

## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE CULTURAS DE DIFERENTES ESPÉCIES DE LACTOBACILOS

Natália Brito da Cruz<sup>1</sup>; Profa. Dra. Eulália Camelo Pessoa de Azevedo Ximenes<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Estudante do Curso de Biomedicina- CCB – UFPE; E-mail: nati.britocruz@gmail.com.

<sup>2</sup>Professora/Doutora do Departamento de Antibióticos – CCB – UFPE; eulaliaximenes@yahoo.com.br.

**Sumário:** As reações de oxidação ocorrem normalmente nas células e produzem radicais livres que reagem com importantes moléculas presentes nas células danificando-as e gerando sérias patologias. Os antioxidantes são moléculas responsáveis por combater esses radicais livres retardando as reações de oxidação. Nesse contexto, surgem os probióticos, que são micro-organismos vivos que, administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro. Os probióticos têm sido amplamente utilizados na indústria alimentícia e em produtos farmacêuticos. Recentes pesquisas têm por objetivo a busca por moléculas de origem natural com características antioxidantes. Produtos do metabolismo de microrganismos probióticos são reconhecidos cientificamente por possuírem atividade antioxidante. Diante deste relato, o presente trabalho objetivou a determinação da atividade antioxidante de culturas de dez cepas de lactobacilos isoladas de alimentos e medicamentos. Os lactobacilos foram cultivados em meio de Man Rogosa e Sharp suplementado ou não com 0,5% de ácido linoleico. Após uma incubação por 48 horas essas culturas foram centrifugadas e filtradas para obter um caldo fermentado isento de células e estéril. A atividade antioxidante foi realizada pelo método do DPPH com modificações. Quando os resultados das atividades antioxidantes obtidas para o grupo teste foram comparadas àquelas obtidas para o grupo controle (MRS) foi verificado que a fermentação do meio MRS contendo 0,5% ácido linoleico pelos lactobacilos, aumenta significativamente esta atividade ( $p < 0,05$ ) e não foi verificada correlação entre os resultados obtidos para o grupo controle comparado grupo teste ( $R^2 = 0,080$ ). Todas as espécies de lactobacilos, cultivadas em meio MRS suplementado com ácido linoleico a 0,5% apresentaram uma forte atividade antioxidante. Quando comparadas ao controle esta atividade foi superior a 90%. Os metabólitos oriundos da fermentação do meio MRS e do ácido linoleico provavelmente são os responsáveis por essa atividade.

**Palavras-chave:** atividade antioxidante; DPPH; lactobacilos; probióticos

### INTRODUÇÃO

As espécies reativas de oxigênio são um paradoxo em biologia. Elas previnem doenças por ativar o sistema imunológico, medeiam a sinalização celular e desempenham um papel fundamental na apoptose mas por outro lado, podem danificar importantes moléculas em suas funções benéficas nas células e apresentam um papel na carcinogênese, doenças cardiovasculares, diabetes dentre outras (MISHRA et al., 2015). Os antioxidantes são as substâncias responsáveis por combater essas espécies reativas de oxigênio (EROS), pois retardam a velocidade da oxidação. Isso pode acontecer pela inibição desses radicais e também pela reação com metais. Inúmeras pesquisas com probióticos estão sendo realizadas objetivando a busca por antioxidantes naturais e seguros para administração a humanos, protegendo assim o corpo contra os radicais livres e retardando o aparecimento e evolução de doenças crônico/ degenerativas (MISHRA et al., 2015). Os probióticos ganharam destaque neste contexto, muito embora sua maior importância esteja na manutenção do equilíbrio da microbiota humana. O termo probiótico refere-se a micro

organismos vivos que, administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2001).

Os probióticos exercem sua atividade através da redução do pH intestinal, produção de substâncias com atividade antimicrobiana, tais como ácidos orgânicos (lático, acético, propiônico, butírico), peróxido de hidrogênio e bacteriocinas (bifidocina, reuterina, mutacina, nisina) produção de lactase, modulação do sistema imunológico, competição com micro-organismos patogênicos por nutrientes, por fatores de crescimento e por receptores membranares de suas adesinas (MALDONADO et al, 2011; O'SHEA et al., 2011). Os micro-organismos probióticos têm sido fundamentais na indústria farmacêutica e de alimentos funcionais, como: iogurtes, queijos, leites, sorvetes e quefir e o gênero *Lactobacillus* o mais estudado (BAUGHER; KLAENHAMMER, 2011). Diante desse relato, este trabalho teve por objetivo determinar a atividade antioxidante do caldo fermentado oriundo da cultura de diferentes espécies de lactobacilos.

### MATERIAIS E MÉTODOS

Para este estudo foram utilizadas cinco linhagens de *Lactobacillus* isoladas do quefir artesanal e cinco linhagens isoladas de alimentos ou medicamentos à saber: *Lactobacillus plantarum*(n=5) *Lactobacillus paracasei* (n=3), *Lactobacillus pentosus*(n=1) e *Lactobacillus rhamnosus*(n=1). Culturas em MRS e em MRS suplementado com o ácido linoleico foram utilizadas nesse experimento. Estas culturas foram incubadas sob anaerobiose a 37°C. Alíquotas de cada uma destas culturas foram recolhidas após 48 horas de incubação para a determinação da atividade antioxidante. A capacidade dos caldos fermentados de lactobacilos em capturar o radical livre DPPH foi determinada utilizando metodologia descrita por LI et al., 2012 com algumas modificações. As análises foram realizadas em triplicatas e o percentual da atividade antioxidante foi calculado utilizando a seguinte equação: Atividade Antioxidante (%) =  $[1 - \frac{\text{Abs da amostra} - \text{Abs do controle}}{\text{Abs controle}}] \times 100$ .

### RESULTADOS

Os resultados da atividade antioxidante das culturas das dez cepas lactobacilos após centrifugação e filtração do sobrenadante estão apresentados nas figuras 1 e 2.

Quando os resultados da atividades antioxidantes do grupo teste foram comparadas ao grupo controle (MRS) foi verificado que a fermentação do meio MRS contendo 0,5% ácido linoleico pelos lactobacilos, aumenta significativamente esta atividade ( $p < 0,05$ ) e que não foi verificada correlação entre os resultados obtidos para o grupo controle comparado ao grupo teste ( $R^2 = 0,080$ ). Estes resultados corroboram as publicações de vários autores, muito embora a atividade descrita nestes trabalhos estão em torno de 50% e inferiores as encontradas no presente estudo que foram superiores a 95% (LI et al., 2012; WU et al., 2014). Essa atividade antioxidante provavelmente deve-se aos metabólitos secundários produzidos pelas diferentes espécies de lactobacilos cultivados no meio MRS+ácido linoleico, entretanto a origem desta atividade ainda não foi totalmente esclarecida.

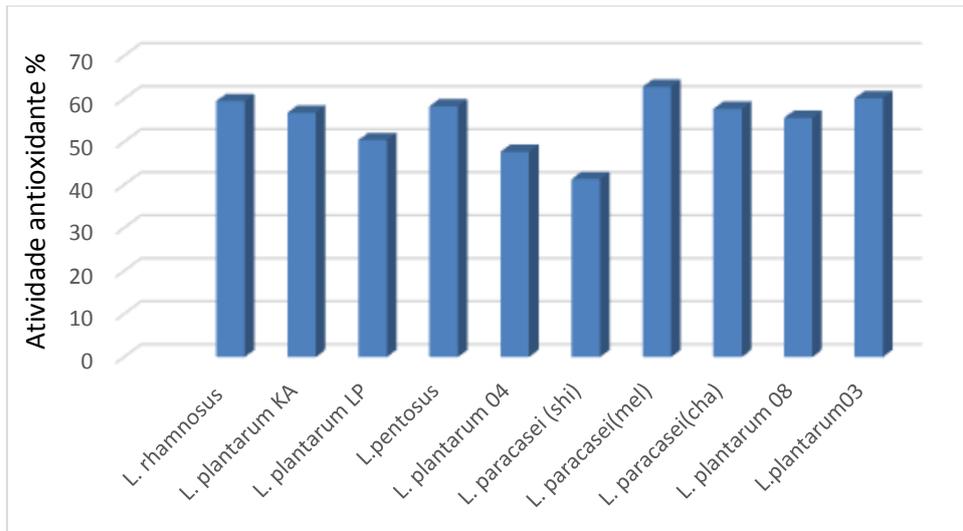


Figura 1: Atividade antioxidante das culturas de lactobacilos em meio de Man Rogosa e Sharp (MRS).

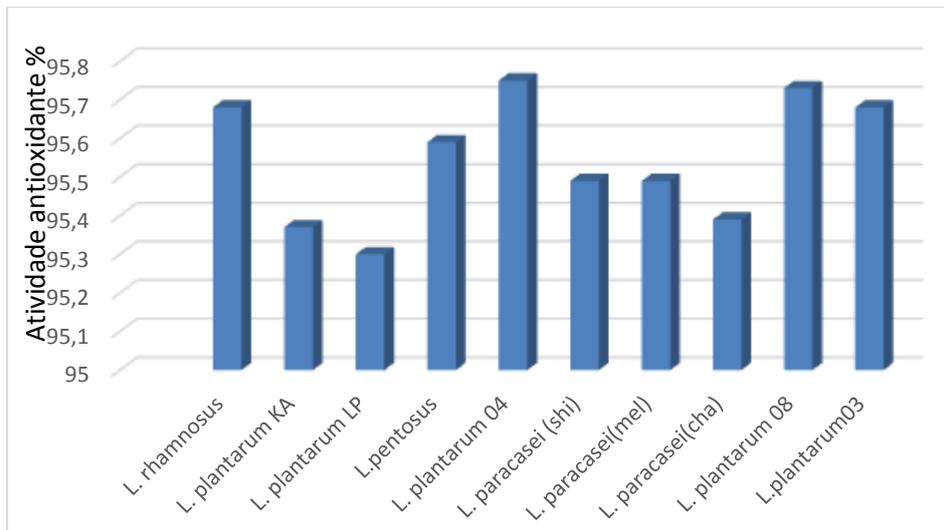


Figura 2: Atividade antioxidante da cultura de lactobacilos em meio de Man Rogosa e Sharp suplementado com ácido linoleico 0,5%.

Wu et al. 2014 estudaram a atividade antioxidante e mais especificamente a redução do ânion superóxido por cultivos de *Lactobacillus delbrueckii* e verificaram que esta atividade está ligada a produção de moléculas secretadas muito mais do que àquelas presentes em suas células ou lisados celulares. A comprovação desses autores corroboram a nossa observação que ao utilizar o caldo MRS fermentado e isento de células verificamos forte atividade antioxidante. As culturas de lactobacilos em meio MRS suplementado com o ácido linoleico poderão gerar moléculas com propriedades antioxidantes semelhantes as encontradas por O'SHEA et al., 2011. Esses pesquisadores observaram que bactérias ácido lácticas, principalmente do gênero *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Bifidobacterium* e *Pediococcus* possuem a capacidade de biossintetizar o Ácido Linoleico Conjugado (CLA) a partir do ácido linoleico contido no meio de cultura. Esta moléculas têm várias propriedades farmacológicas dentre as quais anticancerígena, antiobesidade, anti-inflamatória e antioxidante (O'SHEA et al., 2011). Diante desta afirmativa podemos supor

que os lactobacilos utilizados na pesquisa em tela, poderão ter biossintetizado o CLA e que esta molécula associada a outras de natureza desconhecida são responsáveis pela atividade antioxidante presente no caldo fermentado. Uma outra hipótese sobre a forte atividade antioxidante encontrada neste estudo é que a presença do tween 80 no meio MRS poderia gerar também metabólitos com atividade antioxidante. Pérez-Rosés et al 2015 mostraram que o tween 80 em concentrações usualmente utilizadas em ensaios experimentais possui atividade sobre a produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) em leucócitos humanos e um efeito sobre a biossíntese de mieloperoxidase. Apesar da atividade inibitória do Tween 80 sobre a produção das EROS, esses autores não correlacionaram essa atividade, à capacidade de eliminação de radicais livres mas atribuíram a algum tipo de interação biológica. Seguindo este raciocínio, Mishra et al., 2015 em uma revisão sistemática relatou que algumas cepas de microrganismos probióticos têm a capacidade de aumentar a atividade de certas enzimas antioxidantes como glutathione-S-transferase, glutathione reductase o que determina a diferença entre os microrganismos em relação a sua atividade antioxidante mas o mecanismo completo deste processo ainda não está totalmente esclarecido

### CONCLUSÕES

Todas as espécies de lactobacilos, cultivadas em meio MRS suplementado com ácido linoleico a 0,5% apresentaram uma forte atividade antioxidante. Quando comparadas ao controle esta atividade foi superior a 90%.

Os metabólitos oriundos da fermentação do meio MRS e do ácido linoleico são os responsáveis por essa atividade.

Estudos posteriores determinarão a natureza química desses compostos com atividade antioxidante.

### AGRADECIMENTOS

Ao programa Institucional de bolsas de Iniciação Científica PIBIC/CNPq/UFPE.

### REFERÊNCIAS

BAUGHER, J.L; KLAENHAMMER, T.R. Invited review: Application of omics tools to understanding probiotic functionality. J. Dairy Sci. 2011, 94(10):4753-65.

FAO/WHO. Report on Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. 2001. [ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probio\\_report\\_en.pdf](ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probio_report_en.pdf).

LI, SHENGYU; ZHAO, YUJUAN; ZHANG, LI; ZHANG, XUE ;HUANG, LI; LI, DA; NIU, CHUNHUA; YANG, ZHENNAI;WANG, QIANG. Antioxidant activity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from traditional Chinese fermented foods. Food Chemistry. 2012, v.135, 3, p. 1914-1919.

MISHRA, VIJENDRA; SHAH, CHANDNI; MOKASHE, NARENDRA ; CHAVAN, RUPESH ; YADAV, HARIOM; PRAJAPATI, JASHBHAI. Probiotics as Potential Antioxidants: A Systematic Review. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2015, 63, (14):3615-3626.  
O'SHEA, E. F.; COTTER, P. D.; STANTON, C.; ROSS, R. P.; HILL, C. Production of bioactive substances by intestinal bacteria as a basis for explain probiotics mechanisms: bacteriocins and conjugated linoleic acid. Int. J. Food. Microbiol., 2011.

WU, DACHANG ; SUN, MING ZHONG ; ZHANG, CUILI; XIN, YI. Antioxidant properties of *Lactobacillus* and its protecting effects to oxidatives stress CACO -2 cells. J. Anim. Plant Sci. 2014 24,1766- 1771.