

ELIANA DOS SANTOS LEANDRO

TOLERÂNCIA AO CONGELAMENTO EM MUTANTES DE
***Lactobacillus delbrueckii* UFV H2b20**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL

2009

RESUMO

LEANDRO, Eliana dos Santos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2009. **Tolerância ao congelamento em mutantes de *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2b20**. Orientadora: Célia Alencar de Moraes. Coorientadores: Antônio Fernandes de Carvalho e Maurício Dutra Costa.

Mutantes de *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2b20 foram isolados após procedimento de mutagênese com luz ultravioleta, acridina laranja e etil metano sulfonato. Após este procedimento, foram selecionadas, aleatoriamente, 10 colônias em cada tratamento para serem caracterizadas quanto à velocidade específica de crescimento (μ) e sobrevivência a três ciclos de congelamento e descongelamento. Dentre o total de 30 isolados selecionados os mutantes MUV9, MAC6 e MEMS2, sendo estes os que apresentaram maior μ e tolerância a repetidos ciclos de congelamento e descongelamento. A sobrevivência das estirpes mutantes após 15 dias de estocagem a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ na ausência e na presença de substâncias crioprotetoras foi maior do que a da estirpe selvagem. Dentre as substâncias crioprotetoras utilizadas, o leite desnatado reconstituído a 10 % foi o que conferiu melhor proteção durante a estocagem a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Após 15 dias de estocagem a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, os mutantes MAC6 e MEMS2 foram os que apresentaram maior sobrevivência. O choque frio, $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 4 horas e o choque térmico, $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 30 minutos aumentaram a sobrevivência das estirpes mutantes e da estirpe parental à estocagem de 70 dias a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, sendo que o choque frio permitiu maior sobrevivência ao congelamento as estirpes mutantes e parental do que o choque térmico. Os resultados aqui apresentados estimulam a continuidade do trabalho de melhoramento de *L. delbrueckii* UFV H2b20 para uso tecnológico.

ABSTRACT

LEANDRO, Eliana dos Santos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2009. **Resistance to freeze in mutants of *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2b20**. Adviser: Célia Alencar de Moraes. Co-adviser: Antônio Fernandes de Carvalho and Maurício Dutra Costa.

Mutants of *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2b20 were isolated after treatment with ultra violet light, acridine orange, or ethyl methane sulfonate. After the mutagenic treatments, ten colonies were picked randomly from each treatment and were the mutants characterized. Specific growth rate (μ) and survival to successive freeze-thaw cycles were assessed for each isolate along with milk acidification rate and survival to storage at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ with different cryoprotective agents. Among all 30 isolates, mutants MUV9, MAC6, and MEMS2 displayed higher μ values and better survival after repeated freeze-thaw cycles. Survival of the mutant strains after 15 days at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, both in the presence and the absence of cryoprotective, was better than survival of the wild type. Reconstituted non fat milk (10 %) proved to be a better cryoprotective agent than saccharose and monosodium glutamate for storage at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Survival rates were higher for mutants MAC6 and MEMS2, after 15 days at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Cold shock, at $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ for four-hours, and heat shock, $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 30 minutes, enhanced survival of the mutant strains and also of the parental strain as measured after 70 days at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Cold shock response allowed better survival to all the strains, mutant and parental, when compared to the heat shock. The results reported here show that strain development of *L. delbrueckii* UFV H2b20 for technological purposes can be achieved by a classical genetic mutation.