

## Aplicação do delineamento Box-Behnken e do método Complex para otimizar as condições de produção da enzima glutaminase.

Gilcelene Bruzon(PG)<sup>1</sup>, João Batista Buzato(PQ)<sup>1</sup>, Dionisio Borsato(PQ)<sup>2\*</sup> dborsato@uel.br

<sup>1</sup>Departamento de Bioquímica e Biotecnologia e <sup>2</sup>Departamento de Química da Universidade Estadual de Londrina. C.P. 6001 CEP 86051-990 Londrina - Paraná.

Palavras Chave: Glutaminase, complex.

### Introdução

A glutaminase, por ser uma enzima utilizada na indústria de alimentos como intensificadora de sabor e possuir potencial de aplicação no tratamento de leucemia, tem sido alvo de diversas pesquisas. A busca por novas fontes produtoras de enzimas vem sendo constante, destas, as microbiológicas têm recebido especial atenção. A bactéria *Zymomonas mobilis*, utilizada principalmente na produção de etanol, sorbitol e levana, apresentou-se como potencial produtora da glutaminase. O objetivo do trabalho foi otimizar, através da utilização do delineamento Box-Behnken e do método Complex, as quantidades de glicose, glutamina e o tempo de fermentação, tendo como resposta a glutaminase produzida pelo microrganismo.

### Resultados e Discussão

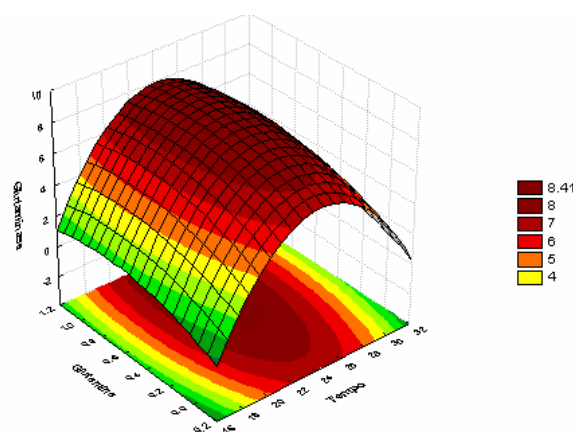
Para investigar o efeito de três variáveis independentes sobre a produção de glutaminase, foi empregado um delineamento fatorial  $3^3$  incompleto. As variáveis independentes foram analisadas em 3 níveis de variação, sendo para glicose ( $x_1$ ) 10g/L, 30g/L e 50g/L, para o tempo de fermentação ( $x_2$ ) de 18, 24 e 30 horas e para glutamina ( $x_3$ ) 0 g/L, 0,5g/L e 1 g/L. O processo fermentativo foi conduzido a 30°C, com inóculo em concentração de 0,2 g/L de células de *Zymomonas mobilis*. Foi escolhida e analisada a variável dependente glutaminase ( $Y_1$ )

O modelo obtido pelo delineamento fatorial de Box-Behnken<sup>2</sup> está mostrado a seguir.

$$Y_1 = -53,9699 + 0,1022x_1 + 4,9235x_2 + 3,2438x_3 - 0,0016x_1^2 - 0,1017x_2^2 - 2,2157x_3^2.$$

O coeficiente de determinação total ( $R^2$ ), para o modelo ajustado, foi de 93%. A análise de variância indicou que as estimativas dos coeficientes da regressão são significativas em nível de 5%, com exceção do termo quadrático da concentração de glutamina. A variável mais importante foi o tempo de cultivo e, para este modelo, a falta de ajuste foi não significativa ( $p=25,73\%$ ), indicando que ele pode ser utilizado para fins preditivos.

A região de combinação binária entre os fatores pode ser observada através da superfície de contorno apresentada na figura 1, com resposta esperada para a glutaminase de 8,41 U/L.



**Figura 1.** Contorno da superfície de resposta para a glutaminase produzida, fixando-se a concentração de glicose em 30g/L.

O programa computacional Otplex, empregado na otimização da equação preditiva oriunda da superfície de resposta, utiliza o método Complex<sup>1</sup>, que consiste em um procedimento recorrente que permite a imposição de restrições explícitas e implícitas, tanto para as variáveis independentes como para as dependentes (respostas), e, com poucas iterações, tende a um valor ótimo. A otimização (maximização) da resposta investigada, através do método Complex, apresentou  $x_1=30,0731$  g/L;  $x_2=24,1931$  horas e  $x_3=0,723$  g/L, tendo como resposta esperada  $Y_1=8,44$ U/L. Para validar o modelo, o experimento com as variáveis independentes no ponto ótimo foi executado obtendo-se uma resposta de glutaminase de 8,86 U/L, que é um valor muito próximo àquele obtido pelo método numérico aplicado.

### Conclusões

A metodologia de superfície de resposta e o método Complex, que permite a possibilidade de inclusão de restrições, mostraram-se ferramentas eficientes na otimização das condições de produção de glutaminase.

### Agradecimentos

CAPES/UEL, por bolsa de PG, e Fundação Araucária.

<sup>1</sup> Box, M. J. The Computer Journal. v.8 p.42-52, 1965.

*Sociedade Brasileira de Química ( SBQ)*

<sup>2</sup>Statsoft, Inc. STATISTICA 7.1 for windows, 2005.