

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA**

**FACULTAD DE INGENIERÍA**

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL  
DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**



**“OPTIMIZACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN Y  
VELOCIDAD DE ADICIÓN DEL ETANOL EN LA  
PRECIPITACIÓN DE INULINASA DE  
*KLUYVEROMYCES MARXIANUS* FERMENTADO EN  
EXTRACTO DE YACÓN (*Smallanthus sonchifolius*)”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL  
DE INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**TESISTAS:**

**BACH. HUNG PAREDES, SONIA CRISTINA**

**BACH. TREVEJO RAMÍREZ, GABRIELA JUDITH**

**ASESOR:**

**M. SC. AUGUSTO CASTILLO CALDERÓN**

**NUEVO CHIMBOTE – PERÚ**

**2013**

## RESUMEN

La inulinasa es una enzima importante en la producción de fructosa a través de la hidrólisis enzimática de la inulina y es también utilizada en la producción de fructooligosacáridos, producto utilizado como nuevo ingrediente funcional en alimentos, siendo considerado un alimento prebiótico. Hoy en día la obtención de esta enzima en el mercado exterior es realizada principalmente a través de la inulina como fuente de sustrato siendo esta relativamente cara. La producción de esta enzima a partir de extracto de yacón, puede tener gran acogida, debido al bajo costo de esta materia prima.

La precipitación con solventes orgánicos, como el etanol, tiene la ventaja de ser llevada a nivel industrial, minimizando los costos de la purificación; ya que en la industria alimentaria y de bebidas, las enzimas microbianas requieren de cierto grado de purificación.

En este contexto, este trabajo tuvo como finalidad determinar los valores óptimos de concentración y velocidad de adición de etanol en la precipitación de Inulinasa producida por *Kluyveromyces Marxianus* NRRL Y-7571 fermentado en extracto de yacón. En la primera etapa de la investigación se realizó el acondicionamiento de la muestra, obteniéndose el extracto de yacón de 8°Brix que sirvió como fuente de carbono para realizar la fermentación en un cultivo por lote en matraces de *Kluyveromyces marxianus* NRRL Y-7571 y obtener un caldo bruto enzimático de inulinasa. Al obtener el caldo bruto enzimático de inulinasa procedimos a realizar la precipitación con etanol, de acuerdo a los ensayos correspondientes de la matriz de optimización del diseño compuesto central rotatable.

En la segunda etapa de la investigación se determinó la actividad enzimática de inulinasa actuando sobre sacarosa e inulina, con sus respectivos rendimientos; en condiciones controladas; las cuales fueron; muestra de 0,25 ml de enzima, 2,5 ml de solución estándar de sacarosa de 20 g/l , por un tiempo de 10 minutos a 55°C a pH 5.0. Para la actividad enzimática sobre inulina se procedió a tomar una muestra de 0,25 ml de enzima, 2,5 ml de solución estándar de inulina de 10 g/l,

por un tiempo de 10 minutos a 55°C a pH 5.0, luego la reacción de azúcares reductores se determinó por el ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS)

Los efectos de la concentración y velocidad de adición de etanol en la actividad enzimática se analizaron mediante el diseño compuesto central rotatable  $2^2$  utilizando el software Statistica 8.0. Obteniendo para la actividad enzimática actuada sobre sacarosa los valores óptimos de 63.5098% para concentración y una velocidad de adición de etanol de 12.168 ml/min, obteniendo un máximo de actividad enzimática de 150.1476 U/ml. El rendimiento más alto encontrado fue 157.10%; mientras que para la actividad enzimática actuada sobre inulina los valores óptimos de 62.53% para concentración y una velocidad de adición de etanol de 9.8579 ml/min, obteniendo un máximo de actividad enzimática de 3.685491 U/ml. El rendimiento más alto encontrado fue 117.01%.