

**ETANOL DE MANDIOCA: OTIMIZANDO A PRODUÇÃO ATRAVÉS DA IDADE
DE COLHEITA E ANÁLISE DE GLICOSE**

**CASSAVA ETHANOL: OPTIMIZING PRODUCTION THROUGH HARVEST AGE
AND GLUCOSE ANALYSIS**

Recebido em: 27/11/2024

Reenviado em: 16/02/2025

Aceito em: 08/05/2025

Publicado em: 04/06/2025

Guilherme Benko de Siqueira¹ 
Universidade Federal do Tocantins

Ana Larissa Vieira dos Santos² 
Universidade Federal do Tocantins

Domingos Bomfim³ 
Universidade Federal do Tocantins

Ana Beatriz Garcia Faitarone⁴ 
Universidade Federal do Tocantins

Eliane Regina Archangelo⁵ 
Universidade Estadual do Tocantins

Resumo: O estudo avaliou o potencial de produção de etanol de quatro cultivares industriais de mandioca, considerando a influência da idade de colheita e dois métodos de quantificação de glicose no rendimento de etanol. A pesquisa adotou abordagem experimental e quantitativa, analisando teores de glicose e coeficientes de hidrólise enzimática em amostras colhidas aos 12 e 15 meses. Utilizaram-se dois métodos de quantificação: o glicosímetro Accu-Chek® Guide Me e cálculos baseados no coeficiente de hidrólise. Os resultados indicaram que tanto a idade de colheita quanto o método de quantificação afetaram significativamente o rendimento de etanol, sendo observados maiores teores de glicose em amostras colhidas aos 15 meses e avaliadas pelo método direto. Os cultivares BRS Formosa e BRS Mulata apresentaram o maior potencial para produção de etanol, destacando-se como alternativas promissoras no setor bioenergético. O estudo concluiu que a escolha do cultivar, aliada à definição da idade ideal de colheita e à aplicação de métodos de quantificação precisos, otimiza o processo de produção de etanol, tornando-o mais eficiente e sustentável. Estes achados forneceram dados inéditos e práticos para a seleção de variedades de mandioca e contribuem para o desenvolvimento de um ciclo produtivo mais sustentável e economicamente viável.

Palavras-chave: Biocombustíveis; Conversão Enzimática; Fermentação Alcoólica.

Abstract: The study evaluated the ethanol production potential of four industrial cassava cultivars, considering the influence of harvest age and two glucose quantification methods on bioethanol yield. The research adopted an

¹ Professor e Pesquisador do Programa de Pós-Graduação em Agroenergia Digital da Universidade Federal do Tocantins (UFT). E-mail: guibenko@uft.edu.br

² Graduanda em Engenharia de Alimentos pela Universidade Federal do Tocantins – UFT. E-mail: ana.larissa@mail.uft.edu.br

³ Mestre em Agroenergia e Técnico Laboratório LASOR/UFT. E-mail: migos@mail.uft.edu.br.

⁴ Pesquisadora e Pós-doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agroenergia Digital da Universidade Federal do Tocantins (UFT). E-mail: abiazinha2003@yahoo.com.br

⁵ Pesquisador UNITINS, Palmas – TO. E-mail: eliane.ra@unitins.br

experimental and quantitative approach, analyzing glucose content and enzymatic hydrolysis coefficients in samples harvested at 12 and 15 months. Two quantification methods were employed: the Accu-Chek® Guide Me glucometer and calculations based on the hydrolysis coefficient. The results indicated that both harvest age and quantification method significantly influenced ethanol yield, with higher glucose levels observed in samples harvested at 15 months and evaluated using the direct method. The cultivars BRS Formosa and BRS Mulata demonstrated the highest potential for bioethanol production, standing out as promising alternatives in the bioenergy sector. The study concluded that selecting the cultivar, determining the optimal harvest age, and applying precise quantification methods optimize the bioethanol production process, making it more efficient and sustainable. These findings provide novel and practical data for cassava variety selection and contribute to the development of a more sustainable and economically viable production cycle.

Keyword: Biofuels; Enzymatic Conversion; Alcoholic Fermentation.

INTRODUÇÃO

A busca por fontes de energia renováveis e sustentáveis tem se intensificado nas últimas décadas, impulsionada pelas preocupações com o esgotamento dos combustíveis fósseis e os impactos ambientais de sua utilização. Nesse cenário, o etanol se destaca como uma alternativa promissora, especialmente em regiões tropicais, onde recursos como a mandioca estão amplamente disponíveis e adaptados às condições locais (Fathima *et al.*, 2023; Michele, 2021). A mandioca (*Manihot esculenta*) apresenta elevado teor de amido, o que a torna uma matéria-prima atrativa para a produção de etanol, além de ser uma cultura de relevância socioeconômica no Brasil e em outros países em desenvolvimento (Huang *et al.*, 2019).

O processo de conversão do amido da mandioca em etanol envolve etapas de hidrólise enzimática e fermentação, que podem ser influenciadas por fatores como a estrutura do amido, a idade de colheita e os métodos de quantificação da glicose disponível (Zhu *et al.*, 2023). Estudos apontam que a eficiência desse processo depende da escolha do cultivar e das condições ideais de colheita e análise, elementos que podem maximizar o rendimento de etanol e a viabilidade econômica do processo (Phachanseesoulath *et al.*, 2022; Cornejo *et al.*, 2022).

VARIEDADES DE MANDIOCA INDUSTRIAIS E POTENCIAL PARA GERAÇÃO DE ETANOL

O potencial de produção de etanol a partir de variedades industriais de mandioca é notável, especialmente devido ao alto teor de amido e à sua eficiência no rendimento alcoólico. De acordo com Huang *et al.* (2019), a taxa média de produção alcoólica de mandioca na fermentação industrial alcança 44,76%, superando a taxa média do milho, que é de 38,22%. Isso destaca a mandioca como uma matéria-prima competitiva e promissora para a produção de etanol, dada sua maior capacidade de conversão de amido em etanol no processo de fermentação industrial.

A seleção de variedades de mandioca para a produção de etanol é influenciada por diversos fatores, como o rendimento de raízes, teor de amido e adaptabilidade a diferentes condições ambientais. Yuanjit *et al.* (2023) destacam que variedades promissoras para produção industrial apresentam alto teor de amido e alto rendimento de raízes, características que aumentam a eficiência na produção de etanol.

A otimização da produção de etanol a partir do amido de mandioca pode ser alcançada por meio de processos aprimorados de hidrólise ácida e fermentação. Um estudo realizado por Zamora *et al.* (2019) desenvolveu um modelo cinético para a sacarificação do amido de mandioca por hidrólise ácida, obtendo uma conversão de 89,84% para açúcares fermentáveis e alcançando uma concentração final de etanol de 49,76% Alc/vol. após a fermentação com *Saccharomyces cerevisiae*. Esses resultados demonstram que a integração de controle otimizado nas etapas de hidrólise e fermentação pode aumentar substancialmente a eficiência do processo de produção de etanol a partir de mandioca.

HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO AMIDO DA MANDIOCA PARA PRODUÇÃO DE ETANOL

A produção de etanol a partir do amido de mandioca em um processo de uma única etapa, combinando hidrólise enzimática e fermentação, representa uma alternativa viável e eficiente para a produção de biocombustíveis. Esse método permite a conversão de até 80,19% do amido em glicose, que é fermentada em etanol com rendimentos que atingem 81,86 g/L em escala laboratorial e 70,74 g/L em escala industrial, aproximando-se dos valores obtidos por processos comerciais com melaço. A tecnologia demonstrou sucesso em escalonamento, passando de 5 L em laboratório para 200 L em planta piloto e 3000 L em escala industrial, com eficiência e produtividade preservadas em todos os níveis (Krajang *et al.*, 2021).

A produção de etanol a partir de mandioca fresca, utilizando a estratégia de hidrólise enzimática e fermentação simultâneas (HEFS), demonstrou ser uma alternativa eficaz e otimizada para a conversão do amido de mandioca em açúcares fermentáveis e posterior fermentação em etanol. O uso de enzimas redutoras de viscosidade, permite diminuir a viscosidade das suspensões de mandioca, facilitando o processo de mistura e aumentando a eficiência da fermentação. Em condições otimizadas de pH, carga enzimática e presença de casca, o processo atingiu concentrações de etanol de até 85,16 g/L e um rendimento equivalente a 100% do valor teórico em biorreatores, evidenciando o potencial do amido da mandioca como

matéria-prima para a produção sustentável de etanol em escala industrial (Castaño-Peláez, 2020).

A hidrólise enzimática do amido de mandioca utilizando α -amilase e glucoamilase foi efetiva na conversão do amido em glicose, que serviu como substrato para a produção de etanol pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* EC1118. Esse processo, testado em alta carga de sólidos de mandioca, alcançou elevadas concentrações de etanol, evidenciando o potencial da mandioca como uma fonte de biomassa economicamente viável para biocombustíveis em regiões tropicais. A comparação entre os processos de hidrólise e fermentação separadas (SHF) e sacarificação e fermentação simultâneas (SSF) demonstrou que ambos os métodos são eficientes, com uma produtividade de etanol próxima ao rendimento teórico. Ao realizar fermentações com alta carga de sólidos (30% p/v), tanto o processo de hidrólise e fermentação separadas (SHF) quanto o processo de sacarificação e fermentação simultâneas (SSF) mostraram-se eficientes para a produção de etanol, alcançando uma concentração final de etanol de até 133,6 g/L e um rendimento próximo ao teórico (0,51 g/g) (Phachanseesoulath *et al.*, 2022).

Variedades de mandioca com alto teor de amido e elevado potencial de rendimento são fundamentais para a produção de etanol, especialmente quando se busca uma alternativa economicamente viável e sustentável aos combustíveis fósseis. Recomenda-se o uso de variedades industriais que apresentem não apenas alto conteúdo de amido, mas também resistência a estresses bióticos e abióticos e flexibilidade em relação à época de cultivo e colheita. Essas características tornam a mandioca uma matéria-prima promissora para o desenvolvimento do setor de biocombustíveis, contribuindo para a sustentabilidade energética e independência de fontes não renováveis (Michele, 2021).

EMPREGO DO GLICOSÍMETRO PARA A QUANTIFICAÇÃO DE GLICOSE EM AMOSTRAS NÃO-SANGUÍNEAS

A quantificação de glicose por meio de glicosímetros está se expandindo, transcendendo o monitoramento sanguíneo para abranger aplicações promissoras em matrizes não sanguíneas, a exemplo dos alimentos. O método bioanalítico baseado na reação mediada por α -glicosidase para quantificar glicose e ácido ascórbico, são detectáveis pelo glicosímetro sem a necessidade de modificações no dispositivo, no substrato ou em etapas adicionais de purificação. A técnica utiliza a capacidade do glicosímetro de realizar leituras eletroquímicas de glicose de forma rápida, portátil e econômica, destacando-se como uma ferramenta simplificada para aplicações

em ambientes que exigem segurança e controle de qualidade, sem a necessidade de equipamentos complexos e de alto custo (Zhang; Yang, 2022).

O glicosímetro digital On Call Plus® Guide Me foi avaliado como uma alternativa prática e de baixo custo para quantificação de açúcares redutores em amostras de polpa de frutas. O processo de validação incluiu a construção de uma curva de calibração com padrões de glicose, a análise de interferências causadas pela presença de outros açúcares, como frutose e sacarose, e a comparação dos resultados com o método padrão ADNS (Ácido 3,5-dinitrosalicílico). Os parâmetros de validação indicaram uma correlação significativa entre os métodos, com o glicosímetro apresentando sensibilidade ($SENS = 0,6358$), linearidade elevada ($LIN = 0,9939$) e limites de detecção ($LOD = 26 \text{ mg/dL}$) e quantificação ($LOQ = 122 \text{ mg/dL}$) adequados para a análise de açúcar redutor. Esses resultados sugerem que o glicosímetro pode ser utilizado de forma eficaz e eficiente para a análise rápida de açúcares em polpas de frutas, oferecendo vantagens em termos de economia de tempo, menor uso de reagentes e geração reduzida de resíduos (Souza; Oliveira; Souza, 2021).

Os glicosímetros representam uma alternativa econômica e acessível em relação aos métodos laboratoriais tradicionais para a quantificação da glicose. Ao possibilitar medições rápidas e portáteis, esses dispositivos eliminam a dependência de reagentes e equipamentos caros, simplificando o processo de análise. Essa abordagem prática é especialmente útil em ambientes clínicos e comunitários, onde a infraestrutura laboratorial pode ser limitada, garantindo eficiência e redução de custos (Gygliola-Ormachea *et al.*, 2020).

Diante do exposto e considerando a relevância do tema, este estudo teve como objetivo avaliar o potencial de produção de etanol em quatro cultivares industriais de mandioca, analisando a influência da idade de colheita (12 e 15 meses) e de dois métodos de quantificação de glicose: o glicosímetro Accu-Chek® Guide Me e o cálculo baseado no coeficiente de hidrólise enzimática. A importância da presente pesquisa reside na identificação de estratégias que otimizem o processo de produção de etanol, contribuindo para o desenvolvimento de uma matriz energética mais sustentável. Além disso, a abordagem adotada proporciona dados inéditos e práticos para a seleção de cultivares de mandioca com alto potencial bioenergético, fortalecendo a integração entre ciência e desenvolvimento econômico.

PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

COLETA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS DE MANDIOCA

A investigação foi conduzida utilizando-se raízes de mandioca provenientes da rede de multiplicação e transferência de sementes de mandioca (RENIVA) da Embrapa, cultivadas em campo experimental localizado no Parque Agrotecnológico na cidade de Palmas, estado do Tocantins. Realizou-se uma seleção de quatro cultivares industriais: BRS Caipira, BRS Formosa, BRS Jari Branca e BRS Mulata, das quais foram obtidos 6 kg de raízes de cada cultivar.

O processamento preliminar das amostras envolveu a lavagem e o descascamento das raízes, seguido por um procedimento de moagem grossa. Posteriormente, o material foi secado em forno equipado com circulação forçada de ar a uma temperatura de 55°C por um período de 72 horas. Ao atingir o equilíbrio térmico com a temperatura ambiente, a pesagem final e a moagem foram realizadas utilizando um moinho tipo Willey (peneira Mesh de 0,5 mm).

DETERMINAÇÃO DA MATÉRIA SECA E DO TEOR DE AMIDO

A avaliação do teor de matéria seca foi realizada por meio do cálculo da razão percentual entre o peso final (Pf) e o peso inicial (Pi) das amostras, articulada por meio da fórmula MS (%) = $(Pf \times 100) / Pi$. Para quantificar o teor de amido, foi empregada a metodologia de balanço hidrostático (Grosmann & Freitas, 1950), em que o teor de amido é derivado da dedução de 4,65 do teor de matéria seca, que é obtido pela equação $AMIDO (\% MS) = 15,75 + 0,0564 \times P$, com P representando o peso de 3,0 kg de raízes submersas em solução aquosa.

VARIÁVEIS DO ESTUDO

A presente investigação examinou três variáveis principais sendo a glicose aferida por duas metodologias distintas. A associação das metodologias para a aferição da glicose objetivou investigar potenciais interferências para estimativa do potencial de produção de etanol.

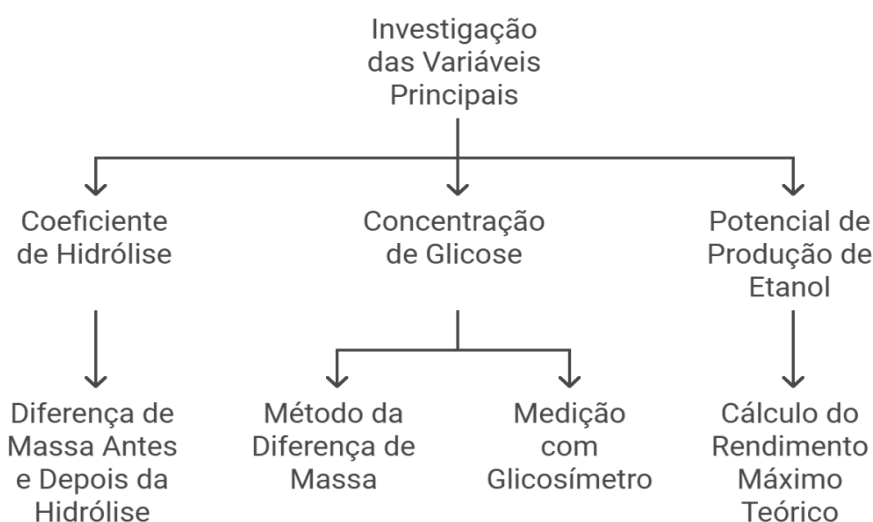
O coeficiente de hidrólise foi definido pela razão entre a quantidade de amido que sofreu hidrólise e a quantidade inicial de amido, determinada pelo diferencial de massa do substrato no início e na conclusão do procedimento hidrolítico.

A concentração de glicose no hidrolisado foi estimada pelo coeficiente de hidrólise (por diferença de peso da amostra inicial e final após hidrólise) e aferida também através do glicosímetro Accu-Chek® Guide Me por meio da quantificação da glicose livre proveniente da hidrólise enzimática do amido. A concentração da glicose foi expressa em g/L em ambas as determinações para efeito de comparação entre as mesmas.

O potencial de produção de etanol foi determinado pelo cálculo do rendimento teórico máximo, derivado dos princípios estequiométricos da reação de Gay-Lussac. O fator de conversão ajustado de 46,49 kg de etanol por 100 kg de açúcar redutor total (ART), conforme delineado por Finguerut *et al.* (1985), foi empregado para suplantiar o valor teórico de 51,1 kg de etanol por 100 kg de ART.

Essas variáveis foram examinadas nos diferentes cultivares de mandioca industriais com o objetivo de aumentar a eficiência geral da produção de etanol e subsidiar a pesquisa de melhoramento genético de cultivares de mandioca para a produção de etanol.

Figura 1 — Variáveis analisadas para avaliar o efeito de diferentes cultivares de mandioca na produção de etanol.



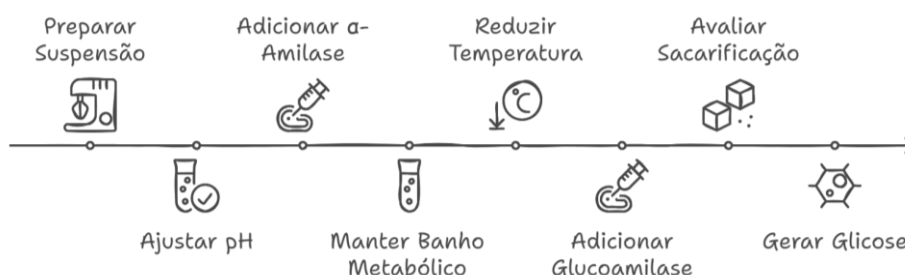
Elaboração: Do autor, 2025.

DESCRIÇÃO DO FLUXOGRAMA EXPERIMENTAL

O procedimento de hidrólise enzimática e sacarificação do amido de mandioca foi executado em uma abordagem sequencial de duas fases, conforme ilustrado na Figura 2. Na fase inicial, uma suspensão foi constituída utilizando-se 1 g de farinha de mandioca em 40 ml de água destilada, com o pH ajustado para 5,0. Posteriormente, a enzima α -amilase (Liquozyme® Supra 2.2X) foi incorporada na concentração de 30 μ l/g para facilitar a hidrólise em banho metabólico. Após esta primeira etapa, a temperatura foi reduzida para 60° C, iniciando a segunda fase do processo com a incorporação da enzima amiloglicosidase (AMG 300L) na concentração de 40 μ l/g. A sacarificação também foi avaliada, culminando na geração de glicose e subprodutos na conclusão do procedimento. Esse fluxograma experimental

facilitou uma avaliação sistemática da influência dos cultivares de mandioca nos vários estágios do processo de conversão do amido.

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



Elaboração: Do autor, 2025.

DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

A estrutura experimental empregada foi inteiramente casualizada, utilizando-se um planejamento fatorial sob dois arranjos distintos. O primeiro, um fatorial 4 x 2 para avaliar o coeficiente de hidrólise enzimática do amido, sendo quatro cultivares de mandioca e duas idades de colheita (12 e 15 meses), com cinco repetições alocadas por tratamento. O segundo arranjo fatorial compreendeu os dois fatores iniciais sendo associado um terceiro fator, o método de determinação da glicose (calculado pelo coeficiente de hidrólise e o medido através do glicosímetro Accu-Chek® Guide Me), resultando em um esquema fatorial 4 x 2 x 2 com cinco repetições por tratamento. Esta investigação foi conduzida no Laboratório de Solo e Utilização de Resíduos Agroindustriais (LASOR) da Universidade Federal do Tocantins — UFT — campus de Palmas — TO.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e foram normalizados quando necessário. A análise de variância foi realizada utilizando o teste F a um nível de significância de 5%. As médias dos tratamentos e seus respectivos efeitos foram comparados por meio do teste de Scott-Knott em um limite de probabilidade de 5%. As avaliações estatísticas foram conduzidas utilizando o software R versão 3.5.1 (R Core Team (2022)).

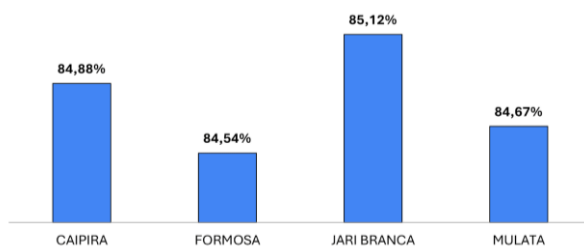
TEOR DE AMIDO E COEFICIENTE DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA

A caracterização inicial dos cultivares de mandioca foi realizada a partir da determinação do teor de amido, devido à relevância desse componente como um indicador de qualidade e potencial de aproveitamento das raízes na produção de biocombustíveis e outros produtos agroindustriais. Assim, avaliou-se o teor de amido em quatro cultivares de mandioca: BRS Caipira, BRS Formosa, BRS Jari Branca e BRS Mulata, com valores variando entre 84,54% e 85,12% com base na matéria seca (%MS), conforme ilustrado no Gráfico 1. O cultivar BRS Jari Branca apresentou o maior teor de amido (85,12%), seguido pelos cultivares BRS Caipira (84,88%), BRS Mulata (84,67%) e BRS Formosa (84,54%).

Esses dados foram obtidos logo após a coleta das amostras em campo, e serviram para caracterizar os diferentes cultivares em relação ao conteúdo de amido. A metodologia utilizada seguiu o protocolo de Grosmann & Freitas (1950), que calcula o teor de amido com base na matéria seca das amostras e na aplicação de uma equação que correlaciona o peso das raízes submersas com o teor de amido.

Os resultados apresentados, portanto, qualificam o perfil de amido de cada cultivar, sem a intenção de promover comparações estatísticas entre elas. Esta medição inicial é ponto de partida para viabilizar as determinações subsequentes deste estudo.

Gráfico 1 - Teor de Amido (%) em Quatro Cultivares de Mandioca Industriais.



O coeficiente de hidrólise enzimática, expresso em porcentagem, foi analisado para avaliar a eficiência de conversão do amido em açúcares fermentáveis, um parâmetro essencial para aplicações na produção de bioenergia. Esse coeficiente indica a capacidade de cada cultivar em ser convertido em açúcares de forma eficiente, aspecto fundamental para o potencial uso industrial.

O coeficiente de hidrólise enzimática atua como um indicador indireto do rendimento fermentativo potencial, uma vez que reflete a eficiência de conversão do amido em açúcares fermentáveis. Esse coeficiente é particularmente útil em programas de seleção de cultivares,

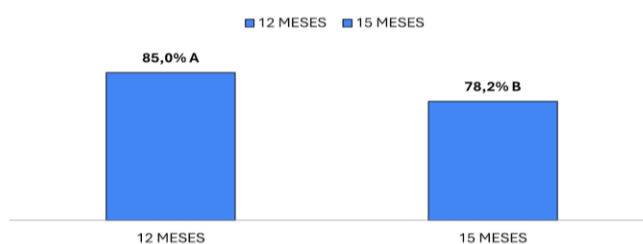
pois permite uma avaliação preliminar da capacidade de cada cultivar em gerar glicose a partir de suas reservas de amido. Dessa forma, cultivares com coeficientes de hidrólise mais elevados frequentemente são priorizados para estudos mais detalhados de fermentação e produção de etanol.

Os resultados relativos aos diferentes cultivares (Gráfico 2) mostraram que os cultivares BRS Formosa e BRS Mulata apresentaram os maiores coeficientes de hidrólise enzimática ($P < 0,05$), com valores de 82,70% e 82,74%, respectivamente. Os cultivares BRS Caipira e BRS Jari Branca apresentaram coeficientes significativamente menores ($P < 0,05$), de 80,93% e 79,98%, respectivamente. Esses valores caracterizam o perfil de conversão enzimática de cada cultivar, fornecendo informações sobre o potencial de cada um para uso industrial.

Além disso, a análise do fator idade de colheita (Gráfico 3) revelou que o coeficiente de hidrólise foi maior ($P < 0,05$) nas amostras colhidas aos 12 meses (85,0%) em comparação com aquelas colhidas aos 15 meses (78,2%). Essa diferença sugere que uma colheita mais precoce pode favorecer a eficiência de hidrólise, otimizando o rendimento na conversão enzimática.

Não foram observadas interações significativas entre os fatores "cultivar" e "idade de colheita", de modo que as médias foram apresentadas separadamente para cada fator. Esses resultados oferecem uma base comparativa sobre o perfil de hidrólise enzimática dos cultivares e tempos de colheita, indicando os cultivares mais adequados para aplicações industriais específicas segundo este parâmetro. Porém, o coeficiente de hidrólise pode não representar a melhor forma de estimar o potencial de produção de etanol.

Gráfico 2 - Coeficiente de Hidrólise Enzimática (%) em Função do Cultivar e Idade de Colheita.



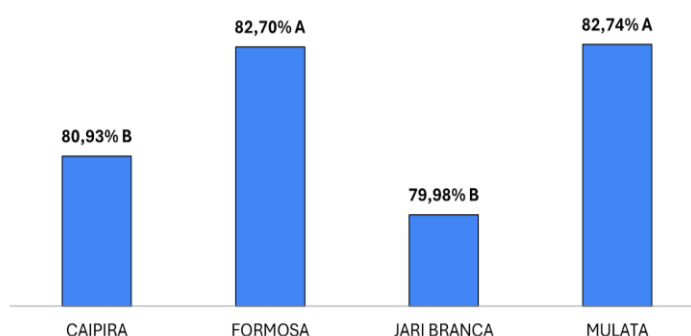
Médias seguidas de letras entre colunas comparam cultivares. Letras iguais não diferem entre si ($P > 0,05$) pelo teste Scott-Knott. Coeficientes de variação: $CV = 2,69\%$.

A eficiência da hidrólise enzimática do amido de mandioca, medida pelo coeficiente de hidrólise, é essencial para a conversão em glicose fermentável, que pode ser posteriormente transformada em etanol. A estrutura molecular do amido, particularmente a proporção de amilose e amilopectina, influencia significativamente essa eficiência. Amidos com menor teor

de amilose e cadeias de amilopectina mais acessíveis tendem a ser mais suscetíveis à ação enzimática, o que facilita a conversão em açúcares fermentáveis (Zhu, Bai & Gilbert, 2023; Vela *et al.*, 2023). Esse comportamento explica os altos coeficientes de hidrólise observados nos cultivares BRS Formosa e BRS Mulata, que demonstraram maior facilidade na conversão de amido em glicose quando comparados aos cultivares BRS Caipira e BRS Jari Branca.

Além disso, a eficiência de hidrólise pode ser otimizada pelo uso de enzimas específicas e pela manipulação de condições de reação. De acordo com Osaribie *et al.* (2019), o uso de α -amilase derivada de *Aspergillus niger* em condições controladas de pH e temperatura aumentou significativamente a taxa de conversão de amido em glicose, um método que pode ser particularmente vantajoso para cultivares com menor coeficiente de hidrólise. Esse estudo sugere que a aplicação de enzimas adaptadas para substratos específicos poderia maximizar o rendimento de glicose e reduzir a necessidade de etapas adicionais de hidrólise.

Gráfico 3 - Coeficiente de Hidrólise Enzimática (%) em Função da Idade de Colheita em Mandioca.



Médias seguidas de letras entre colunas comparam cultivares. Letras iguais não diferem entre si ($P > 0,05$) pelo teste Scott-Knott. Coeficientes de variação: $CV = 2,69\%$.

Outro aspecto relevante é a possibilidade de aprimoramento do coeficiente de hidrólise por meio de engenharia genética dos cultivares. Niu *et al.* (2023) destacam que a modificação genética de amidos visando uma estrutura granular menos cristalina e mais suscetível à degradação enzimática pode ser uma estratégia viável para aumentar o coeficiente de hidrólise. Isso implica que, no futuro, os programas de melhoramento de mandioca para bioenergia poderiam priorizar cultivares geneticamente modificados, otimizados para um processo de hidrólise enzimática mais eficiente, aumentando assim o potencial desses cultivares para a produção de etanol em larga escala.

TEORES DE GLICOSE NO HIDROLISADO

Embora o coeficiente de hidrólise enzimática ofereça uma visão preliminar do potencial de conversão do amido para usos industriais, ele pode não ser a melhor estimativa do potencial de produção de etanol. Para uma análise mais precisa, foram avaliados os teores de glicose nos hidrolisados das amostras de mandioca, utilizando duas metodologias distintas: uma estimativa calculada e uma medição direta por glicosímetro.

A estimativa calculada baseou-se na fração amilácea hidrolisada, conforme indicado pelo coeficiente de hidrólise enzimática, enquanto a segunda medida utilizou o glicosímetro Accu-Chek® Guide Me. Este dispositivo realiza uma reação enzimática com a glicose, gerando uma diferença de potencial elétrico diretamente sensível à glicose livre presente no hidrolisado. Em contraste, a glicose obtida pelo cálculo pode incluir dissacarídeos, como a maltose, que não são prontamente utilizáveis em processos fermentativos subsequentes.

Os resultados apresentados nos Gráficos 4 e 5 mostraram interações significativas entre os fatores "cultivar" e "idade de colheita", assim como entre "idade de colheita" e "método de determinação da glicose". Em relação aos cultivares, observou-se que BRS Caipira e BRS Formosa apresentaram concentrações de glicose mais elevadas aos 15 meses em comparação aos 12 meses, com valores de 19,39 g/L e 19,70 g/L, respectivamente. A análise por glicosímetro também destacou que, para amostras colhidas aos 15 meses, as concentrações de glicose livre foram significativamente mais altas, com destaque para o método Accu-Chek® Guide Me, que registrou um valor de 20,01 g/L. Em contraste, o método calculado apresentou menor variação entre as idades de colheita.

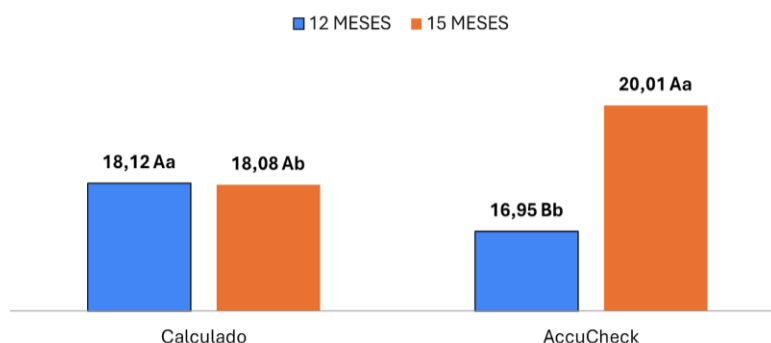
Essas diferenças podem ser atribuídas à estrutura do amido, que influencia a quantidade de glicose livre disponível, especialmente em função da idade de colheita. Este aspecto é fundamental, pois a presença de dissacarídeos ou a menor disponibilidade de glicose livre podem impactar diretamente a eficiência do processo fermentativo. A análise dos teores de glicose livre versus dissacarídeos nos hidrolisados nos diferentes cultivares e idades de colheita oferece, assim, uma visão mais detalhada sobre o potencial de cada cultivar para a produção de etanol, destacando o papel da idade de colheita e do método de medição.

Além disso, a presença de dissacarídeos, como a maltose, no hidrolisado pode afetar a eficiência fermentativa, uma vez que a maioria das cepas de leveduras comerciais utilizadas na produção de etanol tem menor capacidade de fermentar dissacarídeos diretamente. Assim, o uso de análises complementares, como a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), poderia fornecer uma visão mais detalhada sobre o perfil de açúcares no hidrolisado. Esse tipo

de análise ajudaria a identificar a proporção de glicose livre em comparação a outros açúcares fermentáveis, orientando melhor as escolhas no desenvolvimento de cultivares voltados para a bioenergia.

A presença de glicose livre no hidrolisado é crucial para a produção eficiente de etanol, pois leveduras como *Saccharomyces cerevisiae* priorizam a glicose como substrato fermentável. Zhang *et al.* (2023) salientam que a fermentação por leveduras requer que a glicose esteja na forma livre, o que torna indispensável a conversão eficiente de amido em glicose antes do início da fermentação. Os dados obtidos neste estudo, apontaram variações nos teores de glicose de acordo com o método de medição, indicando que o glicosímetro Accu-Chek® Guide Me foi mais eficaz em detectar a glicose livre, enquanto o método calculado pode ter incluído dissacarídeos, como a maltose. Essa diferença é consistente com os achados de Souza, Oliveira e Souza (2021), que afirmaram que o glicosímetro é uma ferramenta rápida e prática para quantificação de glicose, oferecendo precisão para amostras complexas e minimizando interferências.

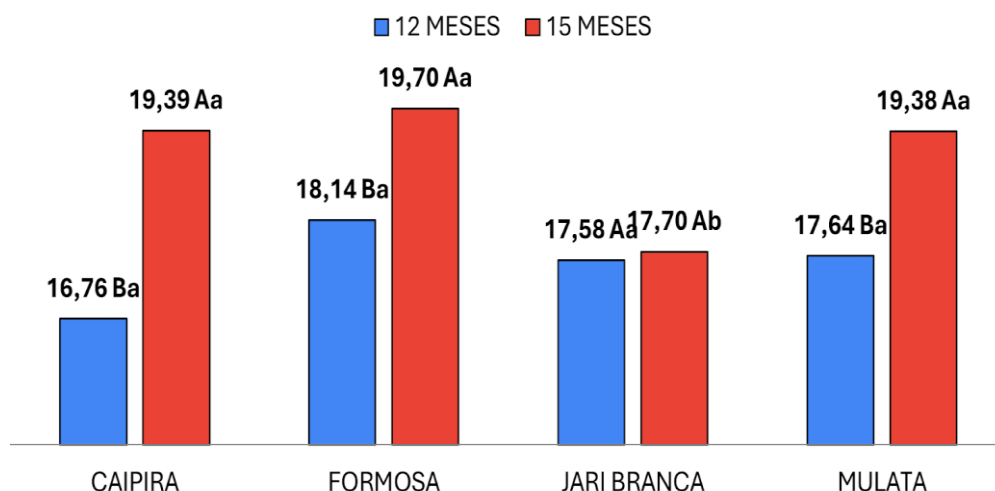
Gráfico 4 - Concentração de Glicose (g/L) em Hidrolisados de Mandiocas de Diferentes Cultivares e Idades de Colheita.



Médias seguidas por letras minúsculas (comparam variedades dentro idades de colheita) e letras maiúsculas (comparam idades de colheita dentro de cultivares). Letras iguais não diferem entre si ($P > 0,05$) pelo teste Scott-Knott. **Coeficientes de variação:** CV = 6,06%.

A hidrólise enzimática, quando bem otimizada, pode elevar significativamente os teores de glicose livre no hidrolisado. Khvedelidze *et al.* (2019) apontam que o uso de enzimas termoestáveis, como α -amilase e glicoamilase, favorece a conversão em glicose em temperaturas elevadas, o que reduz a necessidade de resfriamento e aumenta a eficiência do processo. Assim, a escolha e otimização das condições de reação são cruciais, pois garantem que uma quantidade suficiente de glicose livre esteja disponível para a fermentação, potencializando o rendimento de etanol.

Gráfico 5 - Comparação entre Métodos de Quantificação de Glicose, g/L (Calculado e Accu-Chek® Guide) nas Amostras de Mandioca.



Médias seguidas por letras minúsculas (comparam métodos dentro idades de colheita) e letras maiúsculas (comparam idades de colheita dentro de métodos). Letras iguais não diferem entre si ($P > 0,05$) pelo teste Scott-Knott. Coeficientes de variação: CV= 6,06%.

Além disso, a presença de dissacarídeos no hidrolisado, como a maltose, pode prejudicar a eficiência da fermentação, pois muitas cepas de leveduras, incluindo *Saccharomyces cerevisiae*, apresentam inibição temporária na produção de enzimas para degradar dissacarídeos diretamente (Kayikci; Nielsen, 2015; Simpson-Lavy; Kupiec, 2023). Zhang & Yang (2022) destacaram que a utilização de glicosímetros pode fornecer uma medida mais direta e precisa de glicose livre, essencial para evitar esse problema. Essa observação reforça a importância de métodos de análise que garantam que apenas a glicose livre seja contabilizada, evitando resultados potencialmente inflacionados e melhorando a previsibilidade do rendimento de etanol.

IMPORTÂNCIA DO TEOR DE GLICOSE PARA O DESENVOLVIMENTO DE CULTIVARES

O teor de glicose livre no hidrolisado não apenas determina a eficiência da fermentação, mas também é um parâmetro importante para o desenvolvimento de cultivares de mandioca destinados à bioenergia. Yuanjit *et al.* (2023) sugerem que cultivares com altos teores de amido e glicose livre são preferíveis para a produção industrial de etanol, pois apresentam maior potencial de rendimento e eficiência no processo fermentativo. Esse parâmetro deve ser prioritário em programas de melhoramento genético que visam a obtenção de variedades de mandioca otimizadas para etanol.

Além disso, o teor de glicose livre, quando comparado ao teor total de carboidratos, fornece uma indicação mais precisa do rendimento potencial de etanol. Michele (2021) enfatiza que cultivares de mandioca com alto rendimento de glicose após a hidrólise possuem maior valor econômico para o setor de biocombustíveis, devido à conversão rápida e eficiente em etanol em processos industriais. Essa correlação direta entre teor de glicose livre e produtividade reforça a importância de métodos analíticos precisos e de fácil aplicação, como o glicosímetro, para monitorar e selecionar cultivares promissores.

Finalmente, os resultados indicam que a seleção de cultivares para bioenergia deve levar em conta não apenas o teor de amido, mas também a facilidade de conversão em glicose e etanol. Cultivares com menor proporção de amilose, como sugerido por Niu *et al.* (2023), tendem a ser mais eficientes na hidrólise enzimática e no rendimento de glicose, o que poderia diminuir custos energéticos e aumentar a sustentabilidade do processo industrial de produção de etanol. Essa abordagem integrada é essencial para o desenvolvimento de cultivares que atendam à crescente demanda por fontes de energia renovável.

POTENCIAL DE PRODUÇÃO DE ETANOL

Para avaliar o potencial de geração de etanol dos diferentes cultivares de mandioca, foi quantificado o volume de etanol produzido, expresso em litros por tonelada de matéria seca (L/ton. MS). Ao contrário do que foi observado nos teores de glicose, não foram detectados efeitos significativos de interação entre os fatores "cultivar", "idade de colheita" e "método de determinação" para o volume final de etanol. Esse resultado se deve ao fato de que, para expressar o etanol em L/ton., foi necessário considerar as variações nos teores de amido e de matéria seca, o que pode colaborar para padronizar a base de comparação entre as diferentes variáveis analisadas.

Os resultados apresentados nos Gráficos 6 e 7 indicam que a cultivar BRS Formosa apresentou o maior potencial de produção de etanol, com uma média de 406,88 L/ton., seguido pelo cultivar BRS Mulata (398,50 L/ton.), porém, não diferindo significativamente entre si ($P > 0,05$). Os cultivares BRS Caipira e BRS Jari Branca, por outro lado, apresentaram produções significativamente mais baixas, com médias de 375,01 L/ton. e 384,40 L/ton., respectivamente, também não diferindo significativamente entre si ($P > 0,05$). Esses valores destacam a importância da escolha do cultivar para maximizar o rendimento de etanol, embora o fator "idade de colheita" também tenha influenciado os resultados.

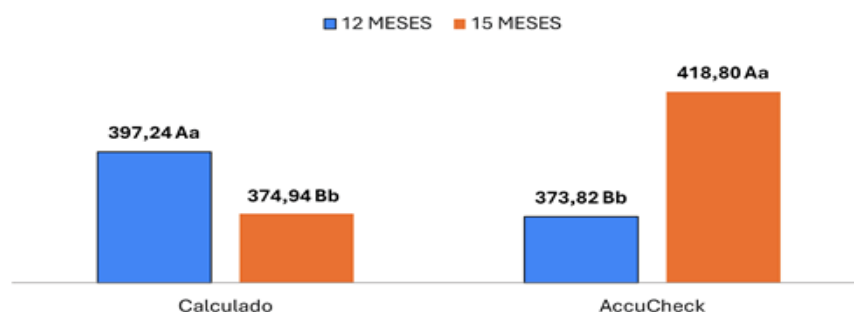
Uma observação importante foi a interação significativa entre "idade de colheita" e "método de determinação da glicose". Os dados sugerem que a produção de etanol foi sensivelmente maior para as amostras colhidas aos 15 meses, observada quando a glicose foi determinada pelo glicosímetro Accu-Chek® Guide Me. Este comportamento se inverteu quando a estimativa de glicose foi realizada pelo método calculado (com base no coeficiente de hidrólise enzimática), sugerindo uma possível imprecisão no método calculado para amostras colhidas em idades diferentes.

Esses achados ressaltam a importância de se considerar o teor de glicose livre no hidrolisado, além do potencial de geração de etanol, como critérios para programas de seleção e melhoramento genético de mandioca para bioenergia. A diferença nos métodos de determinação de glicose, associada à idade de colheita, pode impactar a precisão dos dados de produção de etanol, indicando a necessidade de um método analítico mais robusto para suportar decisões em programas de desenvolvimento de cultivares voltados para bioenergia.

A padronização em L/ton. de matéria seca é fundamental, pois o teor de matéria seca pode variar significativamente entre os cultivares e entre as idades de colheita. Estudos sugerem que cultivares com maior teor de matéria seca tendem a apresentar maior rendimento de etanol, devido à maior concentração de amido disponível para conversão em açúcares fermentáveis. Dessa forma, padronizar os dados com base na matéria seca garante uma comparação justa entre os cultivares e aumenta a precisão na avaliação do potencial de cada um para a produção de etanol.

Vítor *et al.* (2024) avaliaram quatro cultivares de mandioca (BRS Caipira, BRS Formosa, BRS Mucuruna e BRS Tapioqueira) considerando os parâmetros: coeficiente de hidrólise, concentração de glicose, rendimento fermentativo e produção de etanol. O cultivar BRS Tapioqueira apresentou o maior rendimento de etanol (329,11 L/ton. de matéria seca), enquanto o cultivar BRS Mucuruna obteve os menores valores. Os autores evidenciaram que a eficiência da hidrólise enzimática depende das características de cada cultivar, sendo a BRS Tapioqueira uma opção promissora para a produção de etanol.

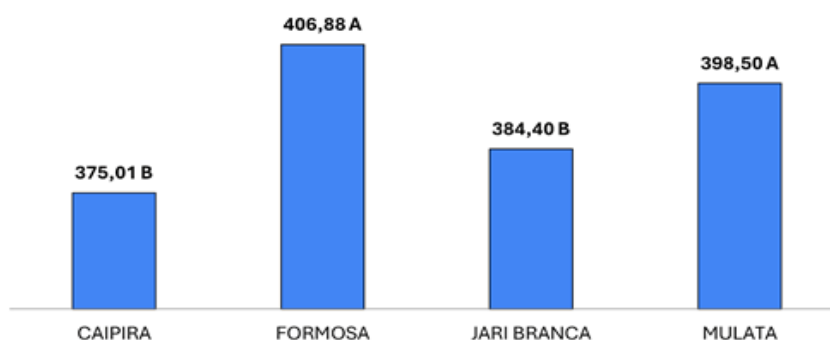
Gráfico 6 - Potencial de Produção de Etanol (L/ton. MS) para Diferentes Cultivares de Mandioca.



Médias seguidas de letras entre colunas comparam cultivares. Letras iguais não diferem entre si ($P > 0,05$) pelo teste Scott-Knott. **Coefficientes de variação:** CV = 5,86%.

Um dos achados mais relevantes deste estudo foi a interação significativa entre "idade de colheita" e "método de determinação" no potencial de produção de etanol. Esse resultado sugere que o método utilizado para medir o teor de glicose livre (cálculo baseado no coeficiente de hidrólise versus medição direta pelo glicosímetro) influencia a interpretação dos rendimentos de etanol, dependendo da idade de colheita. Especificamente, o glicosímetro Accu-Chek® Guide Me mostrou valores de glicose e, consequentemente, de etanol mais altos nas amostras colhidas aos 15 meses, enquanto o método calculado apresentou o comportamento inverso. Esse achado indica que mudanças estruturais no amido, que ocorrem ao longo do tempo de desenvolvimento da planta, podem afetar a disponibilidade de glicose e, por extensão, o rendimento de etanol.

Gráfico 7 - Potencial de Produção de Etanol (L/ton. MS) para Diferentes Idades de Colheita de Mandioca.



Médias seguidas por letras minúsculas (comparam métodos dentro idades de colheita) e letras maiúsculas (comparam idades de colheita dentro de métodos). Letras iguais não diferem entre si ($P > 0,05$) pelo teste Scott-Knott. **Coefficientes de variação:** CV = 5,86%.

Essas diferenças entre os métodos de determinação da glicose, associadas à idade de colheita, destacam a importância de escolher a técnica analítica mais adequada para o monitoramento do potencial de produção de etanol. De acordo com Cornejo *et al.* (2022), a estrutura granular do amido e a formação de complexos podem variar com o tempo, alterando a acessibilidade do amido à hidrólise enzimática e, portanto, o teor de glicose livre. Esse fenômeno pode explicar as diferenças observadas entre as medições e sugere que o glicosímetro pode ser uma ferramenta mais precisa para amostras colhidas em idades avançadas, enquanto o método de cálculo pode ser mais adequado para amostras colhidas em idades precoces.

Esse achado ressalta a importância de ajustar os métodos de quantificação e o tempo de colheita em programas de melhoramento genético, com o objetivo de selecionar cultivares que maximizem o potencial de etanol ao longo do desenvolvimento da planta. Além disso, a interação entre idade de colheita e método de medição da glicose fornece insights para o aprimoramento dos processos de fermentação, uma vez que a escolha do método analítico pode influenciar diretamente a avaliação do rendimento de etanol e, consequentemente, a viabilidade econômica da produção de etanol a partir da mandioca.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste estudo oferecem uma visão abrangente sobre o potencial de cultivares de mandioca para a produção de etanol. Observou-se que o cultivar BRS Formosa apresentou o maior potencial de geração de etanol, destacando-se como uma escolha promissora para programas de bioenergia. No entanto, a interação significativa entre a idade de colheita e o método de determinação da glicose reforça a importância de uma análise precisa e detalhada do perfil de açúcares. A escolha do método analítico e a consideração do teor de glicose livre versus dissacarídeos são fatores cruciais que impactam diretamente o rendimento de etanol e a viabilidade industrial dos cultivares estudados. Esses achados fornecem informações valiosas para futuros programas de seleção e melhoramento de mandioca para a bioenergia, especialmente no contexto de desenvolvimento de cultivares adaptados para a produção de etanol em larga escala.

REFERÊNCIAS

CASTAÑO-PELÁEZ, H. I. Producción de etanol a partir de yuca fresca utilizando la estrategia de proceso HEFS (hidrólisis enzimática y fermentación simultáneas) usando enzimas reductoras de viscosidad. **Revista Politécnica**, [S. l.], v. 16, n. 31, p. 19–28, 2020. DOI: 10.33571/rpolitec.v16n31a2. Disponível em: <https://doi.org/10.33571/rpolitec.v16n31a2>. Acesso em: 7 nov. 2024.

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**, [S. l.], v. 27, n. 18, 2022. DOI: 10.3390/molecules27186098. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules27186098>. Acesso em: 7 nov. 2024.

FATHIMA, A. A.; SANITHA, M.; TRIPATHI, L.; MUIRURI, S. Cassava (*Manihot esculenta*) dual use for food and bioenergy: A review. **Food and Energy Security**, [S. l.], v. 12, n. 1, 2023. DOI: 10.1002/fes3.380. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/fes3.380>. Acesso em: 3 nov. 2024.

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**, [S. l.], v. 160/162, n. 4, p. 75-80, 1950.

GYGLIOLA-ORMACHEA, P. B.; TARQUINO-FLORES, G.; CHAMBI-GUTIERREZ, E.; AVERANGA-CONDE, K.; SALCEDO-ORTIZ, L. Determinación de glucosa: El uso de glucómetros como prueba rápida de análisis Glucose determination: The use of glucometers as a rapid test of analysis. **Journal of the Selva Andina Research Society**, [S. l.], v. 11, n. 1, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.36610/j.jsars.2020.110100038>. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.36610/j.jsars.2020.110100038>. Acesso em: 3 nov. 2024.

HUANG, Z. Study on Technological Parameters of Pilot Production of Ethanol. **American Journal of Energy Engineering**, [S. l.], v. 7, n. 1, p. 39, 2019. DOI: 10.11648/j.ajee.20190701.15. Disponível em: <https://doi.org/10.11648/j.ajee.20190701.15>. Acesso em: 3 nov. 2024.

KHVEDELIDZE, R.; KUTATELADZE, L.; SADUNISHVILI, T.; DARBAIDZE, Z.; ALEKSIDZE, T. Heat Stable α - and Glucoamylase Performing Deep Enzymatic Hydrolysis of Starch to Fermentable Glucose. **European Scientific Journal ESJ**, [S. l.], v. 15, n. 21, 2019. DOI: 10.19044/esj.2019.v15n21p34. Disponível em: <https://doi.org/10.19044/esj.2019.v15n21p34>. Acesso em: 2 nov. 2024.

KAYIKCI, Ö.; NIELSEN, J. **Glucose repression in *Saccharomyces cerevisiae***. Oxford: University Press, 2015.

KRAJANG, M.; MALAIRUANG, K.; SUKNA, J.; RATTANAPRADIT, K.; CHAMSART, S. Single-step ethanol production from raw cassava starch using a combination of raw starch hydrolysis and fermentation, scale-up from 5-L laboratory and 200-L pilot plant to 3000-L industrial fermenters. **Biotechnology for Biofuels**, [S. l.], v. 14, n. 1, 2021. DOI: 10.1186/s13068-021-01903-3. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13068-021-01903-3>. Acesso em: 7 nov. 2024.

MICHELE, O. Renewable Energy Alternatives: Etanol in Cassava as an Energy. **International Journal Paper Advance and Scientific Review**, [S. l.], v. 2, n. 1, p. 14–17,

2021. DOI: 10.47667/ijpasr.v2i1.72. Disponível em: <https://doi.org/10.47667/ijpasr.v2i1.72>. Acesso em: 7 nov. 2024.

NIU, L.; LIU, L.; ZHANG, J.; SCALI, M.; WANG, W.; HU, X.; WU, X. Genetic Engineering of Starch Biosynthesis in Maize Seeds for Efficient Enzymatic Digestion of Starch during Bioethanol Production. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 24, n. 4, 2023. DOI: 10.3390/ijms24043927. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms24043927>. Acesso em: 2 nov. 2024.

OSARIBIE, N. A.; NDUBUISI, J. C.; EWA, O.; KARIMAH, M. R.; ODA, O. Optimization of *Aspergillus niger* α -amylase Activity for Enhanced Glucose Production from Cassava Starch. **Asian Journal of Biotechnology and Bioresource Technology**, [S. l.], v. 5, n. 4, p. 1–6, 2019. DOI: 10.9734/ajb2t/2019/v5i430065. Disponível em: <https://doi.org/10.9734/ajb2t/2019/v5i430065>. Acesso em: 2 nov. 2024.

PHACHANSEESOULATH, N.; KIM, S.; SHIN, J.; PARK, J.; KIM, R.; GEUM, S.; JEONG, D.; KIM, I. J.; KIM, S. R. The use of commercial wine yeast *Saccharomyces cerevisiae* EC1118 for cassava ethanol production at high solids loading. **Korean Journal of Food Preservation**, [S. l.], v. 29, n. 4, p. 653–661, 2022. DOI: 10.11002/kjfp.2022.29.4.653. Disponível em: <https://doi.org/10.11002/kjfp.2022.29.4.653>. Acesso em: 3 nov. 2024.

R Core Team. **R: a language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2022.

SIMPSON-LAVY, K.; KUPIEC, M. **Glucose Inhibits Yeast AMPK (Snf1) by Three Independent Mechanisms**. Multidisciplinary Digital Publishing Institute: MDPI, 2023.

SOUZA, T. S.; OLIVEIRA, J. S.; SOUZA, L. C. C. Glicosímetro digital aplicado a análise de açúcar redutor em polpa de frutas. **Revista Ifes Ciência**, [S. l.], v. 7, n. 1, p. 1–11, 2021. DOI: 10.36524/ric.v7i1.781. Disponível em: <https://doi.org/10.36524/ric.v7i1.781>. Acesso em: 2 nov. 2024.

VELA, A. J.; VILLANUEVA, M.; LI, C.; HAMAKER, B.; RONDA, F. Ultrasound treatments of tef [*Eragrostis tef* (Zucc.) Trotter] flour rupture starch α -(1,4) bonds and fragment amylose with modification of gelatinization properties. **LWT**, [S. l.], v. 174, 2023. DOI: 10.1016/j.lwt.2023.114463. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114463>. Acesso em: 2 nov. 2024.

VÍTOR, L. A. D.; SIQUEIRA, G. B.; COLLICCHIO, E.; CAMPOS, G. A.; SANTOS, D. B. R. Produção sustentável de etanol: avaliação da eficiência da hidrólise enzimática no amido de mandioca. Desafios: **Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins**, [S. l.], v. 11, n. 7, 2024. DOI: https://doi.org/10.20873/Agroenergia_2024_v11_n7_1. Disponível em https://doi.org/10.20873/Agroenergia_2024_v11_n7_17. Acesso em: 12 nov. 2024.

YUANJIT, P.; VUTTIPONGCHAIKIJ, S.; WONNAPINI, P.; CEBALLOS, H.; KRAICHAK, E.; JOMPUK, C.; KITTIPADAKUL, P. Evaluation of Yield Potential and Combining Ability in Thai Elite Cassava Varieties for Breeding Selection. **Agronomy**, [S. l.], v. 13, n. 6, 2023. DOI: 10.3390/agronomy13061546. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agronomy13061546>. Acesso em: 3 nov. 2024.

ZAMORA, L. L.; CALDERÓN, J. A. G.; VÁZQUEZ, E. T.; REYNOSO, E. B. Optimization of Ethanol Production Process from Cassava Starch by Surface Response Article. **Journal of the Mexican Chemical Society**, [S. l.], v. 54, n. 4, p. 198–203, 2019. DOI:

<https://doi.org/10.29356/jmcs.v54i4.906>. Disponível em:

<https://doi.org/10.29356/jmcs.v54i4.906>. Acesso em: 3 nov. 2024.

ZHANG, H.; YANG, F. Q. α -Glucosidase-Mediated Glucometer Readout for Portable Monitoring of Acarbose and Miglitol. **Chemosensors**, [S. l.], v. 10, n. 6, 2022. DOI:

10.3390/chemosensors10060198. Disponível em:

<https://doi.org/10.3390/chemosensors10060198>. Acesso em: 3 nov. 2024.

ZHANG, H.; ZHANG, P.; WU, T.; RUAN, H. Bioethanol Production Based on *Saccharomyces cerevisiae*: Opportunities and Challenges. **Fermentation**, [S. l.], v.9, n.8, 2023. DOI: 10.3390/fermentation. Disponível em:

<https://doi.org/10.3390/fermentation9080709>. Acesso em: 3 nov. 2024.

ZHU, J.; BAI, Y.; GILBERT, R. G. Effects of the Molecular Structure of Starch in Foods on Human Health. **Foods**, [S. l.], v. 12, n. 11, 2023. DOI: 10.3390/foods12112263. Disponível em:

<https://doi.org/10.3390/foods12112263>. Acesso em: 3 nov. 2024.