

VARIAÇÃO NA COMPOSIÇÃO MINERAL DA LEVEDURA *Saccharomyces cerevisiae* Fleischmann FERMENTANDO MEIO DE CALDO DE CANA CONTAMINADO COM CÁDMIO

LEITE, César Augusto Oliveira¹; GOMES, Marcelo Barcelo²; PRADO, Renata da Silva²; DE-FARIA, Francis²; MARQUES, Tássia²; BRAIT, Joys Dias de Assis²; MARIANO-da-SILVA, Samuel²

Palavras-chave: Cádmio, Metais pesados, Leveduras

1. INTRODUÇÃO (justificativa e objetivos)

Recentes estudos sobre o comportamento dos metais pesados no ambiente, concluíram que muitos destes elementos, entre eles o cádmio, trazem sérios problemas devido a sua toxicidade, aliada aos fenômenos de bioacumulação. Os metais pesados compreendem em torno de 40 elementos, que apresentam densidade mínima de $6,0 \text{ g cm}^{-3}$. Muitos destes metais, como o cobre, o cobalto e o níquel são essenciais para o crescimento de organismos eucariotos e/ou procariotos, sendo exigidos em concentrações muito pequenas. Outros, contudo, como o cádmio, não são essenciais para o crescimento celular, sendo extremamente tóxicos mesmo em baixas concentrações. O presente trabalho teve como objetivo verificar o acúmulo e os efeitos do cádmio (Cd) na composição mineral da levedura *Saccharomyces cerevisiae* em mosto de caldo de cana-de-açúcar (*Saccharum* Spp) em quatro níveis de pH e seis níveis de contaminação pelo metal pesado.

2. METODOLOGIA

Levedura: A levedura utilizada foi adquirida no comércio na forma de blocos de levedura prensada. Estes foram armazenados à $3^{\circ}\text{C} \pm 1$ até o momento do uso. **Preparo do mosto:** Para as fermentações, o caldo foi esterilizado (1 ATM / 20 minutos / 121°C) e diluído com água destilada esterilizada até 14 % de ART. Pela adição de NaOH 0,1 M ou H_2SO_4 0,1 M, o pH foi ajustado para 3,5; 4,5; 5,5 e 6,5 conforme o tratamento. Os mostos serão então acrescidos com o sal cloreto de cádmio ($\text{CdCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) resultando em seis níveis de contaminações (0,0; 0,1; 0,5; 1,0; 2,0 e $5,0 \text{ mmol Cd L}^{-1}$) e 24 tratamentos. **Ensaio fermentativo:** As fermentações foram conduzidas em frascos de erlenmeyers com 500 ml, contendo uma quantidade inicial de 250 mL de mosto e 25 g de levedura (massa úmida), em estufa termostática a $30^{\circ}\text{C} \pm 1$. O final das fermentações, cuja velocidade será estimada pela perda de peso (CO_2) a cada hora, ocorre em 6 horas, quando o fermento foi separado mediante centrifugação e submetido às análises. **Taxa de viabilidade e taxa de brotamento:** Foi determinada no final das fermentações segundo a metodologia proposta por Amorim et al., 1989. **Determinação da matéria seca:** Da levedura úmida recuperada será determinada a matéria seca para cada ensaio, através do processo indireto (Silva, 1990). **Determinação dos teores de cádmio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxôfre, cobre, ferro, manganês e zinco:** foram determinados segundo a metodologia proposta por Varma (1986) por espectrometria de absorção atômica com atomização por chama de acetileno. **Análise estatística** - A análise de variância (teste de F) foi utilizada para analisar as variáveis, seguida de uma análise sob esquema fatorial, com classificação cruzada e 3 repetições. As comparações de médias foram feitas pelo teste de comparações múltiplas de Tukey (Snedecor & Cochran, 1967).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

LEITE, C. O.; GOMES, M. B.; PRADO, R. S.; DE-FARIA, F.; MARQUES, T.; BRAIT, J. D. A.; MARIANO-da-SILVA, S. Variação na composição mineral da levedura *Saccharomyces cerevisiae* Fleischmann fermentando meio de caldo de cana contaminado com cádmio. In: CONGRESSO DE PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO DA UFG - CONPEEX, 2., 2005, Goiânia. **Anais eletrônicos do XIII Seminário de Iniciação Científica** [CD-ROM], Goiânia: UFG, 2005. n.p.

Tab. 1 - Taxa de viabilidade (%)

pH	mmol Cd L ⁻¹					
	0,00	0,10	0,50	1,00	2,00	5,00
3,5	96,54Aa	14,49Db	12,73Db	11,28Cb	10,62Bb	10,78Bb
4,5	96,12Aa	34,67Cb	23,89Cc	15,00BCd	12,32Bd	9,99Bd
5,5	95,98Aa	55,43Bb	39,21Bc	20,74Bd	10,54Be	10,39Be
6,5	94,61Aa	82,90Ab	81,16Ab	78,38Abc	73,21Ac	67,90Ac
COEFICIENTE DE VARIAÇÃO: 10,23%						

As médias seguidas pelas mesmas letras (maiúsculas ou minúsculas), não diferem entre si dentro de uma mesma linha ou mesma coluna, de acordo com o teste de Tukey à 1% de significância.

Tab. 2 - Taxa de brotamento (%)

pH	mmol Cd L ⁻¹					
	0,00	0,10	0,50	1,00	2,00	5,00
3,5	7,99	2,28	2,16	1,33	1,35	1,73
4,5	8,93	4,79	4,39	5,13	4,69	3,61
5,5	7,38	4,10	4,92	5,00	6,10	4,34
6,5	6,52	3,91	4,74	2,03	4,99	4,27
COEFICIENTE DE VARIAÇÃO: 5,67%						

As médias seguidas pelas mesmas letras (maiúsculas ou minúsculas), não diferem entre si dentro de uma mesma linha ou mesma coluna, de acordo com o teste de Tukey à 1% de significância.

Tab. 3 – Teor de cádmio (mmol kg⁻¹ na MS)

pH	mmol Cd L ⁻¹					
	0,00	0,10	0,50	1,00	2,00	5,00
3,5	0,0226 Ea	1,9598 Ea	9,0498 Da	21,4310 Ca	33,6539 Ba	45,2490 Aa
4,5	0,0023 Ca	1,9344 Ca	6,6120 Ba	7,5679 Bb	10,1131 Bb	18,6369 Ab
5,5	0,0147 Ca	0,7523 BCa	2,0645 Bcb	3,3767 Bbc	4,7115 Bc	12,5849 Ac
6,5	0,0082 Ba	4,9604 ABa	1,8382 ABb	0,7919 ABc	0,5656 ABc	0,4355 Ad
COEFICIENTE DE VARIAÇÃO: 20,008%						

As médias seguidas pelas mesmas letras (maiúsculas ou minúsculas), não diferem entre si dentro de uma mesma linha ou mesma coluna, de acordo com o teste de Tukey à 1% de significância.

Tab. 4 – Teor de fósforo (mmol kg⁻¹ na MS)

pH	mmol Cd L ⁻¹					
	0,00	0,10	0,50	1,00	2,00	5,00
3,5	0,2475ABa	0,245ABab	0,2195 Bab	0,2733 Aa	0,2777 Aa	0,2669 ABa
4,5	0,2637 Aa	0,2540 Aa	0,2441 Aab	0,2680 Aa	0,2690 Aa	0,2744 Aa
5,5	0,2238 Aa	0,2023ABb	0,2077ABb	0,2077 ABb	0,1880 ABb	0,1647 ABb
6,5	0,2615 Aa	0,2637 Aa	0,2647 Aa	0,2540 Aa	0,2529 Aa	0,2594 Aa
COEFICIENTE DE VARIAÇÃO: 7,048%						

As médias seguidas pelas mesmas letras (maiúsculas ou minúsculas), não diferem entre si dentro de uma mesma linha ou mesma coluna, de acordo com o teste de Tukey à 1% de significância.

Tab. 5 – Teor de potássio (mmol kg⁻¹ na MS)

pH	mmol Cd L ⁻¹					
	0,00	0,10	0,50	1,00	2,00	5,00
3,5	0,328BCb	0,3257 CDb	0,2805 Dc	0,3836 ABb	0,4160 Aa	0,4033 ABa
4,5	0,3427 Ab	0,3223 Ab	0,3623 Aab	0,3393 Ab	0,3221 Aab	0,3427 Aab
5,5	0,3495 Ab	0,3359 Aab	0,3308 Abc	0,3333 Ab	0,3257 Ab	0,3248 Ab
6,5	0,4220 ABa	0,3998 Ba	0,4203ABa	0,4808 Aa	0,4092 ABa	0,3956 Bb
COEFICIENTE DE VARIAÇÃO: 7,137 %						

As médias seguidas pelas mesmas letras (maiúsculas ou minúsculas), não diferem entre si dentro de uma mesma linha ou mesma coluna, de acordo com o teste de Tukey à 1% de significância.

Tab. 6 – Teor de cálcio (mmol kg⁻¹ na MS)

pH	mmol Cd L ⁻¹					
	0,00	0,10	0,50	1,00	2,00	5,00
3,5	13.7226Ab	14.1384Ab	12.8077 Ab	17.3812Abc	17.2572 Ab	12.8909 Ab
4,5	25.7818Aa	22.2472 Aa	24.3263 Aa	23.0788 Aa	21.4156Aab	20.5838 Aa
5,5	21.8313Aa	22.8709 Aa	20.7912ABa	20.792ABab	20.37ABab	15.8017Bab
6,5	12.0592Bb	12.0592 Bb	14.1384 Bb	13.7226 Bc	24.5346 Aa	11.4355 Bb
COEFICIENTE DE VARIAÇÃO: 11,161%						

As médias seguidas pelas mesmas letras (maiúsculas ou minúsculas), não diferem entre si dentro de uma mesma linha ou mesma coluna, de acordo com o teste de Tukey à 1% de significância.

É possível observar que o pH influenciou a toxicidade do cádmio (parâmetros viabilidade e brotamento), sendo esta maior em pH 3,5 e tendendo diminuir com o aumento do pH (Tab. 1).

Tab. 7 – Teor de magnésio (mmol kg⁻¹ na MS)

pH	mmol Cd L ⁻¹					
	0,00	0,10	0,50	1,00	2,00	5,00
3,5	53,0755	51,7040	45,3953	53,1441	56,2299	51,4297
4,5	79,5447	76,1160	76,4589	73,0302	71,6588	69,2587
5,5	60,3442	57,9442	56,5727	57,6013	55,5441	52,1155
6,5	50,4012	51,4297	53,4869	53,1441	54,5155	51,0869
COEFICIENTE DE VARIAÇÃO: 6,732%						

Segundo o teste de análise de variância (teste de F), as médias não diferem entre si à 1% de significância

Tab. 8 – Teor de enxôfre (mmol kg⁻¹ na MS)

pH	mmol Cd L ⁻¹					
	0,00	0,10	0,50	1,00	2,00	5,00
3,5	3,0152 Cb	1,5596 Cb	2,7033 Cb	8,0058BCb	14,55ABab	19,2348Aa
4,5	12,9955Aa	15,0759Aa	15,0759Aa	17,1553Aa	17,1553Aa	19,2348Aa
5,5	16,3236Aa	14,0362Aa	13,9322Aa	20,2745Aa	20,7943Aa	19,2348Aa
6,5	10,9170Aa	8,3177Aab	10,3972Aa	9,3575 Ab	8,3177 Ab	14,0362Aa
COEFICIENTE DE VARIAÇÃO: 21,859 %						

As médias seguidas pelas mesmas letras (maiúsculas ou minúsculas), não diferem entre si dentro de uma mesma linha ou mesma coluna, de acordo com o teste de Tukey à 1% de significância.

Tab. 9 – Teor de cobre (mmol kg⁻¹ na MS)

pH	mmol Cd L ⁻¹					
	0,00	0,10	0,50	1,00	2,00	5,00
3,5	0,1626	0,1416	0,1731	0,1416	0,1364	0,1416
4,5	0,1626	0,1521	0,1469	0,1574	0,1469	0,1364
5,5	0,1521	0,1521	0,1626	0,1574	0,1836	0,1679
6,5	0,1679	0,1679	0,1626	0,1731	0,1521	0,1783
COEFICIENTE DE VARIAÇÃO: 12,526%						

Segundo o teste de análise de variância (teste de F), as médias não diferem entre si à 1% de significância

Tab. 10 – Teor de ferro (mmol kg⁻¹ na MS)

Tratamentos		mmol Cd L ⁻¹					
nível	pH	0,00	0,10	0,50	1,00	2,00	5,00
3,5		10,6853	9,7203	8,8781	10,1941	9,5273	12,2644
4,5		13,2996	17,5983	11,5626	12,0714	11,9662	13,5979
5,5		12,1767	9,4571	8,7904	9,7028	8,4921	9,3870
6,5		13,2821	12,4048	12,6154	13,1768	9,9835	14,9489
COEFICIENTE DE VARIAÇÃO: A = 21,819%							

Segundo o teste de análise de variância (teste de F), as médias não diferem entre si à 1% de significância

Tab. 11 – Teor de manganês (mmol kg⁻¹ na MS)

Tratamentos		mmol Cd L ⁻¹					
nível	pH	0,00	0,10	0,50	1,00	2,00	5,00
3,5		0,5760Aa	0,5897Aa	0,5349ABa	0,5623 Aa	0,4937ABa	0,4114Ba
4,5		0,5623Aa	0,5349Aa	0,4526Aab	0,4937Aab	0,4800 Aa	0,4389Aa
5,5		0,2743Ab	0,2606Ab	0,2606 Ac	0,2606Ab	0,2194 Ab	0,2057Ab
6,5		0,3566Ab	0,3292Ab	0,3703Abc	0,3840Ac	0,3977 Aa	0,4389Aa
COEFICIENTE DE VARIAÇÃO: 11,102%							

As médias seguidas pelas mesmas letras (maiúsculas ou minúsculas), não diferem entre si dentro de uma mesma linha ou mesma coluna, de acordo com o teste de Tukey à 1% de significância.

Tab. 12 – Teor de zinco (mmol kg⁻¹ na MS)

Tratamentos		mmol Cd L ⁻¹					
nível	pH	0,00	0,10	0,50	1,00	2,00	5,00
3,5		1,1725Bc	1,1776Bb	1,1266 Bc	1,2948 Bc	1,3050Bc	2,6915Aab
4,5		2,6151Ab	2,5998Aa	2,3449Ab	2,3041 Ab	2,3143Aab	2,3245 Ab
5,5		3,221 Aa	3,0637Aa	3,0790Aab	3,0637Aab	2,9617 Aa	2,8292Aab
6,5		3,4205Aa	3,2625Aa	3,3135 Aa	3,4460Aa	1,9014Bbc	3,5836Aa
COEFICIENTE DE VARIAÇÃO: 14,220%							

As médias seguidas pelas mesmas letras (maiúsculas ou minúsculas), não diferem entre si dentro de uma mesma linha ou mesma coluna, de acordo com o teste de Tukey à 1% de significância.

É possível observar que o pH influenciou a toxicidade do cádmio (parâmetros viabilidade e brotamento), sendo esta maior em pH 3,5 e tendendo diminuir com o aumento do pH (Tabela 1). É conhecido que em níveis de pH mais elevados ocorre a formação de óxidos e hidróxidos de cádmio, decrescendo a quantidade de íons livres e disponíveis para interação com a levedura, diminuindo a absorção e os sintomas de toxidade. Os teores de potássio parecem não variar entre os diferentes tratamentos (Tabela 5), apesar dos teores levemente superiores no nível de pH 6,5, onde o cádmio provavelmente se encontra na forma insolúvel, não agindo sobre a levedura. Talvez com a utilização de níveis mais altos de cádmio, poderíamos observar as perdas maciças de potássio, causadas por metais pesados. Apesar do cádmio ser conhecido como inibidor da enzima ferredoxina, responsável pela absorção de ferro, nas concentrações testadas, parece não influir nos teores celulares deste metal (tabela 10). Apesar de ser conhecido causador de diminuição nos teores de magnésio intracelular em leveduras submetidas à fermentação de meios contendo cádmio, nas concentrações testadas no presente trabalho, o metal não afetou os teores intracelulares deste metal (Tabela 7). O pH influenciou a absorção de cádmio, sendo esta maior em pH 3,5, enquanto no pH 6,5 praticamente não houve absorção (Tabela 3). Em níveis de pH mais elevados, ocorre a formação de óxidos e hidróxidos de cádmio, decrescendo a quantidade de íons livres e disponíveis para interação com a levedura, diminuindo a absorção e os sintomas de toxidade (Tabelas 1 a 12). Os teores de enxofre foram maiores nos tratamentos com pH 5,5, e tenderam a aumentar quando aumentou o teor de cádmio no meio de crescimento (Tabela 9). Os níveis de manganês (Tabela 10) e fósforo (Tabela 4) decresceram com o aumento do pH, enquanto os teores de zinco aumentaram (Figura 12). Ao contrário do esperado, os teores intracelulares de zinco parecem aumentar com o aumento do pH e das concentrações de cádmio no meio de crescimento.

4. CONCLUSÃO

O pH influenciou na absorção e ação tóxica do cádmio sobre a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. O cádmio parece influenciar na composição mineral da levedura, sendo alguns resultados obtidos diferentes daqueles apresentados na literatura para outros metais pesados. Porém, uma melhor análise dos resultados obtidos ainda é necessária.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMORIM, H. V.; OLIVEIRA, A. J.; ZAGO, E. A.; BASSO, L. C.; GALLO, C. R. (1989), *Processos de fermentação alcoólica: seu controle e monitoramento*, FERMENTEC, Piracicaba, 145 p.
- BRIN, M. (1966), Tranketalose: clinical aspects. *Methods in Enzimology*, v.9, p.506-514.
- SNEDECOR, G. W.; COCHRAN, W. G. (1967), *Statistical methods*, 6. ed. The Iowa State University Press, Ames,, 593p.
- SILVA, D.J. (1990), *Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa: Imprensa Universitária, 166p.
- VARMA, A. (1986), Group IIB elements (Zn, Cd, Hg). In: VARMA, A. *Handbook of atomic absorption analysis*. 3. ed. Boca Raton: CRC Press, v.2, cap.2, p.73-184.

FONTE DE FINANCIAMENTO – CNPq/PIBIC

¹ Bolsista de iniciação científica. Departamento de Ciências Biológicas / Laboratório de Bioquímica, cesar_1leite@yahoo.com.br

² Alunos do Campus Avançado de Jataí/UFG

³ Orientador/Campus Avançado de Jataí/UFG, smarianos@uol.com.br