

# AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO LISADO DE CÉLULAS LÍQUIDO E LIOFILIZADO DO *Lactobacillus acidophilus* E SUA CORRELAÇÃO COM A ATIVIDADE QUANDO INCORPORADO A UM GEL COSMÉTICO

BENDER, Suzana<sup>1</sup>  
FARIÑA, Luciana Oliveira de<sup>2</sup>  
VASCONCELOS, Helder Lopes<sup>3</sup>  
ROMANI, John Lennon<sup>4</sup>  
COSTA, Ana Caroline da<sup>5</sup>  
MORAES, Loana Simionato<sup>6</sup>

## RESUMO

Aplicações não intestinais de probióticos são pouco investigadas, no entanto os probióticos são capazes de melhorar a saúde da pele por meio de aplicações tópicas e ainda como antioxidantes. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi comparar a atividade antioxidante do extrato lisado de células líquido e liofilizado do *Lactobacillus acidophilus* e relacionar com a atividade antioxidante dessas frações quando adicionadas à uma forma cosmética gel. Os resultados descritos demonstram que o extrato lisado líquido e liofilizado do *Lactobacillus acidophilus* representam uma fonte potencial de antioxidantes naturais e que existe uma correlação com a atividade dos extratos lisados quando adicionados à forma cosmética gel. Entretanto a atividade antioxidante se mostrou maior no extrato de células liofilizado em gel do que em solução devido ao pH do gel e pelo fato do extrato lisado liofilizado aparentemente ter se dissolvido melhor.

**PALAVRAS-CHAVE:** Cosméticos, Antioxidantes, *Lactobacillus Acidophilus*.

## EVALUATION OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF LIQUID AND LYOPHYLIZED CELL LYTE EXTRACT OF *Lactobacillus acidophilus* AND THEIR CORRELATION WITH ACTIVITY WHEN INCORPORATED IN A COSMETIC GEL

## ABSTRACT

Non-intestinal applications of probiotics are poorly investigated, however probiotics are able to improve skin health through topical applications and also as antioxidants. Thus, the objective of this work was to compare the antioxidant activity of the lysed extract of liquid and lyophilized cells of *Lactobacillus acidophilus* and relate it to the antioxidant activity of these fractions when added to a cosmetic gel form. The results described demonstrate that the liquid and lyophilized extract of *Lactobacillus acidophilus* represent a potential source of natural antioxidants and that there is a correlation with the activity of the lysed extracts when added to the cosmetic gel form. However, the antioxidant activity was shown to be greater in the lyophilized cell extract in gel than in solution due to the pH of the gel and the fact that the lyophilized lysate extract apparently dissolved better.

**KEYWORDS:** Cosmetics. Antioxidants. *Lactobacillus Acidophilus*

---

<sup>1</sup> Docente do Curso de Farmácia do Centro Universitário Fundação Assis Gurgacz E-mail: [suzanabender@hotmail.com](mailto:suzanabender@hotmail.com)

<sup>2</sup> Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas-UNIOESTE . E-mail: [luleal32@yahoo.com.br](mailto:luleal32@yahoo.com.br)

<sup>3</sup> Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas-UNIOESTE. E-mail: [helder.vasconcelos@unioeste.br](mailto:helder.vasconcelos@unioeste.br)

<sup>4</sup> Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas -UNIOESTE. E-mail: [john\\_romani@hotmail.com](mailto:john_romani@hotmail.com)

<sup>5</sup> Farmacêutica Graduada no Curso de Farmácia-UNIOESTE. E-mail: [superaninha11@hotmail.com](mailto:superaninha11@hotmail.com)

<sup>6</sup> Discente do Curso de Farmácia-UNIOESTE. E-mail: [loanasimionatomorais@hotmail.com](mailto:loanasimionatomorais@hotmail.com)

## 1. INTRODUÇÃO

A aplicação tópica de antioxidantes na forma de cosméticos tanto quanto o uso oral são maneiras eficazes de se restabelecer a proteção da pele contra a ação oxidativa. Além da reposição utilizando moléculas exógenas, buscam-se novas substâncias a fim de que se aumentem direta ou indiretamente os níveis de antioxidantes endógenos. Diversos estudos descritos na literatura abordam o uso de antioxidantes oriundos de fontes naturais.

Neste sentido, o uso de probióticos tem sido alvo de intensas pesquisas que permitem incorporar em cosméticos os probióticos vivos, assim como metabólitos da fermentação. Dessa forma são promovidas inúmeras atividades biológicas úteis à manutenção da saúde da pele, que atuam inclusive como antioxidantes. Inúmeros estudos demonstram que há atividade antioxidante do *Lactobacillus acidophilus* em sua célula intacta e em suas frações lisadas ou inativas.

Dentro deste contexto, o objetivo deste trabalho foi comparar a atividade antioxidante do extrato lisado de células líquido e liofilizado do *Lactobacillus acidophilus* e correlacionar com sua possível atividade antioxidante quando adicionado à uma forma cosmética gel. Dessa forma, o artigo descreve como os extratos lisados líquidos e liofilizados foram preparados, como foi realizada sua atividade antioxidante, o preparo do gel e sua análise.

## 2. METODOLOGIA

### 2.1 ATIVAÇÃO DO *Lactobacillus acidophilus*

Para ativação e preparo da suspensão celular foi pesado – assepticamente - um grama (1 g) do liofilizado de *Lactobacillus acidophilus*, adquirido da indústria farmacêutica, o qual foi transferido para tubos contendo 10 mL de caldo TSB a 10% (m/v) e posteriormente incubados por um período de 24 horas em jarra de anaerobiose a  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ , segundo metodologia proposta por Redondo (2008).

Após 24 horas de incubação a cultura foi centrifugada por cinco (5) minutos a 5.000 rpm em uma centrífuga refrigerada a  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ . O sobrenadante foi descartado e o sedimento ressuspenso em 10 mL de solução salina fosfatada tamponada pH 7,2. Posteriormente, a suspensão foi homogeneizada em vórtex e centrifugada por três vezes consecutivas. O sobrenadante foi novamente descartado e o sedimento inoculado em caldo MRS e incubado a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 24 horas em jarra de anaerobiose. O

procedimento foi repetido duas vezes, utilizando 1 mL do inóculo anterior para completa ativação da cultura.

Após crescimento bacteriano, as células foram centrifugadas durante 15 minutos a 4 °C e 12.000 rpm. O precipitado foi lavado duas vezes com solução salina tamponada fosfatada pH 7,2 e, em seguida, ressuspenso em água deionizada para preparo do extrato lisado de células líquido.

## 2.2 AJUSTE DE CÉLULAS NO INÓCULO

Para ajustar a quantidade de células microbianas, foi realizada a padronização do inóculo considerando a absorbância equivalente a uma solução padrão igual a 0,5 na escala de Mc Farland no comprimento de onda de 625 nm, cuja densidade óptica desejada estava entre 0,10 tendo equivalência a  $12,30 \cdot 9 \log \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$  (SCHMITT,2014).

## 2.3 PREPARO DO EXTRATO LISADO DE CÉLULAS LÍQUIDO

A metodologia foi realizada conforme Lai, Tsai e Lee (2014), com algumas modificações. Para o preparo do extrato lisado de células foi necessário romper as células após a padronização do inóculo utilizando um sonicador ultrassom, em 3 ciclos de 5 minutos, com intervalos de um (1) minuto em banho com gelo. Os detritos celulares foram removidos por centrifugação (12.000 rpm durante 10 minutos a 4 °C). A partir do sobrenadante obtido todo procedimento descrito foi repetido três vezes para garantir o rompimento da célula. O sobrenadante foi denominado extrato lisado de células,

Ao final do processo, o extrato lisado de células foi plaqueado por profundidade conforme descrito por Zayed e Winter (1995), a fim de comprovar o rompimento da célula bacteriana. Para contagem, foram utilizadas placas que apresentaram entre 30 e 300 colônias, multiplicando-se o resultado individual pelo inverso da respectiva diluição. O procedimento foi realizado em duplicata com uma repetição e os resultados foram expressos em  $\log \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ .

Diferentes alíquotas (0,5;1,0;1,5 e 2mL) do extrato lisado de células líquido foram utilizados para avaliação da atividade antioxidante.

## 2.4 PREPARO DO EXTRATO LISADO DE CÉLULAS LIOFILIZADO

O extrato lisado de células líquido foi previamente congelado (-20°C) e então a quantidade de água (solvente) foi reduzida, primeiro por sublimação e posteriormente por dessorção, sob vácuo e em condições especiais de pressão e temperatura, a fim de impedir a atividade biológica e reações químicas da amostra (MARQUES, 2008). A liofilização foi feita com água deionizada esterilizada, durante 24 horas.

### 2.4.1 Preparo do extrato lisado de células liofilizado em solução

Soluções do extrato lisado de células liofilizados em diferentes concentrações (0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 % (m/v)) foram preparadas para realização dos procedimentos de atividade antioxidante. O extrato lisado de células liofilizado foi preparado em solução tampão fosfato (20 mmol.L<sup>-1</sup>, pH 7,4). O volume preparado variou em função do procedimento.

## 2.5 ELABORAÇÃO DO GEL COSMÉTICO

O polímero utilizado para a manipulação do gel foi o Natrosol<sup>®</sup> 250, por ser estável em diferentes faixas de pH e um produto não iônico, compatível com diferentes substâncias. Como a forma farmacêutica gel não possui boa absorção, o transcutool e o propilenoglicol foram adicionados como agentes de permeação.

Primeiramente a água foi tamponada (tampão fosfato pH 7,0 para o extrato lisado de células. Em seguida, o Nipagin e o EDTA foram dispersos em pequena quantidade de álcool etílico (70%) em um béquer e acrescentados à água tamponada. A mistura foi aquecida até 75 °C e o Natrosol<sup>®</sup>250 adicionado aos poucos com agitação constante até formação do gel. O extrato lisado de células (liofilizado e líquido) foram dispersos no transcutool<sup>®</sup> e adicionados ao gel frio (35 °C) (Adaptada Brasil, 2011). Os componentes da base gel, sua concentração e função estão demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1 Componentes da base gel, concentração e função dos componentes

Componentes	% (m/m)	Função dos componentes
Natrosol®250	2,5	Polímero formador de gel
Glicerina	1,0	Umectante
Propilenoglicol	3,0	Umectante e agente de permeação
Dimeticone®	0,5	Umectante e emoliente
Transcutol®	10	Agente de permeação
Nipagin	0,2	Conservante
EDTA	0,2	Quelante
Água	qsp	Veículo

Fonte: adaptado de Brasil (2011).

## 2.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE IN VITRO

### 2.6.1 Avaliação da atividade antioxidante do extrato lisado de células líquido e liofilizado em solução pelo método DPPH

O procedimento foi realizado, conforme Arasu *et al* (2013), com algumas modificações. Alíquotas (0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mL) de amostra líquida ( $9 \log \text{ UFC. mL}^{-1}$ ) e 1,5mL das amostras liofilizadas (0,5; 1,0; 1,5 e 2,0% m/v), preparadas em solução tampão, foram adicionadas a 1,5 mL de solução metanólica de DPPH ( $50\text{mg. L}^{-1}$ ). A mistura foi agitada vigorosamente em vórtex e incubada à temperatura ambiente no escuro por 30 minutos. O tempo total de análise não excedeu duas horas. O controle negativo incluiu os solventes utilizados para preparar as amostras nas mesmas proporções, adicionados de solução metanólica de DPPH (Abs.control). O branco foi feito com a amostra adicionada de metanol (Abs.branco). As absorbâncias das amostras foram mensuradas em triplicata com uma repetição no comprimento de onda de máxima absorção e o percentual da atividade antioxidante (%AA) calculado conforme a Equação 1.

$$\% \text{ AA} = \left[ 1 - \left( \frac{\text{Abs.Amostra} - \text{Abs.Branco}}{\text{Abs.Control}} \right) \right] \times 100 \quad \text{Eq. (1)}$$

## 2.6.2 Avaliação da atividade antioxidante do gel cosmético pelo método DPPH

A metodologia foi realizada conforme Fries e Frasson (2010), com algumas modificações. Inicialmente, foi preparada 1 g de gel cosmético contendo 0,2 g do extrato lisado de células líquido e liofilizado. As amostras foram então diluídas de modo a se obterem concentrações de 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0% (m/m), para minimizar a influência do gel na leitura espectrofotométrica. Às alíquotas de 1,5 mL de cada uma das concentrações, foram adicionados 1,5 mL da solução metanólica de DPPH 50 mg. L<sup>-1</sup>. Após 30 minutos, a absorvância foi mensurada no comprimento de onda de 517 nm, para quantificação da descoloração, utilizando metanol para zerar o espectrofotômetro. Essa metodologia foi realizada no dia da manipulação do gel (T0). Os experimentos foram realizados em triplicata à temperatura ambiente e ao abrigo da luz, entretanto, não foi possível repetir devido à pequena quantidade de gel preparada. O percentual da atividade antioxidante foi calculado conforme a Equação (2).

$$\% AA = \left[ 1 - \left( \frac{\text{Abs. Amostra} - \text{Abs. Branco}}{\text{Abs. Controle}} \right) \right] \times 100 \quad \text{Eq. (2)}$$

Onde:

- Abs.branco corresponde à absorvância do gel cosmético acrescido de metanol.
- Abs.controle corresponde à absorvância da base gel sem amostra.
- Os resultados obtidos foram comparados com a atividade antioxidante das frações liofilizadas em solução e líquidas e entre si, a fim de se tentar obter uma correlação entre as atividades antioxidantes por este método.

## 2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram avaliados utilizando o software Statistica 7.0. Os parâmetros foram submetidos à análise de variância (ANOVA), para a comparação das médias de acordo com o teste de Tukey a 5% de significância, em que foram consideradas significativas as diferenças cujo  $p < 0,05$ . Os resultados obtidos nas avaliações nos testes de número de células viáveis após da sonicação e atividade antioxidante do gel foram expressos como média aritmética e calculados o erro-padrão da média ( $\pm S$ ).

### **3.REFERENCIAL TEÓRICO**

#### **3.1 PROBIÓTICOS EM COSMÉTICOS**

Aplicações não intestinais de probióticos são pouco investigadas, no entanto os probióticos são passíveis de serem aplicados a qualquer ambiente onde exista uma microbiota normal (HUTTENHOWER *et al*, 2012). Dessa forma, os probióticos são capazes de melhorar a saúde da pele não só por meio da via gastrointestinal, mas também através de aplicações tópicas (LORDACHE *et al*, 2012).

Recentes patentes têm sugerido o desenvolvimento de produtos cosméticos com o uso dos probióticos como ‘ingredientes bioativos’, na forma de microrganismos vivos e seus metabólitos (TERAN, 2011). Assim, são promovidas inúmeras atividades biológicas úteis à manutenção da saúde da pele como melhora da hidratação pela produção de ácido hialurônico (CHONG *et al*, 2005; CHIBA, 2007), aumento nos níveis de ceramidas (TEODORESCU, 1999) bem como da melhoria na função de barreira da pele (GUENICHE *et al*, 2006; GUENICHE e CASTIEL, 2009; GUENICHE, 2010). Foram ainda encontradas patentes com atividade antibacteriana e antiacne (SPIGELMAN e ROSS, 2007) e para o aumento da imunidade da pele (GUENICHE, 2010).

São também mencionadas a melhoria da qualidade do cabelo (CHIBA, 2007), da cicatrização (HANSEN e JESPERSEN, 2007), além de atividade emulsificante, estabilizante e rejuvenescedora (LEW e LIONG, 2013). Estudos mencionam ainda que os extratos de probióticos possuem atividade similar ou ainda mais efetiva para atuar na pele em comparação com probióticos vivos, mesmo quando inativados ou lisados (OUWEHAND *et al*, 2003; ROSENKRANZ *et al*, 2005; RODRIGUES *et al*, 2005; GUÉNICHE *et al*, 2010; VINTIÑI e MEDINA, 2011).

A literatura também têm demonstrado atividade antioxidante de bactérias lácticas em cosméticos e fornecem fortes evidências que estes componentes em níveis adequados podem representar um recurso na prevenção do estresse oxidativo através da via tópica (COSTA VALE, 2015). Dessa forma inúmeras investigações, conduzidas tanto *in vivo* como *in vitro* comprovam que as bactérias ácido-láticas possuem sistemas capazes de sequestrar os radicais livres, (KUDA *et al*, 2010; KANNO *et al*, 2012; AMARETTI *et al*, 2013), tanto nas células intactas como nos extratos lisados de células e por diferentes métodos (AMDEKAR *et al*, 2012; AFIFY *et al*, 2012; AMARETTI *et al*, 2013; GHANY, 2014; UUGANTSETSEG e BATJARGAL, 2014).

### 3.2 MECANISMO DE AÇÃO DAS BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁTICAS COMO ANTIOXIDANTES

Assim como no organismo humano, as bactérias ácido-láticas possuem sistemas enzimáticos e não enzimáticos para lidar com os radicais livres, contudo, as enzimas antioxidantes desempenham um papel crítico nessa defesa (DRISCOLL *et al*, 2002). O sistema enzimático inclui a superóxido dismutase, tioredoxina redutase, sistema de glutatona peroxidase/glutatona oxidase e NADH oxidase /NADH peroxidase (AMANATIDOU *et al*, 2001; POPHALY *et al*, 2012).

Os antioxidantes não enzimáticos podem ser o manganês intracelular, ascorbato, tocoferóis e glutatona ou exopolissacarídeos, os quais são biomoléculas produzidas por alguns microrganismos para se protegerem de condições extremas de pH, temperatura e falta de nutrientes (SAIDE e GILLILAND, 2005; LEE *et al*, 2006). As bactérias podem ainda desenvolver sistemas com habilidade quelante de metais de transição e inviabilizar as reações oxidativas (AMANATIDOU *et al*, 2001).

Enquanto o próprio oxigênio não danifica as células bacterianas, a redução parcial à água pode produzir espécies reativas de oxigênio como o ânion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e o radical hidroxila ( $OH^{\bullet}$ ), que causam estresse oxidativo na célula, além de danificarem proteínas, lipídios e o DNA bacteriano (MIYOSHI *et al*, 2003). Nesse contexto, espera-se, portanto, que a presença de oxigênio induza a um mecanismo de ação antioxidante específico dependente da estirpe bacteriana (MISHRA *et al*, 2015).

O mecanismo antioxidante mais comum nas bactérias ácido-láticas é o sistema NADH oxidase-NADH peroxidase (ANDERS *et al*, 1970; HIGUCHI, 1984; ZITZELSBERGER *et al*, 1984; CONDON, 1987; GUCHTE *et al*, 2002; MIYOSHI *et al*, 2003).

As bactérias ácido-láticas microaerófilas, como o *Lactobacillus acidophilus*, utilizam o oxigênio molecular para regenerar o  $NAD^+$  a partir do NADH no processo fermentativo e da atividade da NADH oxidase (TALWALKAR e KAILASAPATHY, 2004). Essa reação produz peróxido de hidrogênio ou água e depende da capacidade da enzima em transferir 2 ou 4 elétrons. Quando o produto final é o peróxido de hidrogênio, ele é utilizado pela NADH peroxidase comoceptor final de elétrons e gera uma molécula de água (GUCHTE *et al*, 2002; MIYOSHI *et al*, 2003; SAIDE e GILLILAND, 2005).

Um estudo *in vitro*, realizado por Talwalkar e Kailasapathy (2003), sustenta a relevância da enzima NADH peroxidase na proteção da célula do *Lactobacillus acidophilus* contra os efeitos letais do acúmulo de peróxido de hidrogênio intracelular por um curto período de tempo, visto que a atividade dessa enzima é geralmente baixa e a detoxificação celular se torna ineficiente (AXELSSON, 1993).



Parece importante para a sobrevivência das bactérias ácido-láticas bem como para a tolerância ao oxigênio e ao radical superóxido, a atividade da enzima superóxido dismutase e o conteúdo de manganês intracelular as mesmas (ARCHIBALD e FRIDOVICH, 1981).

De acordo com Stecchini *et al* (2001), a superóxido dismutase é expressa na maioria dos microrganismos e catalisa a dismutação do superóxido em oxigênio e ao peróxido de hidrogênio. Pode estar ativa em condições de crescimento anaeróbico (Lee *et al*, 2006), porém a maior atividade é observada em elevadas concentrações de oxigênio no meio (BRUNO-BARCENA *et al*, 2004).

Essa enzima pode ser classificada em três tipos, de acordo com seus cofatores, que podem ser o cobre e o zinco (CuZn-SOD), manganês (Mn-SOD) e o ferro (Fe-SOD) (Wang *et al*, 2012), sendo a Mn-SOD predominante em microrganismos (KULLISAR *et al*, 2002; BRUNO-BARCENA *et al*, 2004).

Experimentos realizados por Gonzalez *et al* (1989 e 1991) fornecem evidências de atividade da superóxido dismutase em estirpes de lactobacilos, os quais demonstram que a indução da SOD no *L. acidophilus* CRL 358 e *L. acidophilus* ATCC 4356 está relacionada com a presença de manganês no meio de crescimento. Não se observa, no entanto, correlação entre o aumento de seus níveis e o oxigênio. Assim, sugere-se que essa enzima não é capaz de dismutar o ânion superóxido em estirpes de *Lactobacillus acidophilus* observadas *in vitro* (LIN e YEN, 1999; TALWALKAR e KAILASAPATHY, 2003; TALWALKAR e KAILASAPATHY, 2004).

Outra enzima geralmente utilizada por vários microrganismos em resposta ao estresse oxidativo é a catalase. A maioria das bactérias lácticas não possui catalase, entretanto, a atividade dessa enzima foi relatada em várias espécies, incluindo os membros do gênero *Lactobacillus*, *Pediococcus* e *Leuconostoc* (ABRIOUEL *et al*, 2004; CANO-GARRIDO; SERAS-FRANZOSO; GARCIA-FRUITÓS, 2015). Três grandes grupos de catalase foram encontrados até o momento: as catalases verdadeiras ou hemecatalases, as catalases dependentes de manganês e as pseudocatalases (não dependentes de heme), as quais, segundo pesquisadores, tornam o crescimento aeróbio possível em algumas estirpes de bactérias ácido-láticas (BARYNIN *et al*, 2001).

Alguns lactobacilos podem produzir essa enzima quando cultivados em meio contendo heme (WOLF *et al*, 1990; YAMAMOTO *et al*, 2005; AN *et al*, 2010; SERATA *et al*, 2012). Um exemplo é o *Lactobacillus sakei*, que, quando fermenta a carne utiliza a grande quantidade de heme disponível no meio para produzir catalase (BARYNIN *et al*, 2001) e o *Lactobacillus plantarum* WCFS1, que contém uma catalase heme específica, o que lhe confere maior resistência ao radical peróxido de hidrogênio (KLEEREBEZEM *et al*, 2003; BROOIJMANS *et al*, 2009; WATANABE *et al*, 2012).

Uma catalase à base de manganês foi detectada no *Lactobacillus plantarum* ATCC 14431 e observou-se que ela é essencial para o crescimento normal desse microrganismo em condições de

aerobiose. A mesma é importante para a remoção do peróxido de hidrogênio gerado pelo metabolismo celular (BARYNIN *et al*, 2001; IGARASHI; KONO; TANAKA, 1996). As pseudocatalases (não heme catalase) ajudam a desintoxicar o radical H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (ENGESSER e HAMMES, 1994).

O manganês era conhecido apenas como cofator para algumas reações enzimáticas. Uma exceção notável foi observada em bactérias ácido-láticas, pois algumas estirpes de lactobacilos são capazes de acumular manganês em elevadas concentrações (30 a 35 mmol), quando o ferro intracelular e superóxido dismutase (SOD) estão ausentes. Nesse caso, o manganês intracelular funciona como complexo não enzimático que protege as células e remove o ânion superóxido: função equivalente à superóxido-dismutase (ARCHIBALD, 1986; BARNESE *et al*, 2012). Os autores observaram que o *L.acidophilus acidophilus* não possui níveis intracelulares elevados de manganês intracelular (ARCHIBALD e FRIDOVICH, 1981).

Em muitos microrganismos, incluindo bactérias ácido-láticas, as moléculas contendo cisteína, como a glutatona e a tioredoxina são os principais contribuintes no balanço redox durante condições de estresse bacteriano (SERRAZANETTI *et al*, 2009; OKTYABRSKII e SMIRNOVA, 2012).

A glutatona é o principal composto tiol não proteico presente em células vivas, envolvido na resistência ao estresse osmótico e oxidativo (SERRAZANETTI *et al*, 2009). Está amplamente distribuída em organismos eucariontes gram-negativos e, esporadicamente, em cada gênero e espécie de bactéria ácido-lática (COPLEY *et al*, 2002; POPHALY *et al*, 2012). É considerada como a mais importante molécula antioxidante nas bactérias ácido-láticas, visto que estudos sobre sua acumulação e síntese sugerem ser esse um dos fatores correlacionados à capacidade das mesmas crescerem em ambientes aeróbios (POPHALY *et al*, 2012).

Trata-se de um tripeptídeo redutor encontrado no citoplasma, capaz de defender as células contra os radicais oxidativos. Seu potencial redutor deve-se principalmente ao grupo sulfidrila (SH), envolvido na maioria de suas reações. Isso torna a glutatona um composto com habilidade de doar elétrons, tanto para a eliminação e espécies reativas de oxigênio formadas, por exemplo, na fermentação, como para reações metabólicas tais como a redução de hidroperóxidos e peróxidos lipídicos ( SERRAZANETTI *et al*, 2009; POPHALY *et al*, 2012).

A biossíntese da glutatona ocorre pela ação da enzima  $\gamma$ -glutamilcisteína sintetase que leva à formação de L-glutamil-L-cisteína: um dipeptídeo (glutamato e cisteína), o qual se combina com a glicina em uma reação catalisada pela glutatona sintetase para a geração de glutatona reduzida (GSH), sua forma ativa. Algumas bactérias ácido-láticas possuem apenas homólogos da  $\gamma$ -glutamilcisteína sintetase e fazem da L-glutamil-L-cisteína seu principal tiol. O nível intracelular de glutatona reduzida é regulado por *feedback*, enquanto a atividade da  $\gamma$ -glutamilcisteína sintetase é inibida pelo seu produto final (POPHALY *et al*, 2012).

Em condições de estresse oxidativo a glutatona reduzida converte-se em glutatona oxidada, ou seja, ocorre a formação da glutatona dissulfeto (GSSG) portanto, há a diminuição do balanço redox da célula. Um ciclo catalítico realizado por um grupo de três enzimas: a glutatona oxidase (GO), a glutatona peroxidase (GSH-Px) e a glutatona redutase (GR) deve ser realizado para que a glutatona seja regenerada e mantenha sua atividade antioxidante (POPHALY *et al*, 2012).

A glutatona redutase é responsável pela regeneração de glutatona (GSH), a partir de glutatona dissulfeto (GSSG), na presença de NADPH para manter um microambiente reduzido e assegurar a disponibilidade de substrato para a glutatona peroxidase (JONES, 2002). Ela, por sua vez, utiliza a glutatona para ‘varrer’ espécies reativas de oxigênio (KIM *et al*, 2005). A glutatona redutase ajuda a manter os níveis de tiol no ambiente e garante tolerância ao oxigênio (JANSCH *et al*, 2007). A atividade da glutatona redutase foi demonstrada para o *Lactobacillus acidophilus* NCFM® (JANSCH *et al*, 2007), logo indica o papel claro dessa enzima no mecanismo de proteção ao estresse oxidativo. As enzimas, glutatona oxidase e peroxidase catalisam a oxidação de glutatona à glutatona dissulfeto (POPHALY *et al*, 2012).

Já as tioredoxinas (TRXS) são uma classe de pequenas proteínas que possuem dois resíduos de cisteína em seu sítio ativo, o qual se oxida de forma reversível quando presente em reação redox. O principal papel na atividade antioxidante de bactérias ácido-láticas consiste em facilitar a redução da glutatona dissulfeto (GSSG) em glutatona reduzida (GSH) forma ativa, em presença de NADPH ou NADH (POPHALY *et al*, 2012).

As bactérias ácido-láticas são conhecidas como exceção entre os organismos vivos, pois não necessitam de ferro para o crescimento, mas utilizam manganês como componente metálico das enzimas que normalmente contêm Fe<sup>+2</sup> (BRUYNEEL, WOESTYNE e VERSTRAETE, 1989; WEINBERG, 1997). Entretanto, em resposta a essa privação elas têm desenvolvido métodos para capturar e sequestrar os íons ferro do meio, indispensáveis para a manutenção das mesmas durante o processo de fermentação quando o oxigênio está presente (DUHUTREL *et al*, 2010).

Recentemente, o sequenciamento do genoma do *Lactobacillus sakei* 23 K bem como o de *L. lactis* MG 1363 revelou que essas bactérias têm o equipamento genético envolvido no transporte de ferro, que propicia a sobrevivência dessas por um longo prazo durante a fermentação do salame (DUHUTREL *et al*, 2010).

Segundo Mrvc'ic' *et al*. (2012), a quelação de íons metálicos é um processo complexo que envolve dois mecanismos: (i) a biossorção, que compreende o processo de ligação de metais de transição à parede celular das bactérias ácido-láticas e a (ii) bioacumulação, processo relacionado com o metabolismo, em que os íons metálicos atravessam a membrana celular e se acumulam no interior da célula bacteriana.

A biossorção acontece quando os íons metálicos se ligam à parede celular pelos polissacárideos extracelulares, glicoproteínas (S-layer) ou ao ácido lipoteicoico, por adsorção, troca iônica, complexação, quelação ou microprecipitação, sem envolver energia metabólica ou formas de transporte (BLACKWELL, SINGLETON e TOBIN, 1995).

Esse processo depende da estirpe bacteriana, dos grupos funcionais disponíveis na superfície da célula bem como da carga dos cátions e ligantes da superfície, da natureza dos íons metálicos e a sua concentração (SENZ *et al*, 2015).

A bioacumulação começa quando a maioria dos lugares disponíveis para a ligação na parede celular está ocupada. Após a entrada dos íons metálicos na célula os locais de ligação à parede celular ficam vazios, assim, novos íons metálicos externos podem ser vinculados até o equilíbrio (MRVČIĆ *et al*, 2012).

Esses mecanismos são capazes de proporcionar uma concentração celular de íons metálicos necessários para as reações metabólicas, desde que haja a regulação da entrada, armazenamento e ejeção desses íons, antes que sua acumulação atinja um nível tóxico (GERBINO *et al*, 2015).

Segundo um estudo realizado por Bezkorovainy e Kot (1998), o *Lactobacillus acidophilus* pode acumular  $Fe^{+2}$  no seu interior, desde que esse esteja em concentrações milimolares, tanto por biossorção como bioacumulação. Primeiramente, acontece a internalização do  $Fe^{+2}$ , seguida por oxidação intracelular. Acredita-se que essa reação seja feita a partir de ferroxidases, conforme foi demonstrado no *Streptococcus thermophilum*, no *Lactobacillus plantarum* e nas *bifidobactérias* (KOT e BEZKOROVAINY, 1991; KOT *et al*, 1994 e 1995; BEZKOROVAINY e KOT, 1998). O  $Fe^{+3}$  formado é oxidado, então, extracelularmente, pelo  $H_2O_2$ , produzido pelas células bacterianas durante seu crescimento na presença de  $O_2$ , gerando  $Fe(OH)_3$ , o qual se liga à superfície bacteriana a 37 °C (MRVČIĆ *et al*, 2012).

Os exopolissacarídeos produzidos por bactérias ácido-láticas apresentam forte atividade antioxidante; eliminam os radicais hidroxila e ânion superóxido por aumentar a atividade das enzimas antioxidantes intracelulares, como a catalase e o superóxido dismutase (PAN e MEI, 2010).

Os mecanismos de proteção contra os radicais livres também foram pesquisados *in vivo* a partir de sua ingestão e os autores relatam que o efeito antioxidante poderia estar relacionado com atividades que decorrem ao nível intestinal, ou seja, a secreção de exopolissacáridos, enzimas como a SOD e atividades quelantes de metais de transição (AMARETTI *et al*, 2013).

Peran *et al*. (2007) observaram que em ratos suplementados com *Lactobacillus casei*, *L. acidophilus* e *Bifidobacterium lactis*, ocorreu a restauração da concentração de GSH após estresse oxidativo. O mesmo foi observado por outro autor, o qual afirma que a suplementação em ratos foi capaz de induzir a transcrição de genes envolvidos na biossíntese da glutatona na mucosa intestinal

(LUTGENDORFF *et al*, 2009) e aumentar a síntese de glutatona nas células pancreáticas (LUTGENDORFF *et al*, 2008). Ainda de acordo com Spyropoulos *et al* (2010), os probióticos podem melhorar as defesas antioxidantes concretamente no hospedeiro, produz e liberar GSH e vitaminas que são absorvidas e distribuídas no organismo.

Alguns autores sugerem que os probióticos podem restaurar a microbiota intestinal e assim melhorar o estresse oxidativo por aumentar a disponibilidade dos antioxidantes obtidos na dieta (DAVIS e MILNER, 2009; NARDONE *et al*, 2010).

Nesse sentido, a propriedade das bactérias lácticas em diminuir a toxicidade dos radicais livres é de interesse para a indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética, assim como seu papel na saúde, pois afeta o consumidor por fornecer bactérias probióticas com potencial produção de antioxidantes durante o crescimento no organismo humano ou quando aplicado topicamente (TSAI *et al*, 2013; NUR *et al*, 2014; COSTA VALE, 2015).

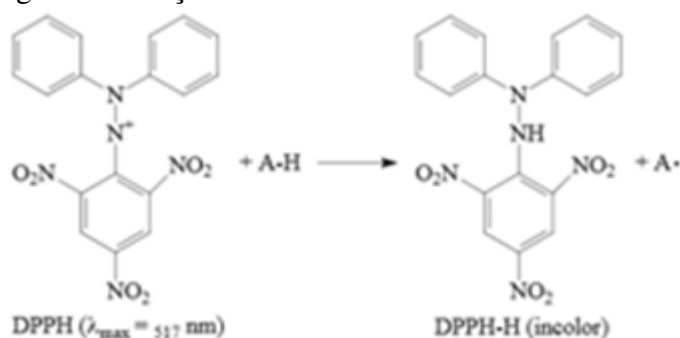
### 3.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO*

Dentre os vários métodos utilizados para determinar a atividade antioxidante das bactérias ácido-láticas nas células intactas e extratos lisados de células, destacam-se a inibição da auto-oxidação do ascorbato (LIN e YEN, 1999a, b), método do ácido tiobarbitúrico (LIN e CHANG, 2000), resistência ao peróxido de hidrogênio (KULLISAAR *et al*, 2002) e ao radical hidroxila (ZHANG *et al*, 2011), atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) (ARASU *et al*, 2013), captura do radical ácido 2,2- azinobis (3-etilbenzotiazolina- 6-ácido sulfônico) (ABTS<sup>•+</sup>) (KULLISAAR, 2002) e atividade quelante de metais de transição (LIN e YEN, 1999), sabendo-se que cada um dos métodos citados avalia diferentes mecanismos de ação antioxidante.

O método realizado foi o método do DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila), o qual consiste em um radical de nitrogênio obtido diretamente por dissolução do reagente em meio orgânico e que apresenta coloração púrpura na faixa de absorbância entre 515 e 520 nm (BRAND-WILLIAMS *et al* 1995).

Trata-se de um método simples, rápido e barato no qual o DPPH é reduzido por ação de um antioxidante (AH) ou uma espécie radicalar (R<sup>•</sup>) e provoca diminuição na intensidade da absorção. Nesse processo, forma-se a difenil-picril-hidrazina de coloração amarela, ou seja, quando o elétron desemparelhado do átomo de nitrogênio no DPPH recebe um átomo de hidrogênio proveniente de compostos antioxidantes e ocorre a mudança de cor, que pode ser monitorada pelo decréscimo da absorbância (BRAND-WILLIAMS *et al*, 1995).

Figura 1 Redução do radical DPPH



Fonte: Molyneux (2004).

A porcentagem de atividade antioxidante (%AA) corresponde à quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante no meio reacional e a reação do radical livre DPPH com um antioxidante (AH) (Equação 3), ou uma espécie radicalar (R<sup>•</sup>) (Equação 4) ocorre como demonstrado a seguir (BRAND-WILLIAMS *et al*, 1995).



Como o método do DPPH é muito utilizado, gera uma diversidade de protocolos que dificulta sua padronização e a comparação dos estudos entre grupos de pesquisadores (SHARMA, 2009). Isso foi observado na literatura consultada, na qual variam o tempo de reação (30 a 45 minutos), as concentrações iniciais de DPPH (0, 0025 g.L<sup>-1</sup> a 0,5 g.L<sup>-1</sup>), os solventes empregados (metanol, etanol), assim como a forma de apresentar os resultados (SANCHEZ e MORENO, 2002).

## 4. ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

### 4.1 PREPARO DO EXTRATO LISADO DE CÉLULAS LIQUIDO

Os números de células viáveis antes e após o tempo total de sonicação (45 minutos) estão apresentados na Tabela 2 e foram obtidos após plaqueamento em profundidade, a fim de verificar a ocorrência do processo de lise no extrato de células de *Lactobacillus acidophilus*

Tabela 2 Células viáveis, total de viabilidade e de lise na célula intacta

Antes da Sonicação	Depois da Sonicação
12,30 9 log UFC. mL <sup>-1</sup> inicial	9,32 9 log UFC. mL <sup>-1</sup> final
100% viabilidade	75,77% viabilidade
0% lise	24,23% lise

\*Média dos resultados obtidos em duplicata com uma repetição

Os resultados indicaram que não houve lise total na cultura de células avaliadas. As metodologias disponíveis para rompimento da parede celular dos *Lactobacillus spp.* (LIN e CHANG, 2000; LEE *et al*, 2006; CHOI *et al*, 2006; OU *et al*, 2009; SAADATZADEH *et al*, 2013; GHANY *et al*, 2014; AFIFY *et al*, 2012; PIENIZ *et al*, 2014) não estabelecem o comparativo da eficiência dos processos de lise.

Uma possível explicação para o baixo nível de lise celular pode ser devido ao fato do *Lactobacillus acidophilus* apresentar parede celular espessa, formada por camadas multilamelares de peptidoglicanos (90%), além de polissacarídeos neutros, ácidos teicoicos e lipoteicoico (DELCOUR *et al*, 1999). Toda essa estrutura é ainda cercada por um envelope externo de proteínas, denominadas S-layer (JAFAREI e EBRAHIMI, 2011), o que pode ter dificultado a ação das forças ultrassônicas.

Embora a metodologia usada neste trabalho tenha sido adaptada, com o aumento do tempo de sonicação e centrifugação, foi observado que esse procedimento também não foi suficiente para romper todas as células bacterianas.

#### 4.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO LISADO DE CÉLULAS PELO MÉTODO DPPH

Os resultados obtidos na comparação entre o extrato lisado de células líquido e extrato lisado de células liofilizado estão apresentados na Tabela 3

Tabela 3. Porcentagem da atividade antioxidante para as diferentes amostras do extrato lisado de células do *Lactobacillus acidophilus* (%AA)

Concentração	Extrato Lisado de Células Líquido +	Extrato lisado de células liofilizado++
0,5	20,00 <sup>dB</sup>	24,34 <sup>dA</sup>
1,0	23,92 <sup>cB</sup>	29,50 <sup>cA</sup>
1,5	28,91 <sup>bB</sup>	33,33 <sup>bA</sup>
2,0	32,63 <sup>aB</sup>	37,91 <sup>aA</sup>

Diferenças significativas (p<0,05) entre as amostras (letras maiúsculas nas linhas) e concentrações (letras minúsculas nas colunas) como fontes de substâncias sequestradoras de radicais livres;

+ A concentração analisada foi em mL;

++ A concentração analisada foi em (%m/v).

Os dados demonstram que as duas amostras possuem atividade antioxidante e essa é proporcional às concentrações das amostras, pois apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) como fontes de substâncias sequestradoras de radicais livres. No entanto, o extrato lisado de células liofilizado apresentou atividade antioxidante em média 4,9% maior em todas as concentrações.

Esse fato pode ser explicado considerando que, embora pequena quantidade de células tenha sido rompida no processo de obtenção do extrato, a liofilização pode ter contribuído para o processo de lise. Os cristais formados durante o congelamento do extrato podem ter rompido as células remanescentes cujo resultado foi a liberação dos materiais intracelulares (SODA *et al*, 2003; ANANTA, VOLKERT e KNORR, 2005), por isso aumentou a atividade antioxidante no extrato lisado de células liofilizado.

Outro ponto a se ressaltar é o fato de que a liofilização pode ter aumentado os componentes antioxidantes. Sugere-se que os tratamentos a frio dados às células de *E. coli* são fisiologicamente manifestados na forma de estresse oxidativo. Isso levou ao aumento da expressão de Mn-SOD e catalase, juntamente com a diminuição da glutathiona intracelular e a razão entre glutathiona reduzida e oxidada. Para ajustar esses níveis, as bactérias sintetizam glutathiona reduzida (POPHALY *et al*, 2012; ZHANG *et al*, 2010). Esse efeito protetor foi demonstrado no *Lactobacillus sanfranciscensis*, que sobreviveu ao frio na presença de glutathiona reduzida (ZHANG *et al*, 2010).

#### 4.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO GEL COSMÉTICO PELO MÉTODO DO DPPH

A atividade antioxidante do gel cosmético foi calculada pela substituição dos valores médios de absorbância encontrados na Equação 2. Os resultados foram expressos em porcentagem de atividade antioxidante e apresentados na Tabela 4 a seguir.

Tabela 4. Percentual de Atividade Antioxidante (%AA) dos géis formulados com diferentes frações do *Lactobacillus acidophilus*

Concentração %(m/v)	Gel com Extrato Lisado de células Líquido	Gel com Extrato Lisado de células liofilizado
0,5	20,90	27,79
1,0	25,05	32,18
1,5	29,21	40,61
2,0	33,72	48,57



Em relação ao gel manipulado com extrato lisado de células liofilizado, pode-se observar que houve atividade antioxidante em todas as concentrações. Nesse caso, a influência dos agentes de permeação, como o propilenoglicol e o transcitol, que podem ter influenciado a constante de solubilidade do princípio ativo e melhorado a disponibilidade dos antioxidantes.

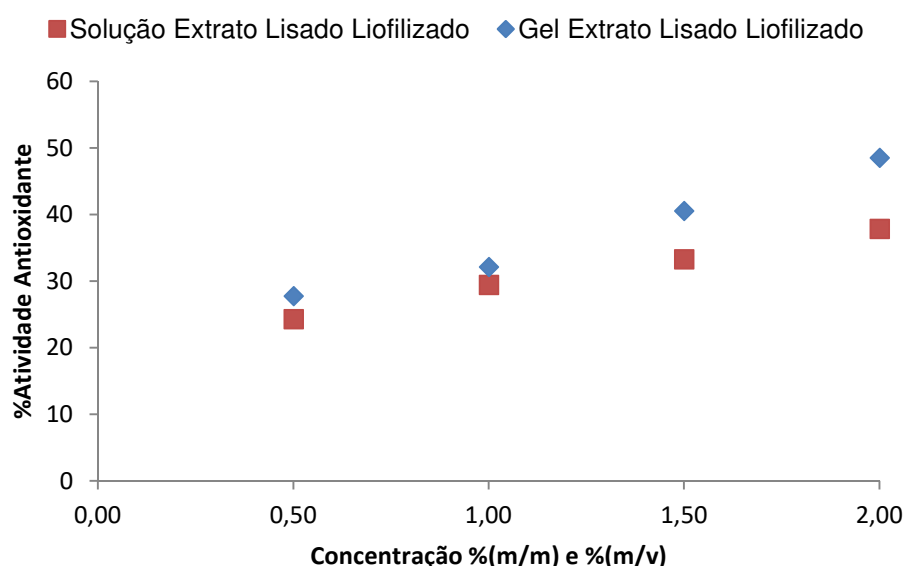
Uma patente utilizando o extrato lisado de células de bactérias do gênero *Lactobacillus* e de *Streptococcus*, adicionado de íons metálicos, também mostrou potencial contra os radicais livres, reparo do DNA celular e aumento no sistema imune da pele (HO e YANG, 1992).

A variação da atividade antioxidante também aumentou na medida em que aumentou a concentração do princípio ativo. Esse comportamento ficou evidenciado, onde a diferença entre as médias da menor concentração em relação à maior foi de 17,78%.

Os géis manipulados também foram comparados às suas respectivas amostras liofilizadas e líquidas, a fim de estabelecer uma correlação entre eles. As atividades foram comparadas no tempo zero, ou seja, no momento do preparo.

O gel manipulado com extrato lisado liofilizado de células foi comparado com o extrato lisado de células liofilizado em solução tampão fosfato pH 7,0, visto que foram preparados na mesma concentração. Os resultados dessa comparação foram expressos no Gráfico 1.

Gráfico 1 – Comparação entre a atividade antioxidante do extrato lisado de células liofilizado em solução e na forma de gel.



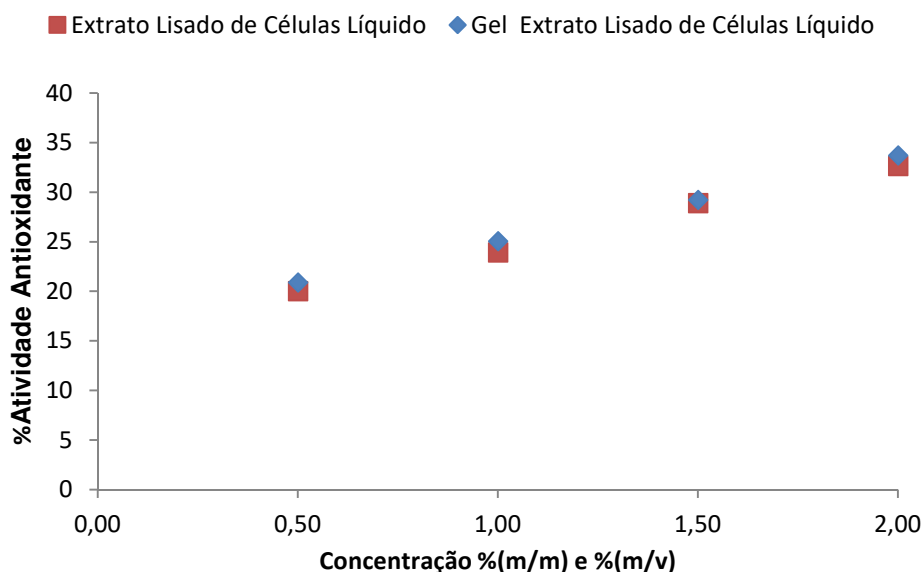
Conforme observado no Gráfico 1, ao serem comparadas as duas amostras, houve correlação nas menores concentrações (0,5 e 1,0%). Entretanto, à medida que a concentração aumentou, também

aumentou a diferença na atividade antioxidante entre as amostras, a qual foi melhor evidenciada na maior concentração (2,0%) do gel (10,66%).

Esse fato pode ser explicado em função do pH. Quando o extrato lisado de células foi preparado, utilizou-se o mesmo pH do extrato líquido (pH=7,4), visto que esse último já havia sido testado e apresentou atividade antioxidante. Ao adicionar o extrato lisado de células liofilizado no gel com o pH 7,0 observou-se melhor resultado. Outro fato, citado anteriormente, foi o fato de que, no gel, o extrato lisado de células liofilizado pareceu se dissolver melhor e aumentou também sua atividade.

A atividade antioxidante pelo método no DPPH do extrato lisado de células líquido foi comparada à atividade do gel manipulado com esta fração no tempo zero (T0), pois mesmo não estando na mesma concentração, forneceram informações do comportamento da fração líquida, quando incorporada a uma forma farmacêutica. Os resultados estão expressos no Gráfico 2.

Gráfico 2 – Comparação entre a atividade antioxidante do extrato lisado de células líquido e na forma de gel



Conforme observado no Gráfico 2, praticamente não houve diferenças entre a atividade antioxidante do extrato lisado de células líquido e quando incorporado ao gel. Dessa forma, foi possível observar que a forma farmacêutica gel não influenciou na atividade antioxidante desta fração.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados descritos demonstram que o *Lactobacillus acidophilus* representa uma fonte potencial de antioxidantes naturais, pois possui atividade significativa em todas as frações nas diferentes concentrações analisadas, entretanto o extrato lisado de células liofilizado em solução apresentou maior efetividade como sequestrante de radicais livres.

Quando a atividade antioxidante do o extrato lisado de células líquido e liofilizado foi comparada com as respectivas frações incorporadas à um gel pelo método do DPPH, foi possível concluir que existe correlação entre na atividade antioxidante. Entretanto a atividade antioxidante se mostrou maior no extrato de células liofilizado em gel do que em solução.

## REFERÊNCIAS

- ABRIOUEL, H.; HERMANN, A.; STARKE, J.; YOUSIF, N. M.; WIJAYA, A.; TAUSCHER, B.; HOLZAPFEL, W.; FRANZ, C. M. Cloning and heterologous expression of hematin-dependent catalase produced by *Lactobacillus plantarum* CNRZ 1228. **Applied and Environmental Microbiology**, [s.l.], v. 70, n.1, p. 603–606, jan. 2004.
- AFIFY, A. E.- M. M. R.; ROMEILAH, R. M.; SULTAN, S. I. M.; HUSSEIN, M. M. Antioxidant Activity and Biological Evaluations of Probiotic Bacteria Strains. **International Journal of Academic Research**, [s.l.], v. 4, n.6, p. 131-139, nov. 2012.
- AMANATIDOU, A.; SMID, E. J; BENNIK, M. H. J; GORRIS, L. G. M. Antioxidative properties of *Lactobacillus sakei* upon exposure to elevated oxygen concentrations. **FEMS Microbiology Letters**, [s.l.], v. 203, n. 1, p. 87–94, set. 2001.
- AMARETTI, A.; DI NUNZIO, M.; POMPEI, A.; RAIMONDI, S.; ROSSI, M.; BORDONI, A. Antioxidant properties of potentially probiotic bacteria: in vitro and in vivo activities. **Applied Microbiology Biotechnology**, [s.l.], v. 97, n. 2, p. 809-817, jul. 2012
- AMDEKAR, S.; KUMAR, A.; SHARMA, P.; SINGH, R.; SINGH, V. *Lactobacillus* protected bone damage and maintained the antioxidant status of liver and kidney homogenates in female wistar rats. **Molecular and Cellular Biochemistry**, [s.l.], v. 368, n. 1-2, p. 155-165, jun. 2012.
- AN, H.; ZHOU, H.; HUANG, Y.; WANG, G.; LUAN, C.; MOU, J.; LUO, Y.; HAO, Y. High-Level Expression of Heme-Dependent Catalase Gene katA from *Lactobacillus Sakei* Protects *Lactobacillus Rhamnosus* from Oxidative Stress. **Molecular Biotechnology**, [s.l.], v. 45, n. 2, p. 155-160, mar. 2010
- ANANTA, E.; VOLKERT, M.; KNORR, D. Cellular injuries and storage stability of spray-dried *Lactobacillus rhamnosus* GG. **International Dairy Journal**, [s.l.], v.15, n. 4, p.399-409, Apr. 2005. Disponível em <http://api.elsevier.com/content/article/PII:S095869460400192X?httpAccept=text/xml>. Acesso em: 14 nov. 2015.

ANDERS, R. F.; HOGG, D. M.; JAGO, G. R. Formation of hydrogen peroxide by Group N Streptococci and its effect on their growth and metabolism. **Applied Microbiology Biotechnology**, [s.l] v. 19, p. 608-612, abr.1970.

ARASU, M. V; KIM, D. H; KIM, P. I.; JUNG, M. W; ILAVENIL, S; JANE, M; LEE, K. D; AL-DHABI, N. A; CHOI, K. C. In vitro antifungal, probiotic and antioxidant properties of novel *Lactobacillus plantarum* K46 isolated from fermented sesame leaf. **Annals Microbiology**, [s.l.], v. 64, n. 3, p. 1333-1346, dez. 2014

ARCHIBALD, F. Manganese: its acquisition by and function in the lactic acid bacteria. **Critical Reviews in Microbiology**, [s.l.], v. 13, p. 63-109, fev.1986.

ARCHIBALD, F. S.; FRIDOVICH, I. Manganese and defenses against oxygen toxicity in *Lactobacillus plantarum*. **Journal of Bacteriology**, [s.l.], v. 145, p. 442–451, jan.1981.

AXELSSON, L.T. Lactic acid bacteria: Classification and physiology. In: SALMINEN, S.; VONWRIGHT, A. (Eds) **Lactic acid bacteria**. New York: Marcel Dekker,1993. p.1-63.

BARNESE, K.; GRALLA, E. B; VALENTINE, J. S, CABELLI, D. E. Biologically relevant mechanism for catalytic superoxide removal by simple manganese compounds.**Proceedings of The National Academy of Sciences**, [s.l.], v. 109, n. 18, p. 6892-6897, abr. 2012.

BARYNIN, V. V.; WHITTAKER, M. M; ANTONYUK, S. V.; LAMZIN, V. S; HARRISON P. M; ARTYMIUK, P. J.; WHITTAKER, J. W. Crystal Structure of Manganese Catalase from *Lactobacillus plantarum*. **Structure**, [s.l.], v. 9, n. 8, p. 725-738, ago. 2001.

BEZKOROVAINY, A.; KOT, E. Interaction of Bifidobacteria with Ferric Iron. **International Dairy Journal**, [s.l.], v. 8, n. 5-6, p. 507-512, mai 1998. Disponível em: <http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0958694698000788?httpAccept=text/xml>. Acesso em: 14 nov. 2015.

BLACKWELL, K. J.; SINGLETON, I.; TOBIN, J. M. Metal cation uptake by yeast: a review. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s.l.], v. 43, n. 4, p. 579-584, set. 1995.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant Activity. **Food Science and Technology - Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, rev. 28, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira**. 2ª ed. Brasília, 2011.

BROOIJMANS, R.; SMIT, B.; SANTOS, F.; VAN RIEL, J.; de VOS, W. M.; HUGENHOLTZ, J. Heme and menaquinone induced electron transport in lactic acid bacteria. **Microbial Cell Factories**, [s.l.], v. 8, n. 1, p.28-32, may. 2009.

BRUNO-BÁRCENA J.M.; ANDRUS J.M.; LIBBY S.L.; KLAENHAMMER T.R.; HASSAN H.M. Expression of a Heterologous Manganese Superoxide Dismutase Gene in Intestinal Lactobacilli Provides Protection against Hydrogen Peroxide Toxicity. **Applied and Environmental Microbiology**, [s.l.], v. 70, n.8, p. 4702–10, aug.2004.

BRUYNEEL, B.; WOESTYNE, M. VANDE; VERSTRAETE, W. Lactic acid bacteria: Microorganisms able to grow in the absence of available iron and copper. **Biotechnology Letters**, [s.l.], v. 11, n. 6, p.401-406, jun. 1989.

CANO-GARRIDO, O.; SERAS-FRANZOSO, J.; GARCIA FRUITÓS, E. Lactic acid bacteria: reviewing the potential of a promising delivery live vector for biomedical purposes. **Microbial Cell Factories**, [s.l.], v. 14, n. 1, p.2-12, set. 2015.

CHIBA, K. Development of functional cosmetic ingredients using lactic acid bacteria in Japan. **Japanese Journal of Lactic Acid Bacteria**, [s.l.], v. 18, n. 3, p. 105-112, 2007.

CHOI; S. S.; KIM, Y.; HAN, K. S.; YOU, S.; OH, S.; KIM, S. H. Effects of *Lactobacillus* strains on cancer cell proliferation and oxidative stress *in vitro*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 42, p. 452–458, 2006.

CHONG B. F; BLANK L. M; MCLAUGHLIN R.; NIELSEN L. K. Microbial hyaluronic acid production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 66, n.4, p. 341–351, jan. 2005.

CONDON, S. Responses of lactic acid bacteria to oxygen. **FEMS Microbiol**, rev. 46, p. 269–281, 1987.

COPLEY S. D.; DHILLON, J. K. Lateral gene transfer and parallel evolution in the history of glutathione biosynthesis genes. **Genome Biology**, rev. 3, p. 1–16, apr.2002.

COSTA-VALE, J. **Desenvolvimento de um Creme Antioxidante Para Uso Dermatológico a partir de um Princípio Ativo Contendo Pré/Probióticos**. 2015. Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Farmácia)-Graduação em Farmácia, Faculdade Assis Gurgacz, Cascavel, 2015.

DAVIS, C. D.; MILNER, John A. Gastrointestinal microflora, food components and colon cancer prevention. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, [s.l.], v. 20, n. 10, p. 743-752, out. 2009. Disponível em: <http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0955286309001193?httpAccept=text/xml> Acesso em: 14 nov. 2015.

DELCOUR, J.; FERAIN, T.; DEGHOAIN, H.; PALUMBO, E.; HOLS, P. The biosynthesis and functionality of the cell-wall of lactic acid bacteria. **Antonie van Leeuwenhoek**, [s.l.], v. 76, n. 1/4, p. 159-184, 1999.

DRISCOLL, K. E; CARTER, J. M; BORM, P. J. Antioxidant defense mechanisms and the toxicity of fibrous and nonfibrous particles. **Inhalation Toxicology**, [s.l.], v. 14, ed. 1, p. 101-118, 2002.

DUHUTREL, P.; BORDAT, C.; WU, T. D; ZAGOREC, M.; GUERQUIN-KERN, J. L.; CHAMPOMIER-VERGES, M. C. Iron sources used by the nonpathogenic lactic acid bacterium *Lactobacillus sakei* as revealed by electron energy loss spectroscopy and secondary-ion mass spectrometry. **Applied and Environmental Microbiology**, v.76, n. 2, p. 560-565, 2010. Disponível em: <http://doi.org/10.1128/AEM.02205-09>. Acesso em 15 de novembro de 2012.

DUHUTREL, P.; BORDAT, C.; WU, T. D; ZAGOREC, M.; GUERQUIN-KERN, J. L.; CHAMPOMIER-VERGES, M. C. Iron sources used by the nonpathogenic lactic acid bacterium *Lactobacillus sakei* as revealed by electron energy loss spectroscopy and secondary-ion mass spectrometry. **Applied and Environmental Microbiology**, v.76, n. 2, p. 560-565, 2010. Disponível em: <http://doi.org/10.1128/AEM.02205-09>. Acesso em 15 de novembro de 2012.

ENGESSER, D. M.; HAMMES, W. P. Non-Heme Catalase Activity of Lactic Acid Bacteria. **Systematic and Applied Microbiology**, [s.l.], v. 17, n. 1, p. 11-19, mar. 1994. Disponível em: <http://api.Elsevier.com/content/article/PIIS0723202011800251?httpAccept=text/xml>. Acesso em: 13 nov. 2015.

FRIES, A. T.; FRASSON, A. P. Z. Avaliação da atividade antioxidante de cosméticos anti-idade. **Revista Contexto e Saúde**, v. 10, n. 19, p. 17- 23, jul./dez. 2010.

GERBINO, E. et al. Role of S-layer proteins in bacteria. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. [s.l.], v. 31, n. 12, p. 1877-1887, set. 2015.

GHANY, K. A. E.; ELHAFEZ, E.A.; HAMOUDA, R.A.; MAHROUS, H.; AHMED, F. A. H.; HAMZA, H. A. Evaluation of Antioxidant and Antitumor Activities of *Lactobacillus acidophilus* Bacteria Isolated from Egyptian Infants. **International Journal of Pharmacology**, [s.l.] v. 10, n. 5, p. 282-288, mai. 2014.

GONZALEZ, S. N.; APELLA, M. C.; ROMERO, N.; PESCE, D. R. H. A. A.; OLIVER, G. Superoxide dismutase activity in some strains of *lactobacilli*: Induction by manganese. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, [s.l.], v. 37, n. 11, p.3026-3028, 1989.

GONZALEZ, S. N.; APELLA, M. C.;CHAUD, C. A. N.; OLIVER, G. Evidence of superoxide dismutase in *Lactobacillus acidophilus*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, [s.l.], v. 39, n. 4, p.1065-1067, 1991.

GUCHTE, M. van; SERROR, P.; CHERVAUX, C; SMOKVINA, T.; EHRLICH, S. D.; MAGUIN, E. Stress responses in lactic acid bacteria. **Antonie van Leeuwenhoek**, [s.l.], v. 82, n. 1/4, p. 187-216, ago. 2002.

GUCHTE, M. van; SERROR, P.; CHERVAUX, C; SMOKVINA, T.; EHRLICH, S. D.; MAGUIN, E. Stress responses in lactic acid bacteria. **Antonie van Leeuwenhoek**, [s.l.], v. 82, n. 1/4, p. 187-216, ago. 2002.

GUENICHE, A. **Use of probiotic microorganisms to limit skin irritation**. US Patent 20100226892 A1, 9 sep. 2010.

GUENICHE, A.; BRETON, L.; BALLEVRE, O.; BLUM-SPERISE S.; BUREAU-FRANZ, I.; BENYACOUB, J. **Cosmetic and/or dermatological composition for sensitive skin**. US Patent 20060171936 A1, 3 ago. 2006.

HANSEN, J. E.; JESPERSEN, L. K. Wound or tissue dressing comprising lactic acid bacteria. US Patent 20100143447 A1, 19 dez. 2007.

HIGUCHI, M. The Effect of Oxygen on the Growth and Mannitol Fermentation of *Streptococcus mutans*. **Microbiology**, [s.l.], v. 130, n. 7, p. 1819-1826, jul. 1984.

HO, L.; YANG, S.G. **Cosmetic material obtained from a lactic acid fermentation broth**. US5324515 A1, 13 out.

1992<http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0167701202001896?httpAccept=text/xml>>. Acesso em: 14 nov. 2015

HUTTENHOWER, C. et al. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. **Nature**, [s.l.], v. 486, n. 7402, p. 207-214, jun. 2012.

IGARASHI, T.; KONO, Y.; TANAKA, K. Molecular Cloning of Manganese Catalase from *Lactobacillus plantarum*. **Journal of Biological Chemistry**, [s.l.], v. 271, n. 47, p. 29521-29524, nov. 1996.

- IORDACHE, F., IORDACHE, C., CHIFIRIUC, M.C., BLEOTU, C., PAVEL, M., SMARANDACHE, D., SASARMAN, E., LAZA, V., BUCU, M., DRACEA, O., LARION, C., COTA, A., LIXANDRU, M. Antimicrobial and immunomodulatory activity of some probiotic fractions with potential clinical application. **Archiva Zootechnica** v.11, p.41–51,2008.
- JAFAREI, P.; EBRAHIMI, M. T. *Lactobacillus acidophilus* cell structure and application. **African Journal of Microbiology Research**, [s.l.], v. 24, n. 5, p. 4033-4042, nov. 2011.
- JANSCH, A.; KORACLI, M.; VOGEL, R. F.; GANZLE, M. G. Glutathione Reductase from *Lactobacillus sanfranciscensis DSM20451T*: Contribution to Oxygen Tolerance and Thiol Exchange Reactions in Wheat Sourdoughs. **Applied and Environmental Microbiology**, [s.l.], v. 73, n. 14, p. 4469-4476, mai. 2007
- JONES, D. P. Redox potential of GSH/GSSG couple: Assay and biological significance. **Protein Sensors And Reactive Oxygen Species - Part B: Thiol Enzymes and Proteins**, [s.l.], n. 348, p.93-112, dez. 2003.
- KANNO, T.; KUDA, T.; AN, C.; TAKAHASHI, H; KIMURA, B. Radical scavenging capacities of saba narezushi, Japanese fermented chub mackerel, and its lactic acid bacteria. **Lwt - Food Science and Technology**, [s.l.], v. 47, n. 1, p. 25-30, 7 jun. 2012. Disponível em <http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0023643812000096?httpAccept=text/xml>>. Acesso em: 13 nov. 2015.
- KIM, H. S; CHAE, H. S; JEONG, S. G; HAM, J. S; IM, S. K; AHN, C. N.; LEE, J. M. *In vitro* Antioxidative Properties of *Lactobacilli*. **Journal of Animal Science**, [s.l.], v. 19, n. 2, p. 262-265, dez. 2005.
- KLEEREBEZEM, M.; BOEKHORST, J.; VAN KRANENBURG, R.; MOLENAAR, D.; KUIPERS, O. P; LEER, R; TARCHINI, R.; PETERS, S. A; SANDBRINK, H. M. Complete genome sequence of *Lactobacillus plantarum WCFS1*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s.l.], v. 100, n. 4, p.1990-1995, fev. 2003.
- KOT, E.; BEZKOROVAINY, A. Uptake of iron by *Bifidobacterium thermophilum* depends on the metal content of its growth medium. **Journal of Dairy Science**, [s.l.], v. 74, n. 9, p. 2920-2926, set. 1991.
- KOT, E.; BEZKOROVAINY, A. Uptake of iron by *Bifidobacterium thermophilum* depends on the metal content of its growth medium. **Journal of Dairy Science**, [s.l.], v. 74, n. 9, p. 2920-2926, set. 1991.
- KOT, E.; FURMANOV, S.; BEZKOROVAINY, A. Ferrous iron oxidation by *Lactobacillus acidophilus* and its metabolic products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s.l.], v. 43, n. 5, p. 1276-1282, mai. 1995.
- KOT, E.; HALOFTIS, G.; BEZKOROVAINY, A. Iron accumulation by bifidobacteria at low pO<sub>2</sub> and in air: action of putative ferroxidase. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s.l.], v. 42, n. 3, p. 685-688, mar. 1994
- KUDA, T.; KANEKO, N.; YANO, T.; MORI, M. Induction of superoxide anion radical scavenging capacity in Japanese white radish juice and milk by *Lactobacillus plantarum* isolated from aji-narezushi and kaburazushi. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 120, n. 2, p. 517-522, maio 2010. Disponível em:

<http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0308814609012394?httpAccept=text/xml>>. Acesso em: 12 nov. 2015.

KULLISAAR, T.; ZILMER, M.; MIKELSAAR, M.; VIHALEMM, T.; ANNUK, H.; KAIRANE, C.; KILK, A. Two antioxidative lactobacilli strains as promising probiotics. **International Journal of Food Microbiology**, [s.l.], v. 72, n. 3, p. 215-224, fev. 2002. Disponível em: <http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0168160501006742?httpAccept=text/xml>>. Acesso em: 12 nov. 2015.

LAI, Y.; TSAI, S.; LEE, M. Isolation of exopolysaccharide producing Lactobacillus strains from sorghum distillery residues pickled cabbage and their antioxidant properties. **Food Science and Biotechnology**, [s.l.], v. 23, n. 4, p. 1231-1236, ago. 2014.

LEE, J.; HWANG, K.; CHUNG, M. Y; CHAO, D. H; PARK, C. S. Resistance of Lactobacillus casei KCTC 3260 to Reactive Oxygen Species (ROS): Role for a Metal Ion Chelating Effect. **Journal of Food Science**, [s.l.], v. 70, n. 8, p. 388-391, 31 maio 2006. Disponível em: <http://api.wiley.com/online-library/tdm/v1/articles/10.1111/j.13652621.2005.tb11524.x>>. Acesso em: 13 nov. 2015.

LEE, J.; HWANG, K.; CHUNG, M. Y; CHAO, D. H; PARK, C. S. Resistance of Lactobacillus casei KCTC 3260 to Reactive Oxygen Species (ROS): Role for a Metal Ion Chelating Effect. **Journal of Food Science**, [s.l.], v. 70, n. 8, p. 388-391, 31 maio 2006. Disponível em: <http://api.wiley.com/online-library/tdm/v1/articles/10.1111/j.13652621.2005.tb11524.x>>. Acesso em: 13 nov. 2015.

LEW, L. C.; LIONG, M. T. Bioactives from probiotics for dermal health: functions and benefits. **Journal of Applied Microbiology**, [s.l.], v. 114, n. 5, p. 1241-1253, 1 fev. 2013. Disponível em: <http://api.wiley.com/online-library/tdm/v1/articles/10.1111/jan.12137>>. Acesso em: 15 nov. 2015

LIN, M. Y.; YEN, C. L. Reactive Oxygen Species and Lipid Peroxidation Product-Scavenging Ability of Yogurt Organisms. **Journal of Dairy Science**, [s.l.], v. 82, n. 8, p. 1629-1634, ago. 1999.

LIN, M.; YEN, C. Antioxidative Ability of Lactic Acid Bacteria. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s.l.], v. 47, n. 4, p. 1460-1466, abr. 1999.

LIN, MY; CHANG, F.J. Antioxidative effect of intestinal bacteria *Bifidobacterium longum* ATCC 15708 and *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. **Digestive Diseases and Sciences**, [s.l.], v. 45, n. 8, p. 1617-1622, aug. 2000.

LIN, MY; CHANG, F.J. Antioxidative effect of intestinal bacteria *Bifidobacterium longum* ATCC 15708 and *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. **Digestive Diseases and Sciences**, [s.l.], v. 45, n. 8, p. 1617-1622, aug. 2000.

LUTGENDORFF, F.; TRULSSON, L.M.; VAN, M. L. P.; RIJKERS, G.T.; TIMMERMAN, H.M.; FRANZÉN, L.E.; GOOSZEN, H. G.; AKKERMANS, L.M.; SODERHOLM, J. D.; SANDSTROM, P. A. Probiotics enhance pancreatic glutathione biosynthesis and reduce oxidative stress in experimental acute pancreatitis. **Ajp: Gastrointestinal and Liver Physiology**, [s.l.], v. 295, n. 5, p.1111-1121, set. 2008

MARQUES, L. G. **Liofilização de frutas tropicais**. 2008. 255 p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, São Paulo, 2008.

MISHRA, V.; SHAH, C.; MOKASHE, N.; CHAVAN, R.; YADAV, H.; PRAJAPATI, J. Probiotics as Potential Antioxidants: A Systematic Review. **Journal of Agricultura and Food Chemistr.**, [s.l.], v.



63, n. 14, p.3615-3626, 15 abr. 2015. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf506326t>>. Acesso em: 15 nov. 2015.

MIYOSHI, A.; ROCHAT, T.; GRATADOUX, J. J.; LE LOIR, Y.; OLIVEIRA, S. C.; LANGELLA, P.; AZEVEDO, V. Oxidative stress in Lactococcus lactis. **Genetics and Molecular Research**, v. 2, n.4, p. 348–359, dec. 2003.

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity **Journal of Science and Technology**, Songkla, v. 26, n. 2, p. 211-219, 2003.

MRVČIĆ, J.; STANZER, D.; SOLIC, E.; STEHLIK, T. V. Interaction of lactic acid bacteria with metal ions: opportunities for improving food safety and quality. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, [s.l.], v. 28, n. 9, p.2771-2782, jun. 2012.

NARDONE, G.; COMPARE, D.; LIGUORI, E.; DI MAURO, V.; ROCCO, A.; BARONE, M.; NAPOLI, A.; LAPI, D.; IOVENE, M. R.; COLANTUONI, A. Protective effects of *Lactobacillus paracasei* F19 in a rat model of oxidative and metabolic hepatic injury. **Ajp: Gastrointestinal and Liver Physiology**, [s.l.], v. 299, n. 3, p.669-676, jun. 2010.

NUR, I.; MUNNA, M. S.; NOOR, R. Study of exogenous oxidative stress response in *Escherichia coli*, *Pseudomonas spp.*, *Bacillus spp.*, and *Salmonella spp.* **Turkish Journal of Biology**, [s.l.], v. 38, n. 4, p.502-509, jul. 2014.

OKTYABRSKII, O. N.; SMIRNOVA, G. V. Redox potential changes in bacterial cultures under stress conditions. **Microbiology**, [s.l.], v. 81, n. 2, p.131-142, abr. 2012.

OU, C. C.; LU, T. M.; TSAI, J. J.; YEN, J. H.; CHEN, H. W.; LIN, M. Y. Antioxidative effect of lactic acid bacteria: intact cells vs. intracellular extracts **Journal of Food and Drug Analysis**, rev. 17, p. 209–216, 2009.

OUWEHAND, A.C., BATSMAN, A., AND SALMINEN, S. Probiotics for the skin: a new area of potential application? **Letters in Applied Microbiology**, v. 36, p.327-331,2003.

PAN, D.; MEI, X. M Antioxidant activity of an exopolysaccharide purified from *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 12. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 80, n. 3, p.908-914, 5 maio 2010. Disponível em: <<http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0144861710000159?httpAccept=text/xml>>. Acesso em: 15 nov. 2015.

PERAN, L.; CAMUESCO, D.; COMALADA, M.; BAILON, E.; HENRIKSSON, A.; XAUS, J.; ZARZUELO, A.; GALVEZ, J. A comparative study of the preventative effects exerted by three probiotics, *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus*, in the TNBS model of rat colitis. **Journal of Applied Microbiology**, [s.l.], v. 103, n. 4, p.836-844, out. 2007. Disponível em: <<http://api.wiley.com/onlinelibrary/tdm/v1/articles/10.1111/j.13652672.2007.03302.x>>. Acesso em : 15 nov. 2015.

PIENIZ, S.; ANDREAZZA, R.; ANGHINONI, T.; CAMARGO, F.; BRANDELLI, A. Probiotic potential, antimicrobial and antioxidant activities of *Enterococcus durans* strain LAB18s. **Food Control**, [s.l.], v. 37, p.251-256, mar. 2014. Disponível em: <http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0956713513005100?httpAccept=text/xml> Acesso em: 15 nov. 2015.

POPHALY, S. D.; SINGH, R.; KAUSHIK, J.; TOMAR, K. Current status and emerging role of glutathione in food grade lactic acid bacteria. **Microbial Cell Factories**, [s.l.], v. 11, n. 1, p.111-114, ago. 2012.

REDONDO, N. C. **Avaliação in vitro de características probióticas do *Enterococcus faecium* CRL183 e do *Lactobacillus helveticus* ssp *jugurti* 416**. 2008. 416 p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Alimentos, Ciências de Alimentos, Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho, Araraquara.

RODRIGUES, K.L., CAPUTO, L.R., CARVALHO, J.C., EVANGELISTA, J., AND SCHNEEDORF, J.M. Antimicrobial and healing activity of kefir and kefir extract. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 25, p. 404-408, 2005.

ROSENKRANZ, M.E., SCHULTE, D.J., AGLE, L.M., WONG, M.H., ZHANG, W., IVASHKIV, L., DOHERTY, T.M., FISHBEIN, M.C., LEHMAN, T.J., MICHELSEN, K.S., AND ARDITI, M. TLR2 and MyD88 contribute to *Lactobacillus casei* extract-induced focal coronary arteritis in a mouse model of Kawasaki disease. **Circulation**, v. 112, n.19, p. 2966-2973,2005.

SAADATZADEH, A.; FAZELI, M. R.; JAMALIFAR, H.; DINARVAND, R. Probiotic Properties of Lyophilized Cell Free Extract of *Lactobacillus casei*. **Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products**, [s.l.], v. 3, n. 8, p.131-137, ago. 2013.

SAIDE, J. A. O.; GILLILAND, S. E. Antioxidative Activity of *Lactobacilli* Measured by Oxygen Radical Absorbance Capacity. **Journal of Dairy Science**, [s.l.], v. 88, n. 4, p.1352-1357, abr. 2005.

SANCHEZ-MORENO, C. Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Sci. Technol. Int.** v.8 p.121-137, 2002.

SENZ, M.; LENGERICH, B. V.; BADER, J.; STAHL, U.; Control of cell morphology of probiotic *Lactobacillus acidophilus* for enhanced cell stability during industrial processing. **International Journal of Food Microbiology**, [s.l.], v. 192, n. 1, p.34-42, jan. 2015. Disponível em: <http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0168160514004784?httpAccept=text/xml>. Acesso em: 13 nov. 2015.

SERATA, M.; IINO, T.; YASUDA, E.; SAKO, T. Roles of thioredoxin and thioredoxin reductase in the resistance to oxidative stress in *Lactobacillus casei*. **Microbiology**, [s.l.], v. 158, n. 4, p.953-962, fev. 2012.

SERRAZANETTI, D. I.; GUERZONI, ME E.; CORSETTI, A.; VOGEL, R. Metabolic impact and potential exploitation of the stress reactions in *Lactobacilli*. **Food Microbiology**, [s.l.], v. 26, n. 7, p.700-711, out. 2009. Disponível em: <http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0740002009001671?httpAccept=text/xml>>. Acesso em: 15 nov. 2015.

SODA, M.; AHMED, N.; OMRAN, N.; OSMAN, G.; MORSI, A. Isolation, identification and selection of lactic acid bacteria cultures for cheesemaking. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, [s.l.], v. 17, n. 1, p.51-71, 2003.

SCHMITT, J. A. D.; **Avaliação do Perfil Probiótico de Cepas de *Lactobacillus acidophilus* Destinados a Aplicações Farmacêuticas e Alimentícias**. 2014. Dissertação de Mestrado(Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Brasil.

SPIGELMAN, M.; ROSS, M. Method of using topical probiotics for the inhibition of surface contamination by a pathogenic microorganisms and composition therefor. US 20080107699 A1, 24 oct. 2007.

SPYROPOULOS, B. G.; MISIAKOS, E. P.; FOTIADIS, C.; STOIDIS, C. N. Antioxidant Properties of Probiotics and Their Protective Effects in the Pathogenesis of Radiation-Induced Enteritis and Colitis. **Digestive Diseases and Science**, [s.l.], v. 56, n. 2, p.285-294, jul. 2010.

STECCHINI, M. L.; TORRE, M.; MUNARI, M. Determination of peroxy radical scavenging of lactic acid bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, [s.l.], v. 64, n. 1-2, p.183-188, 28 fev. 2001. Disponível em: <http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0168160500004566?httpAccept=text/xml>. Acesso em: 13 nov. 2015.

TALWALKAR, A.; KAILASAPATHY, K.; HOURIGAN, J.; PEIRIS, P.; ARUMUGASWAMY, R. An improved method for the determination of NADH oxidase in the presence of NADH peroxidase in lactic acid bacteria. **Journal of Microbiological Methods**, [s.l.], v. 52, n. 3, p.333-339, mar. 2003.

TALWALKAR, A.; KAILASAPATHY. The Role of Oxygen in the Viability of Probiotic Bacteria with Reference to *L. acidophilus* and *Bifidobacterium spp.* **Current Issues in Intestinal Microbiology**, [s.l.], v. 5, n. 1, p. 1–8, marc.2004.

TALWALKAR, A.; KAILASAPATHY. The Role of Oxygen in the Viability of Probiotic Bacteria with Reference to *L. acidophilus* and *Bifidobacterium spp.* **Current Issues in Intestinal Microbiology**, [s.l.], v. 5, n. 1, p. 1–8, marc.2004.

TEODORESCU, R. A natural eubiotic product for maintenance and treatment of teguments. WO Patent 007332, 18 fev. 1999.

TERAN, C. Probiotic Technology.. **Active Concepts**. 2011.

TSAI, C. C.; CHAN, C. F.; HUANG, W. Y.; LIN, J. S.; CHAN, P.; LIU, H. I.; LIN, Y. S. Applications of Lactobacillus rhamnosus Spent Culture Supernatant in Cosmetic Antioxidation, Whitening and Moisture Retention Applications. **Molecules**, [s.l.], v. 18, n. 11, p.14161-14171, nov. 2013.

UUGANTSETSEG, E.; BATJARGAL, B. Antioxidant activity of probiotic lactic acid bacteria isolated from Mongolian airag. **Mongolian Journal of Chemistry**, [s.l.], v. 15, p.73-78, dez. 2014.

VINTIÑI, E.O., MEDINA, M.S. Host immunity in the protective response to nasal immunization with a pneumococcal antigen associated to live and heat-killed Lactobacillus casei, **BMC Immunology**, v. 12, 2011.

WANG, J.; JI, H. F.; WANG, S. X.; ZHANG, D. Y.; LIU, H.; SHAN, D. C.; WANG, Y. M. *Lactobacillus plantarum* ZLP001: In vitro Assessment of Antioxidant Capacity and Effect on Growth Performance and Antioxidant Status in Weaning Piglets. **Asian Australasian Journal of Animal Science**, [s.l.], v. 25, n. 8, p.1153-1158, jun. 2012.

WATANABE, M.; VAN, D. V. S.; NAKAJIMA, H.; ABEE, T. Effect of respiration and manganese on oxidative stress resistance of *Lactobacillus plantarum* WCFS1. **Microbiology**, [s.l.], v. 158, n. 1, p.293-300, out. 2011

WEINBERG, E. D. The *Lactobacillus* Anomaly: Total Iron Abstinence. **Perspectives in Biology and Medicine**, [s.l.], v. 40, n. 4, p.578-583, 1997.

WOLF, G.; ARENDT, E. K.; PFAHLER, U.; HAMMES, W. P. Heme-dependent and heme-independent nitrite reduction by lactic acid bacteria results in different N-containing products. **International Journal of Food Microbiology**, [s.l.], v. 10, n. 3-4, p.323-329, maio 1990. Disponível em: <<http://api.elsevier.com/content/article/PII:016816059090079K?httpAccept=text/xml>>. Acesso em: 13 nov. 2015.

YAMAMOTO, Y.; POYART, C.; TRIEU, C. P.; LAMBERET, G.; GRUSS, A.; GAUDU, P. Respiration metabolism of Group B Streptococcus is activated by environmental haem and quinone and contributes to virulence. **Molecular Microbiology**, [s.l.], v. 56, n. 2, p.525-534, 22 fev. 2005. Disponível em: <http://api.wiley.com/onlinelibrary/tdm/v1/articles/10.1111/j.1365-2958.2005.04555x> Acesso em: 13 nov. 2015.

ZAYED, G.; WINTER, J. Batch and continuous production of lactic acid from salt whey using free and immobilized cultures of lactobacilli. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s.l.], v. 44, n. 3-4, p.362-366, dez. 1995.

ZHANG, J.; GUO, C. D.; YANPING, Z.; XIAN, Y. L.; MIAO, W.; YIN, L.; CHEN, J. Glutathione Protects *Lactobacillus sanfranciscensis* against Freeze Thawing, Freeze-Drying, and Cold Treatment. **Applied and Environmental Microbiology**, [s.l.], v. 76, n. 9, p.2989-2996, mar. 2010.

ZHANG,S.; LIU,L.; SU,Y.; LI,H.; SUN,Q.; LIANG,X.; LV,J. Antioxidative activity of lactic acid bacteria in yogurt. **African Journal of Microbiology Research**, [s.l.], v. 5, n. 29, p.5194-5201, 9 dez. 2011. Disponível em: <http://www.academicjournals.org/AJMR>. Acesso em: 13 nov.2015.

ZITZELSBERGER, W.; GOTZ, F.; SCHLEIFER, K. H. Distribution of superoxide dismutases, oxidases, and NADH peroxidase in various streptococci. **Fems Microbiology Letters**, [s.l.], v. 21, n. 2, p.243-246, mar. 1984