

Avaliação da celulase e pectinase como enzimas complementares, no processo de hidrólise-sacarificação do farelo de mandioca para produção de etanol¹

Magali LEONEL^{2,*}, Marney Pascoli CEREDA³

RESUMO

Neste trabalho objetivou-se avaliar o uso de enzimas complementares no processo enzimático de hidrólise e sacarificação para a produção de etanol a partir do resíduo fibroso das fecularias. Os resultados obtidos demonstraram que 63,42% do amido foram hidrolisados no tratamento em que não se utilizaram enzimas complementares. No tratamento com as duas enzimas complementares foram hidrolisados 89,55%, no tratamento com celulase 65,42% e no tratamento com pectinase 88,73%. A prensagem do resíduo após o processo de hidrólise e sacarificação mostrou-se eficiente, ficando 10,43% do total de açúcares obtidos retidos no resíduo fibroso final. Portanto, o tratamento em que se utilizou a pectinase como enzima complementar na hidrólise foi o melhor. A celulase não apresentou efeito significativo no rendimento do processo.

Palavras-chave: resíduo, mandioca, amido, hidrólise, álcool.

SUMMARY

EVALUATION OF THE CELLULASE AND PECTINASE BY COMPLEMENTARY ENZYMES IN THE PROCESS OF HYDROLYSIS-SACCHARIFICATION OF CASSAVA FIBROUS WASTE FOR ALCOHOL PRODUCTION. This work it was proposed to evaluate the use of complementary enzymes (cellulase and pectinase) in the enzymatic process of hydrolysis-saccharification of the cassava fibrous waste for alcohol production. The results indicated that 63,42% of starch was hydrolyzed in the treatment without complementary enzymes, 89,55% in the treatment with the enzymes, 65,42% with the cellulase by complementary and 88,73% in the pectinase treatment. The pressing was efficacious for sugar recuperation and 10% of total sugar was retaining in the final fibrous residue. The pectinase was the better complementary enzyme enhance the yield.

Keywords: residue, starch, cassava, hidrolisis, alcohol.

1 – INTRODUÇÃO

Gerado na etapa de separação da fécula de mandioca, o farelo-massa ou bagaço é um resíduo sólido composto pelo material fibroso da raiz e parte da fécula que não foi possível extrair no processamento [5]. Gerado em grandes quantidades, cerca de 930kg com 85% de umidade para cada tonelada de raiz processada,

e com uma composição média de 75% de amido e 15% de fibras na base seca, tem se apresentado como um grande problema para os industriais, que doam ou vendem o resíduo a preços muito baixos a fazendeiros para a alimentação animal [7,15].

Várias pesquisas estão sendo desenvolvidas no sentido de aproveitar este resíduo, visando gerar uma nova receita para as fecularias, além de beneficiar o meio ambiente. Frente ao elevado teor de amido, uma das linhas de pesquisa que tem suscitado o interesse dos industriais é a produção de etanol a partir do farelo [10,11,14,17,19,26].

Um dos principais problemas no processo de produção de etanol de farelo é a concentração de sólidos, visto que em concentrações de sólidos acima de 10% o rendimento é baixo, devido a problemas de transferência de calor, homogeneização da pasta e sacarificação não uniforme [26].

O uso de enzimas complementares no processo de hidrólise do farelo de mandioca advém como uma alternativa para aumentar o rendimento do processo. Diante do elevado teor de fibras tem sido proposto o uso da celulase como enzima complementar no processo de hidrólise e sacarificação [4,9,19]. Também com o objetivo de aumentar o rendimento do processo vem sendo estudado o uso de pectinases como auxiliares na liquefação da pasta, favorecendo a ação das amilases [13,19].

Uma outra dificuldade no processo de obtenção de etanol a partir de farelo de mandioca é que parte dos açúcares obtidos fica retida no resíduo fibroso final. A lavagem deste com água não demonstrou ser viável, visto que promove uma diluição acentuada do hidrolisado sendo necessária a concentração para fermentação ou uso de maior volume de tanques [16,19,26].

Portanto, neste trabalho objetivou-se avaliar o uso da celulase e pectinase como enzimas complementares no processo de hidrólise enzimática do amido e a prensagem como método de extração dos açúcares, visando melhorar a eficiência do processo de hidrólise-sacarificação para produção de etanol a partir de farelo de

mandioca.

2 – MATERIAL E MÉTODOS

O farelo úmido, após drenagem do excesso de água, foi doado pela Júpiter Alimentos S/A, fecularia com capacidade de 200t de raízes/dia situada em Conchal-SP. O farelo foi caracterizado quanto à composição centesimal.

Foram comparados quatro tratamentos enzimáticos de hidrólise e sacarificação do farelo em suspensões de 500g (p/p) de farelo e água com 12% de amido [19]. No Tratamento 1, utilizou-se o processo enzima-enzima com a -amilase (Termamyl 120L) e amiloglicosidase (AMG 200L) comerciais [22]. No Tratamento 2, foram utilizadas a celulase (Celluclast 1.5 L) e a pectinase (Pectinex Ultra SP-L) como enzimas complementares a T1[13,19]. No Tratamento 3, utilizou-se a celulase como complementar a T1 e no Tratamento 4, foi utilizada a pectinase como enzima complementar. As enzimas utilizadas foram concedidas pela Novo Nordisk S/A - Araucária-PR, e as condições de uso foram as recomendadas pelo fabricante.

A *Figura 1* mostra o fluxograma dos processos de hidrólise e sacarificação nos diferentes ensaios.

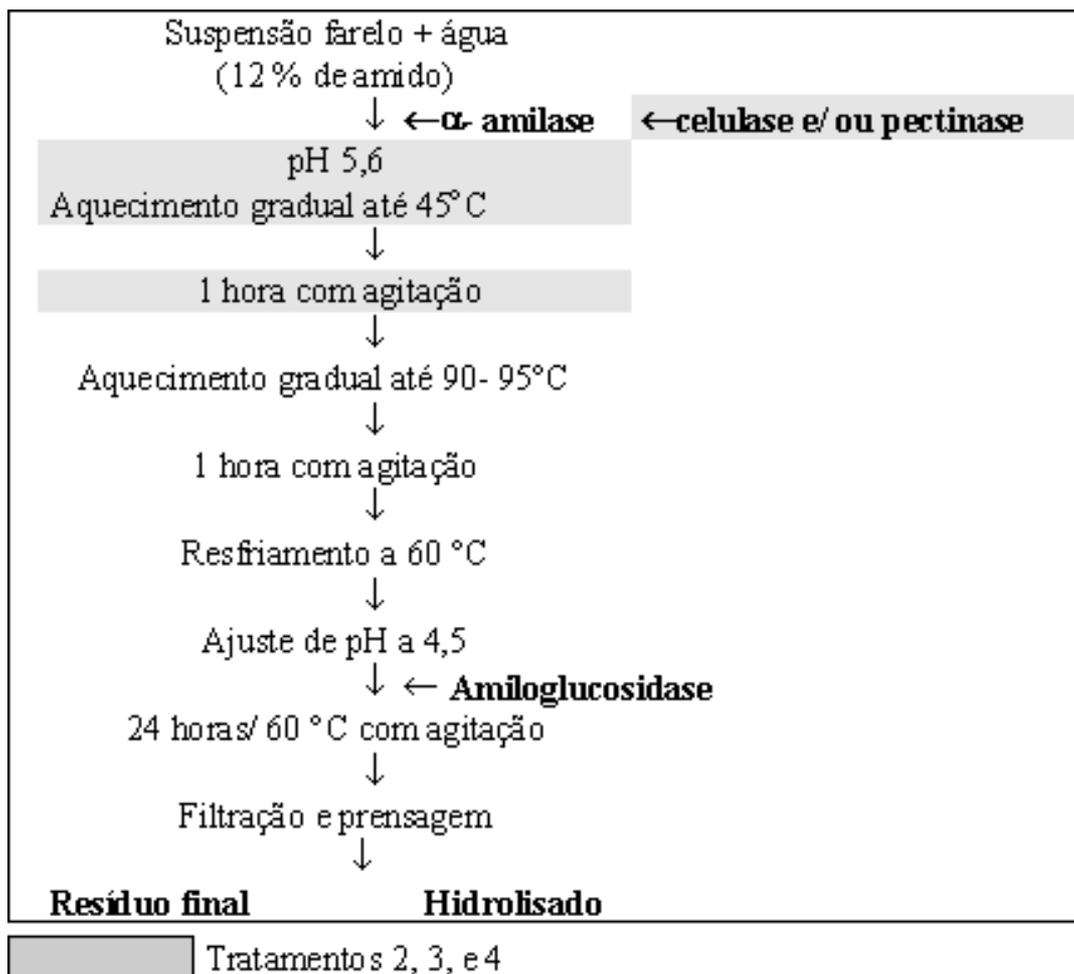


FIGURA 1. Fluxograma dos processos de hidrólise-sacarificação.

Os hidrolisados obtidos foram caracterizados quanto ao peso (g), Brix, açúcares totais (g) e perfil de açúcares (g)[2,25]. O perfil de açúcares foi realizado em HPLC, com coluna BIORAD à temperatura de 70°C com fluxo de 0,6mL/min, tendo água destilada e filtrada como fase móvel. Os perfis em área foram convertidos em concentração (g/l) a partir de soluções-padrão [1,12].

Os resíduos fibrosos finais resultantes do processo de hidrólise-sacarificação foram caracterizados quanto a: umidade inicial (%), matéria-seca (g), cinzas (g), fibras (g), proteínas (g), amido (g), açúcares totais retidos (g) e seu perfil (g)[1,2,12,25].

A comparação dos tratamentos em relação às variáveis analisadas foi realizada através de análise de variância complementada com o teste de comparação de pares de médias de Tukey [21]. Todas as

discussões estatísticas foram realizadas ao nível de 5% de significância.

3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

O farelo utilizado como matéria-prima apresentou 68,69% de umidade inicial e 80% de amido, 11,5% de fibras, 1,14% de cinzas, 0,85% de proteínas e 0,45% de açúcares totais na base seca, com pH 5,8. O farelo apresentou um elevado teor de amido, valor este superior ao citado por KUNHI *et al.* [14] em farelo proveniente de processamento de mandioca na Índia. Para as demais variáveis os teores encontrados estão um pouco abaixo da média da caracterização de farelos de indústrias brasileiras: 85% umidade, 1,65% cinzas, 16,08% fibras, 0,85% proteínas e 0,94% açúcares totais [5,6].

3.1 – Análises dos hidrolisados

Os resultados das análises dos hidrolisados obtidos nos diferentes tratamentos enzimáticos são apresentados no *Quadro 1*.

QUADRO 1. Médias e resultados do teste estatístico da comparação dos tratamentos para o hidrolisado.

Variável	Tratamentos				DMS (5%)	CV (%)
	T1	T2	T3	T4		
Peso médio (g)	269,72 a	403,61 b	295,32 a	383,54 b	26,46	4,83
°Brix	7,83 a	12,50 c	9,83 b	12,58 c	0,94	5,49
Aç. totais (g)	29,70 a	52,25 b	28,74 a	50,92 b	3,90	5,96
Glicose (g)	23,42 a	41,16 b	23,23 a	44,46 b	4,30	8,03
Maltose (g)	2,56 a	4,72 b	2,10 a	2,57 a	1,21	25,22
Maltotriose (g)	1,09 a	1,35 a	0,98 a	0,94 a	0,85	49,16
Dextrinas (g)	2,64	4,68 b	2,42 a	2,94 ab	2,12	41,44

Médias seguidas de uma mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

O peso médio do hidrolisado obtido após a prensagem dos resíduos

dos diversos tratamentos foi analisado, visando-se avaliar os tratamentos, quanto à facilidade de extração e às quantidades geradas.

Os resultados demonstraram não haver diferença significativa entre os Tratamentos T1 e T3 e entre os Tratamentos T2 e T4, portanto, o Tratamento T3 no qual foi utilizada a celulase como enzima complementar não diferiu, quanto a este parâmetro, do T1 no qual não foram usadas enzimas auxiliares. Já os Tratamentos T2 e T4 apresentaram um rendimento superior aos demais, sendo também superior ao obtido por LEONEL [19] com a lavagem do resíduo, evidenciando a maior eficiência da prensagem do resíduo após a drenagem, em comparação ao uso de água para extração.

Quanto ao Brix dos hidrolisados, a análise dos resultados demonstrou que quando adicionou-se celulase como enzima auxiliar, ocorreu um aumento significativo do Brix, quando comparado com T1. Todavia, quando utilizou-se a pectinase (T4), o hidrolisado obtido não diferiu quanto a este parâmetro do Tratamento T2, evidenciando a maior eficiência desta enzima auxiliar em comparação à celulase. O Tratamento T1 apresentou Brix inferior aos demais tratamentos, sendo que T2 e T4, da mesma forma que para o peso, foram os melhores tratamentos.

Em relação ao total de açúcares presentes nos hidrolisados, a análise dos resultados demonstrou não haver diferença significativa entre T1 e T3 e entre T2 e T4, da mesma forma que para o peso do hidrolisado. Observou-se também que os teores de açúcares nos hidrolisados de T2 e T4 foram quase o dobro dos obtidos em T1 e T3.

A análise desses resultados, em conjunto com os obtidos para o peso e Brix, conduz à hipótese de que a pectinase seria a enzima auxiliar responsável pelo aumento do rendimento do processo de obtenção de hidrolisado de glicose, a partir de farelo de mandioca. Os resultados obtidos para o perfil de açúcares nos hidrolisados demonstraram não haver diferença entre T1 e T3 e entre T2 e T4 para o teor de glicose. Porém, houve diferença para maltose entre

T2 e os demais tratamentos, sendo também observado neste tratamento teor mais elevado deste açúcar. Não ocorreu diferença significativa para o teor de maltotriose entre os tratamentos e, quanto às dextrinas, o Tratamento T2 foi o que apresentou teor mais elevado.

A diferença de perfil de açúcares do Tratamento T2 levanta a hipótese de que a ação conjunta da celulase e pectinase promoveu uma melhor extração dos açúcares totais retidos no resíduo fibroso, permitindo que açúcares de peso molecular maior fossem extraídos na prensagem.

3.2 – Caracterização dos resíduos finais

Os resíduos sólidos resultantes do processo de extração foram caracterizados com o objetivo de se avaliar a eficiência do processo de hidrólise. Os resultados da análise de comparação dos tratamentos para os resíduos finais são apresentados no *Quadro 2*.

QUADRO 2. Médias e análise estatística da influência dos tratamentos no resíduo final.

Variável	Tratamentos				DMS (5%)	CV (%)
	T1	T2	T3	T4		
Umid. inicial (%)	79,11 b	74,91 a	78,12 b	75,13 a	3,27	2,63
Materia seca (g)	42,69 b	17,73 a	41,16 b	20,19 a	4,30	8,86
Cinzas (g)	0,45 b	0,33 a	0,76 c	0,33 a	0,11	15,02
Fibras (g)	7,68 c	5,48 a	8,36 c	6,56 b	1,04	9,30
Amido (g)	21,95 b	6,27 a	20,75 b	6,76 a	2,32	10,51
Proteína (g)	0,10 a	0,07 a	0,36 a	0,22 a	0,32	107,68
Aç. totais (g)	11,36 b	5,16 a	10,83 b	5,93 a	1,85	13,93
Glicose (g)	6,77 c	4,03 a	8,20 d	5,40 b	1,29	13,45
Maltose (g)	1,96 d	0,49 a	1,10 b	0,25 a	0,56	37,29
Maltotriose (g)	0,78 b	0,06 a	0,30 a	0,00 a	0,36	79,75
Dextrinas (g)	1,85 c	0,54 ab	1,06 b	0,28 a	0,76	50,88

Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Não houve diferença significativa entre os Tratamentos enzimáticos T1 e T3 e entre os Tratamentos T2 e T4 para as variáveis umidade e matéria seca. Isto permite inferir que no tratamento com adição de pectinase como auxiliar (T4), a eficiência do processo de hidrólise da matéria seca inicial foi igual à obtida no processo onde se utilizaram as duas enzimas complementares (T2), e o dobro da obtida nos demais tratamentos. Observou-se também, que nesses tratamentos (T2 e T4) ocorreu uma menor retenção de umidade pelos resíduos, o que apóia a hipótese de que a adição das enzimas, particularmente da pectinase, torna o processo mais eficiente.

Quanto às fibras, os resultados demonstraram não haver diferença significativa entre os Tratamentos T1 e T3. A menor quantidade de fibras nos Tratamentos T2 e T4 leva à hipótese de que parte destas tenham sido hidrolisadas ou extraídas com a prensagem.

As análises dos teores de amido e açúcares totais mostraram não haver diferença significativa entre T1 e T3 e, entre os Tratamentos T2 e T4, entretanto, observou-se que em T1 e T3 a quantidade de amido não hidrolisada e a retenção de açúcares foram bastante superiores às encontradas em T2 e T4, o que evidencia a eficiência do processo com pectinase (T4) em comparação aos demais processos de hidrólise e sacarificação do farelo.

No Tratamento T3, onde foi utilizada celulase como auxiliar no processo, os resultados obtidos para o resíduo final foram bastante semelhantes aos encontrados por LEONEL & CEREDA [18], que observaram 31,42% do amido inicial retido no resíduo final que apresentou 77,6% de umidade e 42,7% de matéria seca hidrolisada. A análise do perfil de açúcares nos resíduos finais mostrou que todos os tratamentos diferiram significativamente quanto ao teor de glicose, sendo este o açúcar que predominou no resíduo em T4 (91,06%). Nos demais tratamentos a porcentagem foi de 59,6% em T1, 78,1% em T2, 75,72% em T3 e 91,06%.

Quanto aos açúcares, maltose, maltotriose e dextrinas, não ocorreu diferença significativa entre T2 e T4, sendo que o Tratamento T1

foi o que reteve maior quantidade destes no resíduo. Estes resultados confirmam a hipótese proposta de que a ação das enzimas complementares promoveria uma alteração do perfil de açúcares no hidrolisado e como consequência uma melhor extração de maltose, maltotriose e dextrina.

3.3 – Rendimento dos processos

Através da análise dos resultados obtidos na caracterização dos resíduos finais, bem como dos hidrolisados, estabeleceu-se o balanço de massa dos diferentes tratamentos (*Figura 2*), e observou-se que no Tratamento T1 no qual o processo iniciou com 74,99g de matéria seca das quais 60g era amido ; 63,42% do amido, 43,07% da matéria seca e 11,0% das fibras foram hidrolisados, resultados estes bastante semelhantes aos obtidos nas mesmas condições por LEONEL [19]. No Tratamento T2 foi observado que 89,55% do amido, 76,36% da matéria seca e 36,42% das fibras foram hidrolisados, resultado superior ao obtido por SRIKANTA *et al.* [26] na hidrólise de farelo de mandioca, utilizando a -amilase e amiloglucosidase que foi de 76%.

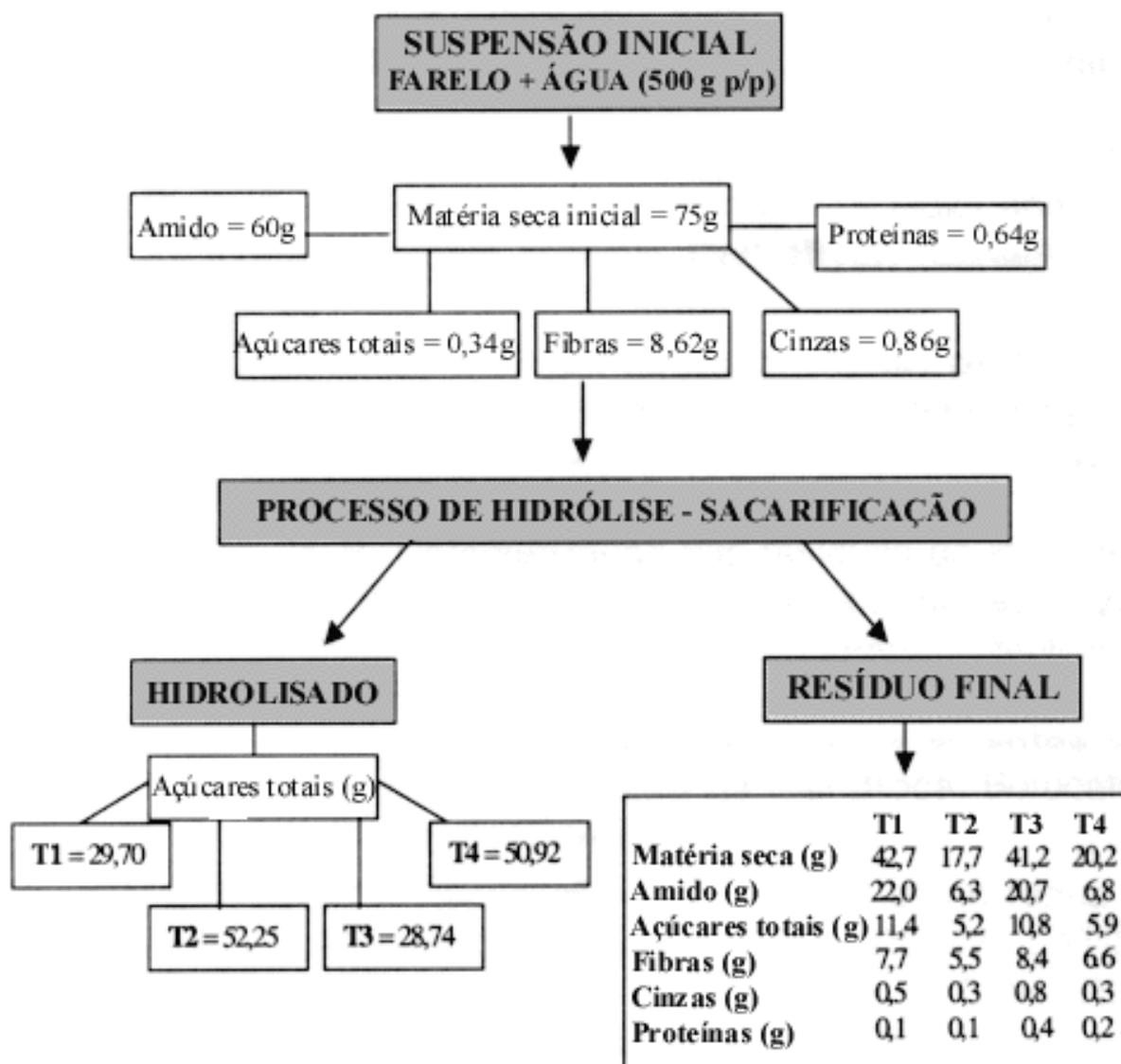


FIGURA 2. Balanço de massa dos processos.

No Tratamento T3, em que se utilizou a celulase como enzima complementar obteve-se hidrólise de 65,42% do conteúdo de amido, 45,11% da matéria seca e 3,03% das fibras. Estas porcentagens foram bastante semelhantes às obtidas no T1, com exceção das fibras, demonstrando pouco efeito da celulase como enzima complementar. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por BERTOLINI [4] e por LEONEL & CEREDA [18]. Já no Tratamento T4, que utilizou pectinase como auxiliar no processo, foi observado que 88,73% do amido, 73,08% da matéria seca e 23,9% das fibras foram hidrolisados, o que demonstrou uma eficiência 25% superior à obtida nos tratamentos sem enzima complementar (T1) e com celulase (T3).

Quanto aos açúcares retidos no resíduo observou-se que 27,67% do total obtido ficaram presos ao resíduo em T1, 8,99% em T2, 27,37% em T3 e 10,43% no Tratamento T4. SRIKANTA *et al.* [26] observaram que cerca de 24% do total de açúcares, obtidos no processo de hidrólise enzima-enzima, ficaram retidos no resíduo após prensagem.

De acordo com a composição do farelo e com os dados de balanço de massa para o processamento da mandioca em uma fecularia [15], é possível estimar a produção de etanol a partir do farelo de mandioca para cada tonelada de mandioca processada. A *Figura 3* mostra a estimativa teórica da produção de etanol a partir dos resultados obtidos no Tratamento T1 (sem enzimas complementares) e no Tratamento T4 (pectinase como enzima complementar).

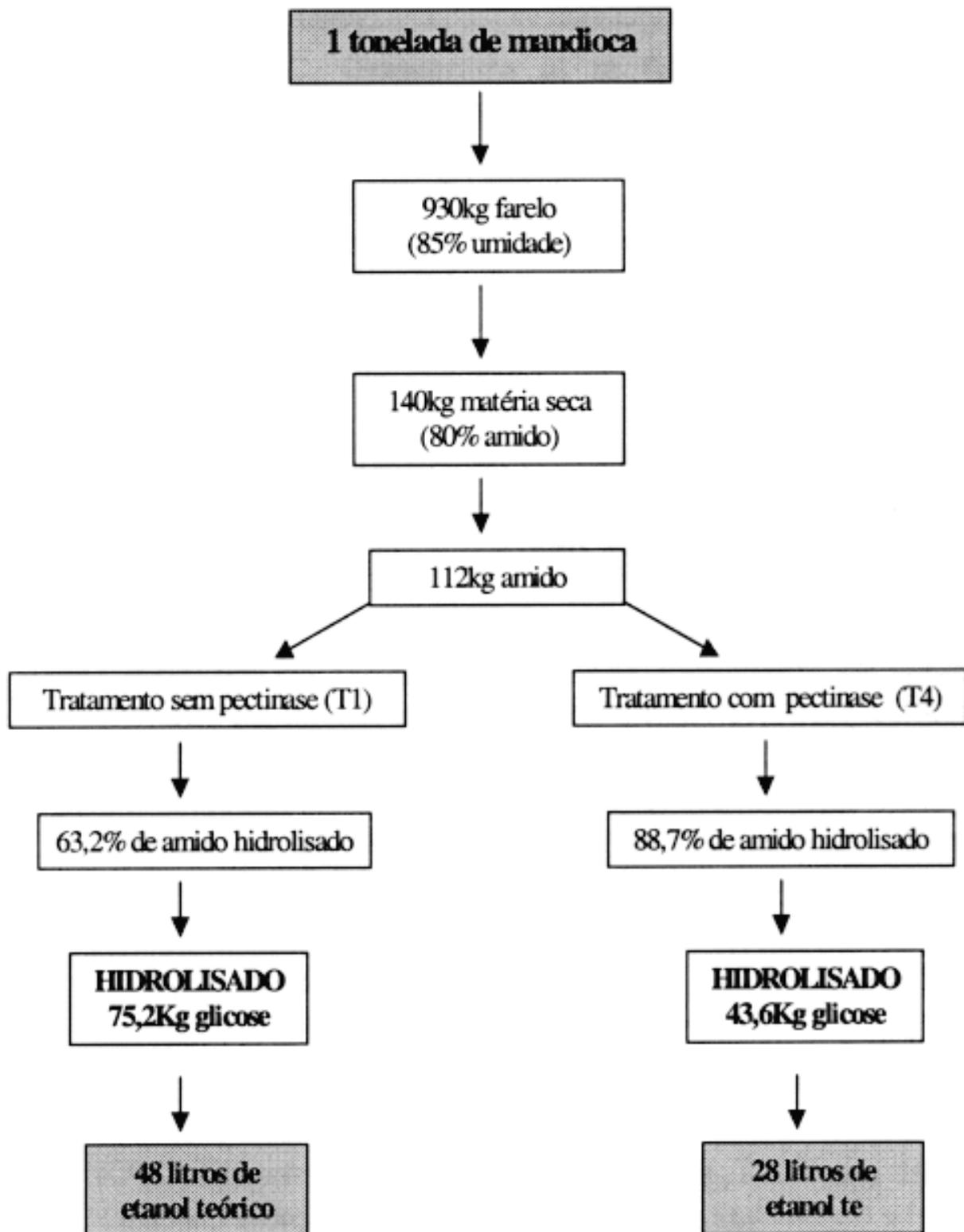


FIGURA 3. Fluxograma da produção teórica de etanol a partir do farelo por tonelada de mandioca processada nos Tratamentos enzimáticos T1 e T4

Analisando-se estes resultados pode-se verificar a eficiência da utilização de enzimas auxiliares no processo de obtenção de hidrolisado de glicose, a partir de farelo de mandioca, para fins de

fermentação alcóolica, em especial a pectinase como enzima auxiliar promotora do aumento no rendimento do processo. A prensagem do resíduo também apresentou-se eficiente como meio de extração, pois ao serem comparados os resultados obtidos por LEONEL [19] utilizando o mesmo tratamento enzimático que o T2, observaram-se pequenas diferenças no balanço de massa. Entretanto, no trabalho de LEONEL [19] foram realizadas três lavagens sucessivas do resíduo com água, o que promoveria uma diluição de cerca de 1:3 do hidrolisado inicial acarretando, certamente, na necessidade de concentração do hidrolisado para posterior fermentação.

4 – CONCLUSÕES

Através dos resultados obtidos foi possível concluir que:

- o uso da pectinase como enzima complementar no processo de hidrólise do amido proporcionou aumento no rendimento, ocorrendo a hidrólise de 88,73% do amido, 73,08% da matéria seca inicial e 23,9% das fibras, demonstrando uma eficiência 25% superior que a obtida nos tratamentos sem esta enzima;
- a celulase como enzima complementar não mostrou efeito significativo no rendimento da hidrólise;
- a produção teórica de etanol, a partir do farelo de mandioca para cada tonelada de mandioca processada, seria de 48 litros no tratamento com pectinase, ou seja, 86% superior à obtida sem o uso desta enzima no processo de hidrólise-sacarificação;
- a prensagem do resíduo mostrou-se eficiente como método de extração dos açúcares, entretanto cerca de 10% do total de açúcares obtidos ficaram retidos no resíduo final.

5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ALVAREZ, H. **Etude et contrôle de la liquefaction de la fécula de manioc par la α -amilase BAN de Novo Nordisk: Optimisation du procédé de production des cyclodextrines par la Cgtase Amano.** Compiègne : UTC, 1995. 73p.
- [2] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis.** 13. ed. Washington, 1980. 109p.
- [3] BLAKENEY, A. B. , HARRIS, P. J., HENRY, R. J., STONE, B. A. A simple and rapid preparation of aldiol acetates for monosaccharide analysis. **Carbohydr. Research**, v. 113, p. 291 - 99, 1983.
- [4] BERTOLINE, A. C. **Avaliação de fécula e farelo de mandioca como substratos para produção de ciclodextrinas.** Piracicaba, 1995. 130p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- [5] CEREDA, M. P. Caracterização dos resíduos da industrialização da mandioca. In: --- **Resíduos da industrialização da mandioca no Brasil.** São Paulo: Paulicéia, 1994. cap. 1, p. 11 - 50.
- [6] CEREDA, M. P. **Caracterização, usos e tratamentos de resíduos da industrialização da mandioca.** Botucatu: Centro de Raízes Tropicais, 1996a. 56p.
- [7] CEREDA, M. P. Valorização de resíduos como forma de reduzir custos de produção. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE RAÍZES TROPICAIS, 1, CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA, 9, 1996, São Pedro. **Anais ...** São Pedro: Centro de Raízes Tropicais , Sociedade Brasileira de Mandioca, 1996b. p. 25 - 43.
- [8] FUJII, M. , HOMMA, T. , TANIGUCHI, M. Synergism of α -amylase and glucoamylase on hydrolysis of native starch granules. **Biotechnol. Bioeng.** , v. 32, p. 910 - 15, 1988.
- [9] HASKA, N. , OHTA, Y. Effect of cellulase addition on

hidrolysis of sago starch granules by raw starch digesting amylase from **Penicillium brunneum** n° 24. **Starch Stärke**, v. 45, n. 7, p. 237 - 41, 1993.

[10] JALEEL, S. A. , SRIKANTA, S. , GHILDYAL, N. P., LONSANE, B. K. Simultaneous solid phase fermentation and saccharification of cassava fibrous residue for production of ethanol. **Starch Stärke**, v. 40, n. 2, p. 52 - 8, 1988.

[11] JALEEL, S. A. , SRIKAMTA, S. , CHILDYAL, N. P. , LONSANE, B. K. Comparative efficiency of techniques for recovery of ethanol from pulpy substrate fermented in solid phase. **Starch / Stärke** , v. 43, n. 5, p. 183 - 6, 1991.

[12] KANEKO, T. , KUDO, T. , HORIKOSHI, K. Comparison of CD composition produced by chimeric Cgtases. **Agric. Biol. Chem.** , v. 54, n. 1, p. 197 - 201, 1990.

[Medline]

[13] KOBAYASHI, M., FUNAME, K., UEYAMA, H., OHYA,S., KATO,Y. Saccharification of beet pulp and its reduced derivatives. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** , v. 58, n. 11, p. 1973 - 6, 1994.

[14] KUNHI, A. A. M. , GHIDYAL, N. P. , LONSANE, B. K., AHMED,N.P., NATARAJAN,C.P. Studies on production of alcohol from saccharified waste residue from cassava starch processing industries. **Starch Stärke** , v. 33, n. 8, p. 275 - 9, 1981.

[15] LEBOURG, C. **Brasamide et la fécula: une histoire d' amour**. Botucatu: Centro de Raízes Tropicais, 1996. 59p.

[16] LEONEL, M., CEREDA, M. P. Sacarificação do resíduo fibroso de fecularias. I: seleção da concentração do resíduo. In: JORNADA CIENTÍFICA DA ASSOCIAÇÃO DOS DOCENTES, 19, 1995, Botucatu. **Anais ...** Botucatu: Associação dos Docentes, Universidade Estadual Paulista, 1995. p. 203.

[17] LEONEL, M. , CEREDA, M. P. Pesquisa franco - brasileira aponta o farelo de mandioca como potencialmente lucrativo. **Bol. França - Flash Agric.** , n. 7, p. 5 - 6, 1996a.

[18] LEONEL, M. , CEREDA, M. P. Influência da secagem e moagem do farelo de mandioca hidrolisado no rendimento de

- açúcares. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE RAÍZES TROPICAIS, 1 , CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA, 9, 1996, São Pedro. **Anais ...** São Pedro: Centro de Raízes Tropicais , Sociedade Brasileira de Mandioca, 1996b. p. 158.
- [19] LEONEL, M. **Uso de enzimas complementares na rprodução de etanol a partir de farelo de mandioca.** Botucatu, 1998. 116p. Tese (Doutorado em Energia na Agricultura) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.
- [20] NOVO Enzyme Process Division, Fichas Técnicas, 1995, NOVO Nordisk Boindustrial do Brasil Ltda.
- [21] OSTLE, B. **Estatística aplicada.** México: Limusa- Wiley, 1973. 629p.
- [22] PARK, Y. K., PAPINI, R. S. Produção de xarope de glicose do amilo de mandioca pelo método enzima - enzima. **Rev. Bras. Technol.** , v. 1, p. 13 - 6, 1970.
- [23] RICKARD, J. E. , BEHN, K. R. Evaluation of acid and enzyme hydrolitic methods for determination of cassava starch. **J. Sci. Food Agric.**, v. 41, n. 4, p. 373 - 9, 1987.
- [24] SAEMAN, J. F. , MOONE, W. E. , MITCHELL, R. L. , MILLETT, M. A. Techniques for the determination of pulp constituents by quantitative paper chromatography. **Tappi (Tech. Assoc. Pulp. Pap. Ind.)**, v. 37, p. 336 - 43, 1954.
- [25] SOMOGY, M. Determination of blood sugar. **J. Biol. Chem.** , n. 160, p. 69 - 73, 1945.
- [26] SRIKANTA, S. , JALEEL, S. A. , GHILDYAL, N. P., LONSANE,B.K., KARANTH,N.G. Novel Technique for saccharification of cassava fibrous waste for alcohol production. **Starch Stärke** , v. 39, n. 7, p. 234 - 37, 1987.

¹ Recebido para publicação em 10/07/98. Aceito para publicação em 16/04/99.

² Doutora - Centro de Raízes Tropicais (CERAT) /UNESP/ Botucatu-SP. Caixa Postal 237 Fone/fax: (014) 8219050

³ *Profa. Titular - Diretora - Centro de Raízes
Tropicais/UNESP/Botucatu-SP.*

** A quem a correspondência deve ser enviada.*