

INFLUENCIA DEL TIEMPO, TEMPERATURA Y REFINACIÓN EN LA TEXTURA DEL SURIMI DE ANCHOVETA PERUANA (*ENGRAULIS RINGENS*)

INFLUENCE OF TIME, TEMPERATURE AND REFINING OPERATIONS ON PERUVIAN ANCHOVETA (*ENGRAULIS RINGENS*) SURIMI TEXTURE

Santos Maza Ramírez, Armando Solari

Dirección de Desarrollo Industrial. Instituto Tecnológico Pesquero del Perú
Carretera a Ventanilla, km 5,200 Callao. smaza@itp.org.pe

RESUMEN

MAZA S, SOLARI A. 2006. *Influencia del tiempo, temperatura y refinación en la textura del surimi de "anchoveta peruana" (Engraulis ringens)* Bol. invest. Inst. tecnol. pesq. Perú. 7: 11-19.- Se evaluó el efecto del tiempo, de la temperatura y de las operaciones de refinación (primer refinado PR, segundo refinado SR, tercer refinado TR y mezcla de refinados MR) en las características de textura del surimi de anchoveta con adición de 0,05% transglutaminasa (TGMasa). Se determinó la influencia favorable de la reticulación en las propiedades del gel de surimi MR. En el surimi PR se obtuvo la mejor inducción a la reticulación a 25 °C por 2 horas ($p < 0.05$). El número de operaciones de refinación efectuadas en la pulpa lavada influyeron sobre las características de textura de las muestras de surimi reticuladas a 25 °C/2h. Los valores de dureza, elasticidad y fuerza de gel se presentaron en el siguiente orden: PR > MR > SR > TR, mostrando diferencia significativa entre ellos.

PALABRAS CLAVE: surimi, *Engraulis ringens*, refinación, transglutaminasa microbiana, textura.

ABSTRACT

MAZA S, SOLARI A. 2006. *Influence of time, temperature and refining operations on Peruvian anchoveta (Engraulis ringens) surimi texture.* Bol. invest. Inst. tecnol. pesq. Perú. 7: 11-19.- Influence of time, temperature and refining operations (first refining PR, second refining SR, third refining TR and mixture of refined MR) on the texture of anchoveta surimi added with 0,05% transglutaminase (TGMasa) was studied. Setting positive influence on the surimi MR was observed. The best setting in surimi PR was observed at 25 °C for 2 hours ($p < 0,05$). Refining operations number influenced the texture characteristics of the surimi samples when setting at 25 °C/2h. Hardness, elasticity and gel strength values were ordered: PR > MR > SR > TR, showing significative differences.

KEYWORDS: surimi, Peruvian anchoveta, *Engraulis ringens*, refining operations, microbial transglutaminase, texture.

INTRODUCCIÓN

El gel de surimi es una estructura de red tridimensional de proteína miofibrilar (PM), que se forma en 2 etapas de calentamiento del coloide sol (batido de

surimi con NaCl): previa reticulación seguida por cocción⁴¹. La fuerza de gel es la característica fundamental para determinar la calidad y el precio del surimi²³, sus mayores valores se obtienen sometiéndolo a un proceso de batido en

estado sol en un rango de temperatura entre 0° a 40 °C para inducirlo a la reticulación antes de la cocción^{18,1} y permitir así la formación de geles con redes tridimensionales bien tupidas.

Sin embargo, se conoce que durante la reticulación entre 45° a 60 °C ocurre la activación de proteasas de serina y cisteína que origina la ruptura de las moléculas de miosina de cadena pesada (MCP) desintegrando y ablandando la estructura del gel, fenómeno denominado en japonés como "modori"^{13,37}. Esta proteólisis ha sido detectada durante la reticulación del coloide sol de surimi de diversas especies tales como, pargo o dorado (*Nemipterus spp*), Hoki (*Macruronus novaezelandiae*), Abadejo de Alaska (*Theragra chalcogramma*) y Atlantic croaker (*Microgogonias undulatus*), especialmente cuando se excede el tiempo de reticulación¹⁸ lo que genera un efecto perjudicial en la fuerza de gel del surimi¹.

Durante el proceso de reticulación se produce una polimerización de MCP vía formación de enlaces cruzados y covalentes entre los residuos de glutamina y lisina, catalizada por la acción de la enzima endógena transglutaminasa (TG_{asa}) presente en el músculo de pescado^{21,32,19,20,41,42,25} y que actúa bajo la presencia de Ca⁺⁺.

Cuando el residuo de lisina actúa como el receptor del acyl en la proteína ligada, la reacción resulta en la formación de un isopéptido de ε- (γ-glutamil) lisina (GL) que actúa en el fortalecimiento del gel²¹. La actividad de la TG_{asa} varía entre especies de peces y los enlaces cruzados de proteínas que esta promueve y son regulados por la estructura de la actomiosina^{42,19,3}. La temperatura óptima de reticulación difiere entre diferentes especies de peces debido a la

estabilidad térmica específica propia de la miosina.

No obstante que la TG_{asa} actúa bajo la presencia de Calcio para la reticulación de las PM^{20,41,42}, el efecto de este último en la reticulación a 25° C/ 3 h. ó 5° C/20 h²⁵ de acuerdo a estudios realizados por Lee y Park, provocó un incremento de dureza pero muy baja elasticidad en los geles, sugiriendo la importancia de la variación del tiempo y temperatura para formar enlaces cruzados bajo tales condiciones^{33,44}.

Por otro lado, se ha demostrado que un derivado de la TGM_{asa} es la transglutaminasa microbiana (TGM_{asa}) que no requiere de Ca⁺⁺ para reforzar la textura de los geles de surimi^{7,15,25,30,5,35,36,39,43,45} y presenta una máxima actividad a 55 °C. Considerando que la temperatura óptima para la reticulación está en el rango de 25-30 °C para peces de agua fría, en abadejo de Alaska se ha recomendado una concentración de 0.2 % TGM_{asa} y reticulación a 25 °C por 2 h, mientras que en especies tales como Southern blue whiting *Micromesistius australis* y whiting Croaker *Menticirrhus americanus*) se ha recomendado una concentración de 0.03% TGM_{asa} a 30 °C por 1 h⁴.

En lo concerniente al aprovechamiento de especies de carne oscura tales como la anchoveta peruana, se han referido resultados desfavorables en la textura del gel de surimi que podrían acentuarse cuando se utilizan agentes blanqueadores²⁷.

A fin de contribuir con información dirigida a mejorar las características del gel de surimi de anchoveta, se plantea el presente estudio que incide en la aplicación de TG_{masa} y su influencia en la reticulación en función al tiempo y la temperatura.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 250 kg de anchoveta (*Engraulis ringens*) entera, fresca con una talla aproximada de $14,5 \pm 0,55$ cm de longitud total y $25,0 \pm 3,56$ g de peso, en estado de post rigor y con pH 6,2, capturada en Pisco, en agosto 2005 (invierno) y conservadas en agua con hielo hasta su procesamiento. Los insumos utilizados fueron: ácido acético glacial, bicarbonato de sodio, cloruro de sodio, crioprotectores (azúcar, sorbitol y polifosfato de sodio) y Transglutaminasa microbiana (TGM_{asa}), de preparación comercial proporcionada por Ajinomoto Lima, Perú. La composición de la TGM_{asa} fue: 0,2 % de Transglutaminasa dispersada en 13 % fosfato trisódico (anhidro), y en 86,8 % maltodextrina (actividad aproximadamente 15-23 unidades /g).

Preparación de surimi

La materia prima, descabezada y eviscerada, fue mantenida en agua con hielo para su desangrado. El flujo de trabajo para la obtención de surimi de anchoveta se describe en la Figura 1.

La pulpa fue sumergida en una solución de 0,2 % bicarbonato de sodio (p/v) (pulpa/solución: 1:4) en un primer lavado, agitando y manteniendo la temperatura por debajo de 10 °C, se procedió a decantarla por 10 minutos, drenando y prensando para eliminar el exceso de agua. Posteriormente la pulpa fue lavada tres veces en forma consecutiva con agua fría, adicionando 0,15 % cloruro de sodio en el último lavado, el exceso de agua fue eliminado aplicando una presión de 10 kg/cm² por 10 min con una prensa hidráulica.

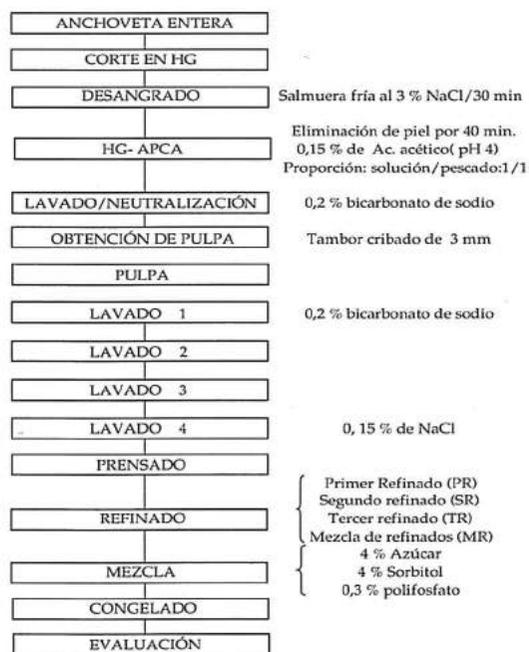


Figura 1.- Esquema de la obtención de la pulpa y surimi de anchoveta por pelado con ácido acético.

* APCA : Anchoveta pelada con ácido acético

La pulpa prensada fue refinada a través de una criba de 1,0 mm de diámetro para eliminar residuos de espinas, piel y tejido conjuntivo. Se obtuvieron sucesivamente refinados que fueron clasificados como: primer refinado (PR), segundo refinado (SR), tercer refinado (TR) y un último grupo que correspondió a la mezcla de los anteriores (MR).

Cada una de las muestras de surimi refinado fue estabilizada en forma independiente con la mezcla de los crioprotectores (azúcar 4 %, sorbitol 4% y polifosfato de sodio 0,3 %) para su conservación en congelación a -30°C y almacenada (-25°C /1 mes) hasta su evaluación.

Preparación del gel

Cada muestra fue troceada y homogeneizada con 3% NaCl y 3% almidón²⁹, agregando 0,05% TGMasa⁴ ajustando a pH 7 con la adición de bicarbonato de sodio. La muestra fue llenada en cilindros de acero inoxidable (30 mm de diámetro y 32 mm de altura) con tapas enroscables por los extremos incubando en baño maría^{29,35}. Finalmente, todas las muestras fueron enfriadas con agua por 15 minutos y almacenada a 5°C por una noche hasta su evaluación.

Pruebas realizadas:

- I. Efecto del Proceso de Reticulación del gel de surimi MR
- II. Efecto de la temperatura (25°C , 30°C , 40°C) sobre la reticulación del gel de surimi PR durante 1 hora.
- III. Efecto del tiempo (0, 1h, 2h, 4h, 6h) sobre la reticulación a 25°C del gel de surimi PR.
- IV. Efecto de la refinación del surimi sobre sus propiedades de textura. Comparación de los geles reticulados a 25°C /2h en (MR, PR, SR, TR)

Evaluación de textura

Consistió en la determinación de la fuerza de ruptura (dureza) y deformación (elasticidad) de los geles de las muestras^{29,35}. Se realizaron 10 repeticiones de las pruebas de punción por cada tratamiento y pruebas de plegado.^{28,29}

Evaluaciones químicas

Se determinó la composición química proximal (CQP) y el pH¹² de las muestras refinadas.

Análisis estadísticos

Se aplicó el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de comparaciones múltiples del programa estadístico SPSS 9,0 para Windows. Todos los análisis realizados fueron evaluados con un nivel de significancia $p < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Rendimientos a surimi

El rendimiento a surimi, después de 4 ciclos de lavado convencional de la pulpa en agua fría, fue 22% con respecto al pescado entero (Tabla 1). Este resultado es cercano al obtenido en procesos de elaboración de surimi de merluza del Pacífico (21,4 %)⁹.

Tabla 1.-Rendimiento de surimi de anchoveta (%)

Procesamiento	Rendimiento
Pescado entero	100
Descabezado/ eviscerado (HG)	60
HG pelado	46
Pulpa	339
surimi*	22

* Mezcla refinada (MR)

Composición proximal del surimi, según refinados

En la Tabla 2 se observa que los valores de proteína, humedad y pH no muestran mayores diferencias. El surimi MR fue conformado por 75 % de surimi PR (con mayor concentración de músculo claro y oscuro), 15 % surimi (SR) y 10% surimi (TR), proporciones que guardaron relación con la mayor cantidad de músculo oscuro y tejidos conectivos.

Efecto del proceso de reticulación del gel de surimi MR

Los valores de dureza y elasticidad en las muestras sometidas a reticulación a 30°C por 1 hora fueron 168 g y 9,9 mm respectivamente, en contraste con los obtenidos en las muestras sin reticulación que alcanzaron valores inferiores a 60 g y 8,2 mm. Estos resultados confirmaron que la reticulación mejora las propiedades de dureza y elasticidad de los geles de surimi MR, en concordancia con lo descrito por KUMASAWA, NOWSAD, y KISHI^{19,21,32}.

Tabla 2.- Composición química proximal (%) y pH de surimi refinado de anchoveta

Clase de surimi refinado	Humedad	Grasa	Proteína	Cenizas	pH
Primer refinado (PR)	77.3	0.6	13.8	0.7	6.95
Segundo refinado (SR)	76.9	0.8	14.5	0.7	6.74
Tercer refinado (TR)	76.0	0.1	14.0	0.8	6.47
Mezcla refinada (MR)	75.1	0.5	14.1	0.7	6.90

Efecto de la temperatura (25 °C, 30 °C y 40 °C) sobre la reticulación del gel de surimi PR durante 1 hora.

Los valores de dureza y la elasticidad del gel reticulado por 1 h (Figura 2) disminuyeron significativamente ($p < 0,05$) con el aumento de la temperatura de reticulación (especialmente a 40 °C). La mayor elasticidad y consecuente mejor inducción a la reticulación se produjo a 25° C de manera significativa ($p < 0,05$) con relación a los tratamientos a 30 y 40 °C.

En la prueba de plegado el gel reticulado a 25 °C resultó ser de grado AA, lo que sugiere una relación con la estabilidad térmica propia de la especie y su relación con la actividad de la enzima endógena sobre la polimerización de MCP, concordando a su vez con la actividad total de la TG_{asa}.

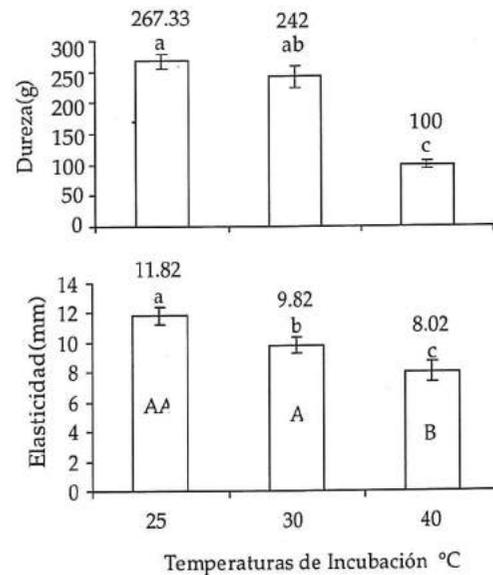


Figura 2.- Comparación de la dureza y la elasticidad de los geles reticulados a 25, 30 y 40 °C por 1 hora en surimi del primer refinado (PR).

Letras mayúsculas representan el grado de plegado; letras diferentes (minúscula) indican diferencia significativa $p < 0,05$ y letras iguales diferencia no significativa $p > 0,05$.

Al respecto se dispone de información sobre diversas especies⁴⁴ por ejemplo a 25 °C para White croaker (*Menticirrhus americanus*) > Red sea bream (*Pagrus major*) ≥ Carp (*Cyprinus Carpio*) > Itoyori (*Nemipterus spp*); a 30 °C Carp (*Cyprinus Carpio*) > White Croaker (*Menticirrhus americanus*) > Itoyori (*Nemipterus spp*) ≥ Red sea bream (*Pagrus major*); a 40 °C Carp (*Cyprinus Carpio*) > Itoyori (*Nemipterus spp*) > Red sea bream (*Pagrus major*) ≥ White Croaker (*Menticirrhus americanus*); y a 50 °C Carp (*Cyprinus Carpio*) > Itoyori (*Nemipterus spp*) > Red sea bream (*Pagrus major*) > White Croaker (*Menticirrhus americanus*).

Los valores de menor dureza y elasticidad ($p < 0,05$) observados podrían ser explicados por la elevada actividad de las proteasas residuales, a temperaturas entre 30 y 40 °C y su efecto en el ablandamiento del gel, lo que concuerda con el fenómeno de "modori" en el rango de temperatura de 45 y 60 °C, durante la elaboración de productos a partir de surimi¹.

Efecto del tiempo en la reticulación del gel de surimi PR

En la Figura 3 se muestra el incremento del valor de dureza de los geles del surimi PR incubados a 25 °C en función del tiempo ($p < 0,05$). Lo observado sugiere la formación de redes tupidas con una estructura tridimensional, semejante a lo referido en la formación de gel de miosina del músculo aductor de concha de abanico¹⁷, que puede ser inducido fácilmente por la aplicación de una fuerza de compresión externa durante la reacción de entrecruzamiento¹⁷. La mayor elasticidad fue observada a las 2 h de reticulación, valor 1,6 veces mayor que la muestra control. Al respecto, algunos autores mencionan que la elasticidad decae ligeramente luego de 6 horas de reticulación en la gelificación del surimi

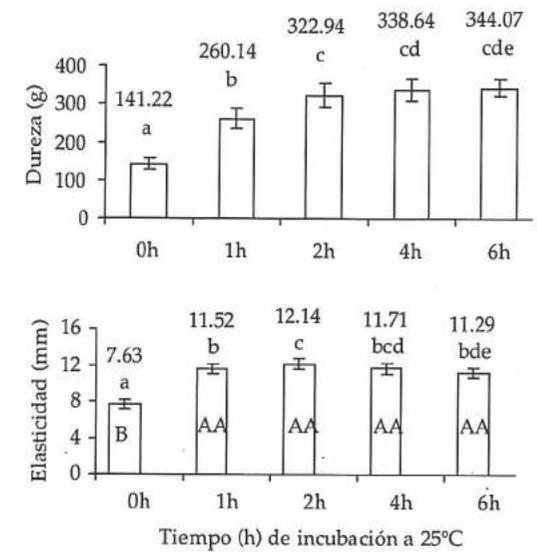


Figura 3.- Comparación de la dureza y la elasticidad de los geles reticulados PR a 25 °C en función del tiempo de incubación.

Letras mayúsculas representa el grado de plegado; letras diferentes (minúscula) indican diferencia significativa $p < 0.05$ y letras iguales diferencia no significativa $p > 0.05$.

de Pargo o dorado (*Nemipterus spp.*)⁴⁷. En todas las muestras reticuladas los valores de la prueba de plegado alcanzaron el mejor grado (AA), a diferencia de las muestras no reticuladas (0 h) que tuvieron un grado de plegado B con menor dureza y elasticidad.

En base a estos resultados se concluye que la reticulación adecuada se obtuvo a 25 °C por 2 horas ($p > 0,05$).

Efecto de la refinación de surimi sobre sus propiedades de textura.

El número de operaciones de refinación efectuadas en la pulpa lavada influyeron sobre las características de textura de las muestras de surimi reticuladas a 25 °C/2h. Los valores de dureza, elasticidad y fuerza gel se presentaron en el siguiente orden: PR > MR > SR > TR, mostrando diferencia significativa entre ellos. (Figura 4)

REFERENCIAS

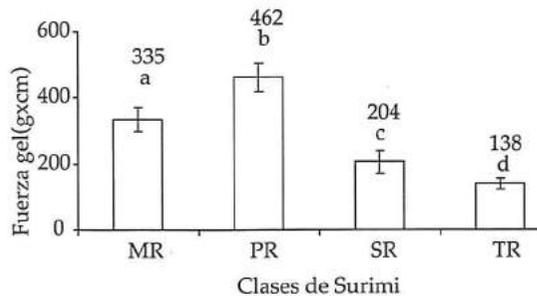


Figura 4.- Comparación de la dureza y la elasticidad de los geles reticulados a 25° C/2h de surimi: PR, primer refinado; SR, segundo refinado; TR, tercer refinado y MR, mezcla de refinados.

Letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa $p < 0.05$ y letras iguales diferencia no significativa $p > 0.05$.

De estos resultados se puede inferir que los mejores resultados obtenidos en surimi PR estuvieron relacionados con la mayor concentración de PM contenida en el músculo claro, en comparación con el surimi de clase SR y TR, los cuales contienen mayor concentración de proteínas sarcoplasmáticas y de estroma. Así mismo, en el surimi MR se observó que la dureza, elasticidad y fuerza de gel alcanzaron mejores resultados que los respectivos en las muestras de surimi SR y TR.

Por consiguiente, la condición óptima de reticulación del gel PR fue obtenida a 25 °C por 2 horas, alcanzando valores de fuerza de gel de 462 g cm, elasticidad de 12,3 mm y una resistencia de plegado en 4 partes (grado AA), características que se encuentran dentro de los rangos comerciales para este tipo de productos. Estos resultados obtenidos en las cuatro clases de refinado surimi son muy importantes para la formulación de productos derivados de surimi de anchoveta.

1. An H, Peters M, Seymour T. 1996. Roles of endogenous enzymes in surimi gelation. *Trends in Food Science and technology*, 7: 321-326.
2. Ando M, Tsukamasa, Makinodan Y. 1998. Identification de 170k component which appears in the setting process of surimi gel. *Fish. Sci.* 64,497-498.
3. Araki H & Seki N. 1993. Comparison of reactivity of transglutaminase to various fish actomyosins. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* Nippon Suisan Gakkaishi 59(4): 711-716.
4. Asagami T, Ogiwara M, Wakameda A & Noguchi S. 1995. Effect of microbial transglutaminase on the quality of frozen surimi made from various kinds of fish species. *Fish. Sci.* 61(2):267-272.
5. Ashie I, Lanier T. 2000. Transglutaminase in seafood processing. In: *Seafood enzymes: Utilization and influence on postharvest seafood quality*. Haard N F, Simpson BK, (editors). New York, Basel: Marcel Dekker. P 147-190.
6. Benjakul S, Visessanguan W, Chantarasuwan C. 2004. Effect of high temperature setting on gelling characteristic of surimi from some tropical fishes. *International J. Food Sci. Tech.* 39: 671-680.
7. Bergamini C, Dean M, Matteucci G, Hanau S, Tanfani F, Ferrari C, Boggian M, Scatturin A. 1999. Conformational stability of human erythrocyte transglutaminase patterns of thermal unfolding at acid and alkaline pH. *Eur. J. Biochem.* 266 (2): 575-582.
8. Cao M, Shao W, Li Y, Hara K, Wag X and Su W. 2004. Identification of a Miofibril-bound serine proteinase in the skeletal muscle of silver carp. *J. Food Biochem.* 28(2004) 373-386.
9. Chang M, Lampila L, Crawford D. 1990. Yield and composition of surimi from Pacific whiting (*Merluccius productus*) and the effects of various protein additives on gel strength. *J. Food Sci.* 55, 83-86.
10. Chen H, Chiu E, Huang J. 1987. Color and Gel-forming Properties of Horse Mackerel as Related to Washing Conditions. *J. Food Sci.* 62, 985-991.

11. Choi Y, Park J. 2002. Acid-Aided Protein Recovery from Enzyme-rich Pacific Whiting. *J. Food Sci.* 67 (8): 2962- 2967.
12. FAO.1986. Food and Nutrition Paper. Tomo 14/7. Food Analysis: General Techniques, Additives, Contaminants and Composition. 238 pp.
13. Hamann D, Amato P, Wu M, Foegeding E. 1990. Inhibition of modori (gel weakening) in surimi by plasma hydrolysate and egg white. *J. Food Sci.* 55:665-669.
14. Hsu C, Chiang B. 2002. Effect of water, oil, starch, calcium carbonate and titanium dioxide on the colour and texture of threadfin and hairtail surimi gels. *International J. Food Sci. Tech.* 37:387-393.
15. Hsieh J, Tsai G, Jiang S. 2002. Microbial transglutaminase and recombinant cystatin effects on improving the quality of mackerel surimi. *J. Food Sci.* 67(8): 3120-3125.
16. Jiang S, Hsieh J, Ho M, Chung Y. 2000. Combination effects of microbial transglutaminase, reducing agent and protease inhibitor on the quality of hairtail surimi. *J Food Sci* 65:241-245.
17. Kakugo A, Sugimoto S, Shikinaka K, Ping G and Osada Y. 2005. Characteristics of chemically cross-linked myosin gels. *J. Biomater. Sci. Polymer Edn*, vol. 16 No 2, pp.203-218.
18. Kamath G, Lanier T, Foegeding E, Hamman D. 1992. Nondisulfide covalent cross-linking of myosin heavy chain in "setting" of Alaska pollock and Atlantic croaker surimi. *J. Food Biochem.* 16: 151-172.
19. Kishi B, Nozawa H, Seki N. 1991. Reactivity of muscle transglutaminase on carp myofibrillar and myosin B. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57, 1203-1210.
20. Kumazawa Y, Seguro K, Takamura M, Motoki M. 1993. Formation of glutamyl lysine cross-link in cured horse mackerel meat induced by drying. *J. Food Sci.* 58 (5): 1062-1064, 1083.
21. Kumazawa Y, Numazawa T, Seguro K, Motoki M. 1995. Suppression and surimi gel setting by transglutaminase inhibitors. *J. Food Sci.* 60, 715-718.
22. Laemmli U. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-685.
23. Lanier T. 1992. Measurement of surimi composition and functional properties. In: *Surimi Technology* (edited by T.C. Lanier, & C.M. Lee), pp. 123-166. New York: Marcel Dekker, Inc.
24. Lee H, Lanier T, Hamann D, Knopp J. 1997. Transglutaminase effects on low temperature gelation of fish protein sols. *J. Food Sci.* 62(1): 20-24.
25. Lee N, Park J. 1998. Calcium compounds to improve gel functionality of Pacific whiting and Alaska pollack surimi. *J. Food Sci.* 63(6): 969-974.
26. Lowry O, Rosebrough N, Far A, Randall R. 1951. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 256-275.
27. Maza S, Salas A, Llave Y. 2003. Mejoramiento de blancura de la pulpa y surimi de "anchoveta" *Engraulis ringens*. (propuesta de publicación). *Bol. Inv. Ins. Tec. Pes. Perú*, Vol.7.
28. Maza S, Rosales M, Castro R. 2003. Efecto de un proceso de lixiviación ácida salina sobre la calidad del surimi de *Dosidicus gigas* "Pota". *Bol. Inv. Ins. Tec. Pes. Perú*, Vol.5; 81-88.
29. Maza S, Rosales M. 2004. Procesamiento de surimi de "Pota" *Dosidicus gigas* por solubilización ácida - alcalina y precipitación isoeléctrica. *Bol. Inv. Ins. Tec. Pes. Perú*, 6: 1-7.
30. Motoki M, Seguro K. 1998. Transglutaminase and its use for food processing. *Trends Food Sci. Technol.* 9: 204-210.
31. Morrissey M, Wu J, Lin D, An H. 1993. Protease inhibitor effects on torsion measurements and autolysis of Pacific whiting surimi. *J. Food Sci.* 58: 1054-1059.
32. Newsad A, Katoh E, Kanoh S, Niwa E. 1996. Contribution of transglutaminase to the setting of pastes at various temperatures. *Fish. Sci.* 62(1): 94-97.
33. Nozawa H, Mamegoshi S, Seki N. 1997. Partial purification and characterization of six transglutaminases from ordinary muscles of various fishes and marine invertebrates. *Comp. Biochem. Physiol.* Vol 118B, No 2, pp. 313-317. Copyright 1997 Elsevier Science Inc.

34. Okhubo M, Osatomi K, Hara K, Nozaki Y, Aranishi F, Ishiara T. 2004. Purification and characterization of myofibril-bound serine protease from crucian carp *Carassius gibelio langsdorfi* muscle. *Fish. Sci.* 70: 1183-1185.
35. Pérez Mateos M, Amato P, Lanier T. 2004. Gelling Properties of Atlantic Croaker Surimi Processed by Acid or Alkaline Solubilization. *J. Food Sci.* 69 (4): 328-333.
36. Ramírez J, Uresti R, Téllez S, Vásquez M. 2002. Using salt and microbial transglutaminase as binding agents in restructured fish products resembling hams. *J. Food Sci.* 58 (5): 1062-1064,1083.
37. Ramos-Martínez E, Morales O, Ramírez J, Garcia-Carreño F, Montejano-Gaitán J. 1999. Determination of the modori phenomenon and its origin in surimi of five fish species from the Gulf of Mexico. *Food Sci. Tech. Int.* 5: 397-406.
38. Sakamoto H, Kumazawa Y, Toiguchi S, Seguro K, Soeda T, Motoki M. 1995. Gel strength enhancement by addition of microbial transglutaminase during onshore surimi manufacture. *J. Food Sci.* 60(2):300-304.
39. Seguro K, Kumazawa Y, Ohtsuka T, Toiguchi S, Motoki M. 1995. Microbial Transglutaminase and ϵ - (γ -glutamyl) lysine crosslink effects on elastic properties of kamaboko gels. *J. Food Sci.* 60(2):305-311.
40. Seki N, Nakahara C, Takeda H, Maruyama N, Nozawa H. 1998. Dimerization site of carp myosin heavy chains by the endogenous transglutaminase. *Fish. Sci.* 64(6): 3143-19.
41. Seki N, Nozawa H and Shaowei N. 1998. Effect of transglutaminase on the gelation of heat-denatured surimi. *Fish. Sci.* 64(6): 959-963.
42. Seki N, Uno H, Lee N, Kimura I, Toyoda K, Fujita T, Arai K. 1990. Transglutaminase activity in Abadejo de Alaska muscle and surimi and its reaction with myosin B. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56 (1):125-132.
43. Tsao C, Kao Y, Hsieh J, Jiang S. 2002. Use of soy protein and microbial transglutaminase as a binder in low-sodium restructured meats. *J. Food Sci.* 67(9):3502-3506.
44. Tsukamasa Y, Miyake Y, Ando M, Makinodan Y. 2002. Total activity of transglutaminase at various temperatures in several fish meats. *Fish. Sci.* 68: 929-933.
45. Yokoyama K, Ohtsuka T, Kuraishi C, Ono K, Kita Y, Arakawa T, Ejima D.. 2003. Gelation of Food Protein Induced by Recombinant Microbial Transglutaminase. *J. Food Sci.* 68(1): 48-51.
46. Yongsawatdigul J, Park J, Virulhakul P, Viratchakul S. 2000. Proteolytic degradation of tropical tilapia surimi. *J. Food. Sci.* 65:129-133.
47. Yongsawatdigul J, Worratao A, Park J. 2002. Effect of endogenous transglutaminase on threadfin bream surimi gelation. *J. Food Sci.* 67(9): 3258-3263.