

Desenvolvimento de protocolo para análise estatística de metabolômica de leveduras por ANOVA

Christiane Gonçalves Campos¹, Igor Ferreira Nascimento², Henrique César Teixeira Veras³, João Ricardo M. de Almeida⁴, Nádia Parachin⁵, Patrícia Verardi Abdelnur⁶

Resumo

Um dos desafios na produção do etanol de segunda geração (2G) está no desenvolvimento de tecnologias eficientes para converter xilose em etanol no processo de fermentação de açúcares. A investigação das vias de assimilação da xilose por leveduras pode fornecer informações relevantes quanto às etapas limitantes no metabolismo de conversão desta pentose e auxiliar na construção de linhagens modificadas geneticamente. A tecnologia baseada em metabolômica tem sido amplamente utilizada para responder a questões biológicas importantes, tendo em vista ser capaz de identificar e quantificar os metabólitos presentes em um sistema biológico. No entanto, o grande volume de informações geradas em um experimento de metabolômica torna necessária a utilização de um modelo matemático e biologicamente representativo para a análise e interpretação dos dados obtidos. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um protocolo de análise estatística para interpretar os dados obtidos na quantificação por UHPLC-MS/MS dos principais metabólitos intracelulares relacionados às vias de conversão da xilose a etanol da levedura *Spathaspora arborariae*. A levedura *S. arborariae* foi crescida em duas diferentes condições: aeróbico e microaeróbico em triplicata biológica. Cada réplica biológica foi mensurada em três instantes diferentes: 27, 32 e 40 horas durante a fase de crescimento exponencial. Cada mensuração foi realizada três vezes (totalizando 18 medidas), a fim de reduzir o erro operacional, sendo considerada para análise a média dessas três medidas. O desenho experimental permitiu medir os efeitos tempo e condição de crescimento por meio dos valores da concentração dos metabólitos utilizando o modelo ANOVA com medidas repetidas. A partir da análise estatística dos resultados, foi possível obter o nível de significância do modelo ANOVA desenvolvido para os fatores avaliados e a interação entre eles. A condição de crescimento microaeróbico apresentou valores de coeficientes negativos para todos os metabólitos medidos, indicando que o ambiente com baixo oxigênio resulta em menor concentração dos compostos. Além disso, a análise por ANOVA permitiu avaliar a diferença significativa entre as condições de crescimento e o efeito de interação entre esta variável e o tempo de coleta. No entanto, para a análise metabolômica, decidiu-se utilizar apenas o segundo ponto de coleta (32 h), pois este é o ponto central de crescimento da levedura e no qual as concentrações dos metabólitos apresentam maior linearidade. O modelo ANOVA com medidas repetidas foi agregado ao protocolo de metabolômica estabelecido e otimizado pelo grupo e poderá ser aplicado aos dados obtidos nos experimentos de metabolômica utilizando outras espécies de leveduras fermentadoras de xilose.

Auxílio Financeiro: Capes, FAP-DF.

Palavras-chave: *S. arborariae*. análise de variância. metabólitos intracelulares. fermentação. Xilose.

¹ Química, doutoranda em Química, Universidade Federal de Goiás, christiane.campos@colaborador.embrapa.br.

² Estatístico, doutorando em Estatística, Universidade de Brasília, igor.ferreira.n@gmail.com.

³ Biólogo, doutor em Biologia Molecular, Universidade de Brasília, hcveras@gmail.com.

⁴ Biólogo, doutor em Microbiologia Aplicada, pesquisador da Embrapa Agroenergia, joao.almeida@embrapa.br.

⁵ Bióloga, doutora em Biologia Molecular, Universidade de Brasília, nadiasp@gmail.com.

⁶ Química, doutora em Química Orgânica, pesquisador da Embrapa Agroenergia, patricia.abdelnur@embrapa.br.