

# REVISTA DESAFIOS

ISSN: 2359-3652

V. 11, n. 7, Outubro/2024. Dossiê Especial: Agroenergia Digital  
[https://doi.org/10.20873/Agroenergia\\_2024\\_v11\\_n7\\_17](https://doi.org/10.20873/Agroenergia_2024_v11_n7_17)

## PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL DE ETANOL: AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA NO AMIDO DE MANDIOCA

*SUSTAINABLE ETHANOL PRODUCTION: EVALUATION OF ENZYMATIC HYDROLYSIS EFFICIENCY IN CASSAVA STARCH*

*PRODUCCIÓN SOSTENIBLE DE ETANOL: EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE LA HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA EN EL ALMIDÓN DE YUCA*

### Layane Araújo Dias Vítor

Mestre em Agroenergia pela Universidade Federal do Tocantins – UFT. Bolsista do Projeto TO Graduado da Universidade Estadual do Tocantins - UNITINS.

E-mail: [layane.ad@unitins.br](mailto:layane.ad@unitins.br). ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3606-9451>

### Guilherme Benko de Siqueira

Docente do Programa de Pós-graduação em Agroenergia Digital, Universidade Federal do Tocantins - UFT, Palmas - TO, Brasil. E-mail: [guibenko@uft.edu.br](mailto:guibenko@uft.edu.br). ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0572-2788>

### Erich Collicchio:

Professor Associado III do curso de Engenharia Ambiental e do Programa de Pós-graduação em Agroenergia Digital, Universidade Federal do Tocantins - UFT, Palmas, TO, Brasil.

E-mail: [ecollicchio@uft.edu.br](mailto:ecollicchio@uft.edu.br). ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3452-6249>

### Gustavo Azevedo Campos

Pesquisador da Embrapa Pesca, Aquicultura e Sistemas Agrícolas. Palmas – TO, Brasil.

E-mail: [gustavo.campos@embrapa.br](mailto:gustavo.campos@embrapa.br). ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9070-1497>

### Domingos Bomfim Ribeiro dos Santos

Mestre em Agroenergia e Técnico Laboratório LASOR, Universidade Federal do Tocantins – UFT, Palmas – TO, Brasil. E-mail: [migos@mail.uft.edu.br](mailto:migos@mail.uft.edu.br). ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4471-6890>

Artigo recebido em janeiro de 2024 aceito em setembro de 2024 publicado em outubro de 2024

### Como citar este artigo:

VÍTOR, L. A. D.; SIQUEIRA, G. B. de; COLLICCHIO, E.; SANTOS, D. B. R. dos. Produção sustentável de etanol; avaliação da eficiência da hidrólise enzimática no amido de mandioca. **Desafios. Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins**. Palmas, v. 11, n. 7, p. 1 - 23, out. 2024. DOI: [https://doi.org/10.20873/Agroenergia\\_2024\\_v11\\_n7\\_17](https://doi.org/10.20873/Agroenergia_2024_v11_n7_17)

---

## RESUMO

A crescente demanda por energia tem impulsionado o desenvolvimento de tecnologias mais eficientes e fontes renováveis. A mandioca destaca-se como alternativa para produção de etanol devido às suas vantagens agrônômicas e características de processamento. Este estudo avaliou o efeito de diferentes tempos de hidrólise enzimática do amido em cultivares de mandioca, utilizando delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 3, com quatro cultivares (BRS Caipira, BRS Formosa, Mucuruna e BRS Tapioqueira) e três tempos de hidrólise, com quatro repetições. As amostras foram submetidas à hidrólise enzimática com  $\alpha$ -amilase e amiloglicosidase, avaliando-se coeficiente de hidrólise, concentração de glicose, rendimento fermentativo e potencial de produção de etanol. A BRS Tapioqueira apresentou maior potencial de produção (329,11 ml/kg MS), enquanto a Mucuruna demonstrou os menores rendimentos. Os rendimentos fermentativos variaram entre 48,76% e 79,43%. Os resultados evidenciam a importância de otimizar o processo de hidrólise conforme características específicas de cada cultivar para maior eficiência na produção de biocombustíveis.

**PALAVRAS-CHAVE:** Biocombustível; fermentação; sacarificação; amilase; hidrólise do amido.

## ABSTRACT

*The growing energy demand has driven the development of more efficient technologies and renewable sources. Cassava stands out as an alternative for ethanol production due to its agronomic advantages and processing characteristics. This study evaluated the effect of different enzymatic hydrolysis times of starch in cassava cultivars, using a completely randomized design in a 4 x 3 factorial scheme, with four cultivars (BRS Caipira, BRS Formosa, Mucuruna, and BRS Tapioqueira) and three hydrolysis times, with four replications. The samples were subjected to enzymatic hydrolysis with  $\alpha$ -amylase and amyloglucosidase, evaluating hydrolysis coefficient, glucose concentration, fermentative yield, and ethanol production potential. BRS Tapioqueira showed the highest production potential (329.11 ml/kg DM), while Mucuruna showed the lowest yields. Fermentative yields ranged from 48.76% to 79.43%. The results highlight the importance of optimizing the hydrolysis process according to specific characteristics of each cultivar for greater efficiency in biofuel production.*

**Keywords:** Biofuel; fermentation; saccharification; amylase; starch hydrolysis.

## RESUMEN

*La creciente demanda de energía ha impulsado el desarrollo de tecnologías más eficientes y fuentes renovables. La yuca se destaca como alternativa para la producción de etanol debido a sus ventajas agronómicas y características de procesamiento. Este estudio evaluó el efecto de diferentes tiempos de hidrólisis enzimática del almidón en cultivares de yuca, utilizando un diseño completamente al azar en esquema factorial 4 x 3, con cuatro cultivares (BRS Caipira, BRS Formosa, Mucuruna y BRS Tapioqueira) y tres tiempos de hidrólisis, con cuatro repeticiones. Las muestras fueron sometidas a hidrólisis enzimática con  $\alpha$ -amilasa y amiloglicosidasa, evaluando coeficiente de hidrólisis, concentración de glucosa, rendimiento fermentativo y potencial de producción de etanol. BRS Tapioqueira mostró el mayor potencial de producción (329,11 ml/kg MS), mientras que Mucuruna presentó los menores rendimientos. Los rendimientos fermentativos variaron entre 48,76% y 79,43%. Los resultados evidencian la importancia de optimizar el proceso de hidrólisis según características específicas de cada cultivar para mayor eficiencia en la producción de biocombustibles.*

**Palabras clave:** Biocombustible; fermentación; sacarificación; amilasa; hidrólisis del almidón.

## INTRODUÇÃO

O aumento da demanda por energia tem incentivado o desenvolvimento de tecnologias mais eficientes e a diversificação de fontes de energia, com foco especial em alternativas renováveis, como a solar e a eólica, que lideram o crescimento global. Em 2023, foram adicionados mais de 500 GW de capacidade de energia renovável no mundo, um marco relevante na transição para uma matriz energética mais sustentável (IEA, 2023).

Neste contexto, as biomassas emergem como uma fonte importante para a redução de emissões de Gases de Efeito Estufa (GEE), promovendo o equilíbrio entre desenvolvimento econômico e sustentabilidade ambiental. Os biocombustíveis, como biodiesel e etanol, são cada vez mais consolidados no setor energético devido à sua renovabilidade, biodegradabilidade e rápida produção (IEA, 2023). Hasan et al. (2023) destacaram a relevância dos biocombustíveis de segunda geração, obtidos de resíduos agrícolas, por seu ciclo fechado de carbono, no qual o CO<sub>2</sub> emitido é reabsorvido pelas plantas durante seu crescimento. Essa característica, aliada ao baixo custo e viabilidade econômica, posiciona esses combustíveis como alternativas atrativas aos fósseis tradicionais no cenário energético mundial.

Na busca por reduzir a dependência de combustíveis fósseis, o etanol derivado de fontes amiláceas, como a mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), ganha destaque. Essa planta é uma opção agroenergética interessante, especialmente em regiões onde outras culturas são limitadas. Adaptável a solos de baixa fertilidade e condições climáticas secas, a mandioca necessita de poucos insumos agrícolas, facilitando seu cultivo (TANRUEAN et al., 2021; HAN, CHEN e WANG, 2022). Estudos indicam que o teor de amido da mandioca, influenciado pela estação de plantio e pelo genótipo, varia ao longo do ano, o que impacta diretamente na eficiência da produção de etanol (JANKET et al., 2018; JANKET et al., 2020).

Além disso, o amido de mandioca possui propriedades industriais vantajosas, como a baixa temperatura de gelatinização e alta solubilidade da amilose, alcançando eficiência de conversão superior a 90% em processos industriais. Em comparação com outros amidos, como o de milho e batata, o amido de mandioca mostra-se competitivo, não apenas pela eficiência, mas também pelo impacto ambiental positivo. Sua produção de etanol apresenta uma relação de energia líquida favorável, de 1,70, indicando maior geração de energia ao longo do seu ciclo de vida (BIE et al., 2016; GUIMARÃES et al., 2017; DO; VU, 2024).

A mandioca se destaca ainda pela resiliência ao estresse hídrico, uma característica fundamental para a produção contínua de amido em condições adversas (PRATIWI; WAHYUNI; NUGRAHAENI, 2022). No entanto, o Brasil, que já foi líder na produção mundial de mandioca, caiu para a quinta posição devido à diminuição das áreas plantadas e à competição com culturas mais lucrativas, como a soja e o milho (GROXKO; PEREIRA, 2021). Esse cenário apresenta novas perspectivas para pequenos empreendedores, contribuindo para o desenvolvimento socioeconômico de comunidades agrícolas familiares.

Por fim, o processo de hidrólise enzimática do amido de mandioca é uma etapa crítica para a produção de etanol. Contudo, o custo elevado das enzimas e o tempo necessário para a conversão limitam a eficiência da biomassa para bioetanol (LIU, 2021; ZENG, 2023).

Assim, este estudo teve como objetivo avaliar diferentes tempos de hidrólise enzimática em cultivares de mandioca, buscando otimizar o processo de produção de etanol e identificar as cultivares com maior potencial de produção de etanol.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Coleta e preparo das amostras de mandioca**

O estudo foi desenvolvido utilizando raízes de mandioca provenientes da rede de multiplicação e transferência de manivas-semente de mandioca (RENIVA) da Embrapa, cultivadas no campo experimental do Parque Agrotecnológico em Palmas-TO. Foram selecionadas quatro cultivares industriais: BRS Caipira, BRS Formosa, Mucuruna e BRS Tapioqueira, das quais coletou-se 5 kg de raízes de cada variedade.

O processamento inicial das amostras consistiu em lavagem e descascamento das raízes, seguido de moagem grossa. O material foi então submetido à secagem em estufa com circulação forçada de ar a 55°C por 72 horas. Após resfriamento até equilíbrio com a temperatura ambiente, realizou-se a pesagem final e moagem em moinho tipo Willey (peneira de 0,5 mm Mesh). As amostras processadas foram acondicionadas em embalagens plásticas e identificadas para análises posteriores.

### **Determinação do Teor de Matéria Seca e Amido**

A determinação do teor de matéria seca foi realizada por dois métodos distintos e complementares, cada um com finalidade específica no processo. O teor de matéria seca real foi obtido através da pré-secagem em estufa a 55 °C por 72 horas,

seguida por nova secagem a 4 horas a 100 °C, calculado pela relação percentual entre peso final (Pf) e peso inicial (Pi) das amostras, conforme a fórmula:

$$MS (\%) = (Pf \times 100)/Pi.$$

Para a quantificação do teor de amido, adotou-se o método da balança hidrostática proposto por Grosmann; Freitas (1950), que utiliza um teor de matéria seca estimado por meio da equação:  $MS (\%) = 15,75 + 0,0564 \times P$ , onde P representa o peso de 3,0 kg de raízes submersas em água. O teor de amido é então calculado subtraindo-se 4,65 do valor de matéria seca estimado ( $Amido (\%) = MS (\%) - 4,65$ ). Esta metodologia, amplamente validada para mandioca, considera as particularidades da composição da raiz e sua densidade específica, fornecendo uma correlação confiável entre o peso submerso e o teor de amido presente no material.

A utilização complementar dos dois métodos permitiu maior acurácia no processo global: o valor real de matéria seca orientou a preparação precisa das amostras para hidrólise, enquanto o método da balança hidrostática forneceu a estimativa específica do teor de amido, fundamental para os cálculos de rendimento e eficiência do processo.

### **Processo de Hidrólise Enzimática**

O processo de hidrólise enzimática iniciou-se com a preparação de uma suspensão contendo 1 grama de farinha de mandioca em 40 ml de solução tampão (citrato de sódio/fosfato de sódio 0,40/0,58 M, pH 5,0).

A primeira etapa do processo enzimático consistiu na adição de  $\alpha$ -amilase (Liquozyme Supra 2.2x) na concentração de 30  $\mu$ l/g, mantendo-se a mistura em banho metabólico a 90°C por períodos de 2, 3 e 4 horas (T1, T2 e T3, respectivamente). Na sequência, após redução da temperatura para 60°C, procedeu-se à sacarificação com amiloglicosidase (AMG 300L) na concentração de 40  $\mu$ l/g, por períodos correspondentes de 3, 4, 5 e 6 horas.

### **Variáveis do Estudo**

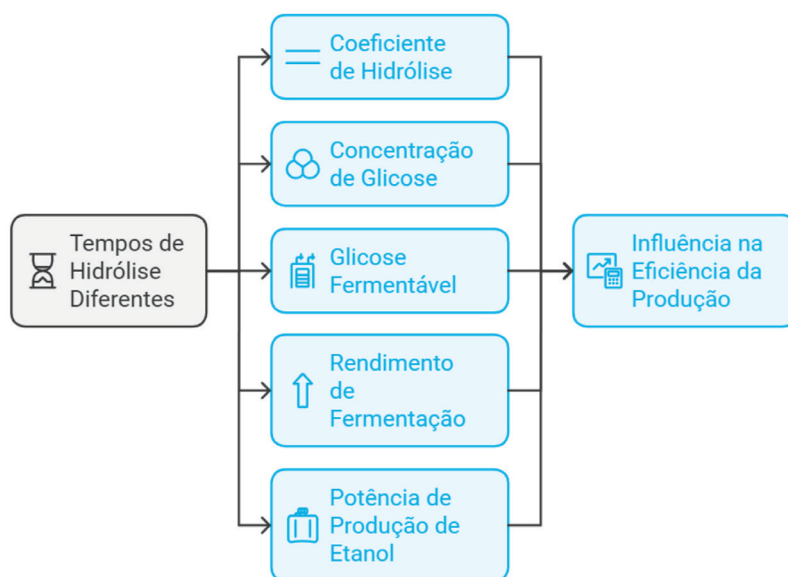
O estudo analisou cinco variáveis principais em diferentes tempos de hidrólise, todas com impacto direto na eficiência da produção (Figura 1):

- **Coeficiente de Hidrólise:** Determinado pela razão entre a quantidade de amido efetivamente hidrolisado e a quantidade inicial de amido, calculado através da diferença de massa do material no início e ao final do processo hidrolítico.

- **Concentração de Glicose:** Quantificada através da análise dos açúcares totais resultantes da hidrólise enzimática do amido. Esta concentração foi determinada pelo produto entre o coeficiente de hidrólise e a quantidade de amido processado.
- **Glicose Fermentável:** Representa a fração da glicose total que efetivamente foi utilizada do processo fermentativo, determinada através do monitoramento da produção de CO<sub>2</sub> durante a fermentação.
- **Rendimento de Fermentação:** Calculado pela relação entre a quantidade de etanol produzido e a quantidade teórica máxima possível, baseando-se na estequiometria da reação de Gay-Lussac. Foi utilizado o fator de conversão ajustado de 46,49 kg de etanol/100 kg de Açúcar Redutor Total (ART), conforme estabelecido por Finguerut et al. (1985), em substituição ao valor teórico de 51,1 kg de etanol/100 kg ART.
- **Potência de Produção de Etanol:** Determinada pela quantidade de etanol produzido, considerando o rendimento fermentativo obtido nas condições operacionais estabelecidas.

Estas variáveis foram analisadas em diferentes tempos de hidrólise para estabelecer as condições ótimas de processo, visando maximizar a eficiência global da produção de etanol.

**Figura 1** – Variáveis analisadas na avaliação do efeito de diferentes tempos de hidrólise enzimática na produção de etanol a partir do amido de mandioca.



Fonte: Próprio autor (2023)

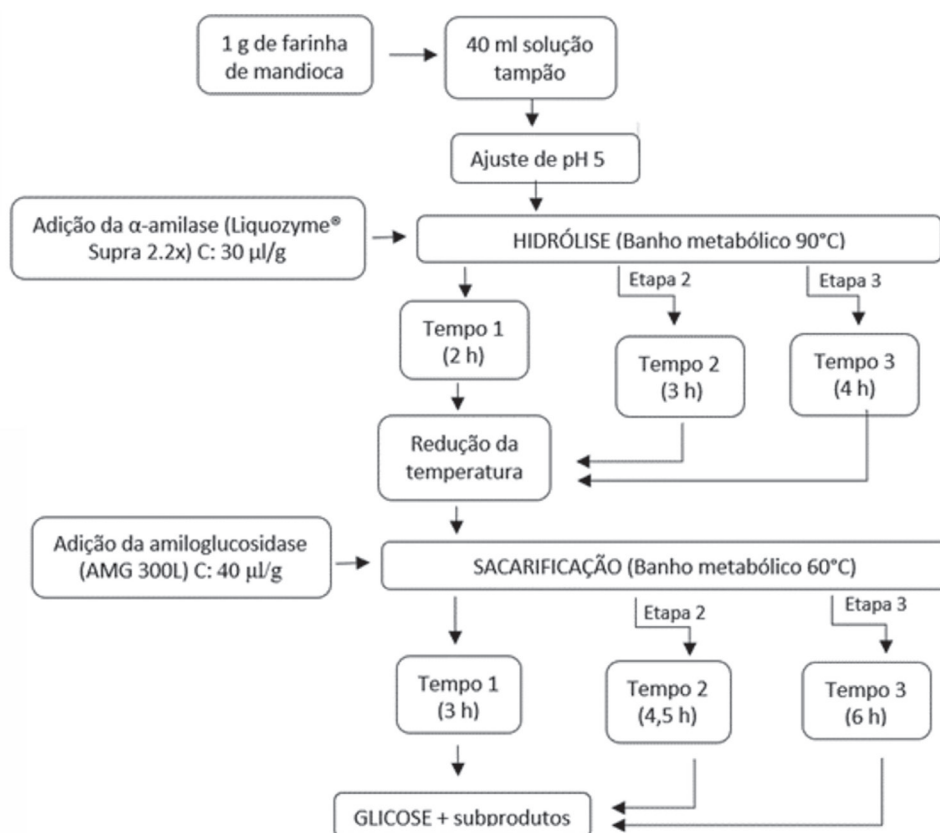
### Descrição do Fluxograma Experimental

O processo de hidrólise e sacarificação enzimática do amido de mandioca foi conduzido em duas etapas sequenciais, conforme ilustrado na Figura 2.

Na primeira etapa, preparou-se uma suspensão com 1 g de farinha de mandioca em 40 ml de solução tampão, ajustando-se o pH para 5,0. Em seguida, adicionou-se a enzima  $\alpha$ -amilase (Liquozyme® Supra 2.2X) na concentração de 30  $\mu$ l/g para realizar a hidrólise em banho metabólico a 90°C, avaliando-se três períodos distintos: T1 (2h), T2 (3h) e T3 (4h). Após cada período de hidrólise, a temperatura foi reduzida para 60°C, iniciando-se a segunda etapa do processo com a adição da enzima amiloglicosidase (AMG 300L) na concentração de 40  $\mu$ l/g.

A sacarificação também foi avaliada em três tempos correspondentes: T1 (3h), T2 (4,5h) e T3 (6h), resultando na produção de glicose e subprodutos ao final do processo. Este fluxograma experimental permitiu avaliar sistematicamente a influência do tempo nas diferentes etapas do processo de conversão do amido.

**Figura 2** - Fluxograma do processo de hidrólise e sacarificação enzimática do amido de mandioca.



Fonte: Próprio autor (2019)



## **Delineamento Experimental**

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 3, sendo quatro cultivares de mandioca e três combinações de tempos de hidrólise, com quatro repetições por tratamento. Este ensaio foi conduzido no Laboratório de Solos e Aproveitamento de Resíduos Agroindustriais da Universidade Federal do Tocantins (LASOR) – UFT / Palmas - TO.

## **Análises Estatísticas**

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e normalizados quando necessário. A análise de variância foi realizada pelo teste F a 5% de significância. As médias dos tratamentos e seus desdobramentos foram comparadas pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas no programa R v. 3.5.1 (R CORE TEAM, 2022).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A análise dos resultados contempla cinco parâmetros principais: coeficiente de hidrólise, concentração de glicose no hidrolisado, glicose fermentada, rendimento fermentativo e potencial de produção de etanol. Para todas estas variáveis, observaram-se interações significativas ( $P < 0,05$ ) entre as cultivares avaliadas e os diferentes tempos de hidrólise (T1, T2 e T3).

## **PROCESSO DE HIDRÓLISE**

### **Coeficiente de Hidrólise**

O coeficiente de hidrólise enzimática do amido de mandioca é influenciado pela concentração enzimática e temperatura, fatores que desempenham papéis cruciais na otimização do rendimento de glicose. A concentração enzimática determina a velocidade inicial da hidrólise, enquanto a temperatura influencia a atividade e a estabilidade da enzima. A interação entre esses fatores determina a eficiência da conversão do amido em glicose (ANSHARULLAH; NATSIR, 2020).

Os tempos de hidrólise exerceram efeito significativo ( $P < 0,05$ ) sobre o coeficiente de hidrólise do amido, com respostas distintas entre as cultivares avaliadas (Tabela 1). As cultivares BRS Formosa e BRS Tapioqueira não apresentaram diferenças significativas nos coeficientes de hidrólise entre os tempos avaliados. Em contraste, BRS Caipira e Mucuruna mostraram comportamentos distintos: o tempo T3 foi mais eficiente para BRS Caipira, enquanto T1 apresentou melhores resultados para Mucuruna.



A análise dos coeficientes de hidrólise no tempo T1 demonstrou ausência de diferenças significativas ( $P>0,05$ ) entre as cultivares BRS Caipira, BRS Formosa, Mucuruna e BRS Tapioqueira, conforme indicado pelo teste Scott-Knott.

Durante T2, as cultivares BRS Formosa (0,820) e BRS Tapioqueira (0,860) apresentaram coeficientes estatisticamente semelhantes e superiores às demais, evidenciando maior eficiência na hidrólise. Em T3, BRS Caipira (0,795) e BRS Tapioqueira (0,845) mantiveram valores estatisticamente semelhantes entre si e superiores às outras cultivares, demonstrando estabilidade no processo de hidrólise ao final do período avaliado.

Na análise do efeito temporal dentro de cada cultivar, a BRS Tapioqueira destacou-se por manter coeficientes estatisticamente semelhantes ( $P>0,05$ ) nos três tempos avaliados, sendo a única cultivar que não apresentou variação significativa ao longo do processo.

**Tabela 1** - Coeficiente de hidrólise enzimática do amido em cultivares de mandioca submetidas a diferentes tempos de processamento. Os tempos de hidrólise corresponderam a T1 (2h hidrólise + 3h sacarificação), T2 (3h hidrólise + 4,5h sacarificação) e T3 (4h hidrólise + 6h sacarificação), conduzidos a 90°C e 60°C respectivamente, com  $\alpha$ -amilase (30  $\mu\text{l/g}$ ) e amiloglicosidase (40  $\mu\text{l/g}$ ). Os valores representam médias de quatro repetições por tratamento.

CULTIVARES	Tempos de Hidrólise		
	1	2	3
BRS Caipira	0,690 aB	0,617 cB	0,795 aA
BRS Formosa	0,757 aA	0,820 aA	0,742 bA
Mucuruna	0,832 aA	0,735 bB	0,670 bB
BRS Tapioqueira	0,775 aA	0,860 aA	0,845 aA

Médias seguidas por letras minúsculas na coluna (comparam tempos de hidrólise dentro das cultivares) e letras maiúsculas na linha (comparam cultivares dentro dos tempos de hidrólise). Letras iguais não diferem entre si ( $P>0,05$ ) pelo teste Scott-Knott. Coeficientes de variação: CVcultivares= 6,87%; CVtempos= 9,99%.

Estudo semelhante a este foi conduzido por Aderibigbe et al. (2013) que investigaram a hidrólise do amido de mandioca (*Manihot esculenta*) usando alfa-amilase e glicose-amilase, otimizando variáveis como temperatura, pH e tempo para maximizar a produção de xarope de glicose. No experimento, três níveis de temperatura (60, 67 e 74 °C), pH (4,5, 5,0 e 5,5) e tempo (1,5, 2,0 e 2,5 h) foram analisados. A modelagem polinomial baseada nos dados revelou que a produção de açúcares redutores foi significativamente influenciada por essas variáveis, alcançando um coeficiente de determinação de  $R^2=0,948$ , o

que indica que 94,8% da variabilidade dos resultados pode ser explicada pelo modelo desenvolvido. As condições ideais para a hidrólise, utilizando alfa-amilase e glicose-amilase, foram de 74 °C, pH 5,5 e tempo de 1,5 h, resultando em uma produção máxima de açúcar redutor de 257 g/L, equivalente a 73,43% de conversão. Estes resultados corroboram com os encontrados no presente estudo e destacam a importância de otimizar condições experimentais para melhorar a conversão de amido em glicose.

Autores como Nguyen et al. (2020) e Krajang et al. (2021), relataram que o coeficiente de hidrólise do amido de mandioca é sensível a diversos fatores, incluindo temperatura, pressão, concentração enzimática e métodos de pré-tratamento. A hidrólise do amido de mandioca pode ser otimizada com diferentes processos, permitindo a obtenção de altos rendimentos de glicose e outros produtos derivados. Em particular, o uso da enzima StargentM002 mostrou-se eficaz, alcançando uma conversão de 80,19% do amido cru em glicose após um pré-tratamento a 60 °C por 1 hora. Adicionalmente, a hidrólise enzimática conduzida sob temperaturas de gelatinização e associada a pré-tratamentos, como aquecimento e aplicação sequencial de enzimas, foi capaz de atingir uma eficiência de hidrólise entre 76% e 79% ao longo de 48 horas. Esses resultados corroboram os valores encontrados no presente estudo, embora as condições de tempo e temperatura tenham variado, destacando a importância de ajustar os parâmetros de processo para maximizar a conversão do amido de mandioca em glicose de acordo com os objetivos e especificidades de cada abordagem experimental.

A resistência relativa do amido de mandioca à hidrólise, especialmente quando comparada a amidos como o de milho de alto teor de amilose, está intimamente ligada à estrutura do amido, particularmente ao comprimento das cadeias de amilopectina, que desempenham um papel crucial na velocidade de degradação. Amidos com maior conteúdo de amilose e cadeias longas de amilopectina tendem a exibir maior resistência à ação da  $\alpha$ -amilase, devido à sua tendência à retrogradação e menor acessibilidade enzimática, como discutido por Villas-Boas et al. (2019). O teor de amilose no amido de mandioca influencia significativamente sua resistência à hidrólise em comparação com o amido de milho com alto teor de amilose. O amido de mandioca, com menor teor de amilose, apresenta uma estrutura única que limita a formação de amido resistente tipo 3 (RS-3) durante a retrogradação, tornando-o menos resistente à hidrólise (FATIMAH et al., 2024). Em contraste, o amido de milho com alto teor de amilose, que contém uma porcentagem maior de amilose, mostra maior resistência hidrolítica devido a menos locais de ataque efetivos para enzimas, conforme demonstrado pela redução da digestibilidade enzimática com o aumento do conteúdo de amilose (TIAN et al., 2023). Esse fenômeno, já havia sido reportado por Moreira et al. (2013), podendo explicar um potencial causa

dos menores rendimentos fermentativos observados em algumas cultivares no presente estudo, sugerindo a necessidade de considerar cuidadosamente a estrutura molecular dos amidos de mandioca ao otimizar processos de hidrólise enzimática para a produção de etanol.

A diversidade nas características dos grânulos de amido entre cultivares de mandioca é significativa, influenciada por fatores genéticos e ambientais. Estudos revelam variações no tamanho, forma e propriedades físico-químicas dos grânulos de amido em diferentes genótipos de mandioca. Por exemplo, os diâmetros dos grânulos de amido variam de 2,016  $\mu\text{m}$  a 3,318  $\mu\text{m}$ , com formas predominantemente esféricas (BERKALA et al., 2022). Além disso, variações no conteúdo de amilose (13,6% a 18,1%) e na viscosidade (354 a 520 BU) foram observadas entre sete genótipos de mandioca amarela (AKONOR et al., 2023). Além disso, o índice de cristalinidade e o dano ao amido durante a extração também variaram significativamente, indicando a necessidade de uma caracterização completa mesmo dentro da mesma cultivar (OLIVEIRA et al., 2020). Essas diferenças sugerem que o desempenho das cultivares de mandioca em aplicações alimentícias pode ser otimizado com base em suas propriedades exclusivas de amido.

Liu et al. (2018) cita que além dos tipos de amido, o coeficiente de hidrólise das cultivares de mandioca é significativamente influenciado pela proporção amido e fibra. Variações nesses componentes podem afetar diretamente o coeficiente de hidrólise, uma vez que diferentes cultivares de mandioca apresentam coeficiente de hidrólise (digestibilidade) variável do amido, com proporções distintas de amido de digestão lenta (SDS) e amido resistente (RS) (Liu et al., 2018). Por exemplo, a mandioca colhida aos 10-11 meses apresenta maior conteúdo de SDS e RS, o que aumenta seu coeficiente de hidrólise e promove um maior potencial de fermentação e produção de etanol.

O amido de mandioca é composto principalmente por dois tipos de moléculas: amilose e amilopectina. Normalmente, o amido de mandioca contém cerca de 20% de amilose e 80% de amilopectina. A amilose é um polímero linear que é mais solúvel em água, mas não forma um gel, enquanto a amilopectina é um polímero ramificado que é menos solúvel em água e forma um gel ao ser aquecido (MOJIBAYO et al., 2020). Essa composição é crucial para as propriedades funcionais do amido de mandioca, influenciando suas aplicações nos setores alimentício e industrial (KONG, 2020). O amido de mandioca é constituído majoritariamente por amilopectina, com uma menor proporção de amilose, composição que impacta diretamente suas propriedades nutricionais e funcionais, incluindo a resistência do amido. A supressão das enzimas de ramificação do amido (SBE1 e SBE2) pode modificar significativamente a proporção entre amilose (polímero linear de D-glucose com ligações  $\alpha$ -1,4) e

amilopectina (estrutura ramificada com ligações  $\alpha$ -1,4 e  $\alpha$ -1,6). Segundo Utsumi et al. (2022), esta alteração promove a formação de amido resistente, melhorando o coeficiente de hidrólise e expandindo as possibilidades de aplicação industrial do amido de mandioca. Embora a composição típica do amido de mandioca esteja bem estabelecida, pesquisas em andamento sobre modificações genéticas e novas cultivares continuam a expandir as aplicações e propriedades potenciais do amido de mandioca. Esses avanços podem levar a amidos com características únicas, adaptados para necessidades industriais ou nutricionais específicas.

Em estudo com treze cultivares distintas de mandioca, Ballin (2017) reportou coeficientes de hidrólise entre 0,874 e 0,929 utilizando metodologia similar ao tratamento T1 do presente estudo, embora a divergência entre as cultivares avaliadas limite comparações diretas.

## PRODUÇÃO DE GLICOSE

### Glicose Total

A concentração de glicose total no hidrolisado resulta da eficiência da hidrólise das cadeias de amido, sendo influenciada por fatores estruturais (conformação molecular e proporção amilose-amilopectina), composicionais (presença de fibras), genéticos (idade da planta) e ambientais (temperatura, disponibilidade de nitrogênio e regime hídrico). A compreensão destes fatores é fundamental para otimizar a produção de glicose e a eficiência na conversão do amido em etanol (Tabela 2).

**Tabela 2** - Concentração de glicose total (g/L) obtida após hidrólise enzimática do amido de diferentes cultivares de mandioca. Os valores representam a quantificação dos açúcares totais resultantes da hidrólise enzimática completa (hidrólise + sacarificação) sob condições controladas de temperatura (90 °C/60 °C) e pH (5,0).

CULTIVARES	Tempos de Hidrólise		
	1	2	3
BRS Caipira	14,99 aA	13,66 bA	16,69 aA
BRS Formosa	16,75 aA	17,93 aA	15,72 bA
BRS Mucuruna	18,35 aA	16,21 aB	14,14 bB
BRS Tapioqueira	17,16 aA	18,45 aA	18,63 aA

Médias seguidas por letras minúsculas na coluna (comparam tempos de hidrólise dentro das cultivares) e letras maiúsculas na linha (comparam cultivares dentro dos tempos de hidrólise). Letras iguais não diferem entre si ( $P > 0,05$ ) pelo teste Scott-Knott. Coeficientes de variação: CVcultivares= 6,87%; CVtempos= 9,99%.

Os tempos de hidrólise exerceram influência significativa sobre a concentração de glicose no hidrolisado, evidenciando respostas distintas entre as cultivares. A BRS Tapioqueira destacou-se com os maiores teores de glicose em todos os tempos avaliados, enquanto a Mucuruna apresentou os menores valores, particularmente em T3. Esta variação reflete a complexidade da composição química e a diversidade estrutural do amido e fibras presentes nas diferentes cultivares de mandioca, características fundamentais para seu processamento. A expressão dessas características é modulada por fatores genéticos, práticas culturais e condições agronômicas, que determinam conjuntamente o acúmulo de amido, o teor de fibras e, conseqüentemente, a produtividade de cada cultivar. A compreensão dessas variações é fundamental para otimizar o aproveitamento da mandioca, tanto em aplicações tradicionais quanto em processos industriais. Destaca-se que o padrão temporal de acúmulo de amido nas raízes difere entre as cultivares, constituindo um fator determinante para sua produtividade (CARDOSO et al., 2023). Segundo Tester; Karkalas (2001), as condições ambientais modulam as propriedades estruturais do amido: altas temperaturas promovem a degradação da amilose e modificação da estrutura geral, enquanto baixas temperaturas afetam a amilopectina e a estrutura cristalina. Estas alterações impactam diretamente a digestibilidade e eficiência da hidrólise enzimática, determinando o potencial de conversão do amido em etanol. Essas variações estruturais podem aumentar ou reduzir o coeficiente de hidrólise do amido, dependendo do tratamento específico e das condições aplicadas (FENG et al., 2024).

A cinética da hidrólise enzimática do amido caracteriza-se por uma fase inicial acelerada, devido à alta acessibilidade das cadeias às enzimas, seguida por redução gradual na taxa de liberação de glicose. Curvelo-Santana et al. (2010) demonstraram rendimentos de até 80% na conversão de amido em glicose em temperaturas entre 55-59,1°C. Ansharullah; Natsir (2020) identificaram condições ótimas de hidrólise em pH 6,5-7,0 e temperatura de 75°C, embora observassem que temperaturas muito elevadas podem comprometer a atividade enzimática por desnaturação. A análise detalhada da cinética de hidrólise permite, assim, ajustar parâmetros cruciais como o tempo de reação e a concentração enzimática, fatores que são determinantes para maximizar a produção de glicose. Esse controle é particularmente relevante para aplicações na produção de bioetanol, onde a eficiência do processo e o planejamento preciso das condições reacionais têm um impacto direto na produtividade, especialmente em diferentes cultivares de amido e mandioca.

## PROCESSO FERMENTATIVO

### Glicose Efetivamente Fermentada

A quantificação da glicose efetivamente disponível para fermentação, estimada pela produção de CO<sub>2</sub>, revelou interações significativas ( $P < 0,05$ ) entre cultivares e tempos de hidrólise (Tabela 3). Os resultados evidenciaram variações específicas no comportamento fermentativo de cada cultivar, com padrões distintos dos observados para glicose total. Entretanto, o perfil dessas interações divergiu dos padrões observados para glicose total, sugerindo que a eficiência de liberação da glicose livre em diferentes tempos de hidrólise é determinante para sua disponibilidade ao metabolismo das leveduras.

**Tabela 3** - Concentração de glicose efetivamente fermentada (g/L) após processamento enzimático do amido de cultivares de mandioca. Os valores foram determinados através do monitoramento da produção de CO<sub>2</sub> durante a fermentação, representando a fração da glicose total efetivamente metabolizada por *Saccharomyces cerevisiae*.

CULTIVARES	Tempos de Hidrólise		
	1	2	3
BRS Caipira	11,32 aA	10,31 bA	12,74 aA
BRS Formosa	12,90 aA	12,94 aA	12,55 aA
Mucuruna	13,56 aA	8,74 bB	6,70 bB
BRS Tapioqueira	12,88 aA	14,14 aA	11,71 aA

Médias seguidas por letras minúsculas na coluna (comparam tempos de hidrólise dentro das cultivares) e letras maiúsculas na linha (comparam cultivares dentro dos tempos de hidrólise). Letras iguais não diferem entre si ( $P > 0,05$ ) pelo teste Scott-Knott. Coeficientes de variação: CVcultivares= 19,36%; CVtempos= 20,97%.

A cultivar BRS Tapioqueira destacou-se por manter elevada concentração de glicose fermentada ao longo de todos os tempos de hidrólise. Em contrapartida, a Mucuruna apresentou declínio significativo nos tempos T2 e T3. Tais variações sugerem diferenças na efetividade da ação enzimática entre as cultivares durante os períodos reacionais, o que influencia diretamente a disponibilidade de glicose para o processo fermentativo.

Em *Saccharomyces cerevisiae*, ambientes com altas concentrações de glicose suprimem o metabolismo de outros açúcares, incluindo monossacarídeos e dissacarídeos, conforme observado por (RETTORI; VOLPE, 2000). Esse efeito ocorre devido à via de sinalização Snf1, que inativa a proteína quinase Snf1

ao detectar elevados níveis de glicose, bloqueando assim a expressão de genes envolvidos na metabolização de fontes alternativas de carbono. Dessa forma, a célula se mantém dependente da fermentação de glicose como principal via energética, mesmo na presença de oxigênio (KAYIKCI; NIELSEN, 2015).

### Rendimento da Fermentação

O rendimento fermentativo, expresso em percentual, representa a proporção de glicose total efetivamente convertida em etanol durante o processo fermentativo. As médias deste rendimento, calculadas pela relação entre glicose fermentada e glicose total, são apresentadas na Tabela 4. Entre as cultivares avaliadas, apenas a Mucuruna demonstrou diferença significativa ( $P < 0,05$ ) nos tempos reacionais, diferentemente das demais que mantiveram rendimentos estatisticamente estáveis.

A análise comparativa das cultivares em cada tempo reacional revelou diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) nos rendimentos fermentativos. A Mucuruna apresentou os menores valores em T2, enquanto em T3, tanto Mucuruna quanto Tapioqueira registraram rendimentos reduzidos. Estes resultados evidenciam que as características específicas da composição do amido de cada cultivar exercem influência determinante sobre a eficiência dos processos de hidrólise e fermentação.

Tabela 4 - Rendimento fermentativo (%) obtido na conversão de glicose a etanol para diferentes cultivares de mandioca. Os valores representam a proporção entre glicose fermentada e glicose total disponível, calculados considerando o fator de conversão estequiométrico de Gay-Lussac ajustado (46,49 kg etanol/100 kg ART).

CULTIVARES	Tempos de Hidrólise		
	1	2	3
BRS Caipira	76,25 aA	77,07aA	75,63 aA
BRS Formosa	78,43 aA	73,78 aA	79,43 aA
Mucuruna	74,37 aA	53,80 bB	48,76 bB
BRS Tapioqueira	74,90 aA	77,34 aA	62,66 bA

Médias seguidas por letras minúsculas na coluna (comparam tempos de hidrólise dentro das cultivares) e letras maiúsculas na linha (comparam cultivares dentro dos tempos de hidrólise). Letras iguais não diferem entre si ( $P > 0,05$ ) pelo teste Scott-Knott. Coeficientes de variação: CVcultivares= 11,19 %; CVtempos= 11,73 %.

As propriedades estruturais e físico-químicas do amido, incluindo a relação amilose-amilopectina, morfologia granular, solubilidade em água, capacidade de inchamento e comportamento durante gelatinização, são determinantes para



o rendimento em açúcares fermentáveis. Cornejo et al. (2022) demonstraram esta relação ao comparar duas cultivares de mandioca (INIAP 651 e INIAP 650), onde as características estruturais correlacionaram-se diretamente com a capacidade de retenção de água e rendimento em glicose. Ronko et al. (2020) complementam que estas propriedades, determinadas pela organização das regiões cristalinas e amorfas do amido, influenciam diretamente a viscosidade, claridade das pastas e tendência à retrogradação. Os estudos destes autores demonstraram ainda que diferentes cultivares apresentam perfis distintos de retrogradação, relacionados à composição específica de seu amido. Por exemplo, o amido industrial tem menor tendência à retrogradação e maior estabilidade de pasta gelatinizada em comparação com outros amidos, sugerindo que nem todas as cultivares classificadas como industriais apresentam a mesma estabilidade.

É importante notar que a retrogradação, um processo de recristalização após a gelatinização, resulta em estruturas cristalinas estáveis (LOBO; SILVA, 2003), o que pode explicar as variações observadas no rendimento fermentativo das cultivares Mucuruna e Tapioqueira nos tempos T2 e T3. Estudos como os de Augustini; Emílio Júnior (2007) relatam rendimentos fermentativos ligeiramente inferiores, com uma média de 71,43% para a produção de álcool a partir de hidrólise enzimática natural.

Comparando com os resultados obtidos por Ballin (2017), que variaram de 53,01% para a cultivar Cacau Melhorada a 70,50% para a BRS 399, o presente estudo registrou valores superiores de rendimento fermentativo, com 74,37% e 78,43% para as cultivares Mucuruna e BRS Formosa, respectivamente, no tempo T1. Essas diferenças podem ser atribuídas à composição amilácea distinta entre as cultivares.

A cultivar Mucuruna destacou-se pela alta produtividade e bom desempenho agrônomico em condições de cerrado. Em 2019, apresentou um índice de colheita de 68,94% e uma produtividade de 53,45 t/ha, evidenciando seu potencial para maximizar a produção de mandioca em regiões com características ambientais semelhantes” (SANTOS et al., 2022).

Diversos fatores, como temperatura, pressão osmótica, pH, oxigenação, minerais, concentração de levedura e contaminação microbiana, também podem interferir na eficiência da fermentação (LIMA et al., 2001). Enquanto algumas cultivares de mandioca demonstram alto desempenho nos processos de hidrólise e fermentação, outras podem exigir técnicas de processamento específicas para melhorar sua eficiência, destacando a necessidade de abordagens personalizadas baseadas na composição do amido.

## PRODUÇÃO DE ETANOL

### Potencial de Produção de Etanol

O potencial de produção de etanol apresentou variações significativas em função das cultivares e tempos de hidrólise avaliados. Entre as cultivares, a BRS Tapioqueira evidenciou o maior potencial produtivo, com destaque para o tempo T2, contrastando com a Mucuruna, que registrou o menor rendimento em T3.

A análise das médias de produção de etanol (ml/kg MS), apresentada na Tabela 5, revelou interação significativa entre cultivares e tempos reacionais. A Mucuruna foi a única cultivar que apresentou diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tempos de hidrólise, atingindo seu menor potencial em T3 (153,55 ml/kg MS), enquanto as demais cultivares mantiveram potencial produtivo estatisticamente estável ao longo do processo.

A análise comparativa das cultivares em cada tempo reacional revelou diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) nos rendimentos fermentativos. O teste Scott-Knott evidenciou rendimentos inferiores para a cultivar Mucuruna em T2 e para as cultivares Mucuruna e Tapioqueira em T3 ( $P < 0,05$ ).

**Tabela 5** - Potencial de produção de etanol (ml/kg MS) de cultivares de mandioca sob diferentes condições de hidrólise enzimática. Os valores representam o rendimento teórico máximo de etanol por quilograma de matéria seca, calculado a partir do rendimento fermentativo e teor de amido inicial de cada cultivar. As condições de hidrólise incluíram três combinações de tempo (T1, T2 e T3), mantendo-se constantes temperatura (90°C/60°C), pH (5,0) e concentração enzimática ( $\alpha$ -amilase 30  $\mu$ l/g; amiloglicosidase 40  $\mu$ l/g).

CULTIVARES	Tempos de Hidrólise		
	1	2	3
BRS Caipira	260,75 aA	234,91 bA	293,55 aA
BRS Formosa	295,15 aA	295,90 aA	287,13 aA
Mucuruna	310,17 aA	200,01 bB	153,55 bB
BRS Tapioqueira	293,28 aA	329,11 aA	267,37 aA

Médias seguidas por letras minúsculas na coluna (comparam tempos de hidrólise dentro das cultivares) e letras maiúsculas na linha (comparam cultivares dentro dos tempos de hidrólise). Letras iguais não diferem entre si ( $P > 0,05$ ) pelo teste Scott-Knott. Coeficientes de variação: CVcultivares= 10,27%; CVtempos= 11,32%.

Comparativamente aos estudos de Ballin (2007), que registrou produção de 199,68 ml/kg MS para a cultivar BRS 369 e máximo de 285,30 ml/kg MS para a Água Morna, o presente trabalho obteve rendimentos superiores. A produção variou de 260,75 ml/kg MS (BRS Caipira) a 310,17 ml/kg MS (Mucuruna) no tempo T1, evidenciando que a otimização do tempo de hidrólise, associada à seleção adequada da cultivar, é determinante para maximizar a eficiência na produção de etanol. Com base na proporção utilizada de 20 gramas de mandioca para 200 mL de solução, o valor de produção de etanol de 23,12 g/L equivale a aproximadamente 294 ml/kg (base seca) de mandioca. Esse rendimento é compatível com os valores encontrados para cultivares altamente produtivos, como BRS Mucuruna, BRS Tapioqueira e BRS Formosa, que também demonstraram excelente potencial para a produção de bioetanol. Esses resultados indicam que cultivares com alto teor de amido, como a 98/2101, são particularmente eficazes para maximizar a produtividade de etanol, mostrando-se promissoras para a produção sustentável de biocombustíveis (OGBONNA; OKOLI, 2010).

A cultivar BRS Tapioqueira demonstrou consistente superioridade nos resultados, evidenciando elevado potencial para produção de bioetanol, enquanto a Mucuruna apresentou desempenho inferior, particularmente sob tempos prolongados de hidrólise. Estes resultados corroboram com a literatura especializada (UNEJO; PASTORE, 2007; COLLARES, 2011;), que estabelece correlação direta entre características físico-químicas do amido e eficiência fermentativa, indicando a necessidade de protocolos específicos de otimização para cada cultivar. O estudo evidenciou que o rendimento na produção de etanol a partir do amido de mandioca resulta da complexa interação entre as características intrínsecas de cada cultivar e as condições temporais do processo de hidrólise enzimática.

A heterogeneidade entre as cultivares demonstrou-se significativa, com a BRS Tapioqueira atingindo máxima eficiência no tempo T2 (329,11 ml/kg MS de etanol), enquanto a Mucuruna apresentou desempenho inferior em todos os parâmetros avaliados. Estes resultados ressaltam que as características químicas e estruturais do amido são determinantes para a eficiência dos processos de hidrólise e fermentação, demandando protocolos de otimização específicos para cada material genético.

Esta pesquisa evidencia o potencial da mandioca como fonte de bioenergia sustentável, indicando a necessidade de estudos futuros focados tanto na otimização dos parâmetros de hidrólise enzimática quanto no desenvolvimento de cultivares com características superiores para produção de etanol, contribuindo assim para o avanço das tecnologias de biocombustíveis.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo evidenciou a influência determinante do tempo de hidrólise enzimática na produção de etanol a partir da mandioca, com interações significativas entre cultivares e tempos de hidrólise afetando todos os parâmetros avaliados: desde o coeficiente de hidrólise até o potencial de produção de etanol. A magnitude dessas variações evidencia que a otimização do processo deve considerar as características intrínsecas de cada cultivar. Conclui-se que a seleção criteriosa da cultivar, associada à determinação precisa do tempo de hidrólise, constitui fator determinante para o desenvolvimento de tecnologias mais eficientes e sustentáveis na produção de bioetanol a partir da mandioca.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo suporte financeiro. Ao Laboratório de Solos e Aproveitamento de Resíduos Agroindustriais (LASOR) da Universidade Federal do Tocantins (UFT) pela infraestrutura e apoio técnico. Ao Programa de Pós-Graduação em Agroenergia Digital da UFT e aos estudantes colaboradores pelo suporte na execução da pesquisa.

## Referências Bibliográficas

ADERIBIGBE, F. A.; ADEJUMO, A. L.; OWOLABI, R. U.; ANOZIE, A. N. Optimization of enzymatic hydrolysis of *Manihot esculenta* root starch by  $\alpha$ -Amylase and glucoamylase using response surface methodology. **Chemical and Process Engineering Research**, v. 9, 2013. Disponível em: <<https://typeset.io/pdf/optimization-of-enzymatic-hydrolysis-of-manihot-esculenta-1kdp5o762y.pdf>>. Acesso em: 17 jan. 2024.

AGUSTINI, D; EMILIO JUNIOR, H. Produção de álcool de mandioca a partir de hidrólise enzimática natural. **Synergismus Scyentifica**, PatoBranco, v. 2, p. 1-4, 2007.

AKONOR, P. T.; OSEI TUTU, C.; ARTHUR, W.; ADJEBENG-DANQUAH, J.; AFFRIFAH, N. S.; BUDU, A. S.; SAALIA, F. K. Granular structure, physicochemical and rheological characteristics of starch from yellow cassava (*Manihot esculenta*) genotypes. **International Journal of Food Properties**, v. 26, no 1, p. 259–273, 2023. DOI 10.1080/10942912.2022.2161572. Acesso em: 15 dez. 2023.

ANSHARULLAH, A.; NATSIR, M. Kinetics of enzymatic hydrolysis of southeast sulawesi sago starch. **Asian Food Science Journal**, p. 53–61, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.9734/afsj/2020/v18i130215>>. Acesso em: 10 jan. 2024.

BALLIN, F. **Avaliação do desempenho produtivo de cultivares de mandioca na região central do estado do Tocantins e o rendimento de etanol por meio de hidrólise enzimática**. 2017. 70 f. Dissertação (Mestrado em Agroenergia) – Universidade Federal de Tocantins, Palmas, 2017.

BERKALA, E.; MIPA, I. B.; GUNSI, S.; CHATRI, M.; DES, M.; AKHYAR, A.; HARTATI, N. S.; FITRIANI, H.; TARYANA, N.; GUSNI, S. Eksakta article diversity of the starch granule morphology of several types cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Eksakta: Berkala Ilmiah Bidang MIPA**, v. 23, p. 167–174, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/https://doi.org/10.24036/eksakta/vol23-iss03/324>>. Acesso em: 15 nov. 2023.

BIE, P.; PU, H.; ZHANG, B.; SU, J.; CHEN, L.; LI, X. Structural characteristics and rheological properties of plasma-treated starch. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 34, p. 196–204, abr. 2016. DOI 10.1016/j.ifset.2015.11.019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2015.11.019>>. Acesso em: 15 dez. 2023.

Biotecnologia Industrial: **Processos fermentativos e enzimáticos**. Blucher, São Paulo; 2001.

CARDOSO, P.; JUNIOR ZANON, A.; AUGUSTO STRECK, N.; DE OLIVEIRA DE FREITAS, C. P. Início de acumulação de amido e produtividade de raízes em cultivares de mandioca. **Revista Eletrônica Científica da UERGS**, v. 9, n. 3, p. 178–185, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.21674/2448-0479.93.178-185>>. Acesso em: 16 jan. 2024.

COLLARES, R. M. **Otimização do processo de hidrólise da Mandioca “in natura”, com o uso de enzimas amilolíticas e pectinolítica**. 2011. 81f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos). Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, Santa Maria, 2011.

CORNEJO, F.; MALDONADO-ALVARADO, P.; PALACIOS-PONCE, S.; HUGO, D.; ROSELL, C. M. Impact of cassava starch varieties on the physiochemical change during enzymatic hydrolysis. **Molecules**, v. 27, n. 18, p. 6098, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27186098>. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/27/18/6098>>. Acesso em: 02 set. 2023.

CURVELO-SANTANA, J. C.; EHRHARDT, D. D.; TAMBOURGI, E. B. Otimização da produção de álcool de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/JJdbDYzhPj9pPTDtN7bk3nP/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 02 jan. 2024.

DO, T. X.; VU, T. A. Enhancing sustainable ethanol fuel production from cassava in Vietnam. **Energy and Climate Change**, v. 5, 1 dez. 2024. DOI 10.1016/j.egycc.2024.100136. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.egycc.2024.100136>>. Acesso em: 23 jul. 2023.

FATIMAH, S.; HAFIED, M. A.; INDIASIH, P. A. Y.; AIRLANGGA, B.; RAHMAWATI, Y.; ROESYADI, A.; SUMARNO, S. Amylose isolation of cassava starch with the combination of high shear mixer and centrifugation treatment to improve the quality of resistant starch type 3 (RS-3) products. **Advances in Science and Technology**, 2024. Disponível em: <<https://doi.org/10.4028/p-xj9zas>>. Acesso em: 10 jun. 2023.

FENG, Y.; XU, M.; CHEN, D.; ZHANG, X.; ZHOU, B.; ZOU, J. Correlation study between multi-scale structure and *in vitro* digestibility of starch modified by temperature difference. **Foods**, v. 13, n. 13, 2024. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/foods13132047>>. Acesso em: 9 nov. 2023.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

FINGUERUT, J.; LEIMER, K.H.; LUCREDI, H.A.; ROSSELL, C.E.V. **Estequiometria da fermentação alcoólica a partir do caldo de cana**. Piracicaba: Copersucar, n. 12, p. 45-48, 1985. (Boletim Técnico Copersucar 35/85).

GROSSMANN, J.; FREITAS, A. C. Determinação do teor de matéria seca pelo peso específico em raízes de mandioca. **Revista Agrônômica**, v. 160/162, n. 4, p. 75-80, 1950.

GROXKO, M.; PEREIRA, J. R. Prognóstico agropecuário: mandioca 2021/2022. **DERAL**, v. 13, n. 34. 2021. Disponível em: <[https://www.agricultura.pr.gov.br/sites/default/arquivos\\_restritos/files/documento/2022-01/vol\\_13\\_n\\_34\\_2021\\_prognostico\\_agropecuaria\\_mandioca\\_0.pdf](https://www.agricultura.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2022-01/vol_13_n_34_2021_prognostico_agropecuaria_mandioca_0.pdf)>. Acesso em: 24 set. 2023.

GUIMARÃES, G. H. C.; DANTAS, R. L.; SOUSA, A. S. B. de; SOARES, L. G.; SÁ MELO, R. de; SILVA, R. S. da; LIMA, R. P.; MENDONÇA, R. M. N.; SILVA, S. de M.; BEAUDRY, R. M. Impact of cassava starch-alginate based coatings added with ascorbic acid and elicitor on quality and sensory attributes during pineapple storage. **African Journal of Agricultural Research**, v. 12, n. 9, p. 664–673, 23 fev. 2017. DOI 10.5897/ajar2016.11652. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5897/AJAR2016.11652>>. Acesso em: 11 ago. 2023.

HAN, X.; CHEN, Y.; WANG, X. Impacts of China's bioethanol policy on the global maize market: a partial equilibrium analysis to 2030. **Food Security**, v. 14, n. 1, p. 147–163, 2022. DOI: 10.1007/s12571-021-01212-5. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s12571-021-01212-5>>. Acesso em: 12 out. 2023.

HASAN, M.; ABEDIN, M. Z.; AMIN, M. B.; NEKMAHMUD, M.; OLÁH, J. Sustainable biofuel economy: a mapping through bibliometric research. **Journal of Environmental Management Academic Press**, 2023. DOI: 10.1016/j.jenvman.2023.117644. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.117644>>. Acesso em: 8 out. 2023.

INTERNATIONAL ENERGY AGENCY. **World Energy Outlook 2023**. Paris: IEA, 2023. Disponível em: <<https://www.iea.org/reports/world-energy-outlook-2023>. DOI: 10.1787/a300eb3a-en>. Acesso em: 16 nov. 2023.

JANKET, A.; VORASOOT, N.; TOOMSAN, B.; KAEWPRADIT, W.; BANTERNG, P.; KESMALA, T.; THEERAKULPISUT, P.; JOGLOY, S. Seasonal variation in starch accumulation and starch granule size in cassava genotypes in a tropical savanna climate. **Agronomy**, v. 8, n. 12, 2018. DOI: 10.3390/agronomy8120297. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/agronomy8120297>>. Acesso em: 28 ago. 2023.

JANKET, A.; VORASOOT, N.; TOOMSAN, B.; KAEWPRADIT, W.; THEERAKULPISUT, P.; HOLBROOK, C. C.; KVIEN, C. K.; JOGLOY, S.; BANTERNG, P. Accumulation dynamics of starch and its granule size distribution of cassava genotypes at different growing seasons. **Agriculture**, v. 10, n. 9, p. 1–16, 2020. DOI: 10.3390/agriculture10090380. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/agriculture10090380>>. Acesso em: 24 jan. 2024.

KAYIKCI, Ö.; NIELSEN, J. **Glucose repression in *Saccharomyces cerevisiae***. Oxford: Oxford University Press, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/femsyr/fov068>>. Acesso em: 02 set. 2023.

KONG, X. Fine structure of amylose and amylopectin. In: WANG, S. (Ed.) **Starch structure, functionality and application in foods**. Singapore: Springer Singapore, chapter 1. 2020. E-book. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/978-981-15-0622-2>>. Acesso em: 16 jan. 2024.

LIMA, U. de A.; BASSO, L. C.; AMORIM, H. V. de. Produção de etanol. In: \_\_\_\_\_. **Biotecnologia industrial: processos fermentativos e enzimáticos**. São Paulo: Ed. Edgard Blücher, 2001. Disponível em: <<https://repositorio.usp.br/item/001222073>>. Acesso em: 27 out. 2023.

LIMA, U. de A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Processos fermentativos e enzimáticos**. 2. ed. São Paulo. 2019.

LIU, J.; YANG, J.; YU, L.; WU, C.; JIANG, Y.; WEI, Z.; YING, H.; YANG, S. Modulated arabinose uptake and camp signaling synergistically improve glucose and arabinose consumption in recombinant yeast. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2023. DOI: 10.1021/acs.jafc.3c04386. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/epdf/10.1021/acs.jafc.3c04386>>. Acesso em: 26 ago. 2023.



LIU, K.; ZU, Y.; CHI, C.; GU, B.; CHEN, L.; LI, X. Modulation of the digestibility and multi-scale structure of cassava starch by controlling the cassava growth period. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 120, Part A, p. 346-353, 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141813018321780?via%3Dihub>>. Acesso em: 02 jan. 2024.

LIU, P.; LI, A.; WANG, Y.; CAI, Q.; YU, H.; LI, Y.; PENG, H.; LI, Q.; WANG, Y.; WEI, X.; ZHANG, R.; TU, Y.; XIA, T.; PENG, L. Distinct miscanthus lignocellulose improves fungus secreting cellulases and xylanases for consistently enhanced biomass saccharification of diverse bioenergy crops. **Renewable Energy**, v. 174, p. 799-809, 1 ago. 2021. DOI 10.1016/j.renene.2021.04.107. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.renene.2021.04.107>>. Acesso em: 15 jan. 2024.

LOBO, A. R.; SILVA, G. M. L. Amido resistente e suas propriedades físico-químicas. **Ver. Nutr.**, v. 16, n. 2, jun. 2003. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rn/a/GfmRYZccVmD6dbNchqBHXgR/?lang=pt>>. Acesso em: 20 set. 2022.

MOJIBAYO, I.; SAMSON, A. O.; JOHNSON, O. Y.; JOSHUA, I. O.; AJANI, S. A. A preliminary investigation of cassava starch potentials as natural polymer in bioplastic production. **The American Journal of Interdisciplinary Innovations and Research**, v. 02, n. 9, p. 31-39, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.37547/tajir/Volume02Issue09-05>>. Acesso em: 16 out. 2023.

MOREIRA, G.L.P.; VIANA, A.E.S.; ANDRADE, A.C.B.; CARDOSO, A. D.; SANTOS, V. S.; LOPES, S. C. Teores de Amilose e amilopectina em genótipos de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). **Anais... XV Congresso Brasileiro de Mandioca**. 2013. Disponível em <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/95817/1/TEORES-DE-AMILOSE-192-processa-21540-Vanderlei.pdf>>. Acesso em: 20 set. 2022.

OGBONNA, C. N.; OKOLI, E. C. Evaluation of the Potentials of Some Cassava Varieties in Nigeria for Bio-Ethanol Production. **Bio-Research**, v. 8, n. 2, p. 674-678, 2010. Disponível em: <https://www.ajol.info/index.php/br/article/view/66888>. Acesso em: 16 out. 2023.

OLIVEIRA, D. C. de; MAIEVES, H. A.; BERNARDO, C.; BELLETTINI, I. C.; REMOR, B. B.; MORESCO, R.; AMANTE, E. R. Evaluation of cassava starch as raw material according to the characteristics of the granules. **Research, Society and Development**, vol. 9, no 12, p. e8491210879, 14 dez. 2020. DOI 10.33448/rsd-v9i12.10879. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i12.10879>. Acessado em: 15 out. 2023.

PRATIWI, H.; WAHYUNI, T. S.; NUGRAHAENI, N. Multiple Tolerances of Cassava Germplasm to Drought Stress and Red Spider Mite Attacks. **Biosaintifika**, vol. 14, no 2, p. 293-300, 1 ago. 2022. DOI 10.15294/biosaintifika.v14i2.35781. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.15294/biosaintifika.v14i2.35781>>. Acesso em: 15 jan. 2024.

R Core Team. **R: a language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Disponível em: <URL <https://www.R-project.org/>>. 2022.

RETTORI, D.; VOLPE, P. L. O. Microcalorimetria: uma técnica aplicável ao estudo do diauxismo da *Saccharomyces cerevisiae*. **Química Nova**, v. 23, n. 2, p. 257-261, 2000. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-4042200000200018>>. Acesso em: 16 dez. 2022.

SANTOS, M. M. dos; COUTINHO, G.; M.; NASCIMENTO, I. R.; SANTOS, G. R. dos; FERREIRA, W.; MOREIA, E. F. A. Caracterização agrônômica de cultivares de mandioca no município de Gurupi – TO. **Agri-Environmental Sciences**, v. 8, n. 1, p. 7, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.36725/agries.v8i1.7320>>. Acesso em: 17 out. 2023.



TANRUEAN, K.; PENKHRUE, W.; KUMLA, J.; SUWANNARACH, N.; LUMYONG, S. Valorization of lignocellulosic wastes to produce phytase and cellulolytic enzymes from a thermophilic fungus, *Thermoascus aurantiacus* SL16W, under semi-solid state fermentation. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 4, 2021. DOI: 10.3390/jof7040286. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/jof7040286>>. Acesso em: 13 jul. 2023.

TESTER, R. F.; KARKALAS, J. The effects of environmental conditions on the structural features and physico-chemical properties of starches. **Biosynthesis Nutrition Biomedical**, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1002/1521-379X\(200110\)53:10<513::AID-STAR513>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/1521-379X(200110)53:10<513::AID-STAR513>3.0.CO;2-5). Disponível em: <[https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1521-379X\(200110\)53:10%3C513::AID-STAR513%3E3.0.CO;2-5](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1521-379X(200110)53:10%3C513::AID-STAR513%3E3.0.CO;2-5)>. Acesso em: 02 jun. 2023.

TIAN, Y.; WANG, Y.; LIU, X.; HERBURGER, K.; WESTH, P.; MØLLER, M. S.; SVENSSON, B.; ZHONG, Y.; BLENNOW, A. Interfacial enzyme kinetics reveals degradation mechanisms behind resistant starch. **Food Hydrocolloids**, v. 140, jul. 2023. DOI 10.1016/j.foodhyd.2023.108621. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108621>>. Acesso em: 9 abr. 2023.

UENOJO, M.; PASTORE, G. M. Pectinase: aplicações industriais e perspectivas. **Quím. Nova**, v. 30, n. 2, p. 388 – 394, 2007.

UTSUMI, Y.; UTSUMI, C.; TANAKA, M.; TAKAHASHI, S.; OKAMOTO, Y.; ONO, M.; NAKAMURA, Y.; SEKI, M. Suppressed expression of starch branching enzyme 1 and 2 increases resistant starch and amylose content and modifies amylopectin structure in cassava. **Plant Molecular Biology**, v. 108, n. 4–5, p. 413–427, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11103-021-01209-w>>. Acesso em: 16 maio 2023.

VILLAS-BOAS, F.; YAMAUTI, Y.; MORETTI, M. M. S.; FRANCO, C. M. L. Influence of molecular structure on the susceptibility of starch to  $\alpha$ -amylase. **Carbohydrate Research**, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carres.2019.05.001>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0008621519301430?via%3Dihub>>. Acesso em: 02 jan. 2024.

ZENG, G.; FAN, X.; WANG, F.; LUO, Y.; LIANG, D.; HAN, Y.; GAO, P.; WANG, Q.; WANG, J.; YU, C.; JIN, L.; SUN, D. Enhanced Rate of Enzymatic Saccharification with the Ionic Liquid Treatment of Corn Straw Activated by Metal Ion Solution. **Sustainability**, v. 15, n. 1, jan. 2023. DOI 10.3390/su15010834. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/su15010834>>. Acesso em: 3 jan. 2024.