

**Verificação da Adaptação à Galactose e à
Maltose de Células de *Saccharomyces
carlsbergensis* (1)**

G. C. de MELLO AYRES

I. Zimotécnico

E. S. A. "Luiz de Quelroz"

(1) Recebido para publicação em 26/10/1961.

1 INTRODUÇÃO

AYRES e CAMARGO (1961) verificaram que células de *Saccharomyces carlsbergensis* crescidas em caldo de cana, colocadas em manômetro de Warburg não fermentaram galactose e maltose, fato que colide frontalmente com as indicações e características sistemáticas para o citado microorganismo.

Atribuímos então, com base em literatura sôbre o assunto, essa aparente disparidade de resultados, à necessidade de uma possível adaptação da levedura ao substrato a ser fermentado, ou pelo menos à exigência de um período de incubação.

No presente trabalho verificamos realmente, a necessidade de um período de adaptação das células desta levedura à galactose e à maltose para que êstes substratos fôssem fermentados em Warburg.

2 — MATERIAL E MÉTODOS

O microorganismo utilizado, obviamente, foi o mesmo que suscitou as dúvidas anteriores: *Saccharomyces carlsbergensis* IZ-1834.

As células foram multiplicadas em meio DPE, sendo a fonte de carbono glicose, ou galactose, ou maltose, em concentração de 1,5 g/100 ml de meio.

O período de multiplicação e adaptação foi realizado em duas fases, com reincubação, e portanto, as células colhidas para ensaio em Warburg provieram de uma segunda adaptação. Cada fase de crescimento durou 24 horas e se processou em agitação a 250 r. p. m..

As células de segunda geração foram colhidas separadamente, centrifugadas a 4° C, lavadas 4 vezes com KC1 0,154 M, à mesma temperatura e suspensas em tampão de fosfato 0,1 M para pH 5,60, igualmente a 4° C. Um ml desta suspensão continha 20 mg de células (pêso úmido).

O sistema em Warburg foi o seguinte: 2,50 ml de suspensão de células (50 mg pêso úmido) e 0,3 ml de solução aquosa contendo 10 micrômoles de substrato. Vf = 2,80 ml.

Passagem de nitrogênio durante 10 minutos. Tempo de equilíbrio, 10 minutos. Temperatura, 30° C. Leituras de 15 em 15 minutos.

3 — RESULTADOS OBTIDOS

Os resultados obtidos após 210 minutos de fermentação em manômetros de Warburg estão sumarizados no quadro 1 e figuras II, III e IV.

QUADRO 1

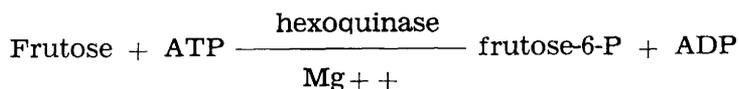
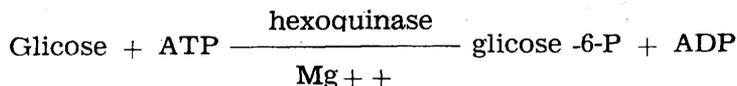
Produção de CO₂ após 210 minutos de fermentação, em microlitros

Substratos Células	Glicose	Galactose	Maltose	Rafinose
Células crescidas em glicose	356	21	14	324
Células crescidas em galactose .	370	20	340	1.000
Células crescidas em maltose ..	334	27	621	415

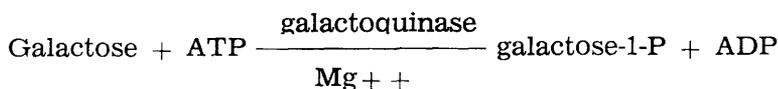
4 — DISCUSSÃO

As fórmulas estruturais da glicose, galactose, maltose e rafinose são as apresentadas na fig. 1.

Sabe-se que a metabolização da glicose e da frutose se inicia por reação enzimática de fosforilação, a partir de ATP, sendo hexoquinase o enzima que cataliza a reação e Mg++ o ativador:



A metabolização da galactose se inicia pela sua fosforilação no C-1 por transfosfatase específica, a galactoquinase:



A galactose-1-fosfato será enquadrada no sistema glicolítico EMP pela sua conversão enzimática a glicose-1-fosfato pelo sistema da galactowaldenase, sendo UDPG o coenzima. A reação é a inversão de Walden.

A maltose é hidrolizada pela maltase, resultando desta hidrólise enzimática, duas moléculas de glicose, pela ruptura da ligação alfa-1,4.

A rafinose, pela ação da invertase libera frutose e melibiose; e pela ação da alfa-galactosidase se desdobra em galactose e sacarose.

As células de *S. carlsbergensis* crescidas em glicose, fermentaram em Warburg (fig. II) glicose e 1/3 da rafinose, e não fermentaram maltose e galactose: portanto, elas devem ter sacarase que rompeu a ligação glicose-frutose da rafinose, liberando a frutose, e não devem ter maltase e galactosidase. A glicose e a frutose (esta liberada da rafinose) foram então esterificadas, dando respectivamente, glicose-6-fosfato e frutose-6-fosfato.

As células crescidas em maltose, em Warburg fermentaram glicose, maltose e 1/3 da rafinose e não fermentaram galactose; devem ter portanto sacarase (à semelhança das células crescidas em glicose) e maltase (fig. III).

Abreviações utilizadas:

ATP — trifosfato de adenosina

ADP — difosfato de adenosina

UDPG — uridin-difosfato-glicose

Liberadas a frutose (constituente da rafinose) e glicose + glicose (constituintes da maltose) êsses monossacarídeos foram igualmente esterificados a respectivamente frutose-6-fosfato e glicose-6-fosfato.

As células crescidas em galactose, em Warburg fermentaram glicose, galactose e rafinose (inteiramente) e não fermentaram maltose (fig. IV). Estas células devem portanto ser portadoras de sacarase (que liberou frutose da rafinose); alfa-galactosidase que rompeu a melibiose (constituente da mesma rafinose) liberando galactose e glicose. Dêste modo, ficaram à sua disposição glicose, galactose e frutose que é lícito admitir, foram esterificados a glicose-6-fosfato, galactose-1-fosfato e frutose-6-fosfato. A galactose-1-fosfato deve ter sido isomerizada a glicose-1-fosfato pela galactowaldenase e tudo se incluiu no esquema EMP.

5 — CONCLUSÕES

O *S. carlsbergensis* IZ 1834 deve ter entre outros, como enzimas constitutivos, sacarase e hexoquinase; e como enzimas adaptativos entre outros, alfa-galactosidase, maltase e galactowaldenase.

6 — SUMÁRIO

Células de *S. carlsbergensis* crescidas em meio de cultura DPE diferenciados apenas em sua principal fonte de carbono (glicose, galactose e maltose) tiveram diferentes comportamentos quando postas a fermentar glicose, galactose, maltose e rafinose, em manômetro de Warburg.

Presume-se que sejam enzimas constitutivos para o citado microorganismo, sacarase e hexoquinase e enzimas adaptativos, maltase, alfa-galactosidase e galactowaldenase.

7 — SUMMARY

Cells of *Saccharomyces carlsbergensis* growing in medium DPE and with glucose, or galactose, or maltose have different fermenting capacities for galactose, maltose and raffinose.

From these observations we can considered that they have as constitutive enzymes maltase, galactosidase and galactowaldenase.

8 — LITERATURA CITADA

1. AYRES, G. C. de M. e R. de Camargo — 1961 — Fermentação de carboidratos por células de *Saccharomyces carlsbergensis* adaptadas à Emulsan AL. Anais da E. S. A. “Luiz de Queiroz” 18: 244-259.

- 3 -

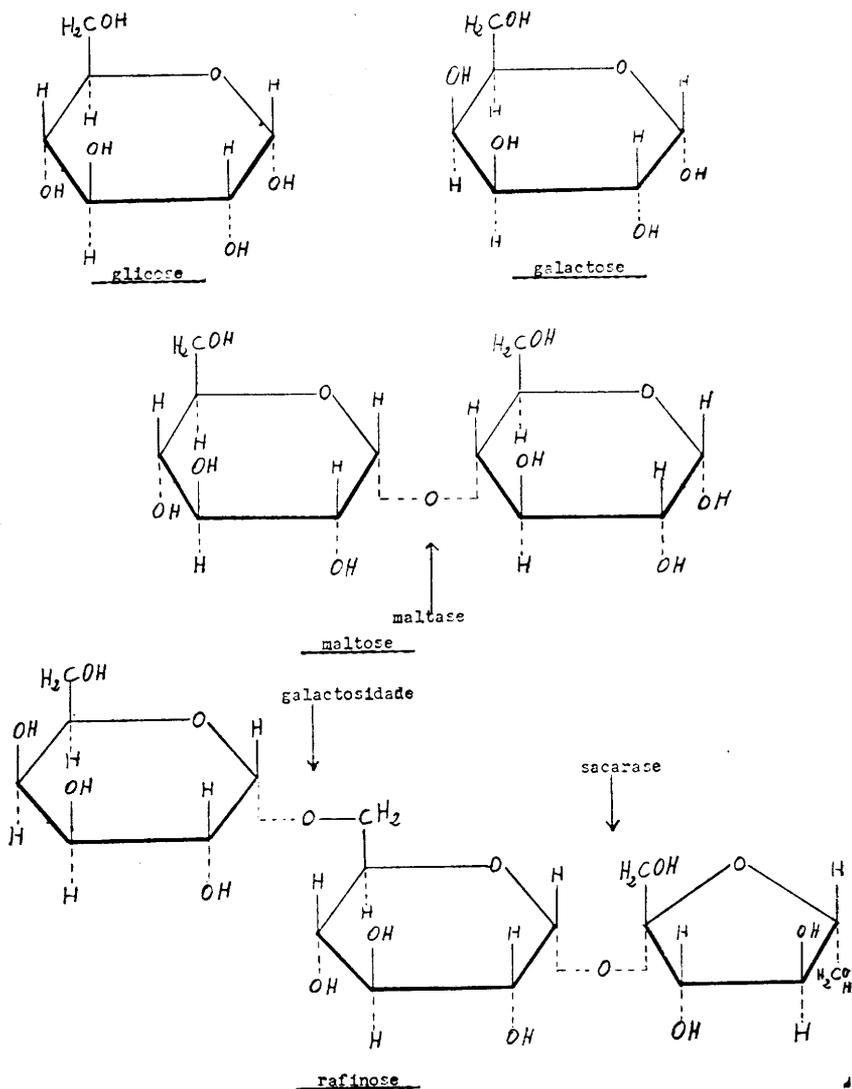


Fig. 1 — Fórmulas estruturais da glicose, da galactose, da maltose e da rafinose.

Saccharomyces carlsbergensis

Fermentação de carboidratos por células crescidas em glicose

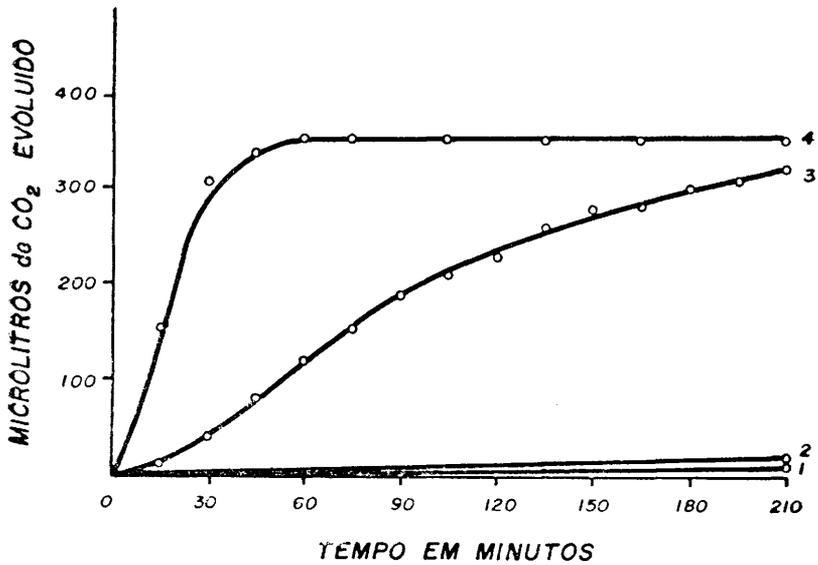


Fig. 2: 1 — Maltose; 2 — Galactose; 3 — Rafinose; 4 — Glicose

Saccharomyces carlsbergensis

Fermentação de carboidratos por células crescidas em maltose

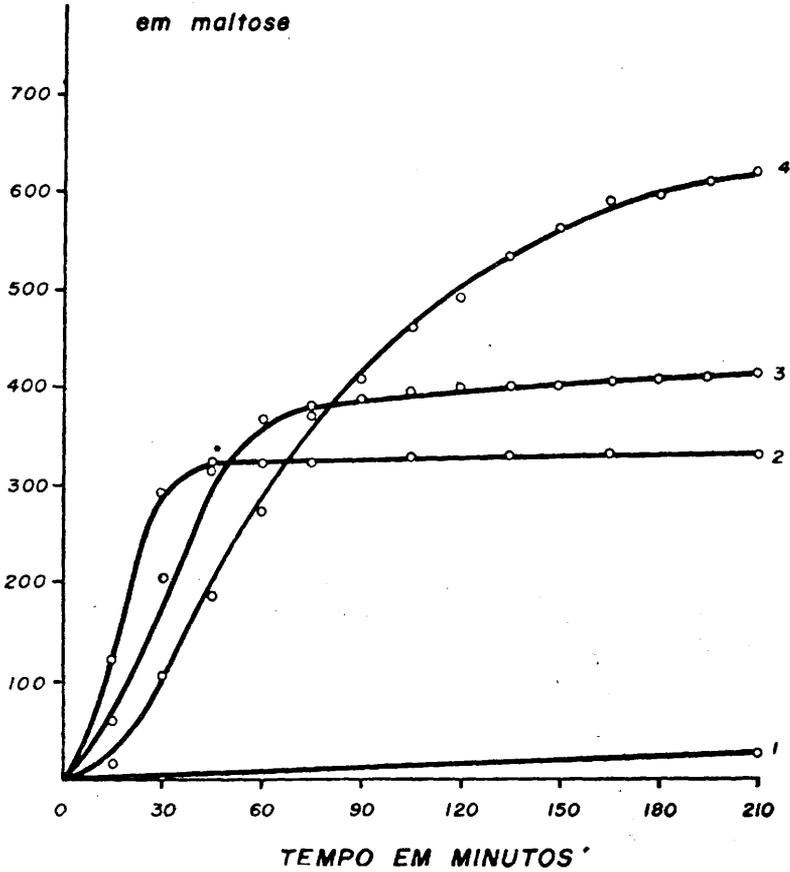


Fig. 3: 1 — Galactose; 2 — Glicose; 3 — Rafinose; 4 — Maltose.

Saccharomyces carlsbergensis

Fermentação de carboidratos por células crescidas em galactose

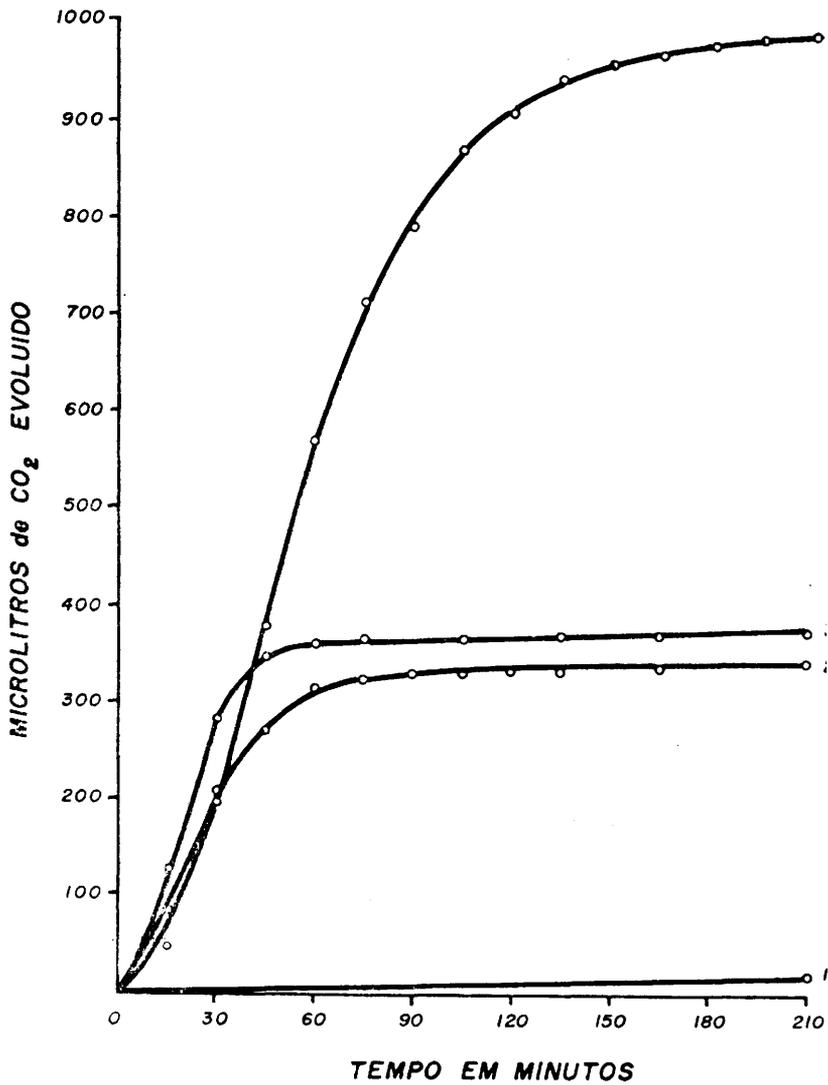


Fig. 4: 1 — Maltose; 2 — Galactose; 3 — Glicose; 4 — Rafinose