

INVERTASA INMOVILIZADA. APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA ALIMENTICIA
IMMOBILIZED INVERTASE. APPLICATION IN THE FOOD INDUSTRY

Dr. C. Leissy Gómez Brizuela¹ (0000-0003-4832-7160), Universidad de Matanzas,

leissygomez72@gmail.com

Dianelys Marín Rodríguez² (0000-0003-1300-2390), Instituto de Farmacia y Alimentos. IFAL

Dr. C. Héctor Luis Ramírez Pérez¹ (0000-0003-1383-5149)

Dr. C. Jesús Luis Orozco¹ (0000-0001-6484-0672)

Resumen

Las enzimas son catalizadores biológicos empleados en procesos tecnológicos, entre los que se encuentran los relacionados con la industria alimenticia. Por esta razón, se realizó una búsqueda bibliográfica enfatizando en el uso de estos biocatalizadores en la obtención de jarabes de glucosa y fructosa, para los que se emplea específicamente la enzima invertasa. Se exponen los principales beneficios y ventajas que aporta la inmovilización en el procesamiento de productos industriales, así como los principales métodos y soportes que se han desarrollado para este fin. Se plantean las características de la enzima libre y sus aplicaciones industriales fundamentales. Los métodos y soportes más utilizados para su inmovilización y las características que adquiere una vez le son aplicados. Se conoció además, la tecnología de obtención de los jarabes invertidos en Cuba y su importancia y aplicabilidad en la industria alimentaria.

Palabras claves: *enzima; inmovilización; invertasa; jarabes invertidos.*

Abstract

Enzymes are Biological catalysts used in technological processes, among which are those related to the Food industry. For This reason, the bibliographic search was carried out emphasizing the use of these catalysts in obtaining glucose and fructose syrups, for which the invertase enzyme is specifically used. The main benefits and advantages of immobilization in the processing of industrial products are exposed, as well as the main Methods and supports that have been developed for This purpose. The characteristics of the free enzyme and its fundamental industrial Applications are discussed. The most used Methods and supports for its immobilization and the characteristics that it acquires once they are applied to it. The Technology for obtaining inverted syrups in Cuba and its importance and applicability in the Food industry was also known.

Key Words: *enzyme; immobilization; invertase; inverted syrups*

La buena percepción social de aditivos alimentarios de origen natural ha potenciado el uso de las enzimas a nivel mundial. Se le atribuyen beneficios como: incremento de la calidad de los alimentos, menor cantidad de calorías y anulación de ingredientes alergénicos (Sanromán, y Deive, 2017). Los avances recientes en la biotecnología ofrecen nuevas promesas para adaptar enzimas a funciones específicas en aplicaciones particulares y su producción en cantidades suficientes para usos industriales. (Yong y de Man, 2018).

La diversidad, especificidad y capacidad catalítica de estas biomoléculas en ambientes diversos, las han convertido en una herramienta bioquímica importante en el procesamiento, conservación y desarrollo de los alimentos (Peña y Quirasco, 2014). A pesar de esas excelentes propiedades catalíticas y sus enormes y variadas posibilidades de aplicación, la utilización de las enzimas en procesos industriales se ha visto limitada. Son solubles, difíciles de reutilizar, generalmente muy inestables ante condiciones desnaturalizantes y sufren inhibiciones por sustratos y productos (Chitunda, 2002). Esto ha traído consigo la búsqueda de estrategias que permitan disminuir estos inconvenientes, entre ellas la inmovilización. La enzima inmovilizada mejora su eficiencia funcional, permite su reuso en un periodo extendido de tiempo, posibilita una mejor separación del complejo catalizador-producto y por tanto refuerza la economía del proceso biocatalítico (Guzik *et al.*, 2014).

La enzima invertasa o β -fructofuranosidasa es la encargada de catalizar la reacción de hidrólisis de sacarosa a glucosa y fructosa. Se emplea en diversas aplicaciones industriales, entre las que se encuentra la producción de azúcares invertidos en la industria alimentaria. Los jarabes invertidos son aproximadamente un 20 % más dulce que la sacarosa y puede mezclarse fácilmente con otros productos industriales (Mohd Zain *et al*, 2010).

Las enzimas, por ser proteínas, están involucradas en todos los procesos esenciales para la vida: replicación del ADN, síntesis de proteínas, metabolismo, la regulación celular y la traducción de señales (Chaudhary *et al.*, 2015). Catalizan reacciones, pueden distinguir moléculas específicas, permitiendo reacciones y productos específicos. Estas propiedades (catálisis y especificidad sustrato-producto) hace que sean esenciales en el metabolismo de los organismos vivos (Tanaka, 2018). Funcionan a temperaturas y presiones moderadas, ambientales en muchos casos, reduciendo así el impacto económico asociado a la necesidad de energía para cambiar dichas variables, y el impacto ambiental que genera el combustible utilizado para generar dicha energía, lo que conduce a una producción más ecológica. (Bustos y Pacheco, 2014).

El estudio de estos catalizadores ha consolidado su aplicación para fines industriales y comerciales, por lo que se consideran ingredientes o aditivos alimentarios naturales (Moreira *et al.*, 2018). El éxito del siglo xx en el aislamiento de enzimas de células vivas allanó el camino para su producción comercial y, por lo tanto, una mayor aplicación en la industria alimentaria. Sus funciones y habilidades han hecho de ellas ingredientes indispensables en la fabricación de alimentos y bebidas (Okafor *et al.*, 2019).

Las enzimas están presentes además en muchos alimentos de forma intrínseca, es decir, constituyen una parte de su composición, pero en otras ocasiones se añaden en su preparación y pueden tener una acción tecnológica en el producto que se está fabricando. Generalmente para su obtención se utiliza la ingeniería genética (Aguirre, 2019).

Sin embargo, la utilización de las enzimas como catalizadores en procesos industriales, a gran escala, se ha visto limitada por los altos costos de producción y su baja estabilidad al almacenaje. Durante su uso, la estabilidad de las mismas decrece debido a cambios en el pH, temperatura, cambios conformacionales, como resultado de la fricción, la presión osmótica impuesta por el ambiente que la rodea y el efecto acumulativo de todos estos factores como función del tiempo de

duración de utilización de las mismas. Además, al ser solubles, su recuperación de la mezcla de sustrato y producto, para su reúso, no es económicamente viable, por lo que los procesos donde ellas intervienen son costosos (Kotwal y Shankar, 2009; Tran y Balkus, 2011).

La inmovilización de enzimas se define como un proceso en el cual se confina o localiza a la enzima en una región definida del espacio, para dar lugar a formas insolubles, que retienen su actividad catalítica y que pueden ser reutilizadas (Arroyo, 1998).

Las enzimas inmovilizadas pueden retener su actividad por mayor tiempo que aquellas en solución, lo que las hace atractivas si se quiere procesar continuamente una gran cantidad de sustrato o si las enzimas involucradas son costosas. La capacidad para fijar una enzima en espacios predeterminados y bien definidos proporciona oportunidades para aplicaciones originales y una serie de ventajas en comparación con su contraparte soluble: Posibilita el uso múltiple o repetitivo de una carga de enzimas, disponibilidad de frenar la reacción rápidamente por eliminación de la enzima de la solución de reacción, en muchos casos la enzima es estabilizada por enlaces covalentes, la solución procesada no queda contaminada con las enzimas y larga vida media de la enzima con velocidades de decaimiento predecibles (Maroto y Celso, 2000; Gómez, 2015). No obstante, a las ventajas que ofrece la utilización de enzimas inmovilizadas, estos procesos presentan algunos inconvenientes, entre los que se señalan: la alteración de la conformación de la enzima respecto a su estado nativo, la gran heterogeneidad del sistema enzima-soporte, la pérdida parcial de actividad durante la inmovilización y el biocatalizador es más caro que la enzima nativa (Arroyo, 1998; Bayramoglu *et al.*, 2003).

Existen numerosos métodos de inmovilización de enzimas en una variedad de soportes diferentes que se han desarrollado durante los últimos 100 años. La inmovilización enzimática, implica la inclusión de enzimas en una o varias matrices o la unión a su superficie. Es una técnica simple y permite un cómodo manejo de la preparación. Tiene dos beneficios principales que no ofrece ninguna otra técnica hasta la fecha: una separación más fácil de la enzima del producto, haciéndolo compatible para una amplia gama de aplicaciones; y minimiza el procesamiento del producto posterior, haciendo que el proceso sea rentable, confiable y eficiente (Dwevedi, 2016).

Las características del soporte, los grupos reactivos y condiciones de inmovilización deben ser seleccionados cuidadosamente, para poder involucrar el número máximo de grupos de la enzima en

la inmovilización. El soporte debe tener una superficie interna grande que tenga buena congruencia geométrica con la superficie de la enzima, debe presentar una alta densidad superficial de los grupos reactivos. Los grupos reactivos involucrados en la inmovilización deben ser lo suficientemente estables para permitir largos periodos de reacción enzima-soporte (Palomo *et al.*, 2007).

Las propiedades de los materiales del soporte y los procesos de inmovilización son aspectos muy importantes a tener en cuenta en el proceso de inmovilización. La superficie del material es modificada para reducir las interacciones no bioespecíficas entre la enzima y el soporte; esto promueve la actividad de la enzima, al generarse un microambiente similar al que debe tener la proteína en su estado libre natural. Los métodos de inmovilización se suelen clasificar en dos grandes categorías: Retención física (adsorción, atrapamiento y microencapsulación) y Unión química (unión covalente y entrecruzamiento), como se muestra en el siguiente esquema. (Romero *et al.*, 2014).



Fuente: Sneha *et al.*, (2019).

Los más comunes son la adsorción, atrapamiento, y la unión covalente a un soporte. Los métodos de inmovilización química son los más utilizados, ya que permiten el uso de gran variedad de soportes, tanto orgánicos como inorgánicos (Romero *et al.*, 2014).

Uno de los métodos más utilizados en la inmovilización de enzimas son los basados en la formación de enlaces covalentes, ya que tienen la ventaja de que la enzima no se libera en la solución al utilizarla, debido a la naturaleza estable de los enlaces formados entre la enzima y la matriz (Brena y Batista-Viera, 2006).

La adsorción de enzimas resulta de interacciones hidrófobas y enlaces salinos donde el soporte se baña en enzima para la adsorción física o la enzima se seca sobre las superficies de los electrodos. Los soportes por adsorción física son ecológicos de origen biológico y no solo constatan de una preparación sencilla, sino que también reducen los costos de producción, aunque la unión al soporte es débil (Datta *et al.*, 2012).

Mediante el método de microencapsulación las enzimas son inmovilizadas adjuntándolas dentro de membranas esféricas semipermeables de polímeros con la porosidad controlada. Las enzimas inmovilizadas por encapsulación tienen las áreas de la superficie extremadamente grandes, debido a que tienen la eficiencia catalítica más alta. Sin embargo, se ha reportado la inactivación ocasional de la enzima, a pesar de la presencia de elevadas concentraciones de la misma (Dwevedi, 2016). El método de atrapamiento protege a la enzima previniendo el contacto directo con el ambiente, lo que favorece la disminución de los efectos de las burbujas de gas y con solventes hidrofóbicos y transparentes mecánicos, pero tiene el inconveniente de transferencia de masa limitada y baja carga de la enzima (Brady y Jordaan, 2009).

El entrecruzamiento se basa en la formación de enlaces covalentes entre enzimas o moléculas activas, mediante reactivos bi o multifuncionales. Las principales desventajas son la fragilidad de las partículas producidas en algunos casos y las limitaciones de difusión, los biocatalizadores inmovilizados de esta manera experimentan con frecuencia cambios en la conformación con una pérdida resultante de actividad (Costa *et al.*, 2005).

La combinación racional de métodos a menudo puede solucionar problemas que no pueden resolverse con un método individual, facilita el diseño de enzimas inmovilizadas robustas que pueden adaptarse a diversas aplicaciones. En consecuencia, el uso de enzimas inmovilizadas se ha

vuelto muy común en muchos campos, en aplicaciones químicas, medicas, farmacéuticas y analíticas (Cao, 2005).

Existen soportes más avanzados y modernos que están basados la mayoría, en la utilización de nanoestructuras, ya que son el mayor campo de investigación de los materiales para la inmovilización de partículas (Dwevedi y Kayasth, 2011).

Por todas las ventajas que ofrece la inmovilización enzimática, es indiscutible que la utilización de enzimas libres en procesos productivos sea remplazada por sistemas inmovilizados, por eso su utilización en el procesamiento de alimentos.

La invertasa (β -D-fructofuranosido fructohidrolasa, EC 3.2.1.26) es una enzima que hidroliza la sacarosa mediante la hidrólisis de los residuos terminales de β -fructofuranosidos no reductores en β -fructofuranosidos. Una mezcla equimolar de glucosa y fructosa, conocida como azúcar invertido, se genera cuando los enlaces glicosídicos de la sacarosa se escinden en la reacción de hidrólisis (Akardere *et al.*, 2010).

Se han llevado a cabo extensos estudios con invertasa, que incluyen sus propiedades bioquímicas, producción, técnicas de purificación e inmovilización. Esto ha traído consigo su reconocimiento en el mercado azucarero y en industrias como la de bebidas, panadera y de confituras (Cheng *et al.* 2019).

Entre sus propiedades más significativas se señalan: su actividad óptima generalmente se encuentra en un pH entre 4,6 y 5,0 y una temperatura entre 35°C y 50°C, con concentración de sustrato en media de 120 mM. Por encima de esta concentración la solución de sacarosa aumenta su viscosidad, reduciendo la actividad enzimática en presencia de agua (Ferreira *et al.*, 2018).

La actividad de la invertasa, al igual que todas las enzimas puede ser afectada por diferentes condiciones del medio de trabajo y diversos compuestos, por ejemplo, el pH por debajo de 4 o por encima de 5,6 ocasiona cambios en el punto isoeléctrico de la enzima e inhibe su actividad catalítica. Las temperaturas por debajo de los 25 °C inactivan a la enzima reversiblemente y por encima de los 55 °C ocasionan la desnaturalización de la misma y su inhibición se vuelve irreversible (Rodríguez, 2016).

Esta enzima es de gran importancia en la industria alimentaria particularmente en confitería como agente catalítico para obtener un edulcorante artificial, además de hidrolizar sacarosa la enzima

también puede tener actividad fructosiltransferasa para la síntesis de fructooligosacáridos de cadena corta (Aguilar y Herrera, 2011). Se emplea además para la producción de jarabe de azúcar no cristizable a partir de sacarosa, la mezcla de glucosa y fructosa es más dulce que la sacarosa y tiene menor propensión a cristalizar, lo que la hace útil en procesos de preparación de alimentos horneados y producción de confitería y bebidas. También se utiliza como agente plastificante en la medicina cosmética y en la industria del papel (Peng-Chao *et al.*, 2017). Se utiliza extensivamente en procesos industriales como: producción del etanol, drogas y electrodos bioelectrónicos (Waifalkar *et al.*, 2016).

La utilización de la enzima en forma inmovilizada posibilita la reutilización del biocatalizador heterogéneo, reduce los costos del proceso, facilita un mejor control y un régimen de operación continuo (Márquez *et al.*, 2008). Por estas características, la invertasa ha sido objeto de estudio en su forma inmovilizada mediante diferentes métodos y soportes.

La enzima ha sido inmovilizada en diferentes soportes utilizando métodos como el entrapamiento (Bagal y Karve, 2006, Yildiz *et al.*, 2013), la microencapsulación y la inmovilización covalente (Akgȯl *et al.*, 2001; Amaya-Delgado *et al.*, 2006; Cadena *et al.*, 2010; Albertini *et al.*, 2013), el entrecruzamiento (Emregul *et al.*, 2006; Hamerska-Dudra *et al.*, 2006), la adsorción (Gopinath y Sugunan, 2007) y la formación de complejos polielectrolitos (Gómez, 2016).

La invertasa se ha inmovilizado sobre varios soportes hidrófilos e inorgánicos y resinas de poliestireno. En comparación con las matrices hidrófilas, las matrices inorgánicas y basadas en poliestireno ofrecen una resistencia similar a la compresión mecánica y al ataque microbiano, características importantes debido a la aplicación industrial de la invertasa inmovilizada (Kotwal y Shankar, 2009).

Esta enzima ha sido inmovilizada además en nanopartículas magnéticas de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ recubiertas de quitosano, por la ventaja de estos compuestos de una alta relación superficie/volumen (Cabrera, 2017). Se ha inmovilizado sobre varios soportes insolubles en agua, covalentemente en varias matrices poliméricas (Cadena *et al.*, 2009). Existen varios informes sobre la inmovilización de invertasas en soportes sólidos, como es el caso del atrapamiento de la enzima dentro de partículas de sílice sintetizadas, cuando las especies de ácido silícico se condensan alrededor de la misma (Rai *et al.*, 2012), al igual que el encapsulamiento en microperlas de quitosano inmovilizadas

covalentemente a través de una fracción de carbohidrato o modificada con quitosano e inmovilizada en soporte de quitina recubierto de alginato de sodio (Valerio, 2012).

Yamasaki *et al.*, (1984) desarrollaron un método para la inmovilización de invertasa en capas de franela de algodón con polietilenamina (PEI). La enzima después de la absorción en PEI fue fijada a la tela con glutaraldehído. La retención de la actividad enzimática aumentó con el incremento del tiempo de incubación y la actividad específica máxima fue determinada después de 16 horas de incubación.

Albertini *et al.*, (2012; 2013) inmovilizaron la invertasa en un soporte de vidrio-cerámica, estudiaron las propiedades de la forma inmovilizada en comparación con la enzima libre y determinaron que transcurrido el proceso de inmovilización el pH óptimo no variaba y su temperatura óptima se incrementaba en 5 °C. Al evaluar la estabilidad operacional encontraron que después de diez ciclos de reuso a 60 °C la invertasa inmovilizada solo retenía el 30% de su actividad inicial.

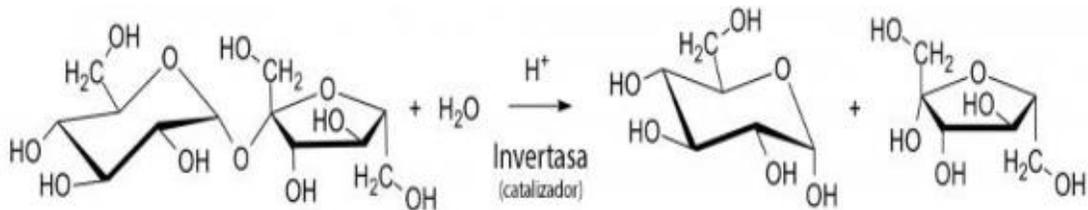
De las técnicas de inmovilización utilizadas la adsorción se presenta como el candidato más atractivo para la inmovilización de esta enzima, al compararlo con el resto de los métodos utilizados, teniendo en cuenta que el proceso en general presenta ventajas como su bajo costo, sencillez, la reutilización del soporte y la retención de la actividad catalítica (Arika y Bayramoglu, 2006).

El empleo de invertasa inmovilizada para la hidrólisis continua de sacarosa puede ser favorable porque los cambios en el pH provocados como resultado de la inmovilización, pueden aprovecharse para prevenir la formación de oligosacáridos por la actividad transferasa asociada con la enzima soluble. En vista del alto potencial comercial de la enzima, se han realizado varios intentos para obtener una preparación inmovilizada estable y altamente activa, conveniente para su aplicación comercial. (EcheMendía, 2010).

La invertasa comercial debe mostrar un alto grado de actividad hidrolítica, además de que su aplicación biotecnológica requiere una etapa adicional de inmovilización, sobre un soporte adecuado (Shaker, 2015). Se informa a menudo como un método para ahorrar costos operativos en la producción de azúcar invertido (Rebros, 2007).

La industria del azúcar es hoy el consumidor más grande de enzimas industriales. En particular son usadas para la producción de glucosa y azúcar invertido de sacarosa, así como para la isomerización de glucosa a fructosa. La sacarosa es hidrolizada a fructosa y glucosa por la enzima

invertasa. La reacción química asociada a este proceso se modela según se muestra a continuación. (Paret, 2019).



Los siropes de azúcar invertidos tienen alta demanda en la industria alimentaria a nivel mundial por su alto poder edulcorante. A nivel comercial la producción de estos siropes se realiza a partir de la hidrólisis enzimática del azúcar de caña o remolacha a partir de la invertasa de la *Saccharomyces cerevisiae*, ya sea en forma de crudo enzimático, enzima inmovilizada o célula inmovilizada (Menéndez *et al.*, 2014).

Los jarabes invertidos son aproximadamente un 20 % más dulces que la sacarosa y se pueden mezclar fácilmente con productos industriales, por lo tanto, se puede lograr el mismo grado de dulzura con menores cantidades de azúcar agregada. Además, este producto de reacción es un líquido transparente, no cristaliza, absorbe la humedad de la atmósfera circundante y no tiene un sabor particular (Oliveira *et al.*, 2020). Debido a estas propiedades, el azúcar invertido es ampliamente utilizado en las industrias de alimentos y bebidas, en la fabricación de helados, confitería de chocolate, cocteles, productos de panadería, entre otros. La cantidad y los tipos de azúcar contenidos en las frutas naturales están disponibles en la literatura, a menudo se agrega a los jugos envasados usando expresiones tales como jugo 100 % natural o azúcar sin agregar (Hakkoymaz y Mazi, 2020).

Se utiliza además en la producción de productos alimenticios dietéticos, edulcorantes, isotónicos, suplementos de gran relevancia la determinación del contenido de glucosa y fructosa (Carneiro *et al.*, 2005).

Para la obtención de los jarabes invertidos se ha empleado además la hidrólisis ácida, aunque la misma se caracteriza por la baja eficiencia de conversión y el alto consumo de energía, factores que la convierten en un método evitable. Debido a estas razones, la hidrólisis enzimática de sacarosa

catalizada por invertasa es la alternativa más valiosa para la producción de siropes invertidos (Hosseini *et al.*, 2020; Veana *et al.*, 2014; Tomotani y Vitolo, 2006).

La tecnología enzimática para la producción de siropes invertidos no se utiliza en Cuba (Menéndez *et al.*, 2014). La producción de glucosa se desarrolla a partir del azúcar refinado por hidrólisis ácida en el CAI Chiquitico Fabregat de la provincia de Villa Clara y en el CAI Argentina de la provincia de Camagüey. La principal materia prima para la obtención de glucosa en Cuba es el azúcar refinado de producción nacional (Rodríguez, 2016).

El proceso de inversión de la sacarosa en estas plantas se ha realizado tradicionalmente por acidificación, con metodología desarrollada a nivel nacional, que opera en régimen discontinuo. Normalmente produce jarabes ricos en glucosa y fructosa a partir de sacarosa refinada, pero consume ácido fosfórico a elevadas temperaturas (85-90 °C), generando además otros compuestos tñidos que llevan cenizas y subproductos no deseados (Orozco, 2017). El proceso tecnológico industrial consta de siete etapas principales, acidulación, conversión, neutralización, refinación, sacarificación, evaporación y almacenamiento (Díaz, 2020). Actualmente existe marcada tendencia a la simulación y optimización de procesos, para contribuir a la disminución de los tiempos de operación y al incremento de los rendimientos.

El empleo de enzimas en la industria alimentaria constituye una necesidad. La inmovilización de enzimas es una alternativa para incrementar su aplicación en tecnologías industriales de producción. La utilización de la enzima invertasa en forma inmovilizada para obtener jarabes invertidos posibilita la reutilización del biocatalizador, reduce los costos de producción, facilita un mejor control y un régimen de operación continuo.

Referencias Bibliográficas

- Aguilar, V. F., y Herrera, R. R. (2011). Kinetic studies of Invertase production by xerophilic *Aspergillus* and *penicillium* strains under submerged culture. *Micología Aplicada Internacional*, 23 (2), 37-45.
- Aguirre, A. G. (2019). *Enzimas Biotecnológicas y su aplicación a la industria alimentaria*. Trabajo de Fin de Grado, Universidad Complutense, Facultad de Farmacia, Bogotá, Colombia.
- Akardere, E., Ozer, B., Bicak, C., y Onal, S. (2010). Three-phase partitioning as a rapid and efficient method for purification of invertase from tomato. *Biochemical Engineering Journal*, 50, 110-115.

- Akgȯl, S., Kacar, Y., Denizli, A., y Arica, M. (2001). Hydrolysis of sucrose by invertase immobilized onto novel magnetic polyvinylalcohol microspheres. *Food Chemistry*, 74, 281-288.
- Albertini, A., Silva, J., Freire, V., Santos, R., Martins, J., Cavada, B., . . . Filho, J. V. (2013). Immobilized invertase studies on glass-ceramic support from coal fly ashes. *Chemical Engineering Journal*, 95 (1), 180-190.
- Albertini, A., Cadena, P., Silva, J., Nascimento, J., Reis, A., Freire, A., . . . Filho, J. V. (2012). Performance of invertase immobilized on glass-ceramic supports in batch bioreactor. *Chemical Engineering Journal*, 187, 341- 350.
- Amaya-Delgado, L., Hidalgo, M., y Montes-Horcasitas, M. (2006). Hydrolysis of sucrose by invertase immobilized on nylon-6 microbeads. *Food Chemistry*, 99, 299-304.
- Arica, M., y Bayramoglu, G. (2006). Invertase reversibly immobilized onto polyethylenimine grafted poly(GMA-MMA) beads for sucrose hydrolysis. *Journal of Molecular Catalysis B*;, 38, 131-138.
- Arroyo, M. (1998). Inmovilización de enzimas. Fundamentos, métodos y aplicaciones. *Ars Pharmaceutica*, 39(2), 23-39.
- Bagal, D., y Karve, M. S. (2006). Entrapment of plant invertase within novel composite of agarose-guar gum biopolymer membrane. *Analytica Chimica Acta*, 555, 316-321.
- Bayramoglu, G., Doz, T., Ozalp, C., y Arica, Y. (2016). Improvement stability and performance of invertase via immobilization on to silanized and polymer brush grafted magnetic nanoparticles. *Food Chemistry*, 1-9.
- Brady, D., y Jordaan, J. (2009). Advances in enzyme immobilisation. *Biotechnol Lett*, 31, 1639-1650.
- Brena, B. M., y Batista-Viera, F. (2006). Immobilization of Enzymes. En J. Guisan, *Methods in Biotechnology: Immobilization of Enzymes and Cells* (2da ed., págs. 15-30). Totowa: Humana Press.
- Bustos, I. J., y Pacheco, M. (2014). Procesos enzimáticos amigables con el ambiente. *Revista digital universitaria. UNAM*, 15 (12), 23-27.
- Cadena, P. G., Wiggers, F., Silva, R., Filho, J., y Pimentel, M. (2011). Kinetics and bioreactor studies of immobilized invertase on polyurethane rigid adhesive foam. *Bioresource Technology*, 102 (2), 513-518.
- Cao, L. (2005). *Introduction: Immobilized Enzymes: Past, Present and Prospects*. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

- Carneiro, J. T., Dias, A. B., Zagatto, E., Santos, J., y Lima, J. (2005). An improved sampling approach in multi-pumping flow systems applied to spectrophotometric determination of glucose and fructose in syrups. *Analytica Chimica Acta*, 531, 279-284.
- Chaudhary, S., Sagar, S., Kumar, M., Sengar, R. S., y Tomar, A. (2015). The Use of Enzymes in Food Processing: A Review. *South Asian Journal of Food Technology and Environment*, 1 (3&4), 190-210.
- Cheng, W. P., Mazila, A. R., y Dini, J. (2019). Structural Properties, Production, and Commercialisation of Invertase. *Sains Malaysiana*, 48 (3), 523-531.
- Chitunda, B. (2002). *Ingeniería de biocatalizadores y bioprocesos: β -galactosidasa de *Thermus* sp., cepa T2*. Tesis en opción al título de Doctor en Ciencias Químicas, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España.
- Costa, S. A., Azebedo, H. S., y Reis, R. L. (2005). *Enzyme Immobilization in Biodegradable Polymers for Biomedical Applications*. Madrid: CRC Press.
- Datta, S., Christena, R., Rani, Y., y Rajaram, S. (2012). Enzyme immobilization: an overview on techniques and support materials. *3 Biotech*. <https://doi.org/10.1007/s13205-012-0071-7>
- Díaz, L. C., Zumalacárregui, L. C., Perez, O. O., y Gonzalez-Pedroso, G. A. (2020). Evaluación del proceso de producción de glucosa a partir de sacarosa en la UEB Argentina. *Tecnología Química*, 40 (3), 61-85.
- Dwevedi, A., y Kayastha, A. (2011). *Enzyme immobilization: A breakthrough in Enzyme technology and Boon to enzyme based industries*. Facultad de Ciencias, Escuela de Biotecnología. Varanasi: Nova Science Publishers, Inc.
- Echemendia, F. R. (2010). *Obtención de un biocatalizador termoestable a partir de la levadura *Pichia pastoris* GS115 Tm Inv para la producción de azúcares invertidos*. Trabajo de Diploma, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Facultad de Química Farmacia Departamento de Ingeniería Química, Santa Clara.
- Emregul, E., Sungur, S., y Akbulut, U. (2006). Polyacrylamide-gelatine carrier system used for invertase immobilization. *Food Chemistry*, 97, 591-597.

- Ferreira, M. V., Farias, A. R., Peraca, R. T., Ruiz, W., y Valmor, C. (2017). Extracción optimizada y purificación parcial de invertasa aislada de *S. Cerevisiae* en puré de durazno. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 40 (2), 1-9.
- Gómez, L. B. (2018). *Estabilización funcional y operacional de enzimas hidrolíticas de nivel industrial*. Tesis en opción al grado científico doctor en Ciencias Técnicas, Universidad de Matanzas, Matanzas, Cuba.
- Gopinath, S., y Sugunan, S. (2007). Enzymes immobilized on montmorillonite K 10: Effect of adsorption and grafting on the surface properties and the enzyme activity. *Applied Clay Science*, 35, 67-75.
- Guzik, U., Hupert, K., y Wojcieszynska, D. (2014). Immobilization as a Strategy for Improving Enzyme Properties-Application to Oxidoreductases. *Molecules*, 19, 8996-9018.
- Hakkyomaz, O., y Mazi, H. (2020). An immobilized invertase enzyme for the selective determination of sucrose in fruit juices, *Anal Biochem*, 65, 345-356.
- Hamerska-Dudra, A., Bryjak, J., y Trochimczuk, A. (2006). Novel method of enzymes stabilization on crosslinked thermosensitive carriers. *Enzyme and Microbial Technology*, 38, 921-925.
- Hosseini, N. F., Manoochehri, H., Saidijam, M., Taheri, M., Rezaee, H., y Nouri, F. (2020). A review on invertase: Its potentials and applications. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 25, 10-25.
- Kotwal, S. M., y Shankar, V. (2009). Immobilized invertase. *Biotechnology Advances*, 27, 311-322.
- Marquez, L. D., Cabral, B., Freitas, F., Cardoso, V., y Ribeiro, E. (2008). Optimization of invertase immobilization by adsorption in ionic exchange for sucrose hydrolysis. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 51, 86-92.
- Maroto, B., y Celso, C. (2000). Inmovilización de enzima fosfolipasa A2. *Grasas y Aceites*, 51 (3), 150-156.
- Menendez, C. R., Martínez, D. G., Hernández, L. G., y Pérez, E. C. (2014). Desarrollo de biocatalizadores termoestables basados en la invertasa de *Thermotoga maritima* para la hidrólisis total del azúcar de caña. *Revista Anales de la Academia de Ciencias de Cuba*, 4 (2), 15-29.
- Mohd Zain, N., Suaimi, M., y Idris, A. (2010). Hydrolysis of liquid pineapple waste invertase immobilized in PVA-alginate matrix. *Biochemical Engineering Journal*, 50, 83-89.
- Moreira, L. R., Gomes, H. A., y Filho, E. X. (2018). Enzymes and Food Industry: Consolidated Marriage. *Advances in Biotechnology for Food Industry*, 3, 55-89. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-811443-8.00003-7>

- Okafor, D. C., Ofoedu, C. E., Nwakaudu, A., y Daramola, M. O. (2019). Enzymes as Additives in Starch Processing: A Short Overview. *Enzymes in Food Biotechnology*, 10, 149-168. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813280-7.00010-4>
- Oliveira, A. M., Bontorin, M. B., Gazzotto, L. U., Camargo, R. G., Perencin, M. R., y Waldir, P. T. (2018). Combined CLEAs of invertase and soy protein for economically feasible conversion of sucrose in a fed-batch reactor. *Food and Bioproducts Processing*, 110, 145-157.
- Orozco, J. L., Ramirez-Perez, H., Lavín, M., Diaz-Suarez, S., Michelena-Álvarez, G., Gomez-Brisuela, L., y Dustet, J. (2017). Comparación de los indicadores economicos para la operación de inversión ácida de sacarosa o mediante hidrólisis enzimática. *Biotecnología Aplicada*, 34 (4), 28-52.
- Palomo, J. M., Mateo, C., Fernandez-Lorente, G., Guisan, J. M., y Fernandez-Lafuente, R. (2007). Improvement of enzyme activity, stability and selectivity via immobilization techniques. *Enzyme and microbial technology*, 40, 1451-1463. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2007.01.018>
- Paret, A. G. (2019). *Propuesta tecnológica para la etapa de hidrólisis enzimática en la producción de glucosa a partir de azúcar refinado*. Tesis de Diploma, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, Facultad de Química y Farmacia, Santa Clara.
- Peng-Chao, G., Wang, Q., Wang, Z., Dong, Z., Huawei, H., y Zhao, P. (2017). Biochemical characterization and functional analysis of invertase Bmsuc1 from silkworm, *Bombyx mori*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 17, 30-41.
- Peña, C. M., y Quirasco, M. B. (2014). ¿Enzimas en los alimentos? Bioquímica de lo comestible. *Revista digital universitaria. UNAM*, 15 (14), 60-79.
- Rai, A., Phrabune, A., y Perry, C. C. (2012). Entrapment of commercially important invertase in silica particles at physiological pH and the effect of pH and temperature on enzyme activity. *Materials Science and Engineering C*, 32, 785-789.
- Rebros, M., Rosenberg, M., Mlichová, Z., y Kristofiková, L. (2007). Hydrolysis of sucrose by invertase entrapped in polyvinylalcohol hydrogel capsules. *Food Chemistry*, 102, 784-787.
- Romero, L. C., Cynthia, M. H., Sanchez, A. Z., y Luevanos, M. E. (2014). Aplicaciones de las Enzimas Inmovilizadas. *AQM*, 40, 115-125.

- Rodríguez, R. H. (2016). *Propuesta tecnológica para la obtención de glucosa por hidrólisis enzimática a partir del azúcar refinado*. Trabajo de Diploma, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Facultad de Química-Farmacología, Santa Clara.
- Sanromán, M. A., y Deive, F. J. (2017). *Food Enzymes*. Universidad de Vigo, Vigo, España. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63666-9.00005-4>
- Yong, L. C., y deMan, J. (2018). Enzymes. En *Principles of Food Chemistry, Food Science Text Series* (págs. 398-433). Springer International Publishing AG. https://doi.org/10.1007/978-3-319-63607-8_10
- Sneha, H. P., Beulah, K. C., y Murthy, P. S. (2019). Enzyme Immobilization Methods and Applications in the Food Industry. *Enzymes in Food Biotechnology*, 37, 645-658. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813280-7.00037-2>
- Shaker, R. M. (2015). Purification and Characterization of Invertase from *Aspergillus terreus*. *Chemical and Process Engineering Research* 35, 135-141.
- Tanaka, T. (2018). *Enzyme Applications in Food Processing: Traditional Uses to New Developments*. College of Agriculture and Bioresources, University of Saskatchewan, Department of Food and Bioproduct Sciences, Saskatoon, SK, Canada.
- Tran, D. N., y Balkus, K. J. (2011). Perspective of recent progress in immobilization of enzymes. *ACS Catalysis*, 1, 956-968.
- Tomotani, E. J., y Vitolo, M. (2004). Screening of Dowex® Anion-Exchange Resins for Invertase Immobilization. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 113 (116), 145-159.
- Valerio, S. G., Alves, J., Klein, M., Rodríguez, R., y Hertz, P. (2013). High operational stability of invertase from *Saccharomyces cerevisiae* immobilized on chitosan nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 92, 462-468.
- Veana, F., Fuentes-Garibay, J., Aguilar, C., Rodríguez-Herrera, R., Guerrero-Olazarán, y Viader-Salvadó. (2014). Gene encoding a novel invertase from a xerophilic *Aspergillus niger* strain and production of the enzyme in *Pichia Pastoris*. *Enzyme and Microbial Technology*, 63, 28-33.
- Waifalkar, P. P., Parit, S. B., Chougale, A. D., Subasa, C., y Patil, P. B. (2016). Immobilization of invertase on chitosan coated γ -Fe₂O₃ magnetic. *Journal of Colloid and Interface Science*, 16, 21-30.
- Yamasaki, H., Cheok, R., y Fraser, A. (1984). Immobilization of invertase on polyethylenimine coated cotton cloth. *Biotechnology Letters*, 6, 165-170.

Yildiz, H. B. (2013). A comparative study: Immobilization of yeast cells and invertase in poly(ethyleneoxide) electrodes. *Journal of*, 91, 52-58.



Monografías 2021

Universidad de Matanzas © 2021

ISBN: 978 - 959 - 16 - 4681 - 1