



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

Revisión sistemática sobre los métodos de extracción y purificación  
en el bioprocesamiento de pectinasas aplicadas en la clarificación de zumos  
frutales.

**Trabajo de Titulación para optar al título de Ingeniera  
Agroindustrial**

**Autor:**

Coque Tutasig Lisset Evelin

**Tutor:**

MgSc. Daniel Alejandro Luna Velasco

**Riobamba, Ecuador. 2023**

## DERECHOS DE AUTORÍA

Yo, Lisset Evelin Coque Tutasig, con cédula de ciudadanía 0604721258, autora del trabajo de investigación titulado: REVISIÓN SISTEMÁTICA SOBRE LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN EN EL BIOPROCESAMIENTO DE PECTINASAS APLICADAS EN LA CLARIFICACIÓN DE ZUMOS FRUTALES, certifico que la producción, ideas, opiniones, criterios, contenidos y conclusiones expuestas son de mí exclusiva responsabilidad.

Asimismo, cedo a la Universidad Nacional de Chimborazo, en forma no exclusiva, los derechos para su uso, comunicación pública, distribución, divulgación y/o reproducción total o parcial, por medio físico o digital; en esta cesión se entiende que el cesionario no podrá obtener beneficios económicos. La posible reclamación de terceros respecto de los derechos de autor de la obra referida será de mi entera responsabilidad; librando a la Universidad Nacional de Chimborazo de posibles obligaciones.

En Riobamba, 8 de marzo de 2023



---

Lisset Evelin Coque Tutasig  
C.I:0604721258

## **DICTAMEN FAVORABLE DEL TUTOR Y MIEMBROS DE TRIBUNAL**

Quienes suscribimos, catedráticos designados Tutor y Miembros del Tribunal de Grado para la evaluación del trabajo de investigación **REVISIÓN SISTEMÁTICA SOBRE LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN EN EL BIOPROCESAMIENTO DE PECTINASAS APLICADAS EN LA CLARIFICACIÓN DE ZUMOS FRUTALES**, presentado por Lisset Evelin Coque Tutasig, con cédula de identidad número 0604721258, certificamos que recomendamos la **APROBACIÓN** de este con fines de titulación. Previamente se ha asesorado durante el desarrollo, revisado y evaluado el trabajo de investigación escrito y escuchada la sustentación por parte de su autor; no teniendo más nada que observar.

De conformidad a la normativa aplicable firmamos, en Riobamba a la fecha de su presentación.

Mgs. Byron Herrera Chavez  
**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE GRADO**



Firma

Mgs. Ana Hortencia Mejía López  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE GRADO**



Firma

PhD. José Efraín Miranda Yuquilema  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE GRADO**



Firma

Mgs. Daniel Alejandro Luna Velasco  
**TUTOR**



Firma

## **DEDICATORIA**

Esta investigación va dedicada principalmente a Dios que es el que me bendice siempre y me ha dado la sabiduría para seguir adelante cumpliendo cada una de mis metas.

A mi hijo Juan Fernando que se ha convertido en mi compañero de aventuras y el motor que me ayuda a seguir adelante y a querer superarme cada día. A mis padres Lilia y Angel. que me han apoyado en mis estudios y han estado a mi lado motivándome a seguir adelante a pesar de las circunstancias.

A mis hermanos y demás familiares que han sabido escucharme y aconsejarme en mis peores momentos.

Pero, sobre todo, para mi tía Margarita, que, aunque ya no está físicamente, sus consejos, enseñanzas los llevaré siempre presentes.

**Lisset Evelin Coque T.**

## **AGRADECIMIENTO**

A la Universidad Nacional de Chimborazo por la excelencia en la educación superior recibida durante los años de aprendizaje.

A mis padres por confiar en mí, por cada una de sus palabras que me guiaron en cada etapa de mi vida, por el esfuerzo y perseverancia que tuvieron para poder apoyarme económicamente y darme todo lo necesario.

A los mejores amigos que la vida me pudo dar, que me acompañaron tanto en los momentos difíciles como en los felices y me demostraron el valor de la amistad.

A mi tutor Ing. Daniel Luna MgS. que, con su paciencia, me incentivó a seguir adelante y demostró su interés para el desarrollo y culminación de esta investigación.

A todos los docentes de la carrera por los conocimientos brindados durante mi etapa universitaria y a cada una de las personas que hicieron posible la culminación de este proyecto.

**Lisset Evelin Coque T.**

## ÍNDICE GENERAL

DERECHOS DE AUTORÍA	
DICTAMEN FAVORABLE DEL TUTOR Y MIEMBROS DE TRIBUNAL	
DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTO	
ÍNDICE GENERAL	
ÍNDICE DE TABLAS	
ÍNDICE DE FIGURAS	
RESUMEN	
ABSTRACT	
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.....	12
1.1. Antecedentes.....	12
1.2. Planteamiento del problema .....	12
1.3. Justificación .....	13
1.4. Objetivos: Generales y Específicos .....	13
1.4.1. Objetivo General .....	13
1.4.2. Objetivos Específicos .....	14
CAPÍTULO II. ESTADO DEL ARTE Y MARCO TEÓRICO.....	15
2.1. Estado del arte .....	15
2.2. Marco Teórico .....	15
2.2.1. Enzimas.....	15
2.2.1.1. Importancia de la producción de enzimas con fines alimentarios .....	16
2.2.1.2. Elementos importantes en el mecanismo de acción de las enzimas .....	16
2.2.2. Pectinasas.....	17
2.2.2.1. Estructura de las Pectinasas .....	17
2.2.2.2. Clasificación de las Pectinasas .....	17
2.2.2.3. Aplicación de pectinasas en la producción de Zumos .....	17
2.2.3. Bioprocesos... ..	18
2.2.3.1. Importancia de los bioprocesos en la agroindustria .....	18
2.2.3.2. Tipos de organismos vivos empleados en los bioprocesos .....	19
2.2.4. Bioproceso para la producción de enzimas .....	19
2.2.4.1. Operaciones Upstream.....	19
2.2.4.2. Fermentación.....	20
2.2.4.3. Operaciones Downstream.....	20
CAPÍTULO III. METODOLOGIA.....	23
3.1. Tipo de Investigación. ....	23
3.2. Diseño de Investigación.....	23
3.3. Técnicas de recolección de Datos.....	23

3.4. Métodos de análisis y procesamiento de datos .....	23
3.4.1. Método Prisma .....	24
<b>CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>26</b>
4.1. Resultados.....	26
4.1.1. Análisis de la base de datos .....	27
4.1.2. Idioma y año de Publicación .....	28
4.1.3. Proceso de Fermentación en la Obtención de Pectinasas .....	29
4.1.4. Condiciones y métodos de Extracción para Pectinasas .....	29
4.1.5. Condiciones y métodos para la purificación de Pectinasas .....	31
4.1.6. Evaluación de la actividad enzimática en la clarificación de zumos frutales.....	33
4.1.7. Matriz de Comparación .....	34
4.1.8. Proceso para la obtención de Pectinasas .....	34
4.2. Discusión .....	36
<b>CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>37</b>
5.1. Conclusiones.....	37
5.2. Recomendaciones .....	37
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>38</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>44</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Matriz de los estudios incluidos .....	26
<b>Tabla 2.</b> Condiciones durante la fermentación .....	30
<b>Tabla 3.</b> Condiciones y métodos de extracción (ECP) .....	31
<b>Tabla 4.</b> Condiciones y métodos de Purificación (ECP) .....	32
<b>Tabla 5.</b> Evaluación de la actividad enzimática en la clarificación de zumos frutales..	33
<b>Tabla 6.</b> Técnicas utilizadas en la extracción y Purificación de Pectinasas .....	34
<b>Tabla 7.</b> Lista de verificación PRISMA .....	45
<b>Tabla 8.</b> Matriz de Ponderación de los artículos analizados.....	49



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Diagrama de flujo adaptado del método PRISMA .....	25
<b>Figura 2.</b> Distribución porcentual según la base de datos seleccionada.....	28
<b>Figura 3.</b> Distribución porcentual por idioma y año de publicación .....	28
<b>Figura 5.</b> Diagrama de flujo de PRISMA .....	44

## RESUMEN

El objetivo principal de este trabajo es identificar los métodos de extracción y purificación en el bioprocesamiento de pectinasas aplicadas en la clarificación de zumos frutales. En esta investigación se realizó una revisión bibliográfica empezando con la identificación de las fuentes documentales y recopilando información para posteriormente seleccionarla con la ayuda de un diagrama de flujo de cuatro fases, establecido dentro del método PRISMA, teniendo como resultado 15 artículos que fueron analizados en su totalidad. Se elaboró una matriz comparativa de los métodos empleados en la obtención y purificación de enzimas además se detalló el proceso que debe llevarse a cabo para su obtención a pequeña escala, esto con la finalidad de determinar los métodos más eficientes que permitan tener una enzima purificada, que posteriormente pueda ser aplicada en procesos de clarificación de zumos frutales dentro de un laboratorio. De esta investigación se pudo constatar que el 80% de los autores coinciden que los métodos de precipitación por sulfato de amonio y cromatografía iónica ayudaron a tener una purificación total, esto acompañado de una extracción por centrifugación, dan como resultado una enzima totalmente pura, que al ser aplicada en la clarificación de zumos frutales fue la que obtuvo mejores resultados.

**Palabras claves:** Método prisma, obtención de enzimas, bioprocesamiento de pectinasas, aplicación de enzimas en clarificación, técnicas de purificación en pectinasas.

## ABSTRACT

The main objective of this work is to identify the methods of extraction and purification in the bioprocessing of pectinases applied in the clarification of fruit juices. In this research, a bibliographical review was carried out, starting with identifying the documentary sources and collecting information to later select it with the help of a four-phase flowchart established within the PRISMA method, resulting in 15 articles that were analyzed in their totality. A comparative matrix of the methods used to obtain and purify enzymes was elaborated. In addition, the process that must be carried out to get them on a small scale was detailed to determine the most efficient methods that allow having a purified enzyme. That can later be applied in fruit juice clarification processes in a laboratory. It was possible to verify that 80% of the authors agree that the precipitation methods by ammonium sulfate and ionic chromatography helped to get a total purification. This process accompanied by extraction and centrifugation, resulted in a pure enzyme, which, when applied in the clarification of fruit juices, was the one that obtained the best results.

Keywords: Prisma method, obtaining enzymes, bioprocessing of pectinases, application of enzymes in clarification, purification techniques in pectinases.



REVISOR ELECTRONICO  
MARCELA PATRICIA  
GONZALEZ ROBALINO

Reviewed by:  
Mgs. Marcela González Robalino  
**English Professor**  
c.c. 0603017708

## CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.

### 1.1. Antecedentes

La biotecnología es la unión de métodos, técnicas y procesos que manejan organismos vivos, entre ellos: bacterias, virus y hongos, manipulando parte de ellos o sus sistemas biológicos, buscando así mejorar cualquier proceso que sea de utilidad para las personas (Vega R. , 2020). Mediante la aplicación de técnicas biotecnológicas ha sido posible la obtención de enzimas con nuevas capacidades catalíticas y gracias a que los microorganismos productores de enzimas pueden ser modificados mediante ingeniería genética, se ha podido incrementar su producción, favoreciendo a que sea mayor la disponibilidad de enzimas para su aplicación dentro de las diferentes industrias siendo una de ellas la de bebidas y alimentos (Arroyo *et al*, 2014).

Las enzimas son un conjunto de moléculas de origen proteico, que catalizan o aceleran las reacciones bioquímicas que ocurren de forma natural en todos los seres vivos, estas han sido utilizadas desde la antigüedad para obtener productos como: el vino, queso, pan, entre otros. En la actualidad son utilizadas dentro de la industria alimentaria para la optimización de procesos y la creación de nuevos productos (Martín, 2016).

La Comisión Europea (2016), en su informe final denominado “Plataforma de bioprocesos para el sistema PGzyme de *A. sojae*” detalla que las pectinasas son enzimas que producen la descomposición de los enlaces presentes en la pectina, esta es producida de cepas seleccionadas mediante una fermentación controlada y siendo utilizadas con mayor frecuencia dentro de la industria alimentaria en procesos como la clarificación de zumos, generando la necesidad de buscar nuevas fuentes y métodos para su producción.

En este trabajo se realizó una revisión sistemática de los principales métodos de extracción y purificación en el bioprocesamiento de pectinasas para posteriormente compararlos y de esta manera encontrar el método óptimo para la producción de enzimas, que pueda ser aplicado posteriormente en la clarificación de zumos frutales.

### 1.2. Planteamiento del problema

La utilización de enzimas en la industria de alimentos es de gran importancia ya que son utilizadas en varios procesos, como es el caso de las pectinasas en la clarificación. Sin embargo, en la actualidad existen pocos reportes que hablen sobre los métodos adecuados de extracción y purificación en el bioprocesamiento de pectinasas, esto ligado a que muchas de estas enzimas “novedosas” se encuentran aún en etapa experimental y deben ser probadas. Lo que limita la obtención y uso de estas enzimas en las industrias de los países que están empezando a desarrollarse como es el caso del Ecuador (Del Moral *et al.*, 2015).

Los factores más importantes, en la elección correcta de un bioproceso adecuado para extraer y purificar enzimas son: El aspecto económico que sobrelleva los diversos procesos de separación y la necesidad de un ambiente que cumpla con los parámetros adecuados que permitan la aplicación de determinados criterios al momento de obtener la enzima sin comprometer las propiedades del producto final (Seguí, 2019). Estos dos

factores hacen difícil elegir un método de separación y purificación que no produzca cambios en la actividad enzimática de la pectinasa.

Debido a que existen numerosos métodos para su extracción y purificación es necesario una integración de procesos que ayuden a crear un proceso estandarizado, que maximice el rendimiento de la enzima durante el proceso de clarificación.

### **1.3. Justificación**

La aplicación de un tratamiento enzimático tiene muchas ventajas en el procesamiento de zumos frutales, en las que incluyen un aumento en el rendimiento, una mejor clarificación, un aumento de los sólidos solubles totales, una mejor licuefacción de la pulpa y una menor turbidez y viscosidad. La utilización de enzimas en la industria en especial las pectinasas, han tomado gran importancia en las últimas décadas por ello es muy importante buscar los métodos correctos que nos ayuden a optimizar los procesos de extracción y purificación de esta enzima ya que en la actualidad no existe un estudio que analice y compare los diferentes métodos existentes (Roldan, 2018).

Los fabricantes dentro de la industria de bebidas y alimentos manejan enzimas como una opción natural que ayude a optimizar los resultados dentro de la producción, la calidad y la consistencia del producto, ya que esto ayuda a reducir la utilización de aditivos artificiales. Favoreciendo a los fabricantes debido a que aumenta la posibilidad de cubrir la necesidad de ofrecer productos que sean seguros para el consumidor y que a su vez y puedan ser catalogado como productos “limpios” (Vega R. , 2020).

La presencia de carbohidratos estructurales presentes en los zumos después de su extracción va en contra de las características organolépticas esperadas por la industria y los consumidores, además de presentar pérdidas por merma lo que eleva los costos de producción. En la producción de zumos el proceso de clarificación se realiza con la ayuda de pectinasas, esto se realiza para mejorar sus propiedades sensoriales y sacar mayor provecho a la pulpa.

Por esto es importante la búsqueda de microorganismos que se adapten a las condiciones de trabajo extremas, que a su vez produzcan enzimas que sean una alternativa más segura y económica, esto se logra con enzimas provenientes de microorganismos aislados de alguna fuente de interés presentes en un extraído crudo que requieren su recuperación a través de etapas de purificación y extracción (Ramadán, 2019). El presente trabajo tiene como fin encontrar los métodos óptimos para la extracción y purificación en el bioprocesamiento de pectinasa que puedan ser aplicadas en la clarificación de zumos frutales en futuras investigaciones.

### **1.4. Objetivos: Generales y Específicos**

#### **1.4.1. Objetivo General**

Identificar los métodos de extracción y purificación en el bioprocesamiento de pectinasas aplicadas en la clarificación de zumos frutales.

#### **1.4.2. Objetivos Específicos**

- Determinar los métodos de extracción y purificación en el bioprocesamiento de pectinasas obtenidas de microorganismos (bacterias, hongos o levaduras), utilizando sustratos orgánicos, como medio de cultivo.
- Realizar una matriz comparativa de los métodos empleados durante la extracción y purificación de pectinasas y la importancia de su aplicación.
- Establecer los métodos más viables para la extracción y purificación de pectinasas, que puedan ser aplicados posteriormente en la clarificación de zumos frutales, mediante la utilización de la metodología prisma.

## **CAPÍTULO II. ESTADO DEL ARTE Y MARCO TEÓRICO.**

### **2.1.Estado del arte**

De acuerdo con Nawaz *et al.*, (2018) en su investigación denominada Extracción, Purificación y Aplicaciones Industriales de la Pectinasa indica que las pectinasas son de enorme importancia, ya que pueden emplearse en una variedad de procesos industriales que, en última instancia, conducen a mejorar la calidad y el rendimiento del producto, su obtención implica procesos de cribado, aislamiento, producción, purificación, caracterización y aplicación en el ámbito de la producción y clarificación de zumos de frutas.

Ishtiaq Ahmed *et al.*, (2015) en su estudio denominado “Bioprocessing of citrus waste peel for induced pectinase production by *Aspergillus niger*; its purification and characterization” establece que la producción máxima de pectinasa es realizada por hongos de este género en presencia de un sustrato más barato, favoreciendo a que la enzima biosintetizada sea útil en los sectores industriales de procesamiento de alimentos.

Según Ikenna *et al.*, (2015) en su investigación sobre la Extracción, purificación parcial y caracterización de pectinasas aisladas de especies de *Aspergillus* cultivadas en cáscaras de mango (*Mangifera indica*) utilizó cáscaras de mango molidas como única fuente de carbono para la fermentación del sustrato, se evaluó dentro de los siete días mediante el seguimiento de la actividad pectinasa cada 24h. La mayor secreción de pectinasa se obtuvo después de 92h de incubación, se purificó parcialmente mediante una combinación de precipitación con sulfato de amonio y diálisis y un rendimiento de 5,4, 7,66 y 5,99 %. La pectinasa tenía valores óptimos de pH y temperatura de 5,0 y 40 °C.

Josh *et al.*, (2017) en su investigación sobre la purificación y caracterización de pectinasa producida a partir de orujo de manzana y evaluación de su eficacia en la extracción y clarificación de zumos de frutas dedujo que la enzima parcialmente purificada mostró la mayor actividad durante la extracción de jugo y clarificación de jugos de ciruela, melocotón, pera. Para la recuperación de jugo de las pulpas tratadas enzimáticamente aumentó significativamente del 52 al 78 % en ciruela, del 38 al 63 % en melocotón, del 60 al 72 % en pera y del 50 al 80 % en albaricoque. La adición de pectinasa aumentó significativamente el color, los sólidos solubles totales (TSS), la acidez titulable y los azúcares totales en los jugos extraídos enzimáticamente.

### **2.2.Marco Teórico**

#### **2.2.1. Enzimas**

Son biomoléculas creadas por la unión de cadenas largas de aminoácidos por medio de enlaces peptídicos, comúnmente están formadas por una parte no proteica llamada cofactor que es el encargado de llevar a cabo la reacción, una proteica llamada apoenzima que es la encargada de dar la estructura específica que permita la unión con los sustratos o moléculas sobre las que actúan las enzimas y además presentan un centro

activo por la cual interactúan con las moléculas que se encuentran en el sustrato (García & Cely, 2020). Su principal característica es que son catalizadores biológicos, produciendo reacciones síntesis y de degradación rápida en los organismos vivos, por este motivo se ha generado un gran interés en su producción y utilización en las diferentes actividades comerciales (Bhardwaj *et al.*, 2017).

Dentro de la industria de alimentos las enzimas han tomado un papel muy importante ya que son utilizadas como aditivos para mejorar el aspecto, la textura, sabores y demás propiedades organolépticas en los diversos procesos de fabricación de alimentos. Los sectores que emplean enzimas dentro de la industria de alimentos son: el sector del almidón y azucarero, los productos lácteos, la panificación y productos derivados del trigo, la industria de grasa y aceites, productos cárnicos, la industria cervecera, además del sector de jugos y vinos (Moral *et al.*, 2015).

### **2.2.1.1.Importancia de la producción de enzimas con fines alimentarios**

Según (Martínez J., 2017), la aplicación de la también denominada biotecnología blanca está tomando impulso dentro de los productos demandados en el mercado actual, debido a su aplicación como:

- Personalización de diferentes productos como: bebidas alcohólicas, zumos, lácteos e incluso en el procesamiento de encurtidos, todo esto gracias a la optimización de los procesos fermentativos tradicionales.
- Desarrollo de productos nutracéuticos y funcionales que a través del cultivo de microorganismos ayudan a la obtención de alimentos con los que se logran combatir infecciones y enfermedades, además de aportar múltiples beneficios.
- Producción de aditivos, enzimas e ingredientes alternativos, que proporcionen alimentos más naturales, saludables y con mejores características.

### **2.2.1.2.Elementos importantes en el mecanismo de acción de las enzimas**

**Energía de Activación:** Es la energía necesaria para iniciar una reacción en la que la molécula inicial llamada sustrato es transformada a un producto final.

**Biocatalizador:** Se caracteriza por disminuir la cantidad de energía necesaria para producir en un ser vivo una reacción química, su ventaja es que no se alteran en el proceso y actúan de dos formas:

- Se fijan en el sustrato: debilitan sus enlaces y facilitan su ruptura.
- Atraen hacia la superficie los reactivos, facilitando su encuentro y por lo tanto su reacción.

**Reacciones enzimáticas:** Es la unión de la enzima y sustrato creando una nueva enzima, la cual transformará al sustrato en producto, quedando de esta manera nuevamente sola la enzima y lista para unirse nuevamente (García & Cely, 2020).

**Constante de Equilibrio:** Es la velocidad de reacción entre uno u otro sentido, este o no presente el catalizador (García & Cely, 2020).



### 2.2.2. Pectinasas

Son catalizadores proteicos sintetizados por organismos vivos, por células animales, vegetales o microbiológicas, cada una puede catalizar un solo tipo de reacción y casi siempre actúa en un único medio o sustrato (Hinojosa, 2020).

Las pectinasas poseen un sin número de aplicaciones en la industrialización, aunque dentro de la industria alimentaria ha hecho grandes aportes dentro de los procesos de filtración y clarificación de zumos de frutas (Chitosanlab, 2017).

#### 2.2.2.1. Estructura de las Pectinasas

Según (Hinojosa, 2020) en su estudio titulado “Purificación y caracterización de la enzima pectinasa producida por *Geobacillus* sp P4”, la estructura tridimensional de la pectinasa consta de un dominio de hebras- $\beta$  paralelas dobladas en un cilindro grande a la derecha. El doblado del dominio, denominado hélice- $\beta$  paralela, es compatible con todas las reglas estructurales aceptadas de una manera única. El cilindro central tiene forma de prisma debido a su disposición y consta de siete a nueve vueltas helicoidales completas. Los hilos del giro consecutivo se alinean para formar tres hojas- $\beta$  paralelas llamadas PB1, PB2 y PB3. PB1 y PB2 forman un sándwich antiparalelo  $\beta$ , mientras que PB3 se encuentra perpendicular a PB2.

#### 2.2.2.2. Clasificación de las Pectinasas

Según su aplicación la pectinasa puede clasificarse principalmente en dos grupos: pectinasas ácidas y pectinasas alcalinas.

- **Pectinasas ácidas.** -Son las enzimas utilizadas en la industria para la fabricación de vinos y de zumos de frutas. La mayoría son poligalacturonasas de origen fúngico (Arellano et al, 2014).
- **Pectinasas alcalinas.** - Son las que se han usado en varios procesamientos de carácter industrial como: el textil, en el cual es utilizado en el estirado de lino y en el procesamiento de fibras de plantas. Las enzimas que se utilizan en este sector provienen principalmente de bacterias, destacando las producidas por *Bacillus* (Arellano *et al.*, 2014).

#### 2.2.2.3. Aplicación de pectinasas en la producción de Zumos

Se caracteriza por la producción de pectinasas y su utilización en la industria de jugos de frutas, de acuerdo con las investigaciones existen varios métodos y tratamientos para su obtención y aplicación en procesos como la clarificación, la cual tiene como objetivo reducir la viscosidad facilitando los procesos después de la filtración ya que en la mayoría de los casos el contenido de pectina en los zumos de frutas es el causante de las dificultades en este proceso (Pilnik *et al.*, 2013). La aplicación más común de la pectinasa es en:

**Clarificación.** – Es la separación de las partículas insolubles y fragmentos vegetales, presentes en la piel y las semillas del zumo. La función de las pectinasas es romper la pectina contenidas en estas partículas, disminuyendo la viscosidad y floculación de las

micelas, facilitando la separación del zumo por filtración o sedimentación. En los casos de zumos claros y espumosos (manzana, uva), el uso de pectinasas ayuda a mejorar su clarificación, por otro lado, en zumos turbios (cítricos, tomates, néctares) las pectinasas ayudan a estabilizar su turbidez (Román, 2020).

**Extracción de zumos.** - Es la aplicación de pectinasas para aumentar el rendimiento en la extracción de zumos y tiene gran relevancia en frutas como bayas y manzanas. Ya que su pulpa con frecuencia es viscosa y semisólida después del prensado, esto produce que su parte soluble sea de difícil extracción (Hinojosa, 2020).

**Producción de concentrados.** - Son importantes comercialmente debido a su periodo de conservación más largo ya que esto ayuda a disminuir los costos de almacenamiento y transporte. La despolimerización de la pectina evita que los zumos se gelifiquen al momento de su almacenamiento (Hinojosa, 2020).

### **2.2.3. Bioprocesos**

Es la transformación a gran escala de un producto, mediante la aplicación de microorganismos, cultivos de células vegetales o animales o por materiales derivados de ellos, como las enzimas y los organelos (Ortega *et al*, 2017).

En definición los bioprocesos están dentro del concepto básico de biotecnología: “Biotecnología estudia la utilización de organismos vivos o una parte de ellos y así obtener un producto útil para el hombre”. Por otra parte, se conoce que un bioproceso incluye métodos de ingeniería química en cada proceso biotecnológico (Rosales, 2019).

#### **2.2.3.1. Importancia de los bioprocesos en la agroindustria**

Son una parte primordial dentro de la agroindustria, debido a que se utilizan microorganismos como bacterias y hongos para la obtención de ciertas sustancias de interés como las enzimas, todo esto con la utilización de un biorreactor que facilita su obtención, para posteriormente ser empleadas en la creación de nuevos productos, ayudando a eliminar desechos peligrosos y características poco deseadas en algún producto, entre otras (Ortega *et al*, 2017). La utilización de microorganismos para la elaboración de alimentos ha sido estudiada desde mucho tiempo atrás, en la actualidad se ha ido seleccionando las mejores cepas de bacterias o levaduras que ahora deben contar con ciertas características para su procesamiento como lo especifica Gomez (2020):

- La célula tiene que ser pequeña, facilitando de esta manera el intercambio de sustancias con el exterior, admitiendo de esta forma una alta tasa metabólica.
- Producirse rápidamente en cultivos a gran escala, en menos tiempo.
- Su medio de cultivo debe conseguirse fácilmente en gran cantidad y económico.
- No debe ser dañino para el hombre, animales y plantas.
- Que el microorganismo produzca sustancias de interés.
- Ser estable genéticamente y pueda encontrarse en estado puro.

### 2.2.3.2. Tipos de organismos vivos empleados en los bioprocesos

Dentro de los bioprocesos teóricamente se puede aplicar cualquier tipo de organismos vivos, pero de acuerdo con las propiedades que presentan, dentro de la práctica se ha utilizado principalmente las bacterias procariotas y los hongos eucariotas, utilizando para este proceso organismos puros (Gonzales, 2018).

**Bacterias.** - Son microorganismos procariotas unicelulares, tienen una pared rígida y a pesar de existir en abundancia, solo una pequeña parte de su población ha sido estudiada y se utilizan comercialmente como biocatalizadores. Los géneros que se utilizan con más frecuencia son: *Escherichia*, *Corynebacterium*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Acetobacter*, *Pseudomonas*, *Zymomonas* y *Lactobacillus*. Para los bioprocesos se utilizan bacterias salvajes presentes en la Naturaleza y cada vez es más frecuente, la utilización de cepas bacterianas modificadas por ingeniería genética. (Gonzales, 2018).

La mayor ventaja de la utilización de bacterias en la producción de enzimas es que pueden ser cultivadas en grandes volúmenes y con un precio económico, con tasas altas de productividad.

**Hongos.** - Se clasifican en dos subgrupos: levaduras y mohos. Las levaduras son pequeñas y unicelulares, crecen aisladas o se agrupan, la más común dentro de los procesos agroindustriales es la *Saccharomyces cerevisiae*, estas levaduras son utilizadas en fermentaciones anaerobia, levadura panadera y extracto de levadura como aditivo alimentario y en la producción de proteína recombinante. Los mohos son los que disponen de una estructura vegetativa multicelular denominada micelio, que se caracteriza por normalmente ser un sistema de túbulos altamente ramificado. Los géneros más conocidos en la industria alimentaria es principalmente el *Aspergillus*, utilizado en la producción de ácido cítrico (Gonzales, 2018).

### 2.2.4. Bioproceso para la producción de enzimas

Se caracteriza por tomar en cuenta todas las variables que ayuden a determinar el número de etapas y el tipo de operaciones unitarias que van a emplearse (Seguí, 2019).

El proceso para la producción de enzimas también dependerá del tipo de escala en la que se vaya a trabajar, en el caso de laboratorio con enzimas específicas y en escala industrial con enzimas de uso masivo, tomando en cuentas características como: la pureza requerida que va especificada de acuerdo al uso que se le vaya a dar a la enzima, del número de operaciones aplicadas dentro del proceso de obtención y purificación, ya que de esto dependerá el costo del producto (Castañeda, 2019).

También hay que considerar el tipo de microorganismo que sintetizará nuestra enzima, estos pueden ser: hongos filamentosos, bacterias o levaduras.

#### 2.2.4.1. Operaciones Upstream.

Son todas las operaciones que se realizan previas al proceso fermentativo, desde el ingreso de materias primas, esterilización del medio de cultivo, manejo del inóculo y además brindar las condiciones necesarias, que posteriormente se irán controlando

durante la fermentación como es: La temperatura, pH, agitación, entre otras. Según Servat (2016) las operaciones típicas empleadas en este procesamiento son:

### **Formulación del medio**

Es disponer de los nutrientes adecuados para el crecimiento de microorganismos y la producción de la enzima de interés. El costo final de la enzima a obtener dependerá de la calidad y cantidad los nutrientes, además de la escala que se va a emplear para su producción y los requerimientos nutricionales del microorganismo. Aunque estos datos se encuentran planteados bibliográficamente es recomendable buscar nuevos métodos que ayuden al aprovechamiento del medio de cultivo y así maximizar la producción de enzimas evitando pérdidas durante su procesamiento (Huerta, 2018).

### **Esterilización del medio**

La enzima es producida en medios de cultivos con las características óptimas, por lo tanto, el medio de cultivo, el biorreactor y todo lo que ingresa al proceso de fermentación debe ser esterilizado. Esta operación ayuda a eliminar completamente la carga microbiana presente en los materiales, esto debido al contacto que se pudo tener con el ambiente. Regularmente la esterilización se da por tratamiento térmico en intercambiadores de calor o autoclaves, aunque en algunos casos por filtración absoluta (Castañeda, 2019).

#### **2.2.4.2.Fermentación**

Es un proceso de tipo aerobio o anaerobio donde acontece el crecimiento de microorganismos y la producción de productos de interés a expensas de los nutrientes del medio de cultivo. Mediante la fermentación se producen enzimas en sustrato sólido (FSS) o cultivo líquido sumergido (FLS) (Quintana, 2016). Los cuales se describen a continuación:

- **Fermentación en sustrato sólido (FSS).** - Se caracteriza porque no hay agua libre, los microorganismos (usualmente hongos filamentosos) crecen en superficies sólido-húmedas que por lo general es una mezcla de residuos agroindustriales. Por la dificultad para controlar y mezclar durante el proceso es poco utilizado actualmente, salvo en casos especiales (Borras & Torres, 2016).
- **Fermentación en líquido sumergido (FLS).** - Se caracteriza porque hay una gran cantidad de agua libre utilizable y nutrientes que están en solución. Este método de fermentación es utilizado con mayor frecuencia ya que es sencillo y se puede controlar las variables, asimismo puede ser usado para una gran variedad de microorganismos (Tejeda, 2012).

#### **2.2.4.3.Operaciones Downstream**

Es conocido como operaciones de recuperación de producto o downstream, implica el aislamiento y purificación de productos de origen biotecnológicos de manera que sean convenientes para la aplicación a la que estén destinados.

Los procesos de recuperación consisten en un conjunto de operaciones unitarias que en ciertas ocasiones se repiten a menudo, tales como la filtración, centrifugación, la concentración por evaporación, la cristalización, el secado, entre otras. La complejidad y la cantidad de etapas empleadas durante este proceso dependerá de la pureza requerida, que va a ser determinada de acuerdo con su aplicación, las operaciones más comunes en este proceso según (Seguí, 2019) son:

### **Recuperación**

Es la primera etapa de extracción en la que se produce la liberación de la enzima, esta emplea diferentes métodos de extracción y ruptura mecánica de los cuales podemos nombrar las siguientes: Filtración por centrifugación, Trituración con arena, Trituración en mezclador de alta velocidad, Homogeneización a pistón, Prensa francesa, Sonicación, y Congelación con nitrógeno líquido y macerado (García & Cely, 2020). A continuación, se detalla el más empleado dentro de la obtención de enzimas.

**Filtración por Centrifugación.** - Es un procedimiento mecánico de separación, de sólidos que se encuentran dispersos dentro de una fase líquida, por medio de una fuerza gravitacional acelerada alcanzada por una rotación rápida (Rodrigo, 2012).

### **Purificación**

Se caracteriza por eliminar todos los contaminantes que se encuentren en el extracto crudo y que puedan interferir en el rendimiento de las enzimas al momento de ser aplicada dentro de un proceso. Hay que tomar en cuenta, que, durante el proceso de purificación y almacenamiento, puede presentarse procesos que afecten: la calidad, desnaturalización, degradación y pérdida de función de las enzimas, por esto se recomienda que la purificación sea rápida y bajo condiciones estables para garantizar la estabilidad de la enzima y una purificación exitosa (Carvajal, 2017).

Entre los métodos más comunes en la purificación de enzimas están los que se describen a continuación:

- **Ultrafiltración.** - Se caracteriza por fraccionar, separa y concentrar sustancias sin que estas sufran cambios de fase, para ellos se utiliza una membrana semipermeable con poros de un tamaño definido que va de acuerdo con el tamaño de partículas que pasaran a través de esta. Debido a que la membrana es semipermeable, es necesario aplicar una presión de 4 a 8 atm, que ayude a las partículas a fluir a través de ella (Leslie, 2013).
- **Cromatografía de intercambio iónico.** - Es separar enzimas de acuerdo con su carga neta o a un determinado pH. Esta técnica de purificación tiene como objetivo la separación de mezclas aprovechando la capacidad de interacción de cada componente en otra sustancia, esto se produce al pasar una fase móvil compuesta por una muestra que contiene el compuesto de interés a través de una fase estacionaria, fija y sólida, esta fase retrasa el paso de los componentes, que luego de un tiempo logra atravesar la lámina a diferentes velocidades (Vega C. , 2017).
- **Diálisis.** - Es un método de filtración molecular que separa las moléculas por su tamaño, en el momento en que una disolución macromolecular se coloca en el saco de

diálisis el cual se sumerge en un gran volumen de disolvente nuevo, de esta manera las moléculas pequeñas traspasan la membrana hasta el fluido, permaneciendo dentro de la membrana solo las macromoléculas. El proceso puede repetirse algunas veces hasta sustituir completamente un sistema disolvente por otro.

- **Precipitación por salado o “salting-out”.** - Es un método que se lleva a cabo cuando la enzima es sometida a concentraciones salinas elevadas, esto debido a que su solubilidad es sensible a la concentración de sales disueltas en una solución acuosa, esta concentración también es conocida como fuerza iónica. A fuerza mayor fuerza iónica se reduce la solubilidad de las enzimas, produciéndose una precipitación en el soluto. El Sulfato de amonio es el reactivo más utilizado durante este proceso (Seguí, 2019).

### **Formulación**

Es una serie de operaciones relacionadas a la estabilización, estandarización y presentación del producto de acuerdo con su aplicación, estas pueden ser sólidas o líquidas (Castañeda, 2019).

**Enzimas en forma sólida.** - Es la enzima obtenida mezclada con estabilizantes y sometida a un proceso de secado. Los métodos de secado más comunes son la liofilización y el secado a baja temperatura. Sus principales beneficios según Castañeda (2019) son:

- Alarga la vida útil del producto debido a que se disminuye la actividad acuosa.
- Se facilita el almacenamiento ya que, puede estar a una temperatura ambiente.
- Son fácilmente transportables

**Enzimas en forma líquida.** - Son enzimas que incluyen la adición de estabilizantes, su concentración y su posterior filtración. Entre los estabilizantes usados con mayor frecuencia están la sacarosa y glucosa, hay que tener en cuenta que el producto final debe ser filtrado para eliminar los sólidos insolubles y disminuir la carga microbiana (Castañeda, 2019). Entre los beneficios más comunes de estas enzimas están:

- El fácil manejo y su dosificación.
- No necesita operaciones de secado lo que representa un ahorro energético.

## **CAPÍTULO III. METODOLOGIA.**

### **3.1. Tipo de Investigación.**

En el presente trabajo investigativo se aplicó una revisión bibliográfica o sistemática basada en la búsqueda y revisión de trabajos científicos, relacionados a los métodos de extracción y purificación en el bioprocesamiento de pectinasas aplicadas en la clarificación de zumos frutales, analizando cada dato obtenido de las investigaciones para comparar y procesar dichos resultados de forma crítica.

### **3.2. Diseño de Investigación**

Es un diseño descriptivo con un enfoque de recolección de datos de tipo cualitativo ya que se analizó investigaciones determinando los parámetros y características aplicadas en un periodo de tiempo de 10 años (2012 a 2022), en el cual se recurrió a la búsqueda de información secundaria que aborde la problemática, utilizando durante la búsqueda las principales bases de datos indexadas como: “El Sevier”, “Google Académico”, “Science Direct”, “Index” y “Scielo” las cuales apoyaron a la sustentación teórica.

### **3.3. Técnicas de recolección de Datos.**

A través de la utilización de los buscadores Google académico y Science Direct y con el uso de palabras claves tanto en español como en inglés: “pectinasas”, “clarificación”, “obtención” o “extracción”, para poder ajustar al tema principal, además se empleó otras palabras como: bioprocesamiento de pectinasas aplicadas en la clarificación de zumos frutales, purificación de pectinasas aplicadas en la clarificación de zumos de frutas. Se obtuvo como resultado información secundaria en 480 documentos entre ellos artículos de revistas e investigaciones realizadas anteriormente, luego aplicando los criterios de inclusión y exclusión, fueron descartados 422 registros. De los 58 artículos relevantes al seleccionarlos por el título y por el resumen se eliminaron 18 quedando un total de 40 artículos y tras aplicar los filtros de exclusión y leer sus contenidos solo se abordaron en esta investigación 15 artículos, como se puede observar en la figura 1.

### **3.4. Métodos de análisis y procesamiento de datos**

Esta investigación se encuentra dentro de la metodología cualitativa y de una revisión bibliográfica sistemática, con la ayuda del método Prisma se analizó la información encontrada, tomando en cuenta varios artículos científicos relacionados a los métodos de extracción y purificación en el bioprocesamiento de pectinasas. Además, se tomó la información de otros estudios que ayudó a la revalidación de la investigación. Este proceso se encuentra detallado más adelante en la figura 1.

### **3.4.1. Método Prisma**

Dentro de la investigación se utilizó la metodología PRISMA, que con la ayuda de un diagrama de flujo compuesta de 4 fases: identificación, selección, elección e inclusión, permitió determinar el número específico de artículos y documentos que se utilizaron en la investigación bibliográfica para su posterior análisis y discusión, mediante la aplicación de los parámetros de exclusión e inclusión.

#### **Criterios de inclusión**

Los criterios de inclusión para los artículos científicos en la presente investigación bibliográfica fueron aquellos que:

- Contengan temas sobre métodos para la obtención de enzimas pectinasas aplicados en la industria alimentaria.
- Cumplan con el criterio de 10 años de publicación
- Tengan como idiomas principales inglés y español.

#### **Criterios de exclusión**

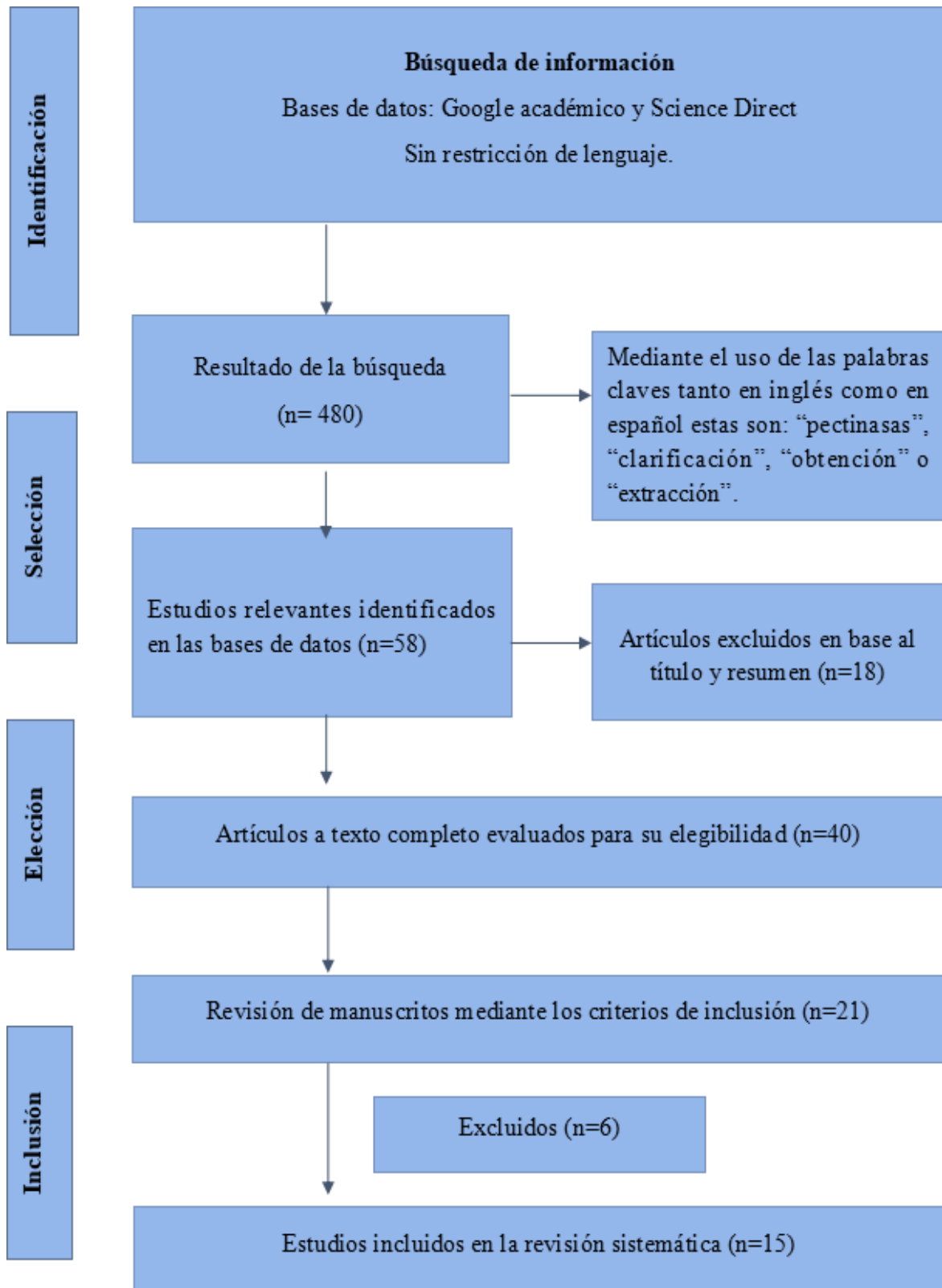
Para los criterios de exclusión se descartó los artículos que:

- No tengan información sobre el estudio de métodos de extracción de enzimas
- No cumplan con el criterio de 10 años de publicación
- Sean filtrados en base a su resumen y título
- Esten duplicados



**Figura 1.**

*Diagrama de flujo adaptado del método PRISMA*



*Nota:* Adaptado de Diagrama de flujo del método PRISMA, en el que se muestra el proceso de recolección de datos y clasificación de información.

## CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Resultados

**Tabla 1.**

*Matriz de los estudios incluidos*

Nº	Autor	Tema	Año	Idioma	Buscador	Nombre Revista
1	Arellano <i>et al.</i>	Efecto de la temperatura y pH sobre la actividad y estabilidad de pectinasas producidas por <i>Bacillus spp.</i>	2014	Español	Google académico	REBIOL
2	V. K. Josh <i>et al.</i>	Purification, characterization of pectinase produced from apple pomace and its evaluation in the fruit juice extraction and clarification	2012	Ingles	Science Direct	Journal of Biotechnology
3	Asia Ahmed <i>et al.</i>	Characterization of pectinase from <i>Geotrichum candidum</i> AA15 and its potential application in orange juice clarification	2018	Ingles	Science Direct	Journal of King Saud University – Science
4	Ishtiaq Ahmed <i>et al.</i>	Bioprocessing of citrus waste peel for induced pectinase production by <i>Aspergillus niger</i> ; its purification and characterization	2015	Ingles	Science Direct	Elsevier
5	Jenika Prajapati <i>et al.</i>	Production of thermal and acid-stable pectinase from <i>Bacillus subtilis</i> strain BK-3: Optimization, characterization, and application for fruit juice clarification	2021	Ingles	Science Direct	Elsevier
6	Julienne da Camara Rochaun <i>et al.</i>	Yellow mombin Pulp residue valorization for pectinases production by <i>Aspergillus niger</i> IOC 4003 and its application in juice clarification	2020	Ingles	Google académico	Elsevier
7	Salamún de	Effect of <i>Bacillus tequilensis</i> SALBT crude extract with pectinase activity on	2019	Ingles	Google académico	Journal of Biotechnology

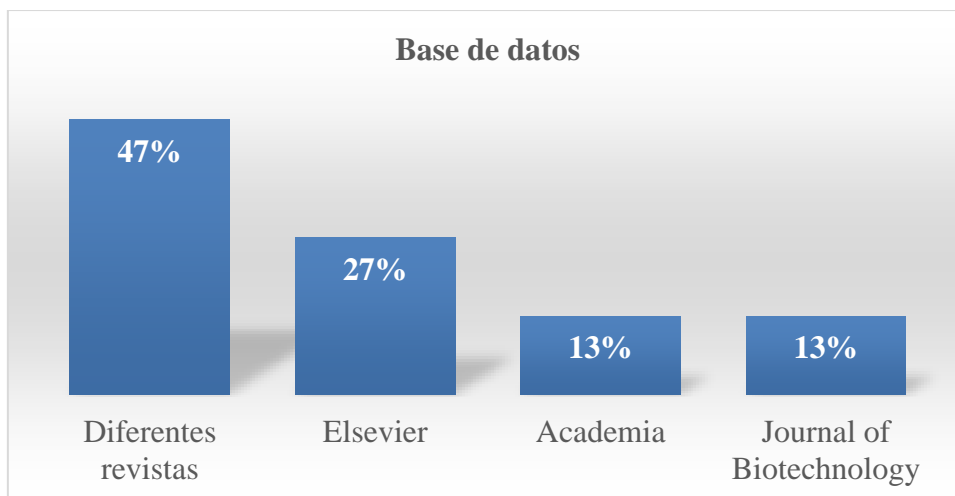
		demucilation of coffee beans and juice clarification					
8	Yannam Sudheer Kumar <i>et al.</i>	Pectinase Production from Mango peel Using <i>Aspergillus foetidus</i> and its application in Processing of Mango Juice	2018	Ingles	Google académico	Food Biotechnology	
9	Mehmod Tahir <i>et al.</i>	Pectinase Production from <i>Schizophyllum commune</i> Through Central composite Design Using Citrus Waste and its immobilization for industrial exploitation	2017	Ingles	Google académico	Springer Science	
10	Elangovan Namasivayam <i>et al.</i>	Production of Extracellular Pectinase by <i>Bacillus Cereus</i> Isolated From market Solid waste	2012	Ingles	Google académico	Academia	
11	García-Hernández <i>et al.</i>	Pectinase production, purification, and immobilization from <i>Aspergillus awamori</i> .	2015	Ingles	Google académico	Academia	
12	Sudeep KC <i>et al.</i>	Production, characterization, and industrial application of pectinase enzyme Isolated from fungal strains	2020	Ingles	Google académico	Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)	
13	D.R. Kashyap <i>et al.</i>	Production, purification, and characterization of pectinase from a <i>Bacillus sp.</i> DT7	2017	Ingles	Google académico	Revista mundial de Biotecnología	
14	Karabi Roy <i>et al.</i>	Extracellular Pectinase from a novel Bacterium <i>Chryseobacterium indologenes</i> Strain SD and Its application in Fruit Juice clarification	2018	Ingles	Google académico	Hindawi	
15	Leda R. Castilho	Production and extraction of pectinases obtained by solid state fermentation of agroindustrial residues with <i>Aspergillus niger</i>	2021	Ingles	Google académico	Elsevier	

#### 4.1.1. Análisis de la base de datos

Con el número de documentos encontrados en la base de datos se construye la figura 2.

**Figura 2.**

*Distribución porcentual según la base de datos seleccionada*



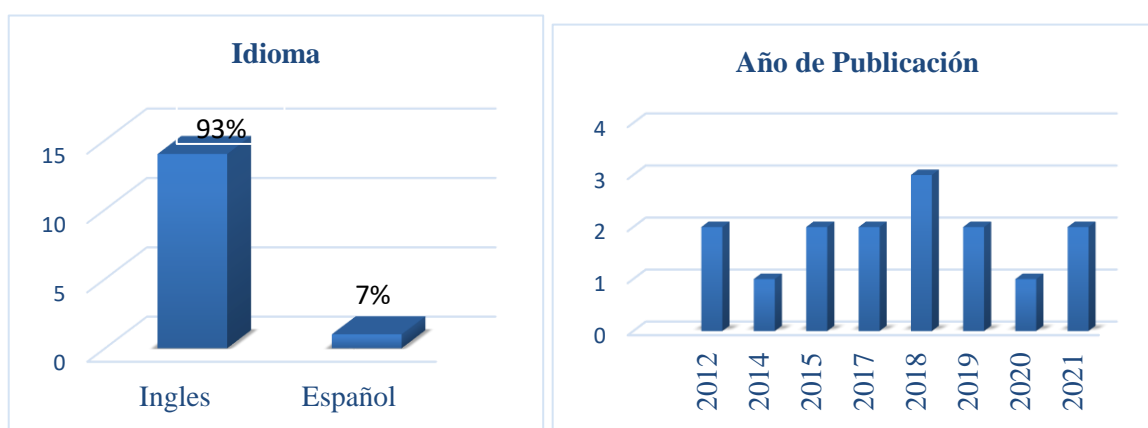
Los artículos seleccionados corresponden a diferentes revistas científicas de gran impacto de las cuales sobresale la revista Elsevier con un 27%, Academia y Journal of Biotechnology con un 13% cada una, mientras que el 47% restante pertenecen a otras revistas indexadas a las bases de datos, estos artículos se basan en estudios relacionados sobre los métodos de extracción y purificación de pectinasas y su aplicación en la clarificación de zumos frutales

#### **4.1.2. Idioma y año de Publicación**

En la figura 3 se muestra los años de publicación de los diferentes documentos y el idioma en el que se redactan.

**Figura 3.**

*Distribución porcentual por idioma y año de publicación*



El 93 % de los artículos analizados son del idioma inglés mientras que el 7% corresponden al idioma español, además estos artículos corresponden a un intervalo de tiempo desde el año 2012 al 2021.

#### **4.1.3. Proceso de Fermentación en la Obtención de Pectinasas**

En la tabla 2 que está a continuación se detalla los parámetros más importantes durante el proceso de fermentación para la obtención de pectinasas. Entre los principales microorganismos utilizados en las investigaciones se encuentra, el 47% es del hongo del género *Aspergillus*, mientras que el 33% es de la bacteria del género *Bacillus*, por otra parte, el 20% restante utilizó para sus investigaciones, hongos del género *Schizophyllum*, *A; Geotrichum* y bacterias del género *Chryseobacterium indologenes*. En cuanto al sustrato utilizado en el enriquecimiento del cultivo el 60% de los artículos analizados utilizó un sustrato orgánico de residuos cítricos, otras frutas, Bagazo de caña y salvado de trigo, mientras que el 40% restante utilizó otro tipo de sustrato.

Para el medio de cultivo el 67% de los artículos detalla un medio líquido, mientras que el 33% un medio sólido. El equipo utilizado para la fermentación fue el 67% agitador rotatorio y el 27% incubadora, el porcentaje restante no detalla ningún dato. En el caso del fermentador rotatorio utilizan una velocidad que oscila entre el 120 y 300 rpm. Para la fermentación se utiliza una temperatura que va desde los 30 hasta los 50°C, Con un pH que está entre los 4 y 8,5 y un tiempo estimado de 4 a 144 horas.

#### **4.1.4. Condiciones y métodos de Extracción para Pectinasas**

En la tabla 3 se detalla los parámetros más importantes durante el proceso de extracción de pectinasas. Durante la extracción el 67% de los artículos utilizó la centrifugación en medio líquido, mientras que el 33% utilizó técnicas como la hidratación, filtración, centrifugación y en un caso el prensado en medio sólido. La centrifugación se da a una velocidad que va desde los 160 hasta los 10000 rpm, por un tiempo estimado de 5 a 30 minutos, a una temperatura que en el 67% de los casos es de 4°C, el 6% a 35°C y el 27% no registra datos.

**Tabla 2.**

Condiciones durante la fermentación

Nº	Autor	Bacteria	Sustrato	Medio de cultivo	Equipo	Velocidad (rpm)	T °C	Tiempo (h)	PH
1	Arellano <i>et al.</i>	<i>Bacillus spp.</i>	-	Líquido	Agitador rotatorio	300	35	24-48	6,5
2	V. K. Josh <i>et al.</i>	<i>Aspergillus Niger</i>	Orujo de manzana	Sólido	Incubadora	-	-	-	-
3	Asia Ahmed <i>et al.</i>	<i>Geotrichum candidum AA15</i>	-	Líquido	-	-	35	14-144	5
4	Ishtiaq Ahmed <i>et al.</i>	<i>Aspergillus Niger</i>	Residuos de naranja	Líquido	Agitador rotatorio	180	35	120	5,5
5	Jenika Prajapati <i>et al.</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	Residuo de cítricos	Líquido	Agitador rotatorio	-	45-50	120	5
6	Juliene da Camara Rochaun <i>et al.</i>	<i>Aspergillus niger IOC 4003</i>	Mombina amarilla (Ciruela)	Sólido	Incubadora	-	30-40	72	4 a 6
7	Salamún de	<i>Bacillus tequilensis</i>	-	Líquido	Agitador rotatorio	120	37-40	48	7,4
8	Yannam Sudheer Kumar <i>et al.</i>	<i>Aspergillus foetidus</i>	Cáscara de mango	Sólido	Incubadora	-	35	120	5
9	Mehmod Tahir <i>et al.</i>	<i>Schizophyllum A</i>	Cáscaras de frutos de mosambi (lima dulce)	Sólido	Agitador rotatorio	120	35	72-96	6
10	Elangovan Namasivayam <i>et al.</i>	<i>Bacillus Cereus</i>	Bagazo de caña azucarera, salvado de arroz, trigo	Líquido	Agitador rotatorio	200	37	48	8,5
11	García-Hernández <i>et al.</i>	<i>Aspergillus awamori</i>	Cascara de naranja	Líquido	Agitador rotatorio	225	37	96	5,5
12	Sudeep KC <i>et al.</i>	<i>Aspergillus spp. Penicillium spp. Lco, fusarium spp.</i>	-	Líquido	Agitador rotatorio	150	30	144	4,2
13	D.R. Kashyap <i>et al.</i>	<i>Bacillus spp.</i>	-	Líquido	Agitador rotatorio	150	37	-	-
14	Karabi Roy <i>et al.</i>	<i>Chryseobacterium indologenes</i>	-	Líquido	Agitador rotatorio	125	37	72	-
15	Leda R. Castilho	<i>Aspergillus niger</i>	Salvado de trigo y soya	Sólido	Incubadora	-	30	13-96	-

**Tabla 3.***Condiciones y métodos de extracción (ECP)*

Nº	Autor	Medio de cultivo	Método	Velocidad (rpm)	Tiempo (min)	T °C
1	Arellano <i>et al.</i>	Líquido	Centrifugación	5000	15	-
2	V. K. Josh <i>et al.</i>	Sólido	Hidratación Filtración Centrifugación	10000	30	-
3	Asia Ahmed <i>et al.</i>	Líquido	Centrifugación	3000	15	-
4	Ishtiaq Ahmed <i>et al.</i>	Líquido	Centrifugación	10000	15	4
5	Jenika Prajapati <i>et al.</i>	Líquido	Centrifugación	10000	5	-
6	Julienne da Camara Rochaun <i>et al.</i>	Sólido	Hidratación Filtración Centrifugación	3500	15	4
7	Salamún de	Líquido	Centrifugación	5000	15	4
8	Yannam Sudheer Kumar <i>et al.</i>	Sólido	Hidratación Filtración Centrifugación	-	-	4
9	Mehmod Tahir <i>et al.</i>	Sólido	Hidratación Filtración Centrifugación	4000	10	4
10	Elangovan Namasivayam <i>et al.</i>	Líquido	Centrifugación	5000	15	4
11	García-Hernández <i>et al.</i>	Líquido	Centrifugación	4000	30	4
12	Sudeep KC <i>et al.</i>	Líquido	Centrifugación	10000	30	4
13	D.R. Kashyap <i>et al.</i>	Líquido	Centrifugación	7000	10	4
14	Karabi Roy <i>et al.</i>	Líquido	Centrifugación	7000	15	4
15	Leda R. Castilho	Sólido	Hidratación Agitación Prensado	160	30	35

**4.1.5. Condiciones y métodos para la purificación de Pectinasas**

En la tabla 4 que se encuentra a continuación se detalla los parámetros más importantes durante el proceso de purificación en la obtención de pectinasas.

**Tabla 4.***Condiciones y métodos de Purificación (ECP)*

Nº	Autor	Tipo de Purificac.	Método	Sustanc	Equipo	Veloc. (rpm)	Tiemp. (min)	T °C
1	Arellano <i>et al.</i>	No aplica						
2	V. K. Josh <i>et al.</i>	Parcial	Precipitación	Sulfato de amonio	Agitador magnético	-	-	4
3	Asia Ahmed <i>et al.</i>	No aplica						
4	Ishtiaq Ahmed <i>et al.</i>	Completa	Precipitación Diálisis Cromatografía iónica	Sulfato de amonio	Columna de intercambio iónico	-	-	-
5	Jenika Prajapati <i>et al.</i>	Completa	Precipitación Diálisis Cromatografía iónica	Sulfato de amonio	Columna de intercambio iónico	-	-	-
6	Julienne Camara Rochaun <i>et al.</i>	No aplica						
7	Salamún de	Parcial	Precipitación Diálisis	Sulfato de amonio	Agitador magnético		30	4
8	Yannam Sudheer Kumar <i>et al.</i>	No aplica						
9	Mehmod Tahir <i>et al.</i>	No aplica						
10	Elangovan Namasivayam <i>et al.</i>	Parcial	Precipitación Diálisis	Sulfato de amonio	Centrifuga	3000	10	-
11	García-Hernández <i>et al.</i>	Completa	Precipitación Filtración Ultrafiltración membrana con un MWCO	Sulfato de amonio	Agitador magnético	4000	30	4
12	Sudeep KC <i>et al.</i>	Parcial	Precipitación	Sulfato de amonio	Centrifuga	4000	20	4
13	D.R. Kashyap <i>et al.</i>	Completa	Precipitación Diálisis Cromatografía	Sulfato de amonio	Centrifuga Columna de intercambio iónico	200	12h	37
14	Karabi Roy <i>et al.</i>	No aplica						
15	Leda R. Castilho	No aplica						

En los artículos seleccionados el 47% no aplica un método de purificación en sus estudios, mientras que el 53% si aplica. De los artículos que utilizan un método de purificación el 50% de las investigaciones usa el método de precipitación y diálisis para obtener una purificación parcial, mientras que el 38% de los casos aplica un método secuencial (precipitación, diálisis y cromatografía iónica) para una purificación total y



solo el 12% utiliza la filtración y ultrafiltración obteniendo como resultado final la purificación total. En los casos donde se purifico mediante precipitación se utilizó un agitador magnético o una centrífuga, aplicando una velocidad que va desde los 200 hasta 4000 rpm, una temperatura de 4°C y en el caso de purificación por cromatografía se utilizó una columna de intercambio iónico.

#### 4.1.6. Evaluación de la actividad enzimática en la clarificación de zumos frutales

En la tabla 5 se detalla los parámetros más importantes durante la aplicación de enzimas en el proceso de clarificación.

**Tabla 5.**

*Evaluación de la actividad enzimática en la clarificación de zumos frutales*

Nº	Autor	Concentración enzimática (%: v/v (ml))	T °C	Tiempo (h)	Resultado de la clarificación
1	Arellano <i>et al.</i>	No aplica			
2	V. K. Josh <i>et al.</i>	1	27	12	Rendimiento: 73%
3	Asia Ahmed <i>et al.</i>	6	30	3	Rendimiento: 39%
4	Ishtiaq Ahmed <i>et al.</i>	No aplica			
5	Jenika Prajapati <i>et al.</i>	1	30	3	Rendimiento: 68%
6	Juliene da Camara Rochaun <i>et al.</i>	1	40	1	Rendimiento: 36%
7	Salamún de	1	45	1	Visual: presenta clarificación en pequeña cantidad
8	Yannam Sudheer Kumar <i>et al.</i>	1	40	2,30	Rendimiento: 23%
9	Mehmod Tahir <i>et al.</i>	1	35	1	Rendimiento: 20%
10	Elangovan Namasivayam <i>et al.</i>	1	40	20	Visual: presenta clarificación en pequeña cantidad
11	García-Hernández <i>et al.</i>	No aplica			
12	Sudeep KC <i>et al.</i>	1	30	1	Espectrofotometría: 21.0% Transmitancia
13	D.R. Kashyap <i>et al.</i>	No aplica			
14	Karabi Roy <i>et al.</i>	1,5	40	1	Visual: Si presenta clarificación
15	Leda R. Castilho	No aplica			

Durante el proceso de clarificación el 60% de los autores utilizó concentraciones enzimáticas menores o igual al 1%, el 13% de los autores uso una concentración mayor al 1% y el 27% restante no registra datos en sus investigaciones. Este proceso se realizó a una temperatura que va desde los 27°C hasta los 45°C, con un intervalo de tiempo de 1 a 12 horas. Teniendo como resultado una clarificación positiva en cada uno de los casos en los que se aplicó la enzima obtenida. La clarificación se midió de forma visual, de

acuerdo con el rendimiento y por espectrofotometría, calculando su porcentaje de transmitancia.

#### 4.1.7. Matriz de Comparación

En la tabla 6 se realizó una matriz comparativa de acuerdo con los resultados obtenidos en la aplicación de las diferentes técnicas de extracción y purificación de pectinasas.

**Tabla 6.**

*Técnicas utilizadas en la extracción y Purificación de Pectinasas*

<b>Métodos</b>	<b>Resultados</b>
<b>Precipitación por salado o “salting-out”</b>	Los artículos que utilizaron solo la precipitación como método de purificación, tuvieron una purificación parcial con un rendimiento del 30% de pectinasa purificada usando Sulfato de Amonio.
<b>Cromatografía de intercambio iónico</b>	La utilización este método proporcionó enzimas con una pureza alta, que va desde el 90%.
<b>Diálisis</b>	La aplicación de este método proporciona enzimas de mayor rendimiento, pero con menor pureza, necesitando la aplicación de técnicas como precipitación para una mayor pureza. Se obtuvo una purificación parcial con un rendimiento del 70,4%.
<b>Ultrafiltración</b>	La aplicación de este método proporciona enzimas de mayor rendimiento, pero con menor pureza, al momento de utilizarse juntamente con la precipitación dará como resultado enzimas con una pureza alta, de hasta el 98%.
<b>Filtración por Centrifugación</b>	El resultado es un sobrenadante denominado extracto crudo de pectinasa (ECP).

De acuerdo con la tabla de comparación de las técnicas utilizadas en la purificación de pectinasas, se puede apreciar que técnicas como la cromatografía de intercambio iónico y la ultrafiltración tienen resultados de purificación mayores al 90%.

#### 4.1.8. Proceso para la obtención de Pectinasas

En la revisión de la literatura los factores de influencia durante la obtención de pectinasas están relacionados a ajustes de tiempos, temperaturas, concentraciones y velocidades correspondientes para cada operación unitaria por ello se estableció rangos adecuados mediante los datos proporcionados en investigaciones anteriores. A continuación, se detalla el proceso establecido por Jenika Prajapati *et al.* (2021), siendo este el más viable y que puede ser aplicado en laboratorio.

### ❖ Operaciones Upstream

- **Conservación de la cepa.** -La cepa se sembró en placas de PDA mediante la técnica de extensión de varillas en agar de dextrosa de patata, se almacenó a 30°C y se incubó a 37°C durante 3 días. Cuando la esporulación fúngica fue máxima, las esporas se recolectaron con solución salina estéril (0,09% p/v). La solución generada se recogió en tubos Falcon de 15 mL.
- **Diseño y preparación del medio de cultivo.** – El medio de cultivo se realiza en un medio líquido, utilizando un matraz cónico de 250mL se colocaron 50mL de medio de producción (caldo pectato de extracto de levadura que presenta la siguiente composición: extracto de levadura 1%, pectina 1%, NaCl 0.5% y agua destilada 100ml), en este paso se puede agregar una cantidad apropiada (1,0 g) de polvo fino de piel de fruta como sustrato.
- **Esterilización.** - Durante la esterilización se autoclavó a una temperatura de 120°C durante 30 minutos.
- **Inoculación.** - Los 15 ml de la cepa productora que se obtuvo anteriormente es colocada en el medio esterilizado y es llevado a fermentación bajo las condiciones especificadas a continuación.

### ❖ Fermentación

Esto se lleva a cabo en un fermentador rotatorio a 35°C por 120h a una velocidad de 150 a 200 rpm

### ❖ Operaciones Downstream

- **Recuperación.** - El caldo que se obtuvo de la fermentación se centrifugó a 10.000 rpm durante 5 min para posteriormente ser filtrado, el sobrenadante que se obtiene es conocido como Extracto crudo de Pectinasa (ECP), este puede ser utilizado para un proceso de clarificación de zumos frutales o puedes pasar a un proceso de purificación.
- **Purificación.** - El sobrenadante paso a un proceso de precipitación por saturación de sulfato de amonio (40–80 %). Después de la desalinización y concentración se cargó en una columna de intercambio iónico de DEAE-celulosa (1,5×30 cm), previamente equilibrado con tampón de fosfato de sodio 0,1 M (pH 7,0). La enzima se eluyó utilizando un gradiente de NaCl 0,5 M con un caudal de 30 mL h<sup>-1</sup>.
- **Formulación.** - Este paso dependerá del uso que se vaya a dar a la enzima, es decir si se desea una enzima líquida o sólida. En el caso de la enzima sólida, el producto resultante de la purificación debería pasar por un proceso de liofilización. La mayoría de los autores recomienda una enzima líquida ya que es más fácil de utilizar al momento de su aplicación en la clarificación de zumos.

**Nota:** Este proceso se realizó con datos recolectados, en artículos relacionados con la obtención de pectinasas utilizando bacterias del género *Bacillus* y Hongos del género *Aspergillus*.

## 4.2. Discusión

De los 15 artículos revisados la mayoría de autores concuerdan que para la extracción de pectinasas, el método de extracción por centrifugación es el ideal, aunque este proceso puede variar dependiendo el tipo de fermentación que se haya realizado anteriormente, es así que, autores como (Arellano *et al.*, 2014) (Asia Ahmed *et al.*, 2018), (Ishtiaq Ahmed *et al.*, 2015), (Jenika Prajapati *et al.*, 2021), (Koshy M, 2019), (Elangovan Namasivayam *et al.*, 2012), (García Hernández *et al.*, 2015), (Sudeep KC *et al.*, 2020), (D.R. Kashyap *et al.*, 2012), (Karabi Roy *et al.*, 2018) utilizaron el método por centrifugación directa ya que en estos estudios se optó por una fermentación en estado líquido. Por su parte (V. K. Josh *et al.*, 2017), (Juliene da Camara Rochaun *et al.*, 2020), (Yannam Sudheer Kumar *et al.*, 2012), (Mehmod Tahir *et al.*, 2017), (Leda R. Castilho, 2018) realizaron una hidratación y filtración antes de que la muestra sea centrifugada, ya que en estos estudios se realizó una fermentación en estado sólido. En la mayoría de los casos se utilizó una velocidad de 3000 a 10000 rpm, con una temperatura de 4°C y un tiempo de 5 a 30 minutos.

En función a los resultados obtenidos en los 15 documentos analizados se identificó que la purificación de pectinasas se realiza en un proceso secuencial con el fin de obtener enzimas puras que pueden ser utilizadas en diferentes aplicaciones industriales, por esta razón autores como: (Ishtiaq Ahmed *et al.*, 2015), (García Hernández *et al.*, 2015), (D.R. Kashyap *et al.*, 2012), concuerdan en que para obtener una purificación completa, la precipitación por sulfato de amonio, diálisis utilizando un Tris±HCl (0,01 metro), la ultrafiltración y cromatografía iónica utilizando DEAE-Sephacel, (15 - 0,55cm) (volumen de lecho de 10ml), son muy útiles al utilizarse conjuntamente, mientras que (Jenika Prajapati *et al.*, 2021) en su estudio demuestra que se puede conseguir una purificación completa con la utilización del método de precipitación por sulfato de amonio y cromatografía iónica de DEAE-celulosa (1,5×30 cm), previamente equilibrado y utilizando un gradiente de NaCl 0,0–0,5 M con un caudal de 30 mL/h.

En la tabla 5 se identificó 15 artículos, la mayoría reporta la aplicación de pectinasas en la clarificación de zumos frutales, de los cuales los artículos de mayor relevancia fueron los de (V. K. Josh *et al.*, 2017), y (Jenika Prajapati *et al.*, 2021), en los cuales se utilizaron el hongo *Aspergillus Níger* y la bacteria *Bacillus subtilis* obteniendo como resultado pectinasas acidas en las que se aplicó una purificación parcial y total respectivamente, obteniendo una enzima parcial y totalmente purificada, las cuales al ser aplicadas en zumos de frutas obtuvo un valor de clarificación mayor al 50% mejorando la brillantez. Lo que convierte a las pectinasas acidas en la mejor opción.

## **CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

### **5.1. Conclusiones**

- Según la revisión bibliográfica la purificación de pectinasas se realiza en un proceso secuencial esta incluye la precipitación, diálisis, ultrafiltración, cromatografía y centrifugación que ayuda a separar la enzima del producto resultante de la fermentación, obteniendo como resultado una enzima purificada.
- De acuerdo con la matriz comparativa se determinó que el método más adecuado para una purificación es la cromatografía de intercambio iónico ya que la utilización de este método proporcionó enzimas con una pureza alta, que va desde el 90% en las investigaciones en los que se aplicó este método. Por otra parte, dentro en las investigaciones se utilizó únicamente la centrifugación como un método de extracción de enzimas.
- El método más viable para una extracción es la filtración por centrifugación en la que se utilizó una centrifuga a más de 10.000 rpm a 4°C, mientras que para una total purificación se utilizó el método de precipitación por sulfato de amonio y cromatografía iónica, teniendo como resultado pectinasas totalmente purificadas y con un pH 5-6 que fueron aplicadas en zumos frutales y presentaron una clarificación mayor al 50%

### **5.2. Recomendaciones**

- El sector agroindustrial ha sido por años el motor no petrolero de la economía del país, por ello la carrera de Ingeniería Agroindustrial es un pilar importante que debe ser aprovechado, impulsando el desarrollo y la aplicación de nuevas tecnologías que pueda beneficiar a las industrias en sus diferentes procesos, por este motivo se debe realizar prácticas en laboratorio que busquen obtener cepas productoras de enzimas que faciliten el procesamiento de nuevos productos.
- Debe aprovecharse la utilización de sustratos biológicos como los residuos cítricos ya que estos sirven como fuente de nutrientes y son a su vez el soporte físico para los microorganismos, ayudando a la mayor producción de pectinasas acidas en condiciones favorables.
- Para la clarificación de Zumos Frutales se debe utilizar enzimas acidas que tengan un pH entre 5 y 6, ya que estas enzimas presentaran mayor clarificación que las alcalinas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arellano et al. (13 de Enero de 2014). Efecto de la temperatura y pH sobre la actividad y estabilidad de pectinasas producidas por *Bacillus* spp. *Rebiol*. Recuperado el 11 de Diciembre de 2021, de <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/faccbbiol/article/view/586>
- Arroyo, M. (14 de Julio de 2014). BIOCATÁLISIS Y BIOTECNOLOGÍA. *Biotecnología Española*, 10. Recuperado el 29 de Septiembre de 2022, de <https://arbor.revistas.csic.es/index.php/arbor/article/view/1958/2290>
- Asia Ahmed et al. (Enero de 2018). Characterization of pectinase from *Geotrichum candidum* AA15 and its potential application in orange juice clarification. *Journal of King Saud University - Science*, 7. Recuperado el 30 de Noviembre de 2021, de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1018364718321906>
- Bhardwaj, V., Degrassi, G., & Bhardwaj, R. K. (2017). Pectinasas microbianas y sus aplicaciones en la industria. *Revista Internacional de Investigación de Ingeniería y Tecnología (IRJET)*, 8. Recuperado el 01 de Febrero de 2022, de <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/pectinasa%20y%20su%20aplucacion%20en%20la%20industria.en.es.pdf>
- Borras, L., & Torres, G. (Julio de 2016). *Scielo*. Recuperado el 31 de Enero de 2023, de Scielo: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0121-37092016000200007#:~:text=La%20fermentaci%C3%B3n%20en%20estado%20s%C3%B3lido%20\(FES\)%20consiste%20en%20hacer%20crecer,%2C%20pH%20aireaci%C3%B3n%20y%20temperatura.](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-37092016000200007#:~:text=La%20fermentaci%C3%B3n%20en%20estado%20s%C3%B3lido%20(FES)%20consiste%20en%20hacer%20crecer,%2C%20pH%20aireaci%C3%B3n%20y%20temperatura.)
- Bravo, R. (2021). *Primun non nocere Blog*. Recuperado el 04 de Agosto de 2021, de *Primun non nocere Blog*: <http://www.prima-statement.org/>
- Carvajal, M. (Julio de 2017). *Universidad de Almeria*. Recuperado el 10 de Febrero de 2022, de *Universidad de Almeria*: [http://repositorio.ual.es/bitstream/handle/10835/5904/14981\\_TFM%20Marlon%20Carvajal%20P..pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.ual.es/bitstream/handle/10835/5904/14981_TFM%20Marlon%20Carvajal%20P..pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Castañeda, M. (2019). *Enzimas de interes biotecnologico*. Recuperado el 01 de Agosto de 2021, de *Enzimas de interes biotecnologico*: [edici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/89649/Apunte\\_de\\_c%C3%A1tedra.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y](edici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/89649/Apunte_de_c%C3%A1tedra.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Chitosanlab. (2017). *Chitosanlab*. Recuperado el 01 de Agosto de 2021, de *Chitosanlab*: <https://chitosanlab.com/quitosano-fungico/pectinasa/>
- Comision Europea. (14 de Octubre de 2016). *CORDIS*. Recuperado el 27 de Julio de 2021, de *CORDIS*: <https://cordis.europa.eu/article/id/151799-pectinase-production-optimised/es>
- D.R. Kashyap et al. (2012). Production, purification and characterization of pectinase from a *Bacillus* sp. DT7. *Revista mundial de microbiología y biotecnología*, 7.

- Recuperado el 12 de Diciembre de 2021, de <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1008902107929>
- Del Moral, S., Laura, R., & Coutiño, M. d. (Mayo de 2015). *Revista Iberoamericana*. Recuperado el 31 de Enero de 2023, de *Revista Iberoamericana*: <http://www.reibci.org/publicados/2015/mayo/1000102.pdf>
- Del Moral, S., Ramirez, L., & Garcia, M. d. (Mayo de 2015). Aspectos relevantes del uso de enzimas en la. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 16. Recuperado el 26 de Septiembre de 2022, de <http://www.reibci.org/publicados/2015/mayo/1000102.pdf>
- Elangovan Namasivayam et al. (2012). Production of Extracellular Pectinase by *Bacillus Cereus* Isolated From market Solid waste. *Academia*, 7. Recuperado el 12 de Enero de 2022, de [https://www.academia.edu/11919500/Production\\_of\\_Extracellular\\_Pectinase\\_by\\_Bacillus\\_Cereus\\_Isolated\\_From\\_Market\\_Solid\\_Waste?auto=citations&from=c\\_over\\_page](https://www.academia.edu/11919500/Production_of_Extracellular_Pectinase_by_Bacillus_Cereus_Isolated_From_Market_Solid_Waste?auto=citations&from=c_over_page)
- food news latam. (09 de Diciembre de 2014). *food news latam*. Recuperado el 31 de Enero de 2023, de food news latam: <https://www.foodnewlatam.com/paises/90-puerto-rico/59-la-aplicaci%C3%B3n-de-enzimas-en-la-industria-alimentaria.html#:~:text=En%20la%20industria%20alimentaria%2C%20las,la%20calidad%20de%20los%20alimentos>.
- García Hernández et al. (2015). Pectinase production, purification and immobilization from *Aspergillus awamori*. *Academia*, 8. Recuperado el 11 de Febrero de 2022, de <https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/43245719/FINALENZIMO-with-cover-page-v2.pdf?Expires=1656314459&Signature=VyPnhTsBp99WDOODQJ8ObvH6pDUg~qlbYBsE0q1IXthaQY4hPeL3-zTD7treGA1T94COj8XMEbuon11ElbO4BPv51OZ~JIJa7P1R3SCuCp23SCxW93RzAUIJVomrF3A~tpkWDrDGALzez2Ya>
- Garcia, N., & Cely, N. (2020). Recuperado el 01 de Febrero de 2022, de <https://repository.unad.edu.co/jspui/bitstream/10596/36468/1/nmcelyC.pdf>
- Gomez, D. (06 de Septiembre de 2020). *Fundacion Antama*. Recuperado el 31 de Enero de 2023, de *Fundacion Antama*: <https://fundacion-antama.org/uso-de-microorganismos-vivos-en-la-industria-alimentaria/>
- Gonzales, R. (2018). *Ingenieria de los procesos biotecnológicos*. Recuperado el 30 de Julio de 2021, de *Ingenieria de los procesos biotecnológicos*: <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/Ing.%20de%20los%20Procesos%20Biotecnol%C3%B3gicos.pdf>
- Hinojosa, T. (17 de Diciembre de 2020). *Universidad Nacional Jorge Basadre Grohman*. Recuperado el 11 de Enero de 2023, de *Universidad Nacional Jorge Basadre Grohman*:

- [http://tesis.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/4202/1897\\_2020\\_hinojosa\\_calderon\\_tk\\_faci\\_biologia\\_microbiologia.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://tesis.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/4202/1897_2020_hinojosa_calderon_tk_faci_biologia_microbiologia.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Hinojosa, T. (2020). *UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN*. Recuperado el 01 de Agosto de 2021, de UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN: [http://repositorio.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/4202/1897\\_2020\\_hinojosa\\_calderon\\_tk\\_faci\\_biologia\\_microbiologia.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/4202/1897_2020_hinojosa_calderon_tk_faci_biologia_microbiologia.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Huerta, S. (2018). *Procesos industriales de Separación*. Recuperado el 01 de Agosto de 2021, de Procesos industriales de Separación: <http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/sho/Introduccion-PIS.pdf>
- Ikenna, D. (11 de Agosto de 2015). *Revista africana de biotecnología*. Recuperado el 11 de Enero de 2023, de Revista africana de biotecnología: <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/120815>
- Ingeniería de Procesos Biotecnológicos. (20 de Julio de 2020). *Ingeniería de Procesos Biotecnológicos*. Recuperado el 29 de Septiembre de 2022, de Ingeniería de Procesos Biotecnológicos: <https://cursolusegil.blogs.upv.es/aplicaciones/>
- Ishtiaq Ahmed et al. (04 de Noviembre de 2015). Bioprocessing of citrus waste peel for induced pectinase production by *Aspergillus niger*; its purification and characterization. *Elsevier*. Recuperado el 14 de Enero de 2022, de <http://www.elsevier.com/locate/jrras>
- Jenika Prajapati et al. (2021). Production of thermal and acid-stable pectinase from *Bacillus subtilis* strain BK-3: Optimization, characterization, and application for fruit juice clarification. *Elsevier*, 10. Recuperado el 12 de Enero de 2022, de [www.elsevier.com/locate/bab](http://www.elsevier.com/locate/bab)
- Josh, V. K. (2017). Purification, characterization of pectinases Produced from apple pomace and its evaluation in the fruit juice extraction and clarification. *Journal of Biotechnology*, 10. Recuperado el 29 de Diciembre de 2021, de [https://www.researchgate.net/publication/247031423\\_Purification\\_characterization\\_of\\_pectinase\\_produced\\_from\\_apple\\_pomace\\_and\\_its\\_evaluation\\_in\\_the\\_fruit\\_juice\\_extraction\\_and\\_clarification/citations](https://www.researchgate.net/publication/247031423_Purification_characterization_of_pectinase_produced_from_apple_pomace_and_its_evaluation_in_the_fruit_juice_extraction_and_clarification/citations)
- Juliene da Camara Rochaun et al. (30 de Noviembre de 2020). Yellow mombin Pulp residue valorization for pectinases production by *Aspergillus niger* IOC 4003 and its application in juice clarification. *Elsevier*. Recuperado el 21 de Enero de 2022, de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1878818120311981>
- Karabi Roy et al. (21 de Marzo de 2018). Extracellular Pectinase from a Novel Bacterium *Chryseobacterium indologenes* Strain SD and Its Application in Fruit Juice Clarification. *Hindawi*, 10. Recuperado el 11 de Diciembre de 2021, de <https://www.hindawi.com/journals/er/2018/3859752/>
- Kc, S., Upadhyaya, J., Joshi, D. R., Lekhak, B., Chaudhary, D. K., Raj, P. B., . . . Raghavan, V. (2020). Fermentacion. *MDPI*, 6. Recuperado el 01 de Agosto de



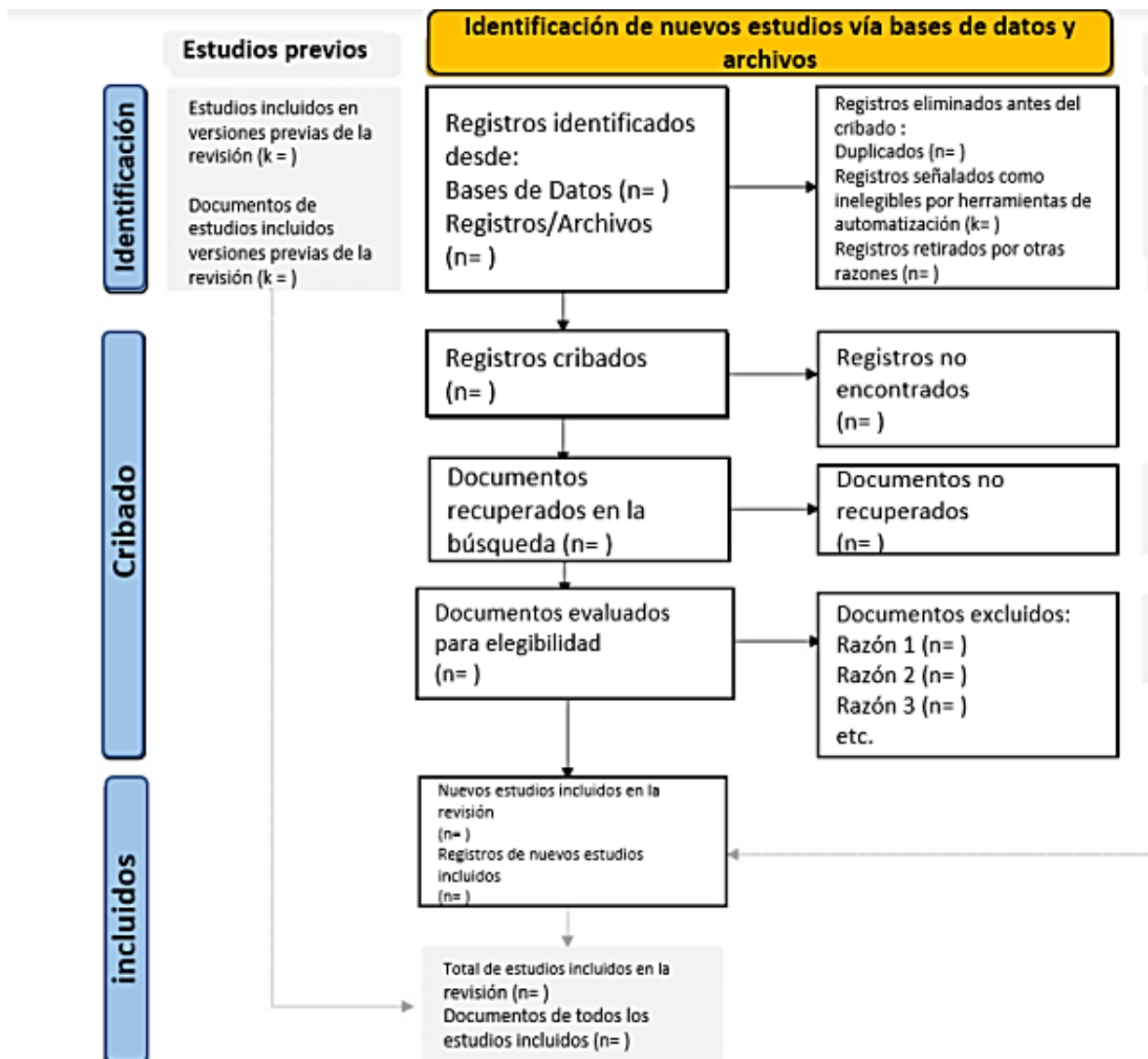
- 2021, de Producción, caracterización y aplicación industrial de la enzima pectinasa aislada de cepas fúngicas: <https://www.mdpi.com/2311-5637/6/2/59>
- Koshy M. (29 de Septiembre de 2019). Effect of *Bacillus tequilensis* SALBT crude extract with pectinase activity on demucilation of coffee beans and juice clarification. *Journal of Biotechnology*. Recuperado el 11 de Febrero de 2022, de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31617605/>
- Leda R. Castilho. (2018). Production and extraction of pectinases obtained by solid state fermentation of agroindustrial residues with *Aspergillus niger*. *Elsevier*, 6. Recuperado el 11 de Abril de 2022, de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852499000589>
- Leslie, A. (10 de Febrero de 2013). *Bioquímica*. Recuperado el 29 de Septiembre de 2022, de *Bioquímica*: <http://ufq.unq.edu.ar/Docencia-Virtual/BQblog/Dialisis%20y%20ultrafiltracion.pdf>
- Martín, F. (04 de Mayo de 2016). *Restauración colectiva*. Recuperado el 14 de Febrero de 2023, de *Restauración Colectiva*: <https://www.restauracioncolectiva.com/n/las-enzimas-de-los-alimentos-que-son-para-que-sirven-y-cuales-sus-aplicaciones-i>
- Martinez, J. (2017). *AINIA*. Recuperado el 02 de Agosto de 2021, de *AINIA*: <https://www.ainia.es/tecnoalimentalia/tecnologia/tecnologia-y-diferenciacion-de-producto-el-interes-creciente-por-los-bioprosesos/>
- Martinez, L. (2017). *Avance purificación de enzimas*. Recuperado el 04 de Agosto de 2021, de *Avance purificación de enzimas*: [https://www.academia.edu/33815820/AVANCE\\_PURIFICACION\\_DE\\_ENZIMAS](https://www.academia.edu/33815820/AVANCE_PURIFICACION_DE_ENZIMAS)
- Mehmod Tahir et al. (Noviembre de 2017). Pectinase Production from *Schizophyllum commune* Through Central Composite Design Using Citrus Waste and Its Immobilization for Industrial Exploitation. *Springer Science*, 10. Recuperado el 12 de Enero de 2022, de <https://link.springer.com/article/10.1007/s12649-018-0279-9>
- Moral, S., Ramírez, S. d., Coutiño, R., & Gómez, M. d. (2015). Aspectos relevantes del uso de enzimas en la. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 15. Recuperado el 02 de Febrero de 2022, de <http://www.reibci.org/publicados/2015/mayo/1000102.pdf>
- Nawaz, Javed. (12 de Agosto de 2018). Recuperado el 02 de Enero de 2023, de <https://crimsonpublishers.com/jbb/fulltext/JBB.000503.php>
- Nollet, L. (12 de Febrero de 2019). *Bmeditores*. Recuperado el 07 de Octubre de 2022, de *Bmeditores*: <https://bmeditores.mx/porcicultura/la-revolucion-en-la-produccion-de-enzimas-liquidadas-2029/>
- Ortega Quintana. (2017). Enfrentando el modelado de bioprosesos: una revision de las metodologias de modelado. *ION*, 30, 74. Recuperado el 02 de Agosto de 2021, de <https://www.redalyc.org/pdf/3420/342052520006.pdf>

- Peña, C., & Quirasco, M. (2014). ¿ENZIMAS EN LOS ALIMENTOS? Bioquímica de lo comestible. *Revista Universitaria UNAM*, 12. Recuperado el 01 de Febrero de 2022
- Pilnik, W., & Voragen, A. (2013). *University and research*. Recuperado el 01 de Agosto de 2021, de University and research: <https://research.wur.nl/en/publications/pectic-enzymes-in-fruit-and-vegetable-juice-manufacture>
- Quintana, C. (16 de mayo de 2016). *SILO*. Recuperado el 28 de Enero de 2023, de SILO: <https://silo.tips/download/medios-de-fermentacion-medios-de-cultivo#:~:text=El%20dise%C3%B1o%20de%20un%20medio,correspondientes%20al%20proceso%20a%20desarrollar.>
- Ramadán, M. (2019). Enzimas en Biotecnología de Alimentos. *Elsevier*, 45. Recuperado el 04 de Abril de 2022
- Rodrigo, A. (24 de Agosto de 2012). *Instituto Politecnico Nacional*. Recuperado el 29 de Septiembre de 2022, de Instituto Politecnico Nacional: [http://literatura.ciidiroaxaca.ipn.mx/jspui/bitstream/LITER\\_CIIDIROAX/274/1/Alvarado%20Velasco%2C%20R..pdf](http://literatura.ciidiroaxaca.ipn.mx/jspui/bitstream/LITER_CIIDIROAX/274/1/Alvarado%20Velasco%2C%20R..pdf)
- Roldan, R. (Julio de 2018). *Universidad autonoma de barcelona*. Recuperado el 30 de Julio de 2021, de Universidad autonoma de barcelona: <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/650828/rrr1de1.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Román, M. (13 de Noviembre de 2020). *Universidad Agraria del Ecuador*. Recuperado el 12 de Enero de 2023, de Universidad Agraria del Ecuador: <https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/ROMAN%20MORA%20MARGARITA%20ONARCISA.pdf>
- Rosales, C. (2019). Los bioprocesos en la biotecnología: uso de biorreactores para la producción y el escalamiento de productos de interés comercial. *Tecnología en marcha*, 32, 42. Recuperado el 01 de Agosto de 2021, de [https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec\\_marcha/article/view/4626/4232](https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/4626/4232)
- Sandra del Moral, L. P.-C.-G. (s.f.).
- Seguí, L. (2019). *Ingeniería de Procesos biotecnológicos*. Recuperado el 04 de Agosto de 2021, de Ingeniería de Procesos biotecnológicos: <https://cursolusegil.blogs.upv.es/operaciones-de-recuperacion-de-productos-biotecnologicos/>
- Servat, M. (2016). *Academia*. Recuperado el 31 de Enero de 2023, de Academia: <https://www.academia.edu/44005754/Upstream>
- Sudeep KC et al. (9 de Junio de 2020). Production, Characterization, and Industrial Application of Pectinase Enzyme Isolated from Fungal Strains. *Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)*, 10. Recuperado el 12 de Marzo de 2022, de <https://www.mdpi.com/2311-5637/6/2/59>

- Tejeda, A. (2012). Bioseparaciones. En A. Tejeda, *Bioseparaciones* (pág. 389). Mexico: Pearson. Recuperado el 29 de Septiembre de 2022
- Vega, C. (31 de Octubre de 2017). *Escuela Politecnica Nacional*. Recuperado el 29 de Septiembre de 2022, de Escuela Politecnica Nacional: <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/18867/1/CD-8258.pdf>
- Vega, R. (08 de Diciembre de 2020). *Fusade*. Recuperado el 24 de Julio de 2021, de Fusade: <https://fusades.org/contenido/que-es-la-biotecnologia>
- Yannam Sudheer Kumar et al. (2012). Pectinase Production from Mango peel Using *Aspergillus foetidus* and its application in Processing of Mango Juice. *Food Biotechnology*, 18. Recuperado el 11 de Marzo de 2022, de <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/08905436.2012.670830>

## ANEXOS

**Figura 5.**  
*Diagrama de flujo de PRISMA*



**Nota.** El gráfico representa el diagrama de selección de Prisma Tomado de “declaración PRISMA: una guía actualizada para la publicación de revisiones sistemáticas” (2020)

**Tabla 7.**  
*Lista de verificación PRISMA*

Sección/tema	ítem Checklist	ítem #
<b>TITLE</b>		
Título	1	Identificar la publicación como revisión sistemática,
<b>RESUMEN</b>		
Resumen	2	Consulte la lista de comprobación PRISMA 2020 para resúmenes (Tabla 2).
<b>INTRODUCTION</b>		
Justificación	3	Describa la justificación de la revisión en el contexto de los conocimientos existentes.
Objetivos	4	Proporcione una declaración explícita de los objetivos o preguntas que la revisión desea contestar.
<b>METODOS</b>		
Criterios de elegibilidad	5	Especifique los criterios de inclusión y exclusión para la revisión y cómo se agruparon los estudios para la síntesis.
Fuentes de información	6	Especifique todas las bases de datos, registros, sitios web, organizaciones, listas de referencia y otras fuentes buscadas o consultadas para identificar estudios. Especifique la fecha en la que se buscó o consultó por última vez cada fuente.
Estrategia de búsqueda	7	Presentar las estrategias de búsqueda completas para todas las bases de datos, registros y sitios web, incluidos los filtros y los límites utilizados.
Proceso de selección	8	Especifique los métodos utilizados para decidir si un estudio cumplía los criterios para la inclusión de la revisión, incluidos cuántos revisores examinaron cada registro y cada informe recuperado, si trabajaron de forma independiente y, si procede, los detalles de las herramientas de automatización utilizadas en el proceso.
Proceso de recopilación de	9	Especifique los métodos utilizados para recopilar los datos de los estudios, incluido el número de revisores que recopilaron datos de cada informe, si trabajaron de forma independiente, los procesos para obtener o confirmar datos de los investigadores del

datos	estudio y, si procede, los detalles de las herramientas de automatización utilizadas en el proceso.
Lista de datos	10 <sup>a</sup> Enumerar y definir todos los resultados para los que se buscaron los datos. Especifique si se buscaron todos los resultados admitidos por cada dominio de resultados en cada estudio (por ejemplo, para todas las medidas, puntos de tiempo, análisis) y, si no, los métodos utilizados para decidir qué resultados recopilar.
	10b Enumerar y definir todas las demás variables para las que se solicitaron datos (por ejemplo, características de participante e intervención, fuentes de financiación). Describa cualquier suposición hecha sobre cualquier información que falte o no esté clara.
Estudio y valoración del riesgo de sesgo	11 Especifique los métodos utilizados para evaluar el riesgo de sesgo en los estudios incluidos, incluidos los detalles de las herramientas utilizadas, cuántos revisores evaluaron cada estudio y si trabajaron de forma independiente y, si procede, los detalles de las herramientas de automatización utilizadas en el proceso.
Medidas de efecto	12 Especifique para cada resultado como se midió el efecto (por ejemplo, relación de riesgo, diferencia media) utilizadas en la síntesis o presentación de resultados.
Métodos de síntesis	13 <sup>a</sup> Describa los procesos utilizados para decidir qué estudios eran elegibles para cada síntesis.
	13b Describir los métodos necesarios para preparar los datos para la presentación o síntesis, como el manejo de las estadísticas de resumen que faltan o las conversiones de datos.
	13c Describir cualquier método utilizado para tabular o mostrar visualmente los resultados de estudios individuales y síntesis.
	13d Describir los métodos utilizados para sintetizar resultados y proporcionar justificación para las opciones. Si se realizó un metaanálisis, describa los modelos, los métodos para identificar la presencia y el alcance de la heterogeneidad estadística y los paquetes de software utilizados.
	13e Describa los métodos utilizados para explorar las posibles causas de la heterogeneidad entre los resultados del estudio
	13f Describir los análisis de sensibilidad realizados para evaluar la fuerza de los resultados sintetizados.
Sección y tema	ítem # Checklist ítem

Informar de la evaluación del sesgo	14	Describir cualquier método utilizado para evaluar el riesgo de sesgo debido a la falta de resultados en una síntesis (derivada de sesgos de notificación).
Evaluación de la certeza	15	Describir cualquier método utilizado para evaluar la certeza (o confianza) en el cuerpo de evidencia para un resultado.
<b>RESULTADOS</b>		
Selección de los estudios	16 <sup>a</sup>	Describir los resultados del proceso de búsqueda y selección, desde el número de registros identificados en la búsqueda hasta el número de estudios incluidos en la revisión, idealmente utilizando un diagrama de flujo (consulte la figura 1).
	16b	Citar estudios que cumplieran muchos criterios de inclusión, pero no todos ('casi perdidos') y explicar por qué fueron excluidos.
Características del estudio	17	Citar cada estudio incluido y muestre sus características.
Riesgo de sesgo	18	Evaluación actual del riesgo de sesgo para cada estudio que se incluyó en la revisión.
Resultados de estudios individuales	19	Para los resultados de cada estudio: a) estadísticas resumidas para cada grupo (cuando proceda) y b) una estimación de efectos y su precisión (por ejemplo, confianza/intervalo creíble), idealmente utilizando tablas o gráficas estructuradas.
Resultados de la síntesis	20 <sup>a</sup>	Para cada combinación o síntesis, resume brevemente las características y el riesgo de sesgo entre los estudios.
	20b	Presentar los resultados de todas las combinaciones o síntesis estadísticas realizadas. Si se realizó un metaanálisis, presente para cada estimación de resumen y su precisión (por ejemplo, confianza/intervalo creíble) y medidas estadísticas de heterogeneidad. Si compara grupos, describa la dirección del efecto.
	20c	Presentar resultados de toda la investigación de posibles causas de heterogeneidad entre los resultados del estudio.
	20d	Presentar los resultados de todos los análisis de sensibilidad realizados para evaluar la solidez de los resultados combinados.
Reportar sesgos	21	Evaluaciones actualizadas de los riesgos de sesgo debido a la falta de resultados (derivados de sesgos de notificación) para cada combinación evaluada.
Certeza de la evidencia	22	Proporcione evaluaciones de certeza (o confianza) en el cuerpo de prueba de cada resultado evaluado.

---

**DISCUSSION**

---

Discusión	23 <sup>a</sup>	Proporcionar una interpretación general de los resultados en el contexto de otras pruebas.
	23b	Discuta cualquier limitación de la evidencia incluida en el examen.
	23c	Discutir las limitaciones de los procesos de revisión utilizados.
	23d	Discutir las implicaciones de los resultados para la práctica, la política y la investigación futura.

---

**OTHER INFORMATION**

---

Registro y protocolo	24 <sup>a</sup>	Proporcione información del registro de la revisión, incluido el nombre del registro y el número de registro, o indique que la revisión no se registró.
	24b	Indique dónde se puede acceder al protocolo de revisión o indique que no se ha preparado un protocolo.
	24c	Describir y explicar cualquier cambio en la información proporcionada en el registro o protocolo.
Apoyo	25	Describa las fuentes de apoyo financiero o no financiero para su revisión, y el papel de los financiadores o patrocinadores en la revisión.
	26	Declarar cualquier conflicto de interés de los autores de las revisiones.
intereses competitivos	27	Informe cuáles de las siguientes opciones están disponibles públicamente y dónde se pueden encontrar: formularios de recopilación de datos de plantilla; datos extraídos de estudios incluidos; datos utilizados para todos los análisis; código analítico; cualquier otro material utilizado en la revisión.
Disponibilidad de datos, código y otros materiales		

---

**Nota.** El gráfico representa la lista de verificación de Prisma Tomado de “declaración PRISMA: una guía actualizada para la publicación de revisiones sistemáticas” (2020)



**Tabla 8.**  
*Matriz de Ponderación de los artículos analizados*

N.	Título	¿El tema habla sobre pectinasa?	¿Cumple el rango de publicación?	¿Habla sobre el método de purificación?	¿Habla sobre el método de extracción?	¿Utiliza residuos agroindustriales como sustrato?	Idioma principal inglés y español	No se repite	Artículo experimental	Aplicación en la clarificación de zumos frutales	Total	Estado
1	Clarification of the pomegranate juice in a bioreactor packed by pectinase enzymes immobilized on the glass bead activated with polyaldehyde polysaccharides	1	1	0	1	0	1	0	1	1	6	Descartado
2	Immobilization of pectinase on chitosan-magnetic particles: Influence of particle preparation protocol on enzyme properties for fruit juice clarification	1	1	0	1	0	1	0	1	1	6	Descartado
3	Continuous clarification of grape juice using a packed bed bioreactor including pectinase enzyme immobilized on glass beads	1	1	0	1	0	1	0	1	1	6	Descartado
4	Bioprocessing of citrus waste peel for induced pectinase production by <i>Aspergillus niger</i> ; its purification and characterization	1	1	1	1	1	1	0	1	0	7	Descartado
5	Yellow mombin Pulp residue valorization for pectinases production by <i>Aspergillus niger</i> IOC 4003 and its application in juice clarification	1	1	0	1	1	1	1	1	1	8	Incluido
6	Effect of <i>Bacillus tequilensis</i> SALBT crude extract with pectinase activity on demucilage of coffee beans and juice clarification	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9	Incluido
7	Pectinase Production from Mango peel Using <i>Aspergillus foetidus</i> and its application in Processing of Mango Juice	1	1	0	1	1	1	1	1	1	8	Incluido
8	Pectinase Production from <i>Schizophyllum commune</i> Through Central Composite Design Using Citrus Waste and Its Immobilization for Industrial Exploitation	1	1	0	1	1	1	1	1	1	8	Incluido
9	Optimization of substrate composition for pectinase production from Satkara ( <i>Citrus macroptera</i> ) peel using <i>Aspergillus niger</i> -ATCC 1640 in solid-state fermentation	1	1	0	1	1	1	0	1	0	6	Descartado
10	Production and characterization of extracellular pectinase from a newly isolated <i>Bacillus</i> species from fruit waste soil	1	1	1	1	0	1	0	1	0	6	Descartado
11	<i>Aspergillus niger</i> production of pectinase and $\alpha$ -galactosidase for enzymatic soy processing	1	1	0	1	1	1	0	1	0	6	Descartado
12	Biotechnological valorization of pineapple stem for pectinase production by <i>Bacillus subtilis</i> BKDS1: Media formulation and statistical optimization for submerged fermentation	1	1	0	1	1	1	0	1	0	6	Descartado

13	Production, purification and immobilization of pectinase from <i>Aspergillus ibericus</i> onto functionalized nanoporous activated carbon (FNAC) and its application on treatment of pectin containing wastewater	1	1	1	1	0	1	0	1	0	6	Descartado
14	Bioprocessing of citrus waste peel for induced pectinase production by <i>Aspergillus niger</i> ; its purification and characterization	1	1	1	1	1	1	0	1	0	7	Descartado
15	Production optimization, purification and characterization of a heat-tolerant acidic pectinase from <i>Bacillus</i> sp. ZJ1407	1	1	1	1	0	1	0	1	0	6	Descartado
16	Production of pectinases by solid-state fermentation in a pilot-scale packed-bed bioreactor	1	1	0	1	1	1	0	1	0	6	Descartado
17	Pectinase enzyme-complex production by <i>Aspergillus</i> spp. in solid-state fermentation: A comparative study	1	1	0	1	1	1	0	1	0	6	Descartado
18	Production of pectinase from deseeded sunflower head by <i>Aspergillus niger</i> in submerged and solid-state conditions	1	1	0	1	1	1	0	1	0	6	Descartado
19	Production of pectinases by solid-state fermentation of a mixture of citrus waste and sugarcane bagasse in a pilot-scale packed-bed bioreactor	1	1	0	1	1	1	0	1	0	6	Descartado
20	Purification of pectinase from mango ( <i>Mangifera indica</i> L. cv. Chokanan) waste using an aqueous organic phase system: A potential low cost source of the enzyme	1	1	1	1	1	1	0	1	0	7	Descartado
21	Production optimization, purification and characterization of a heat-tolerant acidic pectinase from <i>Bacillus</i> sp. ZJ1407	1	1	1	1	0	1	0	1	0	6	Descartado
22	Bioprocessing of citrus waste peel for induced pectinase production by <i>Aspergillus niger</i> ; its purification and characterization	1	1	1	1	1	1	1	1	SI	8	Incluido
23	Optimization of substrate composition for pectinase production from Satkara ( <i>Citrus macroptera</i> ) peel using <i>Aspergillus niger</i> -ATCC 1640 in solid-state fermentation	1	1	0	1	1	1	0	1	0	6	Descartado
24	Production of Extracellular Pectinase by <i>Bacillus Cereus</i> Isolated From market Solid waste	1	1	1	1	1	1	1	1	0	8	Incluido
25	Pectinase production, purification and immobilization from <i>Aspergillus awamori</i> .	1	1	1	1	1	1	1	1	0	8	Incluido
26	Production, Characterization, and Industrial Application of Pectinase Enzyme Isolated from Fungal Strains	1	1	1	1	0	1	1	1	1	8	Incluido
27	Characterization of pectinase from <i>Geotrichum candidum</i> AA15 and its potential application in orange juice clarification	1	1	0	1	1	1	0	1	1	7	Descartado
28	Optimization of substrate composition for pectinase production from Satkara ( <i>Citrus macroptera</i> ) peel using <i>Aspergillus niger</i> -ATCC 1640 in solid-state fermentation	1	1	0	1	1	1	0	1	0	6	Descartado
29	Efecto de la temperatura y pH sobre la actividad y estabilidad de pectinasas producidas por <i>Bacillus</i> spp.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9	Incluido
30	Purification, characterization of pectinase produced from apple pomace and its evaluation in the fruit juice extraction and clarification	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9	Incluido
31	Characterization of pectinase from <i>Geotrichum candidum</i> AA15 and its potential application in orange juice clarification	1	1	0	1	0	1	1	1	1	7	Incluido

<b>32</b>	Production of thermal and acid-stable pectinase from <i>Bacillus subtilis</i> strain BK-3: Optimization, characterization, and application for fruit juice clarification	1	1	0	1	0	1	1	1	1	7	Incluido
<b>33</b>	Characterization of a novel strain of <i>Aspergillus aculeatinus</i> : From rhamnogalacturonan type I pectin degradation to improvement of fruit juice filtration	1	1	0	1	0	1	0	1	1	6	Descartado
<b>34</b>	Pectin extraction from lime pomace by cold-active polygalacturonase-assisted method	1	1	1	1	0	1	0	1	0	6	Descartado
<b>35</b>	Application of Doehlert designs for water activity, pH, and fermentation time optimization for <i>Aspergillus niger</i> pectinolytic activities production in solid-state and submerged fermentation	1	1	0	1	0	1	1	1	0	6	Descartado
<b>36</b>	Production of thermal and acid-stable pectinase from <i>Bacillus subtilis</i> strain BK-3: Optimization, characterization, and application for fruit juice clarification	1	1	0	1	0	1	0	1	1	6	Descartado
<b>37</b>	Purification, characterization of pectinase produced from apple pomace and its evaluation in the fruit juice extraction and clarification	1	1	1	1	0	1	0	1	1	7	Descartado
<b>38</b>	Production, purification and characterization of pectinase from a <i>Bacillus</i> sp. DT7	1	1	1	1	0	1	1	1	0	7	Incluido
<b>39</b>	Extracellular Pectinase from a Novel Bacterium <i>Chryseobacterium indologenes</i> Strain SD and Its Application in Fruit Juice Clarification	1	1	0	1	0	1	1	1	1	7	Incluido
<b>40</b>	Production and extraction of pectinases obtained by solid state fermentation of agroindustrial residues with <i>Aspergillus niger</i>	1	1	0	1	1	1	1	1	0	7	Incluido

**Nota:** Se analizó principalmente los artículos con un total de 8 a 9 puntos ya que estos cumplieron con la mayoría de los parámetros de búsqueda establecidos, además se dio lectura a texto completo todos los artículos que tuvieron 7 puntos en adelante para recopilar más información.