



GLUCOSA OXIDASA UNA ALTERNATIVA EN LA CONSERVACIÓN DE BEBIDAS

GLUCOSE OXIDASE AN ALTERNATIVE IN THE PRESERVATION OF BEVERAGES

Luis Edgardo Ojeda Ojeda¹

Luis Manuel Pérez-Ybarra²

Jordy Javier Gamez Villazana³

Nirza de la Cruz Noguera Machado⁴

(Recibido/received: 02-junio-2022; aceptado/accepted: 27-Septiembre-2022)

RESUMEN: La Glucosa Oxidasa (GOX) se ha utilizado ampliamente como aditivo alimentario debido a sus propiedades, sin embargo, no hay literatura científica que reporten sobre sus efectos en la conservación de bebidas preparadas a partir de frutas. El objetivo de esta investigación fue evaluar el potencial conservante de un extracto de la GOX, para evitar el oscurecimiento en un jugo de manzana natural y favorecer la producción de peróxido de hidrógeno como antimicrobiano en un néctar de manzana. En el jugo se aplicaron cuatro tratamientos para determinar la actividad antioxidante de la GOX; el primero con una concentración de enzima de 64,5 mg/mL, el segundo con 129 mg/mL de la solución enzimática, el tercero con ácido ascórbico (64,5 mg/mL) y un cuarto sin aditivo (control) y luego se determinó el porcentaje de inhibición. En el caso del néctar natural pasteurizado, sin aditivos, se condujo un experimento bajo un arreglo factorial de dos concentraciones de GOX (64,5mg/L y 129mg/L) y dos temperaturas (4°C y 37°C), evaluado en cuatro tiempos de almacenamiento (0, 24, 48 y 72 horas), y se determinó el potencial oxidante de la GOX a través de la producción de H₂O₂. Se evidenció un efecto inhibitorio de la GOX sobre el oscurecimiento enzimático en el jugo de manzana. Además, se confirmó el efecto estadísticamente significativo entre la concentración de GOX y el tiempo de incubación sobre la producción de peróxido de hidrógeno en el néctar, corroborando el potencial como conservante de la enzima.

PALABRAS CLAVES: GOX; PPO; conservación; jugo de manzana; néctar de manzana.

¹ Universidad de Carabobo Sección de Biotecnología-Agroindustrial del Instituto de Investigaciones Biomédicas Dr. "Francisco Javier Triana Alonso" Maracay-Venezuela. Correo: lojeda2@uc.edu.ve

² Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela de Medicina, Departamento de Fisiología y Bioquímica. Maracay-Venezuela.

³ Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela de Bioanálisis, Departamento de Ciencias Básicas. Maracay-Venezuela.

⁴ Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales "Ezequiel Zamora", UNELLEZ. Programa Ciencias del Agro y Mar, San Carlos-Venezuela.

ABSTRACT: GOX has been widely used as a food additive due to its properties, however, there is no scientific literature reporting its effects on the preservation of beverages prepared from fruits. The objective of the research was to confirm the preservative potential of a GOX extract, to prevent browning in apple juice and advantage the production of hydrogen peroxide as antimicrobial in apple nectar. Four treatments were applied to the juice to determine the antioxidant activity of GOX; the first with an enzyme concentration of 64.5 mg/mL, the second with 129 mg/mL of the enzyme solution, the third with ascorbic acid (64.5 mg/mL) and a fourth without additive (control) and then the percentage of inhibition was determined. In the case of pasteurized natural nectar, without additives or glucose, an experiment was conducted under a factorial arrangement of two GOX concentrations (64.5mg/L and 129mg/L) and two temperatures (4°C and 37°C), evaluated in four storage times (0, 24, 48 and 72 hours), and the oxidizing potential of GOX was determined through the production of H₂O₂. An inhibitory effect of GOX on enzymatic browning was found in apple juice. In addition, the statistically significant effect between GOX concentration and incubation time on the production of hydrogen peroxide in the nectar was confirmed, corroborating the enzyme's potential as a preservative.

KEYWORDS: GOX, PPO, conservation, apple juice, apple nectar.

INTRODUCCIÓN

La conservación de los productos de origen natural es uno de los desafíos más importantes que tiene la industria alimentaria. Entre los problemas más relevantes destacan el oscurecimiento y el crecimiento de microorganismos indeseados. En lo que respecta al oscurecimiento, este puede ser no enzimático y enzimático. El oscurecimiento enzimático ocurre durante el procesamiento de algunas frutas y vegetales, que se inicia cuando se altera la integridad del tejido debido a la liberación de enzimas endógenas que activan una cascada de reacciones químicas que perjudican las propiedades organolépticas del producto (Badui, 2006). Entre esas enzimas se encuentran el polifenol oxidasa (PPO) que transforman a los compuestos fenólicos y promueven el oscurecimiento enzimático de jugos, néctares, jaleas y otros derivados de las frutas.

La PPO (1,2-bencenodiol: oxígeno óxido reductasa E.C. 1.10.3.1), está presente en el tejido de plantas y animales, más específicamente en frutas (manzana, pera, durazno, banana, mango, avocado, entre otros), vegetales (papa, lechuga, guayaba, melón, berenjena y champiñón, etc.) (Mayer y Harel 1979; Martínez y Whitaker, 1995). La reacción ocurre cuando compuestos monofenólicos en presencia de oxígeno y la PPO, son transformados a difenoles, y después son oxidados a quinonas. Las quinonas condensadas reaccionan no enzimáticamente con otros compuestos fenólicos, aminoácidos, etc., hasta producir un color marrón oscuro, negro o pigmentos rojos de indeterminada estructura (Sapers y Hicks, 1989).

El control del oscurecimiento enzimático en frutas y vegetales representa un problema vigente para la industria alimentaria, especialmente por la restricción en el uso de algunos aditivos como los sulfitos y los procesos de inactivación térmica (desnaturalizan los compuestos bioactivos). Esto ha motivado la búsqueda de inhibidores de origen natural que permitan controlar este proceso y mantener los beneficios nutraceuticos del material vegetal.

El otro problema recurrente que se tiene que superar es la proliferación de microorganismos indeseados, que aceleren la descomposición (mesófilos) o sean patógenos para los seres humanos como la *E coli* O157:H7 (Dontorou et al., 2013) y la *Salmonella* (Quesada et al., 2016). Para evitar la contaminación microbiana, a los productos se le adicionan agentes antimicrobianos (Joshua et al., 2011; Usaga et al., 2017; Xiaochan et al., 2019) y algunos son sometidos a un proceso de pasteurización, pero estos muchas veces, no logran eliminar toda la carga microbiana.

Una posible solución a estos dos problemas pudiera ser, incorporar un agente de origen natural que pueda evitar la oxidación y que posea actividad antimicrobiana. Ese producto pudiera ser, la enzima Glucosa Oxidasa (GOX). La GOX (E.C.1.1.3.4) es una enzima generalmente segregada por organismos vivos para catalizar específicamente la oxidación (β)-D-glucosa a ácido D-glucónico y peróxido de hidrógeno (Alonso y Delfin, 2002). La GOX en compañía de la catalasa (CAT) en proporciones adecuadas, funcionan eliminando, la primera el oxígeno disuelto, y la segunda el peróxido de hidrógeno producido por la primera enzima, sin generar productos colaterales. La GOX, tiene gran variedad de aplicaciones en la industria de alimentos. Se emplean en la industria vinícola, para prevenir el oscurecimiento de los vinos durante su almacenamiento (Röcker et al., 2017; Valencia et al., 2017), combinada con una lipasa para mejorar la calidad del pan (El-Rashidy et al. 2015), para eliminar el oxígeno disuelto en un néctar de manzana (Ojeda, et al., 2011), como agente antimicrobiano para evitar el crecimiento de la bacteria *Escherichia coli* en leche (Noguera et al., 2014) y como agente de control el *Botrytis cinerea* en fresas almacenadas (Li et al., 2019).

Con base a lo antes expuesto, se planteó como objetivo del presente estudio confirmar el potencial conservante de un extracto de la GOX en un jugo y un néctar de manzana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio. El trabajo desarrollado fue de tipo experimental y se desarrolló en la Sección de Biotecnología Agroindustrial del Instituto de Investigaciones Biomédicas Dr. “Francisco Javier Triana Alonso”, ubicado en Maracay-Venezuela.

La Enzima GOX: La enzima GOX fue obtenida en el laboratorio a partir del cultivo del *Aspergillus niger* usando la metodología propuesta por Zohgbi et al., 2008.

Material vegetal: Las manzanas (*Red delicius*) fueron obtenidas en un mercado local y conservadas a 4°C hasta su procesamiento.

Preparación del néctar: Se preparó un néctar de manzana según las normas Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) 1030-95. Se seleccionaron manzanas que no tuvieran ningún tipo de daño, seguido fueron lavadas con abundante agua, se les retiró la piel y semilla y posteriormente se pesaron, inmediatamente se homogenizaron usando una licuadora doméstica marca OSTER® a velocidad máxima por 2 minutos. Al néctar se le ajustaron los

siguientes parámetros fisicoquímicos: acidez titulable (norma COVENIN 1151-77) y pH (norma COVENIN 1315-79).

Preparación de un jugo de manzana: Se seleccionaron manzanas limpias y sin ningún tipo de lesión, se lavaron con abundante agua, se le retiró la piel y semilla y posteriormente se cortaron en trozos. Los trozos fueron pesados y homogenizados con una cantidad de azúcar comercial y agua en una licuadora doméstica marca OSTER® a velocidad máxima por dos minutos, seguido se filtró usando un colador comercial con una capa de gasa para asegurar que el producto quedara libre de pulpa.

Actividad antioxidante de la GOX sobre un jugo de manzana

Se empleó la metodología propuesta por Villegas-Ochoa et al., 2005. Un volumen del homogenato fue colocado en recipientes de vidrio con tapa, que tenían un agitador magnético en su interior (previamente identificados). Al primero se le adicionó GOX en una concentración de 64,5 mg/mL, al segundo el doble de la concentración de GOX (129 mg/mL), al tercero ácido ascórbico 64,5 mg/mL (antioxidante químico) y al cuarto no se le adicionó nada para ser usado como control. Partiendo del tiempo cero cada 10 minutos se tomó un ml del homogenato y seguido se centrifugó a 7000 rpm por 5 minutos a 4°C. Al sobrenadante se colocó en una cubeta de cuarzo y se le determinó la absorbancia a 400nm usando un espectrofotómetro BECKMAN Du-640, que previamente había sido calibrado para el ensayo. El porcentaje de inhibición se determinó usando la ecuación propuesta Weerawardana et al., (2020). Este ensayo se realizó por cuadruplicado.

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{(\text{Abs control} - \text{Abs muestra})}{(\text{Abs control})} \times 100$$

Determinación del potencial antimicrobiano de la GOX en condiciones de almacenamiento

Para demostrar la estabilidad del extracto GOX se usó un ensayo con arreglo factorial 2x2x4, en el que se evaluaron dos temperaturas de almacenamiento (4°C y 37°C) con 5 repeticiones por tratamiento, dos concentraciones del extracto de GOX (129 mg/L y 64,5 mg/L) y se tomaron observaciones sucesivas en cuatro momentos (0, 24, 48 y 72 horas), y como control del estudio se usó un néctar de manzana pasteurizado al que no se le colocaron aditivos, ni glucosa. Se escogieron 4°C y 37°C, porque representan las temperaturas a las que pueden estar expuesto un alimento conservado durante su vida media, los tiempos para conocer si existía una disminución de la actividad con respecto a esta variable y las temperaturas de almacenamiento. La variable que se midió fue la concentración de peróxido de hidrógeno.

Determinación de la actividad de GOX

La actividad de GOX se evaluó mediante la detección del peróxido de hidrógeno producido al oxidarse la glucosa (sustrato), por el método colorimétrico descrito por Tinder (1965) modificado por Zoghbi et al. (2008), se sustituyó la o-dianisidina 3,3,5,5-tetrametilbenzidina (TMB).

Análisis estadístico

Los supuestos de homogeneidad de varianzas y normalidad de los residuales se comprobaron con las pruebas de Bartlett y Shapiro-Wilk, respectivamente. Se aplicó el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de comparaciones múltiples de Tukey. Las interacciones se analizaron de forma gráfica. El nivel de significación se fijó en 5%. Los datos se procesaron utilizando el programa Statistix 9.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La prueba de Bartlett indicó que los tratamientos presentaron varianzas homogéneas ($p=0,3717$), y la prueba de Shapiro–Wilk indicó que los residuales presentaron distribución normal ($p=0,0611$), por lo cual se justifica el uso de ANOVA para analizar los resultados.

Oscurecimiento enzimático

El jugo de manzana resultó tener 12°Brix y empezó a oscurecerse cuando empezó el proceso de homogenización. Sin embargo, cuando se le adicionaron el aditivo químico y la enzima GOX el proceso se detuvo, durante todo el tiempo de la evaluación (60 minutos) cuando se comparó con el control. Los resultados de efecto inhibitorio del oscurecimiento del jugo se presentan en la figura 1.

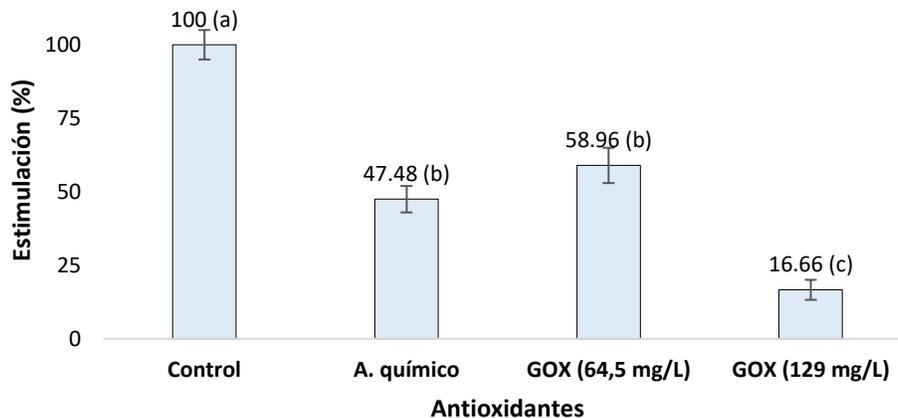


Figura 1: Efecto inhibitorio del oscurecimiento enzimático en un jugo de manzana. Barras verticales indican el error estándar. Las letras entre paréntesis corresponden a los grupos de medias homogéneas de Tukey.

Como se puede observar en la Figura 1, el ácido ascórbico impide el oscurecimiento casi un 50%, mientras que con la concentración de 64,5 mg/ml de GOX, el retraso fue de aproximadamente 41%. Sin embargo, lo más resaltante fue como la concentración de 129 mg/mL de la GOX, alcanzó un efecto inhibitorio superior al 83%, lo que representa un alto valor, teniendo en consideración que el mecanismo de oxidación de esta fruta es muy rápido. Ese oscurecimiento enzimático que presentó el jugo se debe principalmente a la acción de la PPO, que en presencia de oxígeno reacciona con compuestos insaturados como monofenoles y o-difenoles que posteriormente son convertidas a quinonas de color oscuro, (Vega–Mercado et al., 1994).

Es posible que el efecto inhibitorio observado en el jugo de manzana puede estar asociado a la competencia que se desarrolla entre la GOX y la PPO por el oxígeno disuelto en el medio, en vista de que esta molécula es sustrato de las dos enzimas. En la siguiente figura se esquematiza el posible efecto ocurrido en el interior del jugo durante el experimento.

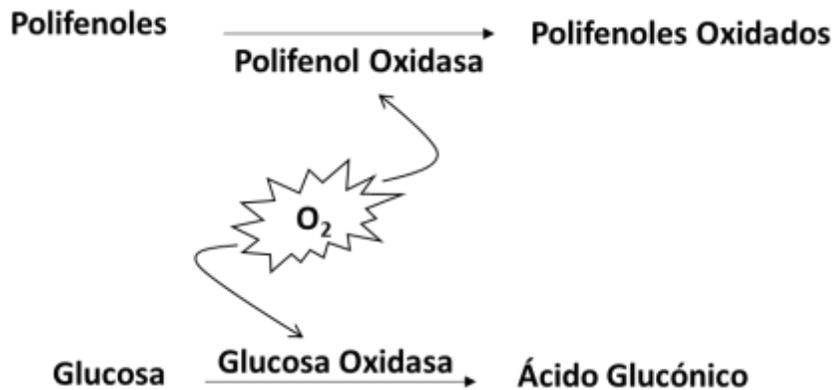


Figura 2: Esquema del posible comportamiento de la GOX y la PPO durante el experimento de la inhibición del oscurecimiento enzimático

El esquema muestra como el oxígeno disuelto en el jugo es usado por las dos enzimas para desarrollar sus procesos. Este evento causa que se consuma con más rapidez este agente oxidante lo que pudo haber sido la causa de la disminución del oscurecimiento mostrado por el uso de la GOX (ver Figura 1). El posible mecanismo de inhibición sugerido para la GOX sobre la PPO es muy diferente al que presenta el ácido ascórbico. En la siguiente figura se muestra como interaccionan el antioxidante y la PPO.

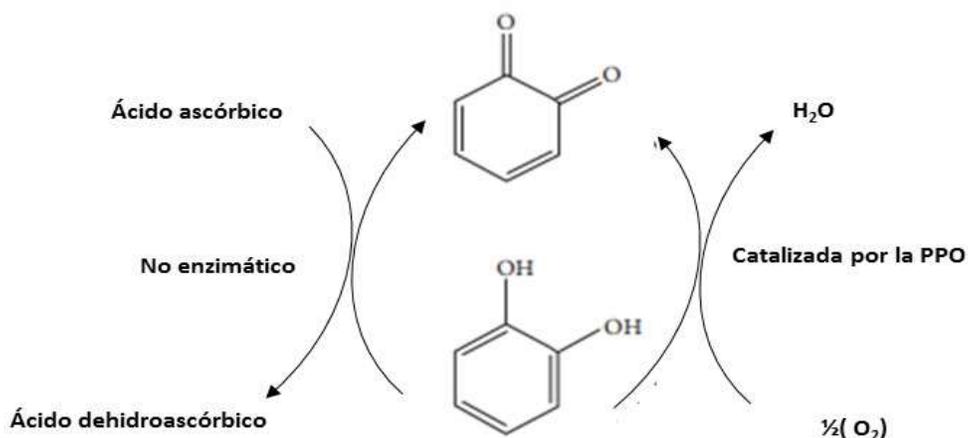


Figura 3: Reducción de la o-quinona a o-difenol por el ácido ascórbico (fuente: Marshal et al., 2000).

Este mecanismo de acción comprende la reducción de los grupos carbonilos presentes en la o-quinona a grupos hidroxilos, mediante una reacción Redox no catalizada enzimáticamente. En este proceso se retrasa la acción de la PPO, pero tiene como limitante la concentración de ácido ascórbico, así, cuando se agota el agente antioxidante continúa la oxidación de los polifenoles y, en consecuencia, avanza el oscurecimiento del tejido vegetal.

El uso de la GOX en bebidas es más común en el área vinícola, donde existen reportes de su incorporación para eliminar el oxígeno disuelto y de esa forma evitar la oxidación de los vinos (Pickering et al., 1998). Estudios más recientes la han usado para eliminar el exceso de glucosa, como lo muestra el trabajo de Petkova et al., (2016), quienes estudiaron dos tipos de enzimas como catalizadores para la oxidación de glucosa usando como modelo jugos sintéticos. La GOX (marca Alphamalt Gloxy 5080), utilizada en una concentración de 1 g/L, mostró un 77,60% de conversión de sustrato de la glucosa utilizada en una concentración de 10 g/L. La glucosa oxidasa pura con una concentración de 25 mg/l convirtió solo el 1,32 % de la glucosa, mientras que cuando se combinó con 15 μ l de catalasa, la conversión fue incluso del 49,25 %. Ese mismo autor (Petkova et al.) publicó en 2021, un estudio donde se realizaron un tratamiento prefermentativo enzimático con GOX de *A. niger* para reducir el grado alcohólico en vinos. Este tratamiento solo afectó a una parte de la glucosa, dejando el resto y la fructosa disponible para la fermentación por parte de las levaduras. Otro estudio reciente fue el publicado por Essary (2021), quien usó las enzimas GOX y catalasa en un tratamiento prefermentativo para reducir el pH en el mosto y el jugo de tempranillo.

Existen pocas referencias en la literatura que hayan combinado el uso de la GOX como agente inhibitorio de la PPO, pero estos resultados pueden ser el punto de partida del uso de esta enzima como agente anti oscurecimiento de origen natural en productos no procesados que sufren la acción del PPO.

Estabilidad de la enzima Glucosa oxidasa

El néctar de manzana preparado para el estudio resulto tener 14°Brix, lo que garantizó una concentración de glucosa suficiente para que la GOX pudiera reaccionar por el tiempo que duró el ensayo. Los resultados del ANOVA para el experimento factorial se muestra en la Tabla 1, los valores-p indican que la concentración de GOX, la temperatura, el tiempo y la relación temperatura con el tiempo presentaron efectos estadísticamente significativos, mientras que, para interacción de la GOX y la temperatura, la relación GOX en el tiempo y la comparación entre el efecto GOX, temperatura y tiempo presentaron efectos estadísticamente no significativos. El análisis de varianza confirmó que, durante el ensayo, existió una proporcionalidad entre el efecto de la concentración de GOX y el tiempo de incubación sobre la producción de peróxido de hidrógeno en el néctar.

Tabla 1: Análisis de varianza del estudio factorial aplicado al néctar manzana

Fuente de variación	Valor-p
GOX	0,0027
Temperatura	<0,0001
Tiempo	<0,0001
GOX*Temperatura	0,1047
GOX*Tiempo	0,6736
Temperatura*Tiempo	0,0002
GOX*Temp*Tiempo	0,3532

En la figura 4 se puede apreciar que para un tiempo cercano a las 24 horas el sistema (GOX-Néctar), presenta un comportamiento cuadrático que indica que la GOX está cercana a su máxima actividad, esto se corresponde con una máxima producción de peróxido de hidrógeno tanto a 4 °C como a 37 °C, no obstante, con el transcurrir del tiempo esa actividad va disminuyendo progresivamente. Durante la preparación del néctar siempre queda oxígeno disuelto que permanece durante su envasado, por lo cual es probable que la enzima tuvo sustrato suficiente para seguir produciendo peróxido de hidrógeno por un tiempo posterior al evaluado.

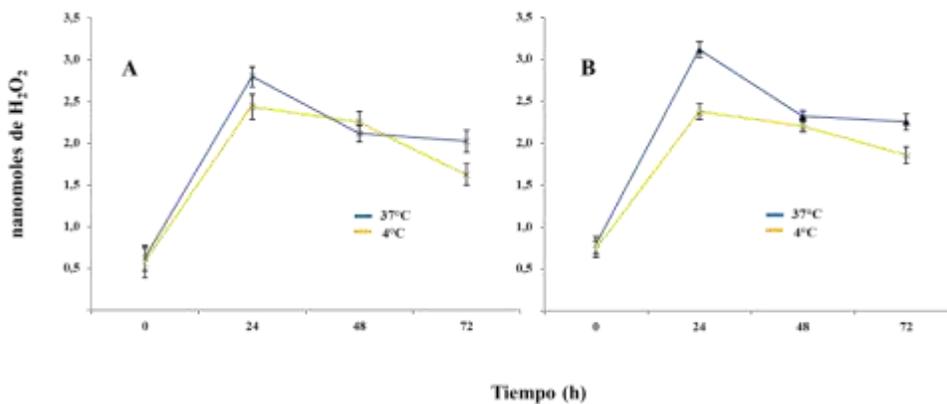


Figura 4: Efecto de la temperatura, el tiempo y la concentración de GOX, en la producción de peróxido de hidrógeno, durante la incubación del néctar de manzana. A) concentración de GOX de 64,5 mg/mL. B) concentración de GOX de 129 mg/ml

La actividad inicial para las dos temperaturas es similar, con el transcurrir del tiempo se puede observar cómo a 24 horas de incubación el sistema que estaba a 37°C presentó una mayor producción de peróxido de hidrógeno con respecto a su similar que estaba a 4°C, en los tiempos siguientes los dos sistemas disminuyen, pero se observa una caída más marcada para aquel que estaba a 4°C. Se observa que se comportan de manera independiente, es decir el efecto de la enzima fue equivalente para las dos temperaturas evaluadas, lo que muestra que todavía no se está en un intervalo de temperatura que afecte la actividad de la GOX. Estos resultados sumados a los reportados por Noguera et al., 2013, donde se demostró la termorresistencia de la GOX y a los publicados por Noguera et al., 2014, donde se evidenció el potencial antimicrobiano de esta enzima sobre la *E. coli* en leche, pueden ser considerados positivos para seguir desarrollando ensayos del uso de esta enzima en sistemas alimenticios.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen intereses financieros en competencia ni relaciones personales conocidas que pudieran haber influido en este documento.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el estudio se suman a los hallazgos reportados en la literatura que demuestran el potencial que puede tener el uso de la GOX en la industria alimentaria. Se estaría hablando de un aditivo inteligente que se puede activar cuando las condiciones de pH, temperatura, concentración de glucosa y oxígeno sean las adecuadas y que pudiera permanecer inocuo. Esta enzima, que es capaz de aguantar ciclos de congelación-descongelación, pasteurización, es capaz de remover el oxígeno disuelto y puede producir peróxido de hidrógeno a diferentes temperaturas, puede ser usada en gran variedad de aplicaciones incluyendo la conservación de jugos y néctares.

REFERENCIAS

- Alonso M. y Delfín J. (2002). Purificación parcial de Glucosa Oxidasa a partir del hongo *Penicillium funiculosum*. Revista Biológica, 16(2): 15-19.
- Baduí S. Química de los alimentos. 4ta edición. Editorial Pearson. Mexico. 2006
- Dontorou C., Papadopoulou C., Filioussis G., Economou V., Apostolou I., Zakkas G., Salamoura A., Kansouzidou A., Levidiotou S. (2013). Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from foods in Greece, International Journal of Food Microbiology. 82(3): 273-279.

Essary, A. (2021). Enzymatic Management of High pH Grape Juice and Must & The Effects of Crop Thinning on Grape Yield and Wine Quality. Master's thesis, Texas A&M University. Disponible: <https://oaktrust.library.tamu.edu/handle/1969.1/193306>

El-Rashidy, L., Bahlol, H., y El-Desoky, A. (2015). Improving Quality of Pan Bread by Using Glucose Oxidase and Lipase Enzymes. *Middle East J. Appl. Sci.*, 5, 1035–1043.

Li, X., Xie, X., Xing, F., Xu, L., Zhang, J., and Wang, Z. (2019). Glucose oxidase as a control agent against the fungal pathogen *Botrytis cinerea* in postharvest strawberry. *Food Control* 105:277-284.

Marshall M., Kim J., y Wei C. (2000). Enzymatic Browning in Fruits, Vegetables and Seafoods, Vol. 5, University of Florida, Gainesville, FL, USA, 2000.

Martinez, M. y Whitaker, J. (1995). The biochemistry and control of enzymatic browning. *Trends Food Sci. Technol.* 1995, 6, 195–200.

Mayer, A. y Harel, E. (1979). Polyphenol oxidases in plants. *Phytochemistry.* 18, 193–215

Noguera N., Ojeda L., Velásquez I., Ramírez N., Yépez A. (2013). Efecto de tres Condiciones de Pasteurización sobre la Actividad Enzimática y Antimicrobiana de un Extracto de Glucosa Oxidasa. *Revista de la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería A.C*

Noguera N., Hernández A., Jiménez A., Requena D., Ojeda L. (2014). Efecto del sistema glucosa oxidasa/glucosa sobre el crecimiento de *Escherichia coli* ATCC 25922 en leche. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos* 5(1): 57-69

Noguera-Machado N., Ojeda L.; Pérez-Ybarra L., Brett M., García K.; Yépez A. y Triana J. (2018). Efecto de la combinación de glucosa oxidasa/ Glucosa sobre el crecimiento de bacterias del género *Salmonella* aisladas de aves de corral. *Rev. U.D.C.A Actualidad. & Divulgación Científica.*21 (1): 127-136.

Norma COVENIN 1151-77. Determinación de acidez titulable. Disponible en: <http://www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/1151-77.pdf>

Norma COVENIN 1315-79. Determinación de pH. Disponible en: <http://www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/1315-79.pdf>

Norma COVENIN 1030-95. Jugos y Néctares, características generales. Disponible en: <http://www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/1030-95.pdf>

Ojeda L, Noguera N., Triana J. y Triana-Alonso F. (2011). Evaluación del potencial como aditivo en alimentos de un extracto de glucosa oxidasa y catalasa producido a partir de *Aspergillus niger* en un medio a base de fertilizantes y azúcar industrial. *Revista: Revista de la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería A.C.*

Petkova V., Mladenoska I., Gjulin-Hellon G. (2016). Utilization of Different Types of Glucose Oxidase for Reduction of Glucose Concentration in Synthetic Grape Juice. *Agro-knowledge Journal.* 17(1): 47-58.

Petkova, V., Mladenoska, I., Dimitrovski, D., Stafilov, T., Stefova, M. (2021). Pre-fermentative Treatment of Grape Juice and Must from Vranec Variety with a Glucose Oxidase from *Aspergillus*

niger. In: Mitrovic, N., Mladenovic, G., Mitrovic, A. (eds) Experimental and Computational Investigations in Engineering. CNNTech 2020. Lecture Notes in Networks and Systems, vol 153. Springer, Cham

Pickering, G., Heatherbell, D. y Barnes, M. (1998). Optimising glucose conversion in the production of reduced alcohol wine using glucose oxidase. *Food Res. Int.*31(10), 685-692.

Quesada, A., Reginatto, G., Ruiz E., Ayelen, C., Lisandro D, Burrone, M. (2016). Resistencia antimicrobiana de *Salmonella* spp aislada de alimentos de origen animal para consumo humano. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 33(1), 32-44.

Röcker, J.; Schmitt, M.; Pasch, L.; Ebert, K.; Grossmann, M. (2016). The use of glucose oxidase and catalase for the enzymatic reduction of the potential ethanol content in wine. *Food Chem.* 210, 660–670.

Sapers, G. y Hicks, K. (1989). Inhibition of Enzymatic Browning in Fruits and Vegetables: Chemistry and Technology, ed. Jen, J.J., ACC Symp., Series 405, pp 29-43, American Chemistry Society. Washington. DC.

Usaga J., Manns D., Moraru C., Worobo R., y Padilla-Zakour O. (2017). Ascorbic acid and selected preservatives influence effectiveness of UV treatment of apple juice, *LWT*, 75: 9-16.

Valencia, P.; Espinoza, K.; Ramírez, C.; Franco, W. y Urtubia, A. (2017). Technical Feasibility of Glucose Oxidase as a Prefermentation Treatment for Lowering the Alcoholic Degree of Red Wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 68, 386–389.

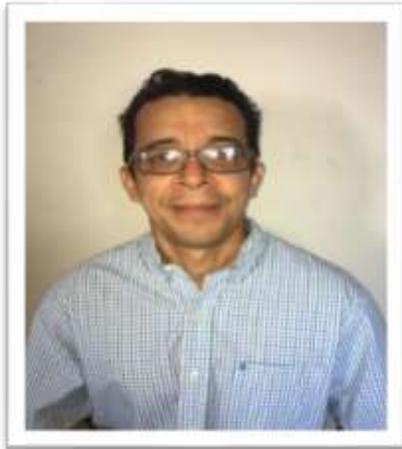
Villegas-Ochoa, M., Ayala-Zavala, F., Valenzuela R., Hernández J. y González-Aguilar. G. (2005). Efecto antioxidante de extractos naturales en manzana "Red *Deliciosos*". Proyecto XI.22 Desarrollo de tecnologías para la conservación de vegetales frescos cortados. 25-32.

Weerawardana, M., Thiripuranathar G, y Paranagama P. (2020). Natural antibrowning agents against polyphenol oxidase activity in *Annona muricata* and *Musa acuminata*. *J Chem* (1):1–6

An, X., Hu Y., Wang N., Zhou Z. y Liu Z. (2019). Continuous juice concentration by integrating forward osmosis with membrane distillation using potassium sorbate preservative as a draw solute. *Journal of Membrane Science*, 573: 192-199.

Zoghbi, N., Ojeda L., Noguera N., Yépez A., Camargo H. y Triana-Alonso F. 2008. Extracción y purificación de glucosa oxidasa para fines diagnósticos producida en medios a base de fertilizantes y azúcar industrial. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*.

SEMBLANZA DE LOS AUTORES



Luis Edgardo Ojeda Ojeda: Doctor en Ciencias de los alimentos en la Universidad Simón Bolívar (Venezuela), Magister en Ingeniería Agroindustrial en la Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales “Ezequiel Zamora y Licenciado en Química de la Universidad de Carabobo. Profesor Titular de Bioquímica en la Universidad de Carabobo. Con experticia en Biotecnología, Enzimas, Ciencias de los alimentos.



Luis Manuel Pérez-Ybarra: Candidato doctoral, Magister en estadística e Ingeniero Agrónomo de la Universidad Central de Venezuela. Profesor Titular de Matemática en la Universidad de Carabobo. Experto en análisis estadístico y diseño de experimentos.



Jordy Javier Gamez Villazana: Doctor en Ingeniería Agroindustrial, Magister en Ingeniería Agroindustrial e Ingeniero Agroindustrial de la Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales “Ezequiel Zamora (UNELLEZ). Profesor titular en el Programa Ciencias del Agro y Mar de la UNELLEZ e integrante de la RedSIAL Americana. Experto en tecnología de alimentos.



Nirza de la Cruz Noguera Machado: Doctora en Ciencias e Ingeniero Agrónomo de la Universidad Central de Venezuela. Profesor Titular de Matemática en la Universidad de Carabobo. Con experticia en Biotecnología, Fermentaciones, diseño de medios de cultivo y productos naturales.