



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI
CAMPUS ALTO PARAOPÉBA
CURSO DE ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS

**Produção de biomassa de *Saccharomyces boulardii*
utilizando resíduos agroindustriais**

Orientanda: RAYANE SILVA MIRANDA

ORIENTADORA: SANDRA DE CÁSSIA DIAS

Ouro Branco - MG

Junho/2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO
DEL-REI CAMPUS ALTO PARAÓPEBA
CURSO DE ENGENHARIA DE
BIOPROCESSOS

**Produção de biomassa de *Saccharomyces boulardii*
utilizando resíduos agroindustriais**

Rayane Silva Miranda

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado em cumprimento às exigências
do Curso de Bacharelado em Engenharia de
Bioprocessos da Universidade Federal de
São João del-Rei.

Ouro Branco - MG

junho/2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO
DEL-REI CAMPUS ALTO PARAÓPEBA
CURSO DE ENGENHARIA DE
BIOPROCESSOS

**Produção de biomassa de *Saccharomyces boulardii*
utilizando resíduos agroindustriais**

Rayane Silva Miranda

A Banca Examinadora, composta pelos membros abaixo, avaliou este TCC:

Sandra de Cássia Dias – Orientadora

Edson Romano Nucci- Examinador

Paula Resende Vieira- Examinador

Ouro Branco, 2017

RESUMO

O uso de microrganismos visando efeitos benéficos a saúde têm se tornado frequente. Um exemplo é a levedura *Saccharomyces boulardii*, que apesar de não fazer parte da flora intestinal, pode ser usada como probiótico no combate à diarreia. A *S.boulardii* é comercializada na forma liofilizada em cápsulas. O presente trabalho teve como objetivo fazer uma revisão de literatura sobre os principais resíduos que podem ser utilizados para a produção de biomassa da *Saccharomyces boulardii*. Apesar da busca intensa na literatura apenas dois trabalhos foram publicados sobre a produção da *S.boulardii*, isto dificultou uma análise comparativa com diferentes trabalhos que usassem os resíduos agroindustriais para a produção de biomassa da levedura. Apesar disso, os dois trabalhos, o de KITAMURA (2013) que utilizou melão de cana e TRIGUEROS (2016) que utilizou permeado de soro de leite, mostraram-se viáveis para a utilização de resíduos agroindustriais como substratos nos processos fermentativos para a produção de *S.boulardii*. Assim, os resíduos agroindustriais são fontes potenciais para serem utilizados em processos biotecnológicos, a utilização destes resíduos é uma alternativa importante para a sua reciclagem.

Palavras-chave: *Saccharomyces boulardii*, biomassa, resíduos agroindustriais.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Microscopia eletrônica da *Saccharomyces boulardii* em solução aquosa 9

Figura 2- Fases de crescimento dos micro-organismos. A representa a fase lag, B representa a fase log, C representa a fase estacionária e D representa a fase de morte.....11

Figura 3- Estrutura Química de amilose (a) e de amilopectina (b) 18

Figura 4- Resultado obtido da biomassa da *S.boulardii* em permeado de soro de leite puro (meio 1), permeado suplementado com sais(meio 2) e meio padrão (3)..... 22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Composição do meio padrão para cultivo de *S.boulardii*..... 13

Tabela 2- Resultados obtidos através do aumento da concentração de melaço para produção de *S.boulardii*, utilizando o planejamento DCCR.....20

Tabela 3- Resultado da Análise de rendimento da cepa Sb4308 obtidos nos planejamentos experimentais do tipo DCCR 21

SUMÁRIO

1- Introdução	6
2- Revisão Bibliográfica	7
2.1 Probióticos	7
2.2 <i>Saccharomyces boulardii</i>	8
2.3 Mecanismo de ação	10
2.4 Condições de Cultivo	11
2.5 Resíduos agroindustriais	13
2.5.1 Soro de queijo	14
2.5.2 Melaço de cana de açúcar	15
2.5.3 Materiais Lignocelulósicos.....	16
2.5.4 Amido da mandioca/batata	17
2.6 Comparação da produtividade da <i>S.boulardii</i> usando diferentes resíduos	19
3- Conclusão	24
4- Referências Bibliográficas	25

1 – INTRODUÇÃO

O mercado consumidor está cada vez mais exigente em relação aos produtos alimentícios saudáveis e nutritivos, contribuindo para o crescimento da indústria de bebidas lácteas, que está reagindo para aumentar a sua competitividade na parte de produtos funcionais. Em 2005, os alimentos funcionais representavam 65% do mercado mundial de bebidas lácteas (RAUD, 2008).

Recentemente, o uso de micro-organismos com efeitos benéficos à saúde tem aumentado significativamente. Dentre os micro-organismos usados como probióticos está a *Saccharomyces boulardii*, uma levedura não patogênica, com características probióticas, pois consegue sobreviver ao pH baixo do suco gástrico, logo após a administração oral (MULLER *et al.*, 2006).

Saccharomyces boulardii é utilizada na medicina, como medicamento na forma liofilizada, principalmente no tratamento de doenças infecciosas, como Doença de Crohn e Colite Ulcerativa (KICH *et al.*, 2016).

A levedura *S.boulardii* utiliza a glicose como fonte de carbono. Em grande escala, como no caso de uma indústria, deseja-se diminuir o custo do cultivo do micro-organismo, procurando fontes alternativas de carbono e nitrogênio. Portanto muitos resíduos agroindustriais que podem suprir as necessidades nutricionais de alguns micro-organismos são candidatos a serem utilizados na produção de biomassa microbiana (BRANDÃO, 2010).

A palavra resíduo, do latim “residuum”, é definida como toda substância que o produtor abandona, que manifesta a redução do valor de uma matéria. O Brasil produz uma grande quantidade de resíduos descartados pelas agroindústrias, tornando-se agentes poluidores do meio ambiente. Assim, é importante procurar soluções economicamente viáveis para resíduos agroindustriais, por exemplo, utilizando-os em matérias primas para um novo processo (FERNANDES, 2006).

Diante desses estudos e da importância da levedura *S.boulardii* para a saúde humana, o presente trabalho teve por objetivo fazer uma revisão de literatura sobre os principais resíduos que podem ser utilizados para a produção de biomassa da *Saccharomyces boulardii*.

2- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Probióticos

Em nosso corpo habitam cerca de 100 trilhões de bactérias, de espécies diferentes, que vivem em harmonia com o hospedeiro. Uma diversidade de micro-organismos que vivem na região gastrointestinal não é formada de maneira aleatória, existem espécies que são residentes e outras que são temporárias. A permanência das espécies depende de uma combinação de fatores, como a idade, dieta, condições ambientais, terapia com antibióticos (KICH *et al.*, 2016). A microbiota é essencial para o crescimento adequado, desenvolvimento da imunidade e nutrição. O desenvolvimento da microbiota intestinal ocorre logo após o nascimento, pois o bebê deixa o ambiente intra-uterino, livre de germes e encontra um ambiente altamente contaminado. Alguns fatores também influenciam o processo de colonização inicial, tal como a idade gestacional, o tipo de parto, a dieta neonatal e fatores genéticos (ALARCÓN *et al.*, 2016).

Uma perturbação da microbiota intestinal, também chamada de disbiose, pode ser provocada pelo uso de antibióticos, estresse psicológico e físico, alterações na dieta (MORAES-FILHO e QUIGLEY, 2015). De acordo com KICH *et al* (2016) a disbiose pode levar ao desenvolvimento de diversas patologias, como: obesidade, inflamações crônicas e desnutrição.

O termo probiótico, é definido como um suplemento alimentício, que contém micro-organismos vivos, que beneficia seu hospedeiro, melhorando o equilíbrio microbiano intestinal (OHSHIMA *et al.*, 2016). A maioria dos probióticos utilizados são bactérias pertencentes ao grupo *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, as quais digerem anaerobicamente açúcares produzindo ácidos lácticos. Existem também leveduras probióticas, como a *Saccharomyces boulardii* (MORAES-FILHO e QUIGLEY, 2015).

Para que um micro-organismo seja considerado um probiótico, ele deve apresentar características como; não ser patogênico ou tóxico, não possuir genes de resistência a antibióticos, resistir às condições do ambiente gastrointestinal, não possuir propriedades mutagênicas e cancerígenas, deve ser viável durante o processamento e estável durante o armazenamento (RONDON *et al.*, 2015).

Os probióticos atuam para proteger a mucosa intestinal contra toxinas produzidas por micro-organismos indesejáveis, permitindo a regeneração da mucosa lesada. Na ingestão o micro-organismo com características probióticas entra em contato com o pH neutro da cavidade oral, no estômago ele encontra condições ácidas e chega ao intestino, onde há ação dos sais biliares (BARBOSA *et al.*, 2011).

Para que os probióticos tenham efeitos positivos na saúde do hospedeiro, deve-se fazer uma ingestão diária de 10^9 unidades formadoras de colônia (UFC) (HEMAISWARYA *et al.*, 2013). Segundo a recomendação da ANVISA em 2001, um alimento funcional deve apresentar uma concentração mínima de 10^6 UFC/g dentro do prazo de validade do produto. A recomendação da ANVISA em 2007, com base na porção diária de micro-organismos que devem ser ingeridos, é estipulada um mínimo de 10^8 a 10^9 UFC/g por dia.

De acordo com Rondon (2015), uma área importante associada ao uso de probióticos é a de produtos lácteos, principalmente os iogurtes. Atualmente, tem-se o Yakult[®] como o primeiro produto mundial da saúde intestinal, seguido do Iogurte Activia[®], que teve um faturamento de 1,3 bilhões de euros em 2006 (RAUD, 2008).

2.2 *Saccharomyces boulardii*

As leveduras são micro-organismos eucariotos, crescem e se reproduzem, sendo eficientes na realização de alterações físico-químicas no meio em que se encontram (SILVA, 2008).

De uma maneira geral, as leveduras necessitam de água, oxigênio, minerais, fontes de carbono e nitrogênio para o seu desenvolvimento. O metabolismo aeróbio ou anaeróbico é determinado pela disponibilidade de oxigênio no meio de cultivo. A maioria delas consegue assimilar açúcares simples como: glicose, frutose e manose (BASTOS, 2011).

A *Saccharomyces boulardii* é uma levedura não patogênica, muito usada no tratamento de doenças gastrointestinais. Ela foi isolada de uma fruta chamada lichia em 1920, na Indochina por um microbiologista francês Henri Boulardii, que foi avisado de um surto de cólera na região. Ele observou que a população local preparava um chá da casca da fruta para minimizar a diarreia. Depois de muito estudo, descobriu que a casca da fruta estava recoberta com a levedura *S. boulardii* e que esta tinha grande eficácia contra tal doença (SANTOS *et al.*, 2009).

S. boulardii é utilizada no tratamento ou prevenção de doenças gastrointestinais, produzindo substâncias que inibem algumas toxinas bacterianas (NAGASHIMA *et al.*, 2013). COSTA SILVA e MARTINS (2015) observou que em adultos que tinham uma reincidência de diarreia causada por *Clostridium difficile*, houve uma redução de 34,6% no risco de ocorrência de novo episódio. De acordo com BUTS (2005), uma única dose da levedura demonstrou a sua capacidade de se adaptar às condições físico-químicas do intestino e após o terceiro dia foram observadas 10^8 células viáveis no intestino. Cerca de dois a cinco dias após a suspensão do tratamento com a levedura, a *S. boulardii* desapareceu das fezes.

A *S. boulardii* é uma levedura da ordem *Saccharomycetalia*, família *Saccharomycetacea* e gênero *Saccharomyces* (ASSUNÇÃO, 2014). De acordo com ATICIA (2017), diversos estudos realizados utilizando as técnicas moleculares, verificaram que a *S. boulardii* é geneticamente próxima a *Saccharomyces cerevisiae*. Porém, possui características fisiológicas diferentes (BUTS, 2005).

As células da *S. boulardii* são esféricas, ovais e elípticas, como pode ser observado na Figura 1 (BASTOS, 2011). Porém, as formas e tamanho, podem variar de acordo com as condições ambientais, o estado fisiológico e a idade da levedura (SILVA, 2008).

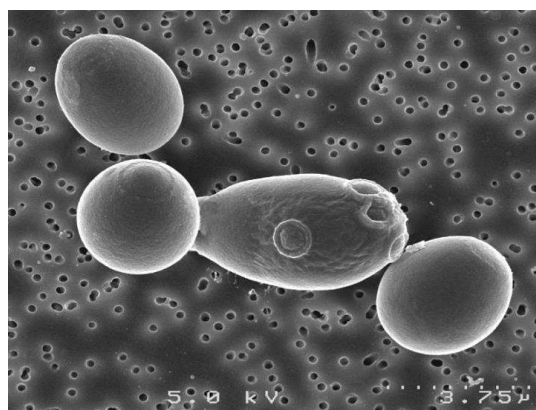


Figura 1: Microscopia eletrônica em suspensão aquosa da *Saccharomyces boulardii* (KITAMURA, 2013).

Quando comparados aos probióticos bacterianos, as células da levedura são dez vezes maiores, apresentam uma resistência natural a antibióticos, possuem crescimento ótimo a 37°C, conseguem sobreviver no trânsito gastrointestinal, e tem a capacidade de inibição de agentes patogênicos (MORÉ, 2015).

O uso de probióticos na dieta humana está sendo amplamente difundido tanto na forma como suplemento alimentar, em leites, iogurtes, coalhadas, quanto em medicamentos (BARBOSA *et al.*, 2011). Atualmente, a *S.boulevardii* é comercializada na forma liofilizada como agente bioterapêutico utilizado no tratamento de várias doenças intestinais (BAFUTTO *et al.*, 2013).

A partir de 1960, deu início à comercialização da *S.boulevardii* liofilizada. O uso comercial de *S. boulevardii* como medicamento no combate às diarreias foi difundido em toda Europa e hoje está disponível no mercado com diferentes nomes comerciais: Ultra-Levure®, Florastor®, Precosa®, Levucell®, Perenterol®, Perenteryl®, Codex®, Floratil® (SANT'ANA, 2009).

2.3 Mecanismos de ação

Na flora intestinal, em condições normais, existem diferentes micro-organismos que exercem influência sobre uma série de reações bioquímicas do hospedeiro. Elas funcionam como uma barreira contra a invasão de micro-organismos não residentes (LOPES, 2010; SAAD, 2006).

Porém, quando ocorre um desequilíbrio dessa microbiota, devido ao estresse ou mudanças na dieta, inicia-se uma proliferação de micro-organismos patogênicos que passam a competir por nutrientes com os micro-organismos residentes da flora intestinal (KITAMURA, 2013). O mecanismo de ação da *S.boulevardii* é o de proteção, pois ele impede a multiplicação de micro-organismos patogênicos através de competição por nutrientes ou sítios de adesão. Entretanto a *S. boulevardii* consegue se aderir às células do intestino, mas não se multiplicam e por isso seu uso deve ser constante para manter sua concentração em quantidades suficientes (LOPES, 2010). A parede celular da *S.boulevardii* é rica em manose, assim, os patógenos se aderem à levedura por meio de adesinas, receptores presentes na parede celular bacteriana. As bactérias aderidas são eliminadas pelas fezes (MIGOWSKI e PUGLIESE, 2009).

A *S.boulevardii* impede a ação bacteriana, produzindo compostos antimicrobianos, como as bacteriocinas, que impedem a multiplicação e produção de toxinas por bactérias patogênicas (KITAMURA, 2013).

A *S.boulevardii* produz uma serino-protease de 54 kDa que bloqueia as toxinas A e B de *Clostridium difficile* e seus receptores na mucosa intestinal (SANTOS *et al.*, 2009).

Outro mecanismo de ação da *S.boulevardii* é a imunoestimulação. Estudos realizados em camundongos mostraram que a levedura aumenta os níveis de Imunoglobulina do tipo A. Esse efeito, conhecido como modulador, pode estar relacionado à capacidade da levedura interagir com as células epiteliais estimulando as células B produtoras de IgA e a migração de células T do intestino (COPOLA e TURNES, 2004). Em camundongos desafiados com a toxina A de *C. difficile*, a levedura provocou um aumento de 4 vezes nos níveis de IgA dirigidos contra a toxina A, o que mostra que a levedura possui um efeito modulador da resposta imune. (SANTOS *et al.*, 2009).

A levedura *S. boulevardii* causa aumento de níveis de anticorpos e aumento das atividades dos macrófagos (KITAMURA, 2013). Segundo MULLER *et al.*, (2006) a ingestão da levedura é capaz de reduzir danos resultantes da ação de toxinas bacterianas de *Vibrio Cholerae*, de *Escherichia coli* e de *Clostridium difficile*.

2.4 Condições de cultivo

O crescimento celular microbiano apresenta diferentes fases características, de acordo com a Figura 2.



Figura 2- Fases de crescimento dos micro-organismos. A representa a fase lag, B representa a fase log, C representa a fase estacionária e D representa a fase de morte celular (Retori, 2000).

A Fase lag é a fase de adaptação dos micro-organismos ao meio de cultivo, por isso um aumento significativo da população de células não é observado. Já a fase log é a fase de crescimento, caracterizada por células operando a taxas próximas ao máximo permitido pela sua cinética enzimática. Nessa fase são produzidos produtos da fermentação associados ao metabolismo primário. Quando o produto da fermentação é a biomassa ou metabólitos associados ao metabolismo primário é importante a ampliação desta fase, para que aumente a produtividade. Na fase estacionária, ocorre o esgotamento de nutrientes, o número de células que nascem são iguais ao número de células que morrem. A fase de morte celular pode ocorrer por dois motivos, o esgotamento de nutrientes ou pelo acúmulo de substâncias inibitórias (HOEHLER e JORGENSEN, 2013).

As leveduras utilizam como nutrientes fontes de carbono, nitrogênio, fósforo e fatores de crescimento. Os micro-organismos cultivados em meios sintéticos utilizam como fontes de carbono os dissacarídeos glicose, sacarose, frutose ou polissacarídeos como amido e celulose. Como fonte de nitrogênio, são usados sais, aminoácidos e ureia, extrato de levedura e peptona. Além de outros elementos como sódio, potássio e magnésio que são adicionados em menores, porém necessárias, concentrações. Além dos nutrientes citados, é preciso fornecer condições ambientais favoráveis ao cultivo, tais como pH, pressão osmótica, umidade e temperatura (BORZANI, 2007).

A literatura descreve o meio líquido *Yeast extract peptone dextrose (YPD)* para o cultivo de *Saccharomyces boulardii*. Este meio é composto por glicose, extrato de levedura, peptona de carne, KH_2PO_4 , sulfato de amônio, sulfato de magnésio e ureia (tabela 1).

Entretanto, outros meios também são utilizados para o cultivo de *Saccharomyces*, como o YEPG, composto por 2% de glicose, 1% de peptona e 0,5% de extrato de levedura. O meio YM também é utilizado, ele é composto por 0,3% de extrato de levedura, 0,3% de extrato de malte, 0,5% de peptona e 1% de glicose (MALTONE, 2008).

O custo do cultivo de micro-organismos pode preocupar alguns empresários. Estima-se que 30 a 40% do custo envolvido na produção estejam relacionados ao meio de cultura utilizado para o crescimento do micro-organismo. Muitas indústrias estão adotando métodos simples como a utilização de um meio de cultura específico e otimizado, para aumentar o rendimento do produto final desejado (CARVALHO *et al.*, 2008). Portanto, a preparação de meios de cultivos de baixo custo é um fator importante em processos fermentativos industriais (NETO *et al.*, 2005).

Tabela 1- Composição do meio padrão para cultivo de *S.boulardii*.

Substância	Concentração (g/L)
Glicose	10
Extrato de levedura	2
Peptona de carne	2
KH ₂ PO ₄	0,6
Sulfato de amônio	0,12
Sulfato de magnésio	0.24
Ureia	0,36
H ₂ O qsp	1000 mL

Fonte: MULLER, 2006.

Existem vários estudos sobre os meios industriais de fermentação para obtenção de produtos biotecnológicos. Muitos resíduos agroindustriais têm sido empregados para obtenção de produtos biotecnológicos, devido a grande disponibilidade e por representarem fontes alternativas de baixo valor comercial (CAZZETA, 2005).

2.5 Resíduos agroindustriais

O agronegócio é o setor da economia que vem contribuindo com o crescimento do país, e é um dos responsáveis pelo superávit na balança comercial brasileira (CRAVO *et al.*, 2014). Muitos produtos alimentares são preparados em unidades industriais usando produtos agrícolas como matérias-primas. Durante este processo é gerada uma quantidade considerável de resíduos líquidos e sólidos, que quando não descartados adequadamente causam impactos ambientais (CALDAS, 2010). Portanto, é necessário à busca por soluções que minimizam esses problemas, recuperando nutrientes de resíduos sólidos / líquidos industriais.

Esses resíduos podem ser utilizados como fontes alternativas de substratos para os micro-organismos por causa da alta biodegradabilidade e por serem ricos em carbono e outros nutrientes essenciais para o crescimento (GASSARA *et al.*, 2010).

Uma solução para minimizar o impacto da geração de resíduos no ambiente seria utilizar os resíduos agroindustriais em processos de fermentação, devido ao baixo custo e à disponibilidade local, principalmente quando se visa à produção em larga escala. Os agrosresíduos mais comuns são o soro de leite, águas residuárias amiláceas, materiais celulósicos, além de resíduos como o melaço da cana-de-açúcar (COGHETTOA *et al.*, 2016).

2.5.1 Soro de leite

O soro de leite, também conhecido como soro de queijo, é um resíduo agroindustrial proveniente da indústria de laticínios, resultante da precipitação e remoção de caseína de leite nos processos de fabricação de queijo. Em média, são produzidos 9 kg de soro de queijo, para produzir 1 kg de queijo (REMÓN *et al.*, 2016).

A produção mundial do soro é superior a 160 milhões de toneladas por ano. O soro apresenta uma demanda bioquímica de oxigênio (DBO) de 30-50 g/ L e uma demanda química de oxigênio (DQO) de 60-80 g/L, sendo a lactose responsável pela alta DBO e DQO (GUIMARÃES *et al.*, 2010). No Brasil, segundo a Embrapa (2015), 34 bilhões de leite são produzidos, com um crescimento de 5% ao ano. A maior parte desse volume é utilizada para produção de mais de 600 mil toneladas de diversos tipos de queijo por ano, o que significa uma produção anual de mais de 4 bilhões de litros de soro.

Quando o soro de leite é descartado no meio ambiente, diretamente em águas receptoras (rios, lagos, oceanos, etc), sem qualquer pré-tratamento gera alta contaminação orgânica nas águas e odor desagradável. O descarte no solo também pode comprometer a estrutura físico-química do solo, resultando em problema ambiental (PRAZERES *et al.*, 2012).

O permeado do soro de queijo é um líquido amarelado, caracterizado pelo alto teor de lactose (70-90%), presença de minerais (6-20%), proteínas (0,5-3%) e baixos teores de gordura (< 2%), além de concentrações de macro e micro elementos, e algumas vitaminas do complexo B (TRIGUEROS, 2016).

O soro de leite é uma fonte de carbono alternativa para a fermentação, por exemplo, a fermentação de lactose do soro em etanol, utilizando leveduras (PRAZERES *et al.*, 2012). TRIGUEROUS (2016) utilizou o soro de leite hidrolisado como substrato para produção de *Saccharomyces boulardii*. Assim, o soro de leite é utilizado como componente do meio de cultura para o cultivo da levedura utilizada como probióticos.

2.5.2 Melaço de cana

De acordo com dados do CONAB, na safra 2016/17, estima-se uma produção de 657,2 milhões de toneladas de cana-de-açúcar, no Brasil. Houve um aumento na produção de açúcar na ordem de 15,5%, com produção estimada em 38,69 milhões de toneladas, sendo a região Sudeste, a responsável, nesta safra, por 72,9% do açúcar produzido em todo o país.

O melaço é um subproduto da indústria açucareira, obtido como consequência da evaporação repetida do caldo de cana. Este subproduto é um fluido viscoso escuro composto de açúcares fermentáveis. O principal carboidrato presente é a sacarose (45% m/v), seguida da glicose e frutose (5% m/v), por colóides suspensos, aminoácidos, vitaminas, íons metálicos e sais (50% m/v) (SHARMA *et al.*, 2016).

Aproximadamente, 0,3 toneladas de melaço são produzidas para cada 1 tonelada de açúcar (LI *et al.*, 2015). O melaço é uma matéria-prima econômica, utilizada para a produção de etanol. Ele também é utilizado como aditivo para a alimentação animal, além de ser um meio de crescimento para a produção de leveduras, como a *S.boulevardii* (SHARMA *et al.*, 2016). KITAMURA (2013) realizou um estudo, desenvolvendo um processo para produção de biomassa probiótica *S. boulevardii*, utilizando o resíduo agroindustrial melaço de cana, através de fermentação submersa. Feltrin e colaboradores (2000) também utilizaram o melaço de cana como substrato para a produção de *Lactobacillus plantarum* e como resultados, o meio contendo melaço de cana como fonte de carbono teve uma produtividade de 0,0768 g/L.h e o meio contendo a glicose como fonte de carbono, teve produtividade de 0,0865 g/l.h. Os resultados foram semelhantes, sugerindo a utilização do melaço de cana-de-açúcar, enriquecido para suprir as necessidades nutricionais de *Lactobacillus plantarum*, visando a produção de biomassa e de células viáveis em processos fermentativos alimentares.

Infelizmente, grande parte do melaço é descartada diretamente nas águas, levando a altas concentrações de substâncias orgânicas, excedendo a capacidade de autodepuração do rio, deixando-o sem oxigênio e consequentemente, causando a morte de peixes e outros organismos aquáticos (LI *et al.*, 2015).

2.5.3 Materiais lignocelulósicos

Os materiais lignocelulósicos são promissores como recurso natural e renovável. Recentemente, os materiais lignocelulósicos ganharam interesse de pesquisa, pois podem ser utilizados para a produção de biocombustíveis e usados na fermentação microbiana para produção de enzimas (ANWAR *et al.*, 2014).

A lignocelulose é composta em 35-50% de celulose, 25-30% de hemicelulose e 15-30% de lignina. Estes três tipos de polímeros estão fortemente ligados uns aos outros e representam mais de 90% do peso seco das células vegetais, a quantidade de cada polímero varia de acordo com a espécie e estação de colheita (MENEZES, 2009).

Os materiais lignocelulósicos incluem resíduos agrícolas, como palha da cana-de-açúcar, o bagaço da cana, palha de trigo e outros. No Brasil, a principal biomassa residual é o bagaço de cana-de-açúcar (NUNES *et al.*, 2014).

Segundo NUNES e colaboradores (2014), muitos estudos estão sendo realizados para melhorar a digestibilidade química e enzimática da biomassa lignocelulósica, para a eficiente conversão da celulose e hemicelulose em etanol. Pois, o grande problema é a baixa acessibilidade da celulose (por causa da associação com a lignina), dificultando a conversão em açúcares fermentáveis. Portanto, se faz necessário a hidrólise, rompendo o polímero linear glicose-glicose, que é rígido e difícil de ser quebrado, para tornar a glicose mais acessível (MOOD *et al.*, 2013).

MENEZES e colaboradores (2009) avaliaram a produção de enzimas celulolíticas (carboximetilcelulase e avicelase), hemicelulíticas (xilanase) e ligninolíticas (lacase e manganês peroxidase) pelos fungos do gênero *Pleurotus* (*P. sp* BCCB068, *P. Tailândia* e *P. saior-caju*) através de fermentação submersa utilizando bagaço de cana como uma fonte de carbono. Os resultados demonstraram que os fungos produziram enzimas lignocelulolíticas (lacase e manganês peroxidase). Desta forma, o trabalho de MENEZES e colaboradores (2009) mostrou que o resíduo de bagaço de cana é um possível substrato para produção de enzimas ligninolíticas, uma alternativa para a obtenção de enzimas mais viáveis economicamente.

2.5.4 Amido de Mandioca/ Batata

A mandioca (*Manihot esculenta*) é uma espécie nativa do Brasil e está distribuída em todo território nacional. A produção de mandioca por regiões estimada para 2016 foi: Nordeste (31,6%), Norte (30,4%), Sul (22,3%), Sudeste (10,5%) e Centro-Oeste (5,2%) (CONAB, 2016). A mandioca é um alimento rico em amido e pobre em proteína bruta. A casca de mandioca é constituída de casca, entrecasca e ponta da raiz, quando desidratada pode atingir cerca de 88% de matéria seca. A casca desidratada apresenta 58,1% de amido, 3,4% de proteína bruta e 28,6% de fibra (CALDAS, 2010).

A batata inglesa (*Solanum tuberosum* L.), além do consumo humano é utilizada na indústria para a produção de amido (panificação) e álcool. No entanto, apesar de possuir destaque no setor alimentício, do total de batata produzida, aproximadamente 35% (casca e resto de polpa) são descartados no processo de industrialização. Para o mercado agrícola, o cultivo da batata está entre as 10 principais culturas, sendo mais presente nas regiões Sul e Sudeste. Os estados de Minas Gerais, Paraná e São Paulo são responsáveis por mais de 90% da produção do país (GARCIA, 2013). Os tubérculos de batatas são compostos por aproximadamente 76% de água, 2% de proteínas e 20% de carboidrato. Aproximadamente 80% do peso dos carboidratos da batata é amido, com uma proporção de 75%–79% de amilopectina e 21%-25% de amilose (FERNANDES, 2006).

O amido é polissacarídeo natural considerado a principal fonte de carboidratos nos vegetais. As sementes e raízes de tubérculos como a mandioca e a batata são as principais fontes de amido, ele também é encontrado no milho, trigo e arroz (SPIER, 2010). O amido é um homopolímero ramificado, formado por unidades de glicose ligadas entre si de forma linear e ramificada. É um homopolissacarídeo formado por α -glicose e encontra-se em duas formas: amilose e amilopectina (ZHANG *et al.*, 2017).

A amilose praticamente não apresenta ramificações, as unidades de glicose são conectadas por ligações glicosídicas do tipo α (1,4) e a porcentagem de ramificações α (1,6) é menor do que 1%. Já a amilopectina é uma das maiores biomoléculas conhecidas, altamente ramificadas, possui cadeias de resíduos de glucose ligados entre si por ligações glicosídicas do tipo α (1,4) com aproximadamente 5% de ramificações α (1,6) (AMARAL *et al.*, 2007). Na Figura 3 estão ilustradas as estruturas químicas da amilose e amilopectina.

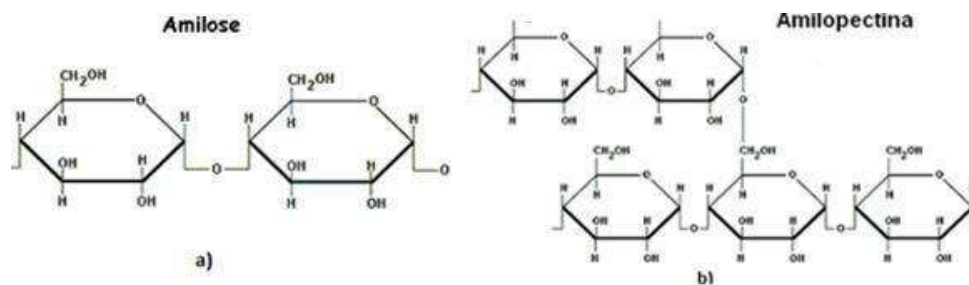


Figura 3- Estrutura química da amilose (a) e da amilopectina (b). (CORRADINI *et al.*, 2005).

O processamento da mandioca/batata para produção em larga escala de amido resulta em resíduos sólidos e líquidos e o descarte inadequado destes resíduos nos corpos hídricos, sem nenhum tratamento, provoca danos ambientais. Os resíduos compreendem a água da limpeza das raízes, a casca, a água de extração da fécula e as fibras (WOSIACKI *et al.*, 2002). Portanto, esses resíduos contêm quantidades de amido consideráveis e são adequados como substrato para o crescimento microbiano (OKEKE e FRANKENBERGER, 2005).

DALCANTON *et al.*, (2010) utilizaram amido hidrolisado de arroz com suplementação de óleo de soja para a produção de Poli (3-hidroxibutirato) por *Cupriavidus necator*. O poli (3-hidroxibutirato) (P (3HB)) é um biopolímero, completamente biodegradável, que tem propriedades semelhantes aos polímeros à base de combustível. As maiores porcentagens de P(3HB) foram obtidas para os cultivos a 35 °C, sendo produtividade de P(3HB) (0,20 g/L.h) com a suplementação em óleo de soja. Para a temperatura de 30°C, com a suplementação do óleo e os resultados foram uma produtividade de 0,13 g/L.h. Assim, o cultivo realizado à temperatura de crescimento de 35 °C apresentou vantagens no crescimento e produção de P(3HB) por *Cupriavidus necator* quando comparado ao realizado à temperatura de 30 °C. Os resultados da utilização de amido hidrolisado de arroz mostraram viáveis para a produção de P(3HB) e suplementação com óleo de soja, mesmo em pequenas quantidade, levou a um aumento na produção de P(3HB).

2.6 Produção de biomassa de *S. boulardii* utilizando diferentes resíduos agroindustriais

Alguns trabalhos descritos na literatura utilizaram resíduos agroindustriais para a produção de *S. boulardii*.

KITAMURA (2013) analisou a influência da concentração de melaço de cana no rendimento da produção de biomassa *S. boulardii* de duas cepas (SbM, presente no medicamento Floratil e Sb4308) para assim, selecioná-las e serem utilizadas nos estudos de bioacúmulo de Selênio. A otimização do meio de cultivo utilizando o melaço de cana foi realizada utilizando três planejamentos experimentais: Plackett & Burman, Fatorial fracionado $2^{(5-2)}$ e Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) 2^3 . A autora estudou a influência dos componentes do meio de cultivo utilizando o planejamento experimental do tipo Plackett e Burman com 16 ensaios mais 3 pontos centrais, totalizando 19 ensaios, utilizando apenas a cepa Sb4308. O próximo delineamento foi o Fatorial Incompleto $2^{(5-2)}$, utilizando 8 tratamentos diferentes e 3 pontos centrais, totalizando 11 ensaios para cada, utilizou-se as duas cepas. E por fim, o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) 2^3 totalizando 17 ensaios. Nele foram utilizados pontos fatoriais (+1 e -1), pontos axiais (+1,68 e -1,68) e pontos centrais (0). Em todos os planejamentos, foram analisadas três variáveis, a glicose, o melaço de cana e o extrato de levedura.

Os resultados obtidos na primeira etapa do trabalho, determinaram as concentrações ótimas de três componentes para a cepa SbM, utilizando o planejamento DCCR, glicose (40 g/L), melaço de cana (50 g/L) e extrato de levedura (12 g/L); já para a cepa Sb4308, a região do ótimo não foi identificada, encontrando-se somente a concentração ótima de extrato de levedura: 12 g/L. Assim, a otimização do meio de cultivo utilizando a cepa Sb4308 não foi finalizada, precisando de mais experimentos com concentrações maiores de fonte de carbono.

Assim, continuou-se a usar o planejamento do tipo DCCR para todos os experimentos para a cepa Sb4308, e foram testadas concentrações desde 55 g/L até 400 g/L de melaço de cana e os resultados de biomassa (g/L). Nessa etapa, a fonte de carbono glicose foi retirada e observou se uma maior concentração da fonte de carbono melaço de cana-de-açúcar (resíduo agroindustrial), já supriria a ausência de glicose. Os resultados estão na Tabela 2.

Tabela 2: Resultados obtidos através do aumento da concentração de melaço para produção de *S. boulardii*, utilizando o planejamento DCCR.

ENSAIO	MELAÇO DE CANA (g/L)	BIOMASSA (g/L)
01	55	5,87 ± 0,14
02	70	6,75 ± 0,12
03	100	8,20 ± 0,09
04	125	9,40 ± 0,01
05	150	10,14 ± 0,02
06	200	11,65 ± 0,71
07	250	13,30 ± 0,68
08	300	11,75 ± 0,52
09	350	13,93 ± 0,75
10	400	12,70 ± 0,46
11	450	11,54 ± 0,27

NOTA: TODOS OS ENSAIOS TAMBÉM CONTINHAM EXTRATO DE LEVEDURA 12g/L

Fonte: (KITAMURA, 2013).

Analisando a influência do aumento da concentração de melaço, os resultados mostraram que a melhor concentração de melaço de cana-de-açúcar para produção de biomassa foi 250 g/L, a partir desta concentração não houve aumento de biomassa significativo. Assim, seria necessário um estudo de rendimento dessas condições para selecionar o melhor meio de cultivo. O cálculo do rendimento leva em conta as concentrações iniciais e finais da fonte de carbono e da biomassa, conforme a Equação 1.

$$Rendimento(\%) = \frac{Biomassa\ final - Biomassa\ inicial}{Açúcares\ totais\ finais - Açúcares\ totais\ iniciais} \times 100 \quad (Eq. 1)$$

Uma análise de rendimento do processo de produção de biomassa de *S. boulardii* Sb4308 e determinação de açúcares totais pelo planejamento DCCR, foi realizada com melaço de cana-de-açúcar em três concentrações distintas, 100, 150 e 200 g/L, e extrato de levedura 12 g/L. Os resultados obtidos estão na Tabela 3.

Tabela 3: Resultado da Análise de rendimento da cepa Sb4308, obtidos nos planejamentos experimentais do tipo DCCR.

ENSAIO	BIOMASSA (g/L)	AÇÚCAR TOTAL (g/L)	RENDIMENTO (%)
01Ti	0,99	44,57	18,80
01Tf	8,41	5,07	
02Ti	1,14	63,41	17,48
02Tf	11,03	6,80	
03Ti	1,29	78,71	15,28
03Tf	12,03	8,38	

LEGENDA: Ensaio 01 = Melaço 100g/L; Ensaio 02 = Melaço 150g/L; Ensaio 03 = Melaço 200g/L; Ti = Tempo inicial E Tf = Tempo final.

Fonte: (KITAMURA, 2013)

Com os resultados dos rendimentos de produção, verificou-se que o ensaio 1 teve um rendimento maior, porém uma quantidade de Biomassa baixa, o Ensaio 2 e 3 tiveram valores próximos de Biomassa, porém o ensaio 2 teve um maior rendimento (17,48%), conforme Tabela 3. Assim, concluiu que o ensaio 02, contendo melaço de cana-de-açúcar 150 g/L e extrato de levedura 12 g/L, teve a melhor produção de biomassa (g/L). Assim, a autora otimizou o meio de cultura para a cepa Sb4308, composto por melaço de cana-de-açúcar (150 g/L) e extrato de levedura (12 g/L).

O experimento continuou para saber qual cepa (SbM e Sb4308) teria maior produção de biomassa. E os resultados mostraram que a cepa Sb4308 teve uma produção de biomassa de 11,03 g/L que a cepa SbM (9,66 g/L).

TRIGUEROS (2016) realizou experimentos para produção de biomassa da *S.boulardii*, utilizando permeado de soro de leite. Para isso, foram realizados três ensaios para comparar a produção da *S.boulardii* em um sistema anaeróbico a 30°C, 100 rpm durante 30 h de fermentação. No primeiro ensaio utilizou-se 150 g/L do permeado de soro de leite contendo 90% de lactose denominado de meio I. O segundo ensaio utilizou o meio de cultivo II, composto por permeado de soro de leite suplementado com sais: 3 g/L(NH₄)₂SO₄, 1,2 g/L MgSO₄.7H₂O e 3 g/L KH₂PO₄. O terceiro ensaio utilizou o meio

padrão (meioIII), contendo 63 g/L de glicose; 2 g/L de peptona de carne; 2 g/L de extrato de levedura; 0,36 g/L de ureia; 0,12 g/L (NH₄)₂SO₄; 2,4 g/L MgSO₄.7H₂O e 0,6 g/L KH₂PO₄. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 4.

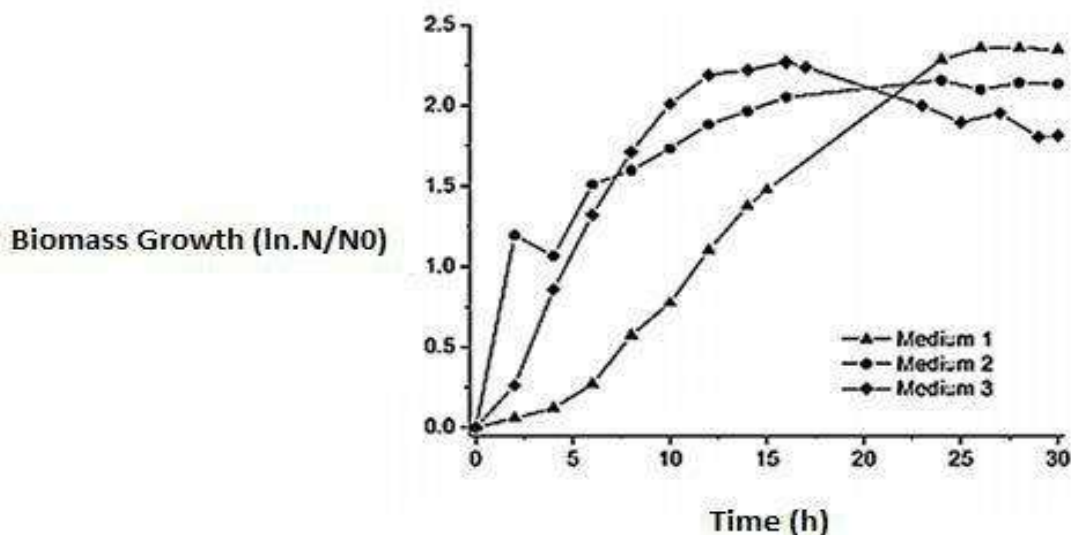


Figura 4: Resultado obtido da biomassa da *S. boulardii* em permeado de soro de leite puro (meio 1), permeado suplementado com sais (meio 2) e meio padrão (3). (TRIGUEROUS, 2016)

Os resultados encontrados pelos autores (Figura 04) mostraram evidências do potencial da utilização de permeado de soro de leite como uma fonte de carbono para produção de biomassa. O crescimento da levedura no soro de leite puro ou suplementado mostrou ser semelhante ao meio padrão (meio III). Este resultado aponta que a aproximação do crescimento de levedura no permeado do soro de leite com o meio padrão que continha glicose, apresenta potencial para a otimização do meio de cultivo para a produção de *S. boulardii* usando como substrato o permeado do soro de leite hidrolisado. Os resultados mostraram que o maior efeito sobre o crescimento celular foi atribuídas ao permeado do soro de leite.

Os resultados apresentados mostram que KITAMURA (2013) atingiu uma produção de biomassa de 11,03 g/L para a cepa *S. boulardii* 4308 em comparação com a cepa *S. boulardii* do medicamento Floratil da Merck (9,66 g/L). Como a produção de biomassa da Sb4308 foi maior, ela foi selecionada pela autora para a produção de biomassa enriquecida com Selênio. Assim, o objetivo do trabalho que era a otimização da produção de biomassa de levedura, utilizando um subproduto agroindustrial melaço de cana foi atingido. TRIGUEROUS (2016) observou que a produção de biomassa no meio que utilizava o permeado do soro de leite foi maior que o meio padrão que continha apenas glicose, atingindo um valor de biomassa de 2,15 g/L.

Assim, todos os dois trabalhos mostraram-se viáveis para a utilização de resíduos agroindustriais como substratos nos processos fermentativos para a produção de *S.boulardii*.

A maioria dos trabalhos publicados na literatura sobre a *Saccharomyces boulardii* é referente à sua atuação como probióticos. Da busca encontramos apenas 2 trabalhos publicados sobre a produção da *S.boulardii*, isto dificultou uma análise comparativa com diferentes trabalhos que usassem os resíduos agroindustriais para a produção de biomassa da levedura.

Alguns trabalhos como de MULLER (2006) analisaram a cinética de crescimento de *S. boulardii* em biorreator Air-lift, com aeração de 1,0 e 1,5 vvm (volume de ar por volume de meio, por minuto), comparada com o crescimento em frascos agitados em shaker. Utilizaram meio de cultivo contendo glicose, peptona de carne, extrato de levedura, KH_2PO_4 , ureia, sulfato de amônia e sulfato de magnésio, e incubação a 30°C sob agitação de 200 min^{-1} (shaker) por 12 horas. Os valores de massa celular (g/L) foram próximas para as três condições, sendo: 3,15; 3,97 e 3,91, para os reatores Air-lift 1,0 vvm, Air-lift 1,5 vvm e Shaker, respectivamente.

O trabalho de HU *et al* (2016) centrou na otimização das condições nutricionais para a produção de *S.boulardii* em fermentação de estado sólido, utilizando métodos clássicos e estatísticos. Em experimentos de um único fator, a produção de *S. boulardii* foi significativamente aumentada pela adição de glicoamilase, e as fontes de carbono e nitrogênio. A glicoamilase é uma enzima que cliva ligações de amido até a obtenção de monômeros de glicose, deixando a glicose mais acessível no meio. Os valores encontrados da contagem de células foram $4,50 \times 10^9$ UFC/g, o que está próximo ao valor proposto pelo modelo, que é $4,41 \times 10^9$ UFC/g.

3 CONCLUSÃO

Os trabalhos apresentados apresentaram uma produção de biomassa de *S.boulardii* significativa utilizando meios alternativos comparados com o meio padrão. Desta forma a utilização de resíduos agroindustriais como, melaço de cana e permeado de soro de leite, é promissora, podendo ser utilizados como substrato para a produção dessa levedura e de outros micro-organismos.

Os resíduos agroindustriais são fontes potenciais para serem utilizados em processos biotecnológicos, a utilização destes resíduos é uma alternativa importante para a sua reciclagem, contribuindo para resolver os problemas ambientais decorrentes do seu acúmulo na natureza.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALARCÓN, P.; GONZÁLEZ, M.; CASTRO, E. **The role of gut microbiota in the regulation of the immune response.** Revista médica de Chile, v 144, 2016

ANVISA. **Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos / Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos.** Atualizado 2001.

ANVISA. **Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos / Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos.** Atualizado 2007.

ANWAR, Z. *et al.* **Agro-industrial lignocellulosic biomass a key to unlock the future bio-energy: A brief review.** Rev. Journal of Radiation Research and Applied Sciences. V.7, p. 163-173, 2014

ASSUNÇÃO, G.M. **Cultivo de biomassa de leveduras utilizando permeado de soro de queijo.**107f. Dissertação(Mestrado em engenharia Química)- Centro de Engenharia e Ciencias Exatas, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 2014

ATICIA, S.; SOYSAL, A.; CERIT, K. K.; YILMAZ, S.;AKSU, B.;KIYAN, G.;BAKIR, M. **Catheter-related *Saccharomyces cerevisiae* Fungemia Following *Saccharomyces boulardii* Probiotic Treatment: In a child in intensive care unit and review of the literature.** Rev. Medical Mycology Case Reports. v.15, p. 33-35, 2017

BAFUTTO, M.; ALMEIDA, J.R.; LEITE, N.V.; COSTA, M.B.G.; OLIVEIRA, E.C.;RESENDE-FILHO, J. **Treatment of diarrhea-predominant Irritable bowel syndrome with mesalazine and/or *saccharomyces boulardii*.** Rev. Gastroenterol. v.50, n.4, 2013

BARBOSA, F.H.F ; DE LIMA BARBOSA,L.P.J; BAMBIRRA, L.H.S ; ABURJAILE, F.F . **“Probióticos micro-organismos a favor da vida.”** Rev. Biologia e ciências da terra, v.11,n.1, 2011.

BASTOS, C.S. **Utilização de resíduos da produção de biodiesel como base de meio de cultura para leveduras de interesse comercial.** 92f. Dissertação(Mestrado em Biotecnologia)- Instituto de Ciências Exatas e Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2011.

BRANDÃO,L.V. et al. Utilização do soro de mandioca como substrato fermentativo para a biossíntese de goma xantana: Viscosidade aparente e produção. **Polímeros**, v.20,n.3,p.175-180, 2010.

BUTS, J.P. **Ejemplo de un medicamento probióticos: *Saccharomyces boulardii* liofilizada.** Revista de gastroenterologia. v.25. 2005

CALDAS, S. et al. Mandioca e Resíduos das Farinheiras na Alimentação de Ruminantes: Digestibilidade Total e Parcial, 2010

CARVALHO,R,V.,CORRÊA,T,L,R.,SILVA,C,M.,VIANA,A,P.,MARTINS,M,L,L.
Otimização das condições de cultivo para a produção de amilases pelo termofílico *Bacillus* sp. e hidrólise de amidos pela ação da enzima. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Goytacazes, 2008.

CAZETTA, M.L; COLABONE CELLIGOI, M.A.P. **Aproveitamento do melaço e vinhaça de cana-de-açúcar como substrato para produção de biomassa protéica e lipídica por leveduras e bactérias.** Ciências exatas e tecnológicas, Londrina, V.26, n.2, p.105-112, 2005

COGHETTO, C.C.; VASCONCELOS, C.B.; BRINQUESB, G.B.; AYUBA, M.A.Z.
***Lactobacillus plantarum* BL011 cultivation in industrial isolated soybean protein acid residue.** Brazilian Journal of Microbiology, v.47, p.941-948, 2016.

CONAB. Companhia Nacional de abastecimento. **Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar, terceiro levantamento, dezembro/2016**. Brasília

Contagem de células. Disponível em:
<http://www.ufrgs.br/labvir/material/contagem_celulas.pdf> Acesso em: 17/4/2017

COPPOLA, M.M; TURNES, C.G. **“Probióticos e resposta imune”**. Rev. Ciência Rural, v.34, n.4, p.1297-1303, 2004

CORRADINI et al. **Estudo comparativo de amidos termoplásticos derivados do milho com diferentes teores de amilose**. Polímeros, v. 15, n. 4, 2005

COSTA SILVA, B.Y.; MARTINS, T.F. “Alimentos prebióticos e probióticos na manutenção da saúde humana. Qual a abrangência?”. Rev. Atenção à Saúde, v. 13, n. 44, p. 71-79, 2015.

CRAVO, J.C.M.; SARTORI, D.L.; NAKANISHI, E.Y.; FIORELLI, J.; BALIEIRO, J.C.; SANTOS, W.N. **Ecological lining of agro industrial waste for poultry houses**. Rev. Cienc. Rural, v.44, n.8, 2014

DALCANTON, F.; IENCZAK, J.L.; FIORESE, M.L.; ARAGÃO, G.M.F. **PRODUÇÃO DE POLI(3-HIDROXIBUTIRATO) POR *Cupriavidus necator* EM MEIO HIDROLISADO DE AMIDO DE ARROZ COM SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE SOJA EM DIFERENTES TEMPERATURAS**. Rev. Quim. Nova, v.33, n. 3, p.552-556, 2010

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Disponível em:
< <https://www.embrapa.br> >

FELTRIN, V.P.; Sant'Anna, E.S.; PORTO, A.C.S.; TORRES, R. C. O. **Produção de *Lactobacillus plantarum* em melaço de cana-de-açúcar**. Rev. Braz. arch. biol. Technol, v 43, n1, 2000.

FERNANDES, A.F. **Utilização da farinha de casca de batata na elaboração de pão integral**. 127 f. Dissertação (Mestrado em ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

GARCIA, E. L. **Composição dos tubérculos, extração e caracterização de amidos de diferentes cultivares de batata**. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Energia na Agricultura) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Agrônômicas Câmpus de Botucatu, Botucatu, 2013.

GASSARA, F. *et al.* Screening of agro-industrial wastes to produce ligninolytic enzymes by *Phanerochaete chrysosporium*. Rev. Biochemical Engineering Journal. V.49, p.388-394, 2010

GUIMARÃES, P.M.R.; TEIXEIRA, J.A.; DOMINGUES, L. **Fermentation of lactose to bio-ethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorisation of cheese whey**. Biotechnology Advances. V. 28, p.375-384, 2010

HEMAISWARYA, S.; RAJA, R.; RAVIKUMAR,R.; CARVALHO,I.S. **Mechanism of action of probiotics**. v.56, p.113-119, 2013

HOEHLER, T.M.; JORGENSEN, B.B. **Microbial life under extreme energy limitation**. Rev. nature microbiology. v.11, p.83-94, 2013.

HU, Y. *et al.* **Optimization of *Saccharomyces boulardii* production in solid-state fermentation with response surface methodology**. Biotechnology & Biotechnological Equipment. v.30, p. 173-179, 2016

KICH, D. M.; VINCENZI, A.; MAJOLO, F.; Souza, C.F.V.; GOETTERT, M.I. **Probiotic: effectiveness nutrition in cancer treatment and prevention**. Nutrición Hospitalaria. v.33, p 1430-1437, 2016.

KITAMURA, D.H. **Produção de biomassa Probiótica e enriquecida com selênio de *Saccharomyces boulardii* utilizando Melaço de cana-de-açúcar.** 137 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia) - Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

LI, H. *et al.* **Sustainable resource opportunity for cane molasses: use of cane molasses as a grinding aid in the production of Portland cement.** Rev. Journal of Cleaner Production. V. 93, p.56-64, 2015.

LOPES, T.R.; PINTO, M.A.O. **Aplicação terapêutica de *Saccharomyces boulardii* em diarreias: uma revisão.** Rev. De Juiz de Fora, v.36, n.2, p.107-122, 2010.

MALTONE, J.N. **Diversidade e potencial biotecnológico de leveduras e fungos semelhantes a levedura isolados de folhas de figueira do parque de Itapuã, RS, Brasil.** Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) – PUCRS, Porto Alegre, RS, 2008.

MENEZES, C.R.; SILVA, I.S.; DURRANT, L.R. **Sugarcane bagasse: source for the production of ligninocellulolytic enzymes.** v.5, n.1, p.68-78, 2009.

MIGOWSKI, E.; PUGLIESE, B.S. **Gastrenterite aguda: por que dose maior de *Saccharomyces boulardii* na fase aguda.** Rev. Bras. de Clinica Médica, v.7, n.4, p.267-271, 2009.

MOOD, S. H *et al.* **Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on pretreatment.** Rev. Renewable and Sustainable Energy Reviews. v.27, p.77-93, 2013.

MORAES-FILHO, J.P. ; QUIGLEY, E.M.M. **The intestinal microbiota and the role of probiotics in irritable bowel syndrome: a review.** Arquivos Gastroenterol. v.52, 2015

MORÉ. M; SWIDSINSKI, A. ***Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 supports regeneration of the intestinal microbiota after diarrheic dysbiosis-a review.** Clinical and Experimental Gastroenterology, V. 8, p.237-255, 2015

MULLER, J.L. **Cultivo de *Saccharomyces boulardii* em biorreator Air-Lift e em frascos agitados mecanicamente.** 92 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Do Vale do Itajaí, Itajaí, 2006.

NAGASHIMA. A.I.; Pansiera, P.E.; BARACAT, M.M.; GÓMEZ, R.J.H.C. **Development of efervescente products, in poder and tablete form, supplemented with probiotics *Lactobacillus acidophilus* and *Saccharomyces boulardii*.** Food Sci. Technol, Campinas, V.33, n.4, 2013

NETO, D.C. **Otimização da produção de etanol por *Zymonas mobilis* na fermentação do melaço de cana-de-açúcar.** Ciências exatas e Tecnológica, Londrina, V.26, n.1, p.17-22, 2005

NUNES, R.M.; GUARDA, E.A.; SERRA, J.C.V.; MARTINS, A.A. **Resíduos agroindustriais potencial de produção do etanol de segunda geração no Brasil.** Rev. Liberato, v.14, n.22, p. 135-150, 2014

OHSHIMA, T.; KOJIMA, Y.; SENEVIRATNE, C. J.; MAEDA, N. **Therapeutic application of synbiotics, a fusion of probiotics and prebiotics, and biogenics as a new concept for oral candida infections: A mini review.** *Frontiers in microbiology*, v. 7, p. 10, 2016.

OKEKE, B.C.; FRANKENBERGER, W.I.Jr. **Use of starch and potato peel waste for perchlorate bioreduction in water.** v. 347, p.35–45, 2005

PRAZERES, A.R.; CARVALHOA, F.; RIVASB, J. **Cheese whey management: A review.** Journal of Environmental Management. V. 110, P.48-68, 2012

RAUD, C. **Os alimentos funcionais.** Rev. de sociologia e política, v. 16, n. 31, p. 85, 2008.

REMÓN, J. *et al.*, **Cheese whey management by catalytic steam reforming and aqueous phase reforming**. Rev. Fuel Processing Technology. v.154, p.66-81, 2016.

RETORI, D; VOLPE, P.L.O. **Microcalorimetria: Uma Técnica aplicável ao estudo do Diauxismo da *Saccharomyces Cerevisiae***. Química Nova, 2000

RONDON, L.; ZAVALA, R.M.A.; HIDALGO,A.S.; Barrios, R.T.M.; RODRIGUEZ, M.T.H. **Probiotics: general aspects**. Archivos Venezolanos de Puericultura Y Pediatría. v.78, 2015

SAAD, S.M.I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. v.42, n.1, 2006.

SANT'ANA, G. S. **Resposta ao estresse ácido em *Saccharomyces cerevisiae* e efeito protetor do íon sódio na morte celular induzida por ácido**, 2009.

SANTOS, F.; BARBOSA, F.H.F; NICOLI, J.R. **O probiótico *Saccharomyces boulardii***.
v. 2, n. 2, p.1519-5228, 2009.

SHARMA, M. et al. **A novel approach of integrated bioprocessing of cane molasses for production of prebiotic and functional bioproducts**. Rev. Bioresource Technology. v. 219, p.311-318, 2016

SILVA, C.E.V. **Produção Enzimática de Frutooligossacarídeos (FOS) por leveduras a partir de melaço de cana-de-açúcar**. Dissertação (Mestrado em Ciências), Piracicaba, 2008.

SPIER, F. **Effect of alkali, acid and oxidative treatments on the properties of corn starch**. 2010. 72 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2010.

TRIGUEROS, D.E.G. **Medium optimization and kinetics modeling for the fermentation of hydrolyzed cheese whey permeate as a substrate for *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii***. *Rev.Biochemical Engineering Journal*. v.110, p.71-83, 2016

ZHANG, B.; MEI, JI-QIANG; CHEN BO; CHEN, H.Q. Digestibility, physicochemical and structural properties of octenyl succinic anhydride-modified cassava starches with different degree of substitution. *Food Chemistry*. v. 229, p. 136-141, 2017

WOSIACKI, G.; CEREDA, P.M. **Valorização de resíduos do processamento de mandioca**. V.8,N.01., 2002.