



## A UTILIZAÇÃO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS PARA PRODUÇÃO DE BIOETANOL

DOI: 10.19177/rgsa.v8e1201931-43

Rafael Novaes Barros<sup>1</sup>, Maria do Socorro Mascarenhas Santos<sup>2</sup>  
Claudia Andrea Lima Cardoso<sup>3</sup>, Margareth Batistote<sup>4</sup>

### RESUMO

A utilização do bagaço de mandioca para a fabricação de etanol que pode ser obtido a partir de fontes sacarinas, amiláceas ou celulósicas, apresenta-se como uma alternativa para a reutilização deste resíduo minimizando assim os impactos ambientais decorrentes desta atividade industrial. Assim este estudo visa analisar a ação das enzimas no processo de hidrólise do bagaço de mandioca e seu potencial para a produção de etanol. O hidrolisado foi obtido utilizando as enzimas pectina,  $\alpha$ -amilase e glucoamilase de acordo com a especificidade de cada enzima. Para a produção de etanol foram utilizadas as leveduras Catandiuva-1 e Pedra-2 e na forma de mix. Foi feito um pré-inóculo em meio YPSAC 5% a 30°C para a obtenção da biomassa. Os ensaios fermentativos foram realizados em 50mL do hidrolisado na concentração de 12°Brix com pH 5,0 e, incubados nas temperaturas de 30 e 40°C. Foram analisados a biomassa, a viabilidade celular e a concentração do etanol. O hidrolisado obtido foi passível de fermentação, sendo que a melhor performance fermentativa foi na temperatura de 30°C em 30 horas para ambas as leveduras e para o mix, entretanto estas leveduras apresentaram sensibilidade à alta temperatura e a longos tempos de fermentação.

**Palavras-chave:** *Saccharomyces cerevisiae*. Biomassa. Enzima.

<sup>1</sup> Tecnólogo em Produção Sucoalcooleira. Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – UEMS. Unidade Glória de Dourados. E-mail: [rafaelnovaes88@yahoo.com.br](mailto:rafaelnovaes88@yahoo.com.br)

<sup>2</sup> Tecnóloga em Produção sucoalcooleira. Mestra em Recursos Naturais. Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul. Pós-graduação em Recursos Naturais. E-mail: [maria\\_mascarenhas@outlook.com](mailto:maria_mascarenhas@outlook.com)

<sup>3</sup> Química Licenciatura Plena. Pós-doutorado em Química. Docente do Programa de Pós-graduação em Recursos Naturais e dos cursos de Química Industrial e Química Licenciatura. Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul. E-mail: [claudia@uems.br](mailto:claudia@uems.br)

<sup>4</sup> Bióloga. Pós Doutora em Biotecnologia. Docente do Programa de Pós-graduação em Recursos Naturais e dos cursos de Química Industrial, Química Licenciatura e Engenharia Física. Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul. E-mail: [margareth@uems.br](mailto:margareth@uems.br)

## 1 INTRODUÇÃO

A crescente preocupação com o meio ambiente, principalmente, com as questões relacionadas às mudanças climáticas globais pondo em questionamento o padrão de consumo energético atual, e isso vem impulsionando a busca por fontes renováveis de energia que possam suprir as necessidades de consumo da sociedade (RITI et al., 2018). Assim, como o intuito de suprir esta demanda tem-se os combustíveis derivados de biomassa, como o etanol (TAYLAN et al., 2018).

Este biocombustível pode ser obtido a partir de diversas fontes renováveis de diversas culturas podendo ser utilizados, também, como matéria prima os resíduos agroindustriais através da conversão de suas propriedades a partir de trajetórias tecnológicas (BHARDWAJ, ZENONE, CHEN, 2015). Ademais, a mandioca ocupa o quarto lugar apresentando-se como uma fonte barata de energia, visto que sua composição majoritária é de polímeros de carboidratos, cerca de 60% da mandioca produzida no mundo é transformada e consumida como farinha ou utilizada como matéria-prima em produtos fermentados (ZHANG et al., 2016).

No processo de transformação da mandioca em amido são gerados um montante de resíduos que podem ser utilizados como matéria-prima para outros processos compondo produtos com um alto valor agregado (UBALUA, 2007). Neste escopo, está o bagaço da mandioca que sobra do processamento industrial desta cultura, composto por fibras sendo gerado em grandes quantidades e tratado como resíduo sólido podendo ser utilizado como complemento alimentar para animais (LU et al., 2012).

Esse resíduo corresponde a parte fibrosa da mandioca que é separada do amido, mas que contém, ainda, um alto teor de amido entre 40,1% e 75,1% (em peso seco) e entre 14,9% e 50,6% de fibra, composto principalmente de celulose e outros polissacarídeos não amiláceos que podem ser submetido a um processo de hidrólise, de forma progressiva (RATTANACHOMSRI et al., 2009), para obter açúcares de moléculas menores e serem passíveis de fermentação (PAES, 2018). Tal processo pode ser feito de forma ácida ou enzimática, sendo a última a que apresenta maiores vantagens.

As enzimas utilizadas para hidrolisar o amido podem ser classificadas como amilolíticas e atuam nas ligações  $\alpha$ -(1,4) e  $\alpha$ -(1,6). As principais são as endoamilases e exoamilases, que quebram as ligações glicosídicas das regiões

mais internas e externas, respectivamente, contudo o mecanismo de catálise difere de uma enzima para a outra (PINTO, CAMILI, CABELO, 2013; CURVELO-SANTANA, EHRHARDT, BASILE TAMBOURGI, 2010).

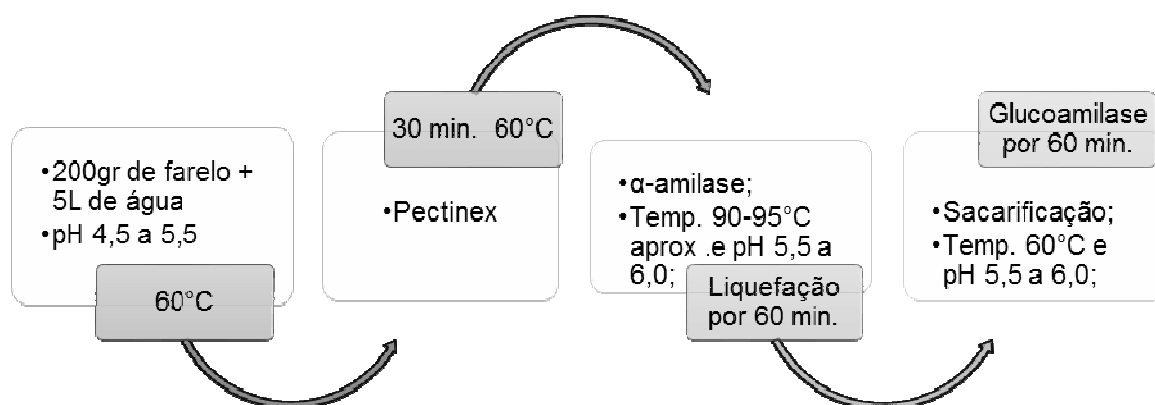
De acordo com Soares et al. (2010), cada enzima atua sobre um substrato específico, como exemplos, as amilases que quebram o amido atuando nas ligações glicosídicas presentes nas cadeias de amilose e amilopectina. Assim, o material rico em amido passa pela hidrólise e para que ocorra a sacarificação, que converte o amido a açúcares (principalmente a glicose) habilitando o composto para a fermentação pela ação das leveduras (CHENG & TIMILSINA, 2010; CHAVES, 2008). Diante do exposto, este estudo visa analisar a ação das enzimas no processo de hidrólise do bagaço de mandioca e o seu potencial para a produção de etanol.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Para a obtenção do hidrolisado foi utilizado o bagaço de mandioca, que foi gentilmente fornecido pela empresa, Indústria Agro Comercial Cassava S/A, localizada na cidade de Glória de Dourados-MS, Rua Cassava S/N. As enzimas utilizadas  $\alpha$ -amilase, Glucoamilase e Pectinex, foram doadas pela distribuidora, LNF Latino Americana. As leveduras utilizadas foram a Cantaduva-1(Cat-1), Pedra-2 (Pe-2) e leveduras na forma de mix (Ped-2+Cat-1).

Para a obtenção do hidrolisado foram pesados 200g do farelo que prontamente foi diluído em 5,0L de água destilada com pH na faixa entre 4,5 e 5,5, no qual foram adicionados 15 UI mL<sup>-1</sup> da enzima Pectinex, o tempo de reação foi de 30 minutos em temperatura de 60°C (Figura 1), logo após este período foi acrescentado ao meio reacional 30 UI mL<sup>-1</sup> da enzima  $\alpha$ -amilase e o pH ajustado para 5,5-6,0, a solução permaneceu por 60 minutos em temperatura de 90-95°C. A sacarificação foi completada com a adição de 30 UI mL<sup>-1</sup> da enzima glucoamilase em pH de 5,5-6,0 que agiu por 60 min. A conversão de substrato foi aferida a cada período de ação das enzimas com o auxílio de um refratômetro portátil com escala de 0 a 32°Brix. A suspensão foi resfriada à temperatura ambiente e filtrada com uma bomba a vácuo e um funil de Büchner. Para o processo fermentativo o hidrolisado foi aquecido por 60 minutos em chapa aquecedora para obter uma concentração de 12°Brix.

Figura 1. Fluxograma da padronização das etapas hidrólise do bagaço



Foram feitos pré-inóculos, em frascos Erlenmeyers de 125mL, com o meio líquido de cultivo YPSAC 2%, contendo sacarose 2,0% ( $p v^{-1}$ ) 1% de peptona ( $p v^{-1}$ ) e 1% de extrato de levedo ( $p v^{-1}$ ) e o pH ajustado para 5,0 com ácido clorídrico-1N e esterilizados em autoclave a 120 °C por 20 minutos, no qual foram adicionadas 0,10g de leveduras liofilizadas. O pré-inóculo permaneceu incubado por 24h em “shaker” a 200 rpm na temperatura 30 °C. Após este período as células foram centrifugadas por 20 minutos, ressuspensas e lavadas por três vezes consecutivas em solução salina (0,85%) estéril, resultando em uma concentração de 10mg mL<sup>-1</sup> de biomassa celular que foram utilizadas nos experimentos.

Os ensaios fermentativos foram realizados com 50mL do hidrolisado obtido na concentração de 12°Brix com pH 5,0, em frascos Erlenmeyers de 125 mL estéreis e incubados em shaker nas temperaturas de 30 e 40 °C e nos tempos de (10, 20, 30 e 40) horas alíquotas foram coletadas para análises de biomassa que foi realizada por espectrofotometria a 570 nm correlacionada com curva de calibração descrito por Batistote et al. (2010); viabilidade celular através da contagem em câmara de Neubauer utilizando o corante azul de metileno, segundo a metodologia descrita por Lee, Robinson e Wang (1981).

A concentração do etanol foi determinada por cromatógrafo a gás CG 3900 com detector de ionização de chama (Varian), utilizando uma coluna capilar de sílica fundida de 30 m de comprimento (ZB-5). A condição cromatográfica empregada foi: volume de injeção 1μL, razão de split 1:20 e temperatura do forno de 90°C. As temperaturas do injetor e do detector foram de 240°C, as amostras foram filtradas em ultrafiltro de 0,22μm de acordo com Batistote et al. (2010).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a ação enzimática e conversão do substrato, foram utilizadas três enzimas as quais apresentaram especificidade pelo substrato em diferentes condições no meio reacional como apresenta a (tabela 1). A ação da enzima pectina (Pectinex), em pH entre de 4,5 e 5,5, resultou em 1,5° de sólidos solúveis no meio reacional. Com a adição da  $\alpha$ -amilase, em pH de 5,5 a 6,0, houve um aumento no teor de sólidos solúveis para 7,2°, e com a glucoamilase, em pH de 5,5 a 6,0, este incremento passou a 9,0°Brix, provavelmente isto tenha ocorrido devido a ação em conjunto das enzimas. O valor de conversão do hidrolisado em volume foi de 1300 mL, contudo para obter uma concentração do hidrolisado a 12°Brix, a solução foi aquecida por mais 60 minutos a uma temperatura de 90°C obtendo um volume final do hidrolisado de 720 mL.

A hidrólise é a etapa mais importante e a sua condução determina a concentração de açúcares fermentescíveis para a produção de etanol. O amido apresenta condições de hidrólise diferenciadas, sendo hidrolisado em condições mais brandas, pois a glicose liberada nesta etapa pode ser suscetível à degradação. Isto pode ocasionar perda desta molécula interferindo na sua utilização como substrato para a fermentação (MARTIN et al., 2017). De acordo com Srichuwong et al., (2012), a melhor faixa de temperatura na hidrólise para a gelatinização do amido está na faixa de 85 °C.

Tabela 1. Avaliação das condições da hidrólise enzimática.

Enzima	Nome comercial	Quantidade de Enzimas	pH	Tempo de reação	Concentração de graus Brix
<b>Pectinase</b>	Pectinex®Ultra SP-L	15 UI mL <sup>-1</sup>	4,5 – 5,5	30 min.	1,5°
<b><math>\alpha</math>-amilase</b>	Liquozyme®Supra 2.2X	30 UI mL <sup>-1</sup>	5,5 – 6,0	60 min.	7,2°
<b>Glucoamilase</b>	AMG®300L	30 UI mL <sup>-1</sup>	3,5 – 4,5	60 min.	9,0°
<b>Concentração final de Brix</b>					12°
<b>Rendimento final do hidrolisado</b>					720 mL

Fonte: Elaborada pelos autores.

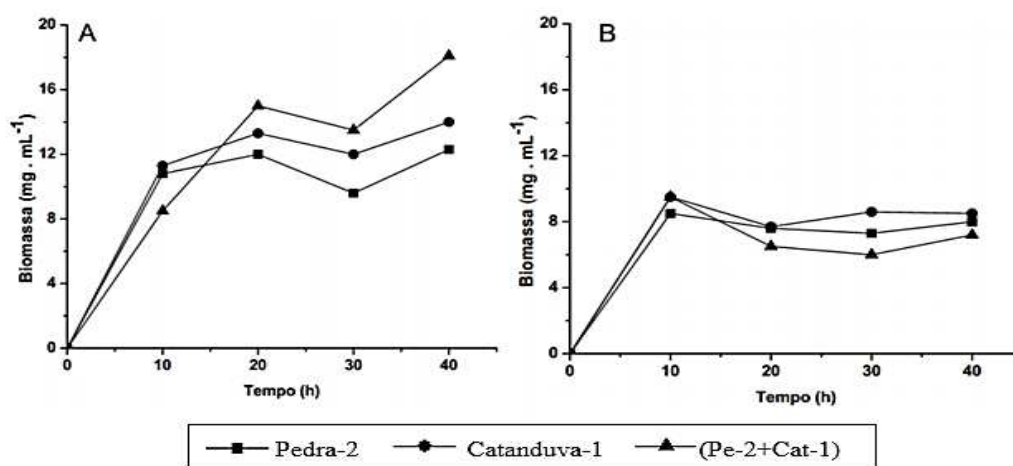
Na análise da produção de biomassa, as linhagens de leveduras industriais apresentaram crescimento no substrato hidrolisado com destaque para o mix (Pe-

2+Cat-1), mostrando uma maior produção de biomassa, 18 mg mL<sup>-1</sup> em 40 horas de fermentação a temperatura na 30°C. A menor, foi observada ao final da fermentação para a levedura Pe-2, 12,3 mg mL<sup>-1</sup> e para a Cat-1, 14 mg mL<sup>-1</sup> (Figura 2A). As leveduras quando cultivadas a 40 °C apresentaram sensibilidade, uma vez que a produção de biomassa caiu conforme a Figura 2B, nesta temperatura a maior produção de biomassa foi no tempo 10 horas para todas as leveduras avaliadas. No entanto, a levedura Cat-1 e o mix (Pe-2+Cat-1) apresentaram a maior produção de biomassa 9,5 mg mL<sup>-1</sup>. A levedura Pe-2 praticamente manteve sua produção de biomassa nos tempos analisados.

As linhagens Catanduva-1 e Pedra-2 são as linhagens mais utilizadas nos processos industriais devido ao seu desempenho fermentativa, representa cerca de 80% das leveduras secas comercializadas para a produção de etanol nas agroindústrias brasileiras, sendo responsáveis por mais de 60% da produção de etanol no país (BASSO, BASSO & ROCHA, 2011).

Os fenótipos desejáveis para leveduras produtoras de bioetanol são a tolerância à altas temperaturas e concentração de etanol, pois essas características podem minimizar os custos para manter uma temperatura ideal, recuperação do etanol e do risco de contaminação, deste modo, uma linhagem que possua estas características seria inestimável para proporcionar uma oportunidade economicamente viável para a produção de bioetanol (BENJAPHOKEE et al., 2012).

Figura 2. Análise da produção de biomassa de leveduras indústrias cultivadas em hidrolisado de bagaço de mandioca a 12°Brix na temperatura de 30°C (A) e 40°C (B), em diferentes tempos de fermentação.



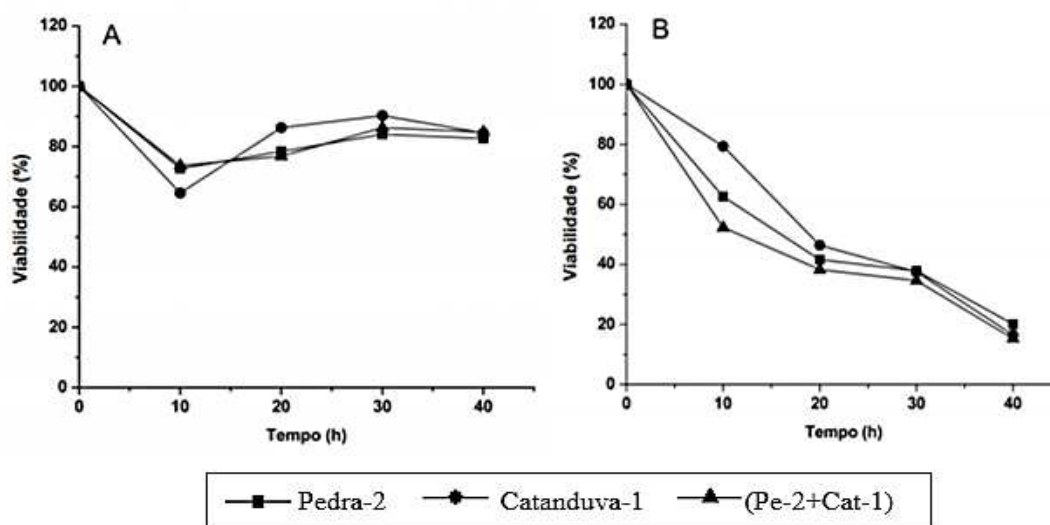


Na avaliação da viabilidade celular das linhagens estudadas, a levedura Cat-1, apresentou as maiores taxas de viabilidade nos tempos de 30 e 40 horas de fermentação sendo a mais alta viabilidade de 90% em 30 horas. A linhagem Pe-2 obteve uma viabilidade celular de 85% em 30 horas de fermentação bem como o mix (Pe-2+Cat-1). No tempo de 30 horas foram atingidas as melhores taxas de viabilidade ocorrendo um declínio em 40 horas de fermentação de acordo com a Figura 3A. Na temperatura de 40 °C, a levedura Cat-1 foi a que apresentou a melhor taxa de viabilidade 80% no tempo de 10 horas, seguida pela Pe-2 62%, e então pelo mix (Pe-2+Cat-1) com 52,3%. No entanto, observou-se que com o transcorrer do tempo ocorreu uma perda gradativa da viabilidade celular, talvez isto tenha ocorrido devido as linhagens se mostrarem mais sensíveis as altas temperaturas e a tempos mais prolongados de fermentação (Figura 3B).

Vários são os fatores que podem afetar a fermentação principalmente as leveduras, problemas como contaminação, concentração dos substratos e a temperatura são tidos como interferentes na eficiência fermentativa (ABDEL-BANAT et al., 2010). As leveduras utilizadas nos processos de fermentação em destilarias brasileiras são eficientes na faixa de temperatura entre 28 e 33 °C (TECHAPARIN et al., 2017).

Neste sentido, as altas temperaturas afetam o funcionamento fisiológico e por consequência ocorre a perda da viabilidade celular causando fermentações mais lentas (KITICHANTAROPAS et al., 2016). A pressão osmótica do substrato, a forte inibição do etanol durante a fase de produção e o aumento do tempo de fermentação podem causar a perda da viabilidade celular, segundo os estudos realizados por Li et al. (2009) em leveduras.

Figura 3. Análise da viabilidade celular em leveduras indústrias cultivadas em hidrolisado de bagaço de mandioca a 12°Brix na temperatura de 30°C (A) e 40°C (B), em diferentes tempos de fermentação.

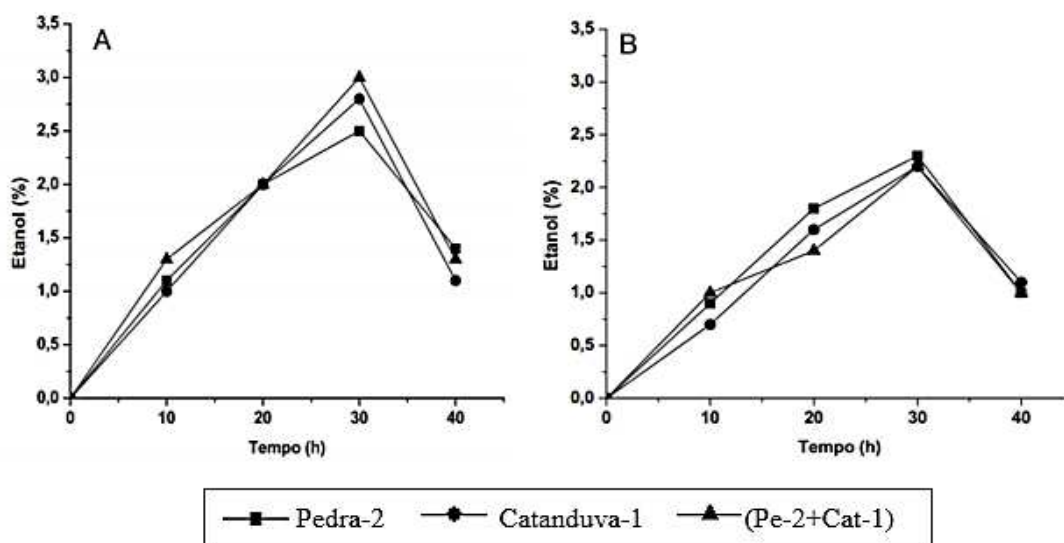


Na avaliação da concentração de etanol, das linhagens cultivadas no hidrolisado, os dados mostram que ocorreram diferenças na concentração de álcool em relação às diferentes temperaturas como em tempos distintos. A maior produção de etanol ocorreu na temperatura de 30°C no tempo de 30 horas de fermentação, com destaque para o mix (Pe-2 + Cat-1) com uma concentração de 3% ( $v v^{-1}$ ) de etanol, a leveduras Pe-2 uma produção de 2,5% ( $v v^{-1}$ ) etanol e a linhagem Cat-1 com a concentração de 2,8% ( $v v^{-1}$ ) de etanol, como apresenta a (Figura 4A). Na temperatura de 40°C os melhores percentuais de produção de etanol também ocorreram no tempo de 30 horas de fermentação para o mix (Pe-2 + Cat-1) foi de 3,0 ( $v v^{-1}$ ) e para Cat-1 2,2% ( $v v^{-1}$ ) e Pe-2 2,3% ( $v v^{-1}$ ), (Figura 4B).

O processo de produção de etanol no Brasil ocorre em um período de 8 a 10 horas de fermentação, com 20% ( $p v^{-1}$ ) de açúcar no substrato, no qual são obtidos altos rendimentos de etanol (STAMBUK, DUNN et al. 2009). Contudo, o desempenho da fermentação e a produção de etanol em quantidade está diretamente relacionado com os ajustes do processo na indústria e ao tipo de levedura utilizado e com a matéria-prima utilizada como substrato (DASGUPTA et al., 2014).



Figura 4. Análise da produção de etanol em leveduras indústrias cultivadas em hidrolisado de bagaço de mandioca a 12°Brix na temperatura de 30°C (A) e 40°C (B), em diferentes tempos de fermentação.



#### 4 CONCLUSÕES

A obtenção do hidrolisado do bagaço de mandioca, com uso das enzimas pectinase,  $\alpha$ -amilase e glucoamilase, apresentou um rendimento satisfatório, pois proporcionou uma eficiente performance fermentativa das leveduras utilizadas.

Na avaliação dos parâmetros fermentativos as linhagens do mix (Pe-2+Cat-1) apresentaram melhor performance fermentativa na temperatura de 30°C no tempo de 30 horas.

Na temperatura de 40°C a levedura Pedra-2 apresentou melhor resultado no tempo de 30 horas de fermentação. As demais leveduras mostraram sensibilidade a esta temperatura e a tempos mais prolongados de fermentação.

Os dados demonstram que este resíduo pode ser utilizado para a produção de etanol.

#### AGRADECIMENTOS

Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul/UEMS e a Indústria Agro Comercial Cassava S/A.

# THE USE OF AGRO-INDUSTRIAL WASTE FOR BIOETHANOL PRODUCTION

## ABSTRACT

The use of cassava bagasse to manufacture ethanol that can be obtained from saccharins, amylaceous or cellulosic sources is an alternative for the reuse of this residue, thus minimizing the environmental impacts resulting from this industrial activity. Thus, this study aims to analyze the action of enzymes in the process of hydrolysis of cassava bagasse and its potential for the production of ethanol. The hydrolyzate was obtained using the enzymes pectin,  $\alpha$ -amylase and glucoamylase according to the specificity of each enzyme. For the production of ethanol, the yeasts Catandiuva-1 and Pedra-2 were used and in the form of mix. A pre-inoculum was made in 5% YPSAC at 30 °C to obtain the biomass. The fermentation assays were performed in 50 mL of the hydrolyzate at a concentration of 12 ° Brix with pH 5.0 and incubated at temperatures of 30 and 40 °C. Biomass, cell viability and ethanol concentration were analyzed. The hydrolyzate obtained was fermentable, and the best fermentative performance was at 30 °C in 30 hours for both yeasts and for the mix, however, these yeasts presented sensitivity to high temperature and long fermentation times.

**Keywords:** *Saccharomyces cerevisiae*. Biomass. Enzyme.



## REFERÊNCIAS

ABDEL-BANAT, B. M., HOSHIDA, H., ANO, A., NONKLANG, S., & AKADA, R. High-temperature fermentation: how can processes for ethanol production at high temperatures become superior to the traditional process using mesophilic yeast? **Applied microbiology and biotechnology**, v. 85, n. 4, p. 861-867, 2010.

BASSO, L. C.; BASSO, T. O.; ROCHA, S. N. Ethanol production in Brazil: the industrial process and its impact on yeast fermentation. In: SANTOS BERNARDES, M. A. (Ed.). Biofuel production: recent developments and prospects. **Croatia: INTECH**, chap. 5, p. 85-100. 2011.

BENJAPHOKEE, S.; HASEGAWA, D.; YOKOTA, D.; ASVARAK, T.; AUESUKAREE, C.; SUGIYAMA, M.; KANEKO, Y.; BOONCHIRD, C.; HARASHIMA, S. Highly efficient bioethanol production by a *Saccharomyces cerevisiae* strain with multiple stress tolerance to high temperature, acid and ethanol. **N Biotechnology** v. 3, p. 379-86, 2012.

BHARDWAJ, A. K.; ZENONE, T.; CHEN, J. (Eds.). (2015). Sustainable Biofuels: An Ecological Assessment of the Future Energy. **Walter de Gruyter GmbH & Co KG**, 2015.

CHAVES, D.; Standardization and comparative analysis of four recent studies on the energy balance of corn ethanol. Biofuel MIT Department of Earth, **Atmosphere, and Planetary Sciences**, n 8, v 2, p 1-16. 2008.

CHENG, J. J.; TIMILSINA, J. R.; Advanced biofuel technologies: status and barriers. policy research working paper, 5411, **The World Bank Development Research Group Environment and Energy Team**, p. 1-47, 2010

CURVELO-SANTANA, J. C.; EHRHARDT, D. D.; BASILE TAMBOURGI, E. Otimização da produção de álcool de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 3, 2010.

DASGUPTA, D.; GHOSH, P.; GHOSH, D.; SUMAN, S. K.; KHAN, R.; AGRAWAL, D.; ADHIKARI, D. K. (2014). Ethanol fermentation from molasses at high temperature by thermotolerant yeast *Kluyveromyces sp.* IPE453 and energy assessment for recovery. **Bioprocess and biosystems engineering**, v. 37, n. 10, p. 2019-2029, 2014.

KITICHANTAROPAS, Y.; BOONCHIRD, C.; SUGIYAMA, M.; KANEKO, Y.; HARASHIMA, S.; AUESUKAREE, C. Cellular mechanisms contributing to multiple stress tolerance in *Saccharomyces cerevisiae* strains with potential use in high-temperature ethanol fermentation. **AMB Express**, v. 6, n. 1, 107, 2016.

Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental

LEE, S. S.; ROBINSON, F. M.; WANG, H. Y. Rapid determination of yeast viability. **Biotechnology Bioengineering Symposium**, v. 11, p. 641-649, 1981.

LI, F.; ZHAO, X. Q.; GE, X. M.; BAI, F. W. An innovative consecutive batch fermentation process for very high gravity ethanol fermentation with self-flocculating yeast. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 84, n. 6, p. 1079–1086, 2009.

LU, C.; ZHAO, J.; YANG, S.; WEI, D. Fed-batch fermentation for n-butanol production from cassava bagasse hydrolysate in a fibrous bed bioreactor with continuous gas stripping. **Bioresource Technology**, v. 104, p. 380-387, 2012.

MARTÍN, C.; WEI, M.; XIONG, S.; JÖNSSON, L. J. Enhancing saccharification of cassava stems by starch hydrolysis prior to pretreatment. **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 21-31, 2017.

PAES, C. L. Embrapa avalia novas fontes para produzir etanol. 2010. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/18115853/pesquisa-avalia-novas-fontes-para-produzir-etanol>>. Acesso em 13 de maio de 2018.

PINTO, P. H. M.; CAMILI, E. A.; CABELO, C. Processo de flotação no tratamento da manipueira originada da fabricação de farinha de mandioca. **RETEC-Revista de Tecnologias**, v. 3, n. 1, 2013.

RATTANACHOMSRI, U.; TANAPONGPIPAT, S.; EURWILAICHITR, L.; CHAMPREDA, V. Simultaneous non-thermal saccharification of cassava pulp by multi-enzyme activity and ethanol fermentation by *Candida tropicalis*. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 107, n. 5, p. 488-493, 2009.

RITI, J. S., SONG, D., SHU, Y., KAMAH, M., & ATABANI, A. A. (2018). Does renewable energy ensure environmental quality in favour of economic growth? Empirical evidence from China's renewable development. **Quality & Quantity**, v. 52, n. 5, p. 2007-2030, 2018.

SOARES, I. A.; FLORES, A. C.; ZANETTIN, L.; PIN, H. K.; MENDONÇA, M. M.; BARCELOS, R. P.; TREVISOL, L. R.; CARVALHO, R. D.; SCHAUREN, D.; ROCHA, C. L. M. S. C.; BARONI, S. Identificação do potencial amilolítico de linhagens mutantes do fungo filamentoso *Aspergillus nidulans*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 3, p. 700-705, 2010.

SRICHUWONG, S; ORIKASA, T.; MATSUKI, J; SHIINA, T.; KOBAYASHI, T.; TOKUYASU, K. Sweet potato having a low temperature-gelatinizing starch as a promising feedstock for bioethanol production. **Biomass and Bioenergy**, v. 39, p. 120-127, 2012.

STAMBUK, B. U., DUNN, B., ALVES, S. L., DUVAL, E. H., & SHERLOCK, G. Industrial fuel ethanol yeasts contain adaptive copy number changes in genes involved in vitamin B1 and B6 biosynthesis. **Genome research**, v. 19, n. 12, p. 2271-2278, 2009.

TAYLAN, O.; KAYA, D.; BAKHSH, A. A.; DEMIRBAS, A. Bioenergy life cycle assessment and management in energy generation. **Energy Exploration & Exploitation**, v. 36, n. 1, p. 166-181, 2018.

TECHAPARIN, A.; THANONKEO, P.; KLANRIT, P. High-temperature ethanol production using thermotolerant yeast newly isolated from Greater Mekong Subregion. **Brazilian journal of Microbiology**, v.48, p. 461–475, 2017.

UBALUA, A. O. Desperdícios de mandioca: opções de tratamento e alternativas de adição de valor. **Afr J Biotechnol**, n. 6, p. 2065-2073, 2007.

ZHANG, M.; XIE, L.; YIN, Z.; KHANAL, S. K.; ZHOU, Q. Biorefinery approach for cassava-based industrial wastes: current status and opportunities. **Bioresource technology**, v. 215, p. 50-62, 2016.