lividans*. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** 58:82-87. 1994.
- [29] ZHU, Y.; RINZEMA, A.; TRAMPER, J.; BOL, J. Microbial Transglutaminase- a review of its production and application in food processing. **Appl. Microbiol Biotechnol.** 44:277-282. 1995.