

DESENVOLVIMENTO DE UM PROCESSO CONTÍNUO PARA A PRODUÇÃO DE FRUTO-OLIGOSSACARÍDEOS USANDO BIOCATALISADORES FABRICADOS COM AUXÍLIO DA IMPRESSÃO 3D

DEVELOPMENT OF A CONTINUOUS PROCESS FOR THE PRODUCTION OF FRUCTOLIGOSACCHARIDES USING BIOCATALATORS MANUFACTURED WITH THE AID OF 3D PRINTING

DESARROLLO DE UN PROCESO CONTINUO PARA LA PRODUCCIÓN DE FRUCTOLIGOSACÁRIDOS MEDIANTE BIOCATALARADORES FABRICADOS CON LA AYUDA DE LA IMPRESIÓN 3D

Barbara Mota de Jesus

E-mail: motadejesusbarbara614@gmail.com

Joicy Silva e Silva

E-mail: joicy.silva@mail.uft.edu.br

Kalil Garcia Canuto

E-mail: kalil.garcia@mail.uft.edu.br

Warley Gramacho Da Silva

E-mail: wgramacho@uft.edu.br

Michelle Da Cunha Abreu Xavier

E-mail: michellecax@mail.uft.edu.br

Sergio Andres Villalba Morales

E-mail: sergio.morales@mail.uft.edu.br

ABSTRACT:

Due to the growing demand for functional foods, there is an increase in the development of new processes and products with characteristics relevant to application in the food industry, as well as for human health. This includes the production of fructooligosaccharides (FOS), a sugar considered a prebiotic. FOS can be obtained through the action of microbial fructosyltransferases (FTases). This study aimed to develop and evaluate a reaction system for the continuous production of fructooligosaccharides (FOS) in a fixed-bed reactor (PBR), catalyzed by *Aspergillus oryzae* IPT-301 cells immobilized on 3D-printed porous PLA supports. Transfructosylation activity was determined by sugar quantification using DNS and GOD-PAP. Enzymatic activity was monitored for 4 hours under continuous conditions, confirming stability throughout the process at a continuous flow rate of 1 mL.min⁻¹. The cylindrical model B stood out, demonstrating its decisive role in reactor performance, directly influencing enzymatic activity. The results demonstrated the high potential for continuous FOS production using 3D-printed biocatalysts.

KEYWORDS: Prebiotic sugars, *Aspergillus oryzae*, fructosyltransferase, fixed-bed reactor, additive manufacturing

RESUMO:

Diante da crescente procura por alimentos funcionais, ocorre o aumento no desenvolvimento de novos processos e produtos, com características relevantes para a aplicação na indústria de alimentos, bem como para saúde humana. Nesse sentido temos a produção de fruto-oligossacarídeos (FOS), um açúcar considerado prebiótico. Os FOS podem ser obtidos pela ação da frutossiltransferases (FTase) de origem microbiana. Nesse estudo, propôs-se desenvolver e avaliar um sistema de reação para produção contínua de fruto-oligossacarídeos (FOS) em reator de leito fixo (PBR), catalisado por células de *Aspergillus oryzae* IPT-301 imobilizadas em suportes porosos de PLA fabricados por impressão 3D. A atividade de transfrutossililação foi determinada pela quantificação de açúcares por DNS e GOD-PAP. A atividade enzimática foi monitorada durante um tempo de 4 horas em regime contínuo confirmando estabilidade durante o processo com uma vazão contínua de 1mL.min⁻¹. O modelo esférico B destacou-se demonstrando ser determinante para o desempenho do reator, influenciando diretamente a atividade enzimática mais que o modelo cilíndrico A. Os resultados mostraram o alto potencial de produção contínua de FOS usando biocatalisadores fabricados com auxílio da impressão 3D.

PALAVRAS-CHAVE: Açúcares prebióticos, *Aspergillus oryzae*, frutossiltransferase, reator de leito fixo, manufactura aditiva

RESUMEN:

Dada la creciente demanda de alimentos funcionales, se observa un aumento en el desarrollo de nuevos procesos y productos con características relevantes para su aplicación en la industria alimentaria, así como para la salud humana. En este sentido, se encuentra la producción de fructooligosacáridos (FOS), un azúcar considerado prebiótico. Los FOS se pueden obtener mediante la acción de fructossiltransferasas microbianas (FTasas). Este estudio tuvo como objetivo desarrollar y evaluar un sistema de reacción para la producción continua de

fructooligosacáridos (FOS) en un reactor de lecho fijo (PBR), catalizado por células de *Aspergillus oryzae* IPT-301 inmovilizadas en soportes porosos de PLA fabricados mediante impresión 3D. La actividad de transfructosilación se determinó cuantificando los azúcares mediante DNS y GOD-PAP. La actividad enzimática se monitorizó continuamente durante 4 horas, confirmando la estabilidad durante el proceso con un caudal continuo de $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. El modelo esférico B destacó por su importancia para el rendimiento del reactor, influyendo directamente en la actividad enzimática más que el modelo cilíndrico A. Los resultados demostraron el alto potencial para la producción continua de FOS mediante biocatalizadores fabricados con la ayuda de la impresión 3D.

PALABRAS CLAVE: Azúcares prebióticos, *Aspergillus oryzae*, fructosiltransferasa, reactor de lecho fijo, fabricación aditiva

INTRODUÇÃO

Em razão da alta demanda por alimentos funcionais, diversas pesquisas estão sendo conduzidas para o desenvolvimento de novos produtos, aumentando sua eficiência, melhorando as propriedades saudáveis e reduzido valor calórico (MARTINS *et al.*, 2019; MELZER *et al.*, 2021; OJWACH *et al.*, 2022). Nesse contexto, surgem os fruto-oligosacarídeos (FOS), que são oligossacarídeos que podem ser utilizados em alimentos como iogurtes, fórmulas infantis e suplementos (PACHEKREPAPOL *et al.*, 2020; PADILHA *et al.*, 2020). Formado por uma unidade de frutose ligada a uma molécula de sacarose, os FOS são amplamente utilizados na indústria alimentícia por serem prebióticos, além de contribuírem para o sabor e estrutura dos alimentos (BELMONTE-IZQUIERDO *et al.*, 2023). Além disso, são considerados açúcares de baixo teor calórico, podendo ser uma alternativa para a substituição da sacarose em diversos produtos (MELZER *et al.*, 2021; OJWACH *et al.*, 2022).

A produção de FOS ocorre por meio de um processo enzimático, utilizando as enzimas microbianas denominadas fructosiltransferase (FTase, EC 2.4.1.9) e fructofuranosidase (FFase, EC 3.2.1.26). Essas enzimas podem ser produzidas a partir de fungos, como *Aspergillus oryzae* IPT-301 (CUNHA *et al.*, 2019). A FTase apresenta a atividade transfructosilação, em que ocorre a transferência de um grupo frutosil para uma molécula de sacarose, gerando assim os FOS e consequentemente a glicose como subproduto. Durante a reação enzimática, as ligações β -2,1 são definidas para a formação de cadeias de FOS com diferentes tamanhos. Com tudo, determinadas operações e métodos de processamento de extração, o comprimento das cadeias de FOS podem passar por alterações, gerando assim os açúcares 1-kestose (GF2), nistose (GF3) e 1- β -fructofuranosil nistose (GF4) (LU *et al.*, 2021; MELLADO-MOJICA *et al.*, 2022; FARIA *et al.* 2021).

A imobilização enzimática tem se mostrado uma estratégia crucial para melhorar a eficiência dos processos de produção de FOS, permitindo a manutenção da atividade enzimática

em ciclos contínuos e reduzindo a necessidade de reposição frequente de enzima (GONÇALVES *et al.*, 2020). A utilização de biocatalisadores imobilizados em suportes porosos fabricados por impressão 3D pode aumentar significativamente a eficiência do processo. Esse desenvolvimento inovador pode otimizar processos biotecnológicos, incluindo a produção de FOS (MARTINS *et al.*, 2019; POSE-BOIRAZIAN *et al.*, 2022). Um dos materiais utilizado na impressão 3D, o PLA se destaca por favorecer a estabilidade na imobilização, por sua rigidez e resistência. Beneficiando a imobilização, além de ser de fácil processamento (SKORDA *et al.*, 2024).

A garantia de maior estabilidade e reutilização das enzimas em sistemas contínuos, que é essencial para maximizar a eficiência e a sustentabilidade do processo industrial. A implementação de sistemas de biocatalisadores fabricados por impressão 3D em fluxo contínuo pode minimizar os custos operacionais e maximizar a produtividade, atendendo às exigências do mercado por produtos alimentícios de alta qualidade e baixo impacto ambiental (FARIA *et al.*, 2021; QUEISSADA *et al.*, 2020). Além disso, permite maior controle sobre a geometria dos suportes, o que contribui para a otimização da distribuição do substrato e da enzima, melhorando ainda mais o desempenho do sistema (QUEISSADA *et al.*, 2020).

O PBR consiste em um sistema no qual a FTase imobilizada é colocada em um suporte fixo, permitindo a passagem do substrato pelo leito reacional. Esse modelo garante uma conversão eficiente e controlada, além de ser altamente adaptável, pois a diferentes condições operacionais, como variações de temperatura, pressão e vazão, características essenciais para a estabilidade e a produtividade do processo (LORENZONI *et al.*, 2014). Os processos industriais de produção de FOS, utilizando reatores de leito fixo, garantem alta produtividade e sustentabilidade, com excelente desempenho mesmo em condições extremas (FARIA *et al.*, 2021). Nesse cenário, este projeto propõe o desenvolvimento de um sistema catalítico para a produção de FOS em modo contínuo, utilizando um reator de leito fixo (PBR) e biocatalisadores compostos por células de *Aspergillus oryzae* IPT-301 imobilizadas em suportes porosos fabricados por impressão 3D.

METODOLOGIA

Microrganismo

O *Aspergillus oryzae* IPT-301 foi fornecido gratuitamente pela Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG) e Instituto de Pesquisas Tecnológicas de São Paulo (IPT/SP), armazenado e preservado, até o momento da reativação. Para a reativação do microrganismo, o meio utilizado foi Agar Batata Dextrose 39 g.L⁻¹, realizado o repique em placas. O meio e as placas foram esterilizados em autoclave a 121 °C, por 15 min, sendo feito em seguida o

plaqueamento de superfície, espalhamento ou picada utilizando alças de inóculo estéreis e incubada por 7 dias a 30 °C. Após o crescimento do microrganismo, foi preparado a raspagem e contagem dos esporos contendo solução salina e glicerina para o armazenamento. Em seguida, a contagem de esporos em suspensão, foi realizada utilizando uma câmara de Neubauer e um microscópio binocular, tendo seu valor padronizado em $1,25 \times 10^7$ para todas as análises. A Figura 1 abaixo demonstra o *A. oryzae* esporulado na placa para procedimento de contagem de esporo.

FIGURA 1 – Plaqueamento do fungo *A. oryzae*



FONTE: Autor próprio; 2024.

SÍNTESE DOS BIOCATALISADORES

Para a fermentação, foi utilizado meio de cultura sintético, como os reagentes sacarose 150 g.L^{-1} ; extrato de levedura $5,0 \text{ g.L}^{-1}$; NaNO_3 $5,0 \text{ g.L}^{-1}$; KH_2PO_4 $2,0 \text{ g.L}^{-1}$; $\text{Mg}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $0,5 \text{ g.L}^{-1}$; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ $0,3 \text{ g.L}^{-1}$; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; $0,01 \text{ g.L}^{-1}$, ajustando o pH para 5,5 esterilizado em autoclave durante 15 minutos a 121 °C. A imobilização de células contendo a enzima foi realizada utilizando os suportes no formato esférico e cilíndrico, fabricados pelo LABTEC-UFT, sob as seguintes condições: 500 uL de amostra contendo a concentração $1,25 \times 10^7$ do *Aspergillus* IPT-301 em frasco Erlenmeyer e mantida sob agitação de 200 rpm em shaker, a uma temperatura constante de 30 °C.

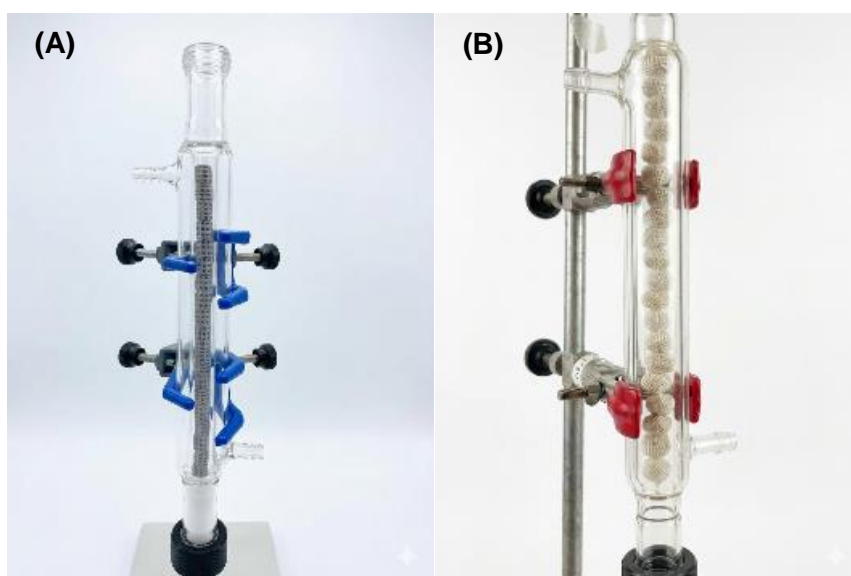
DETERMINAÇÃO DA IMOBILIZAÇÃO DAS CÉLULAS

A quantidade de biomassa livre e imobilizada no suporte durante a fermentação foi calculada mediante a determinação de sua massa seca, conforme descrito por Mussatto *et al.* (2009). A quantidade de biomassa absorvida nos suportes foi determinada pela diferença entre a massa seca da biomassa imobilizada no suporte e a massa do suporte, em estufa a 60 °C.

IMPLEMENTAÇÃO DO REATOR DE LEITO FIXO

As reações foram realizadas em um reator cilíndrico de borossilicato, com diâmetro interno de 12 mm e equipado com uma jaqueta de vidro para a recirculação de água, que atuou como fluido de troca térmica. O reator, ilustrado na Figura 1, possui suportes tanto na base quanto na parte superior, permitindo a fixação do biocatalisador. A temperatura da reação foi mantida constante com ajuda de um banho termostático com sistema de recirculação a 50 °C. O transporte do reagente foi realizado por uma bomba peristáltica, que proporcionou um fluxo ascendente de solução de sacarose. Após a saída do reator, as amostras foram coletadas em béquer. A figura 2 demonstra o reator de leito fixo com o suporte cilíndrico sem imobilização (A) e o suporte esférico imobilizado (B).

FIGURA 2 – Representação do reator de leito fixo com suporte 3D sem imobilização e imobilizado.



FONTE: Autor próprio; 2024.

DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA E QUANTIFICAÇÃO DE AÇÚCARES

A determinação da atividade enzimática (U/mL) foi realizada pelo método Miller (1959), para quantificação das concentrações de açúcares redutores [AR] e glicose [G], que foram determinados pelos métodos GOD-PAP (glicose-oxidase) levadas ao banho de 37 °C por 5 minutos e DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico) levadas para o banho-maria a 100 °C por 15 minutos. As leituras de absorvância foram realizadas em espectrofotômetro UV-VIS, com os valores, foi calculada a atividade. As análises foram todas feitas em duplicatas onde apresentou a eficiência na conversão do substrato. Abaixo, apresenta-se a Equação (1) utilizada para o cálculo da atividade de transfrutose em reatores de leito fixo, em que: [AT] é a Atividade de

transfrutossilacção (U/g); [FT] é a concentração de frutose transferida (mol/L); V_0 é a vazão volumétrica de operação do PBR (L/min); e m é a massa de catalisador (g)

$$[AT] \text{ (ensaios contínuos)} = [FT] * V_0/m \quad \text{Equação (1)}$$

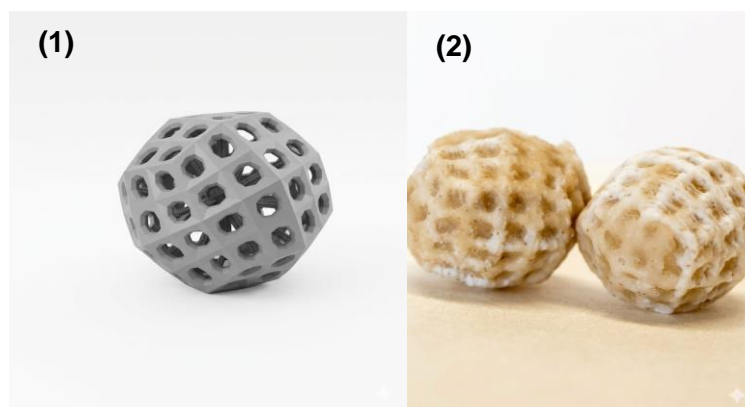
ENSAIOS CATALÍTICOS PARA PRODUÇÃO CONTÍNUA DE FOS

Foi avaliado a influência do tamanho das partículas dos biocatalisadores e do sistema de empacotamento do leito sobre reação enzimática, mediante aos ensaios catalíticos. Para isso, foram realizados ensaios utilizando diversos tamanhos de partícula (de 5 mm a 10 mm de diâmetro equivalente) e empacotamentos do leito catalítico (organização/rotação das partículas) linear e com rotação de 45°C. Além disso foi avaliada a influência da razão massa de biocatalisador/vazão volumétrica na conversão da sacarose. Essas reações foram conduzidas a 50°C. As amostras foram coletadas na saída do reator, submersas imediatamente em água fervente por 5 minutos e, em seguida, colocadas em um banho de gelo para interromper a reação enzimática. Todos os ensaios foram realizados em duplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

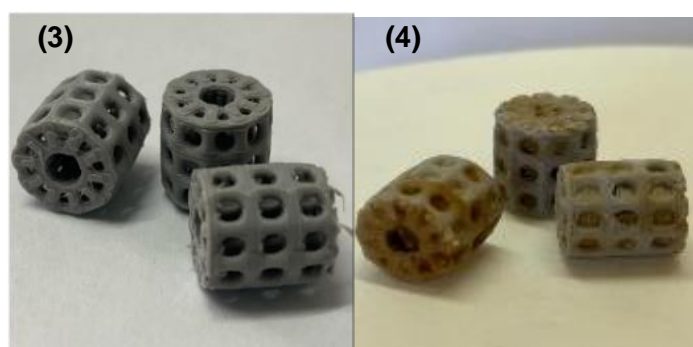
Os suportes de PLA fabricados por impressão 3D apresentaram uma estrutura porosa homogênea, favorecendo a imobilização celular. A morfologia dos suportes do modelo cilíndrico e esférico com o material PLA, proporcionou a aderência das células de *A. oryzae* IPT- 301, demonstrando eficácia na imobilização micelial nos suportes. Destaca-se que o PLA, por ser um material biodegradável e capaz de sofrer modificação de suas propriedades físico-químicas, representa uma alternativa inovadora para aplicações em biocatálise de processo contínuo, conforme discutido por Skorda *et al.*, (2024). As Figuras 3 e 4 apresentam os suportes 3D esféricos (1 e 2) e cilíndricos (3 e 4), sem imobilização celular e com células imobilizadas, utilizados no experimento.

FIGURA 3- Suportes de esféricos (1) e (2) de PLA, sem e com imobilização de células de *A. oryzae* IPT-301.



FONTE: Autor próprio; 2025.

FIGURA 4 – Suportes de cilíndricos (3) e (4) de PLA, sem e com imobilização de células de *A. oryzae* IPT-301.



FONTE: Autor próprio; 2025.

Os resultados indicaram que os suportes de PLA apresentaram alta eficiência na retenção celular, devido à sua estrutura porosa e geometria controlada. Esse desempenho é comparável ao de sistemas com alginato (GONÇALVES *et al.*, 2020), que também apresentam boa imobilização e estabilidade operacional, embora possam sofrer limitações de difusão e perda de biomassa ao longo dos ciclos. De forma semelhante, suportes à base de sílica (FARIA *et al.*, 2021) apresentam elevada estabilidade e resistência mecânica, porém podem apresentar redução da atividade enzimática inicial.

Nesse contexto, os suportes de PLA se destacam por aliar eficiência de imobilização, estabilidade e maior controle estrutural. Na tabela 1 abaixo apresenta os valores obtidos de biomassa nos suportes, a parti do peso seco determinado por (MUSSATTO *et al.*, 2009).

TABELA 1- Quantidade de biomassa de *A. Oryzae* IPT-301 imobilizada nos suportes cilíndricos e esféricos.

Modelo	Massa do suporte (g)	Massa total (g)	Massa celular (g)
Cilíndrico	0,342825	2,2322	1,8894

Esférico	0,166	0,44015	0,2734
----------	-------	---------	--------

FONTE: Autor próprio; 2025.

A montagem do reator PBR permitiu um controle eficaz da temperatura de 50°C e do fluxo ascendente de substrato. Ensaios preliminares tiveram a estabilidade da vazão volumétrica, garantido uma alimentação contínua e homogênea da solução de sacarose. Durante os testes, da conversão inicial. A atividade enzimática foi monitorada ao longo de 4 horas em regime contínuo com os suportes do modelo cilíndrico e modelo esférico.

As concentrações de açúcares redutores [AR], glicose [G] e frutose transfrutossilada [FT] obtidas a partir da biomassa imobilizada estão apresentadas nas Tabelas 2 e 3. As análises foram realizadas em duplicata, garantindo a confiabilidade dos resultados. Os ensaios em sistema contínuo, com vazão de 1 mL·min⁻¹, demonstraram estabilidade operacional do reator ao longo do processo. A formação de FT confirma a ocorrência da reação de transfrutossilagem, permitindo o cálculo da atividade enzimática, conforme a Equação (1). As tabelas 2 e 3 reúnem os valores experimentais que permitem a avaliação do desempenho do sistema.

TABELA 2- Concentração de açúcares obtida para a biomassa imobilizada no modelo cilíndrico

TEMPO (min)	AR (g/L)	G (g/L)	FT (g/L)
5	1,40	9,96	18,53
15	1,48	11,18	20,89
30	1,60	12,75	23,90
60	1,45	11,31	21,173
120	1,50	11,70	21,89
180	1,52	11,88	22,25
240	1,43	10,59	19,78

FONTE: Autor próprio;2025

TABELA 3- Concentração de açúcares obtida para a biomassa imobilizada no modelo esférico

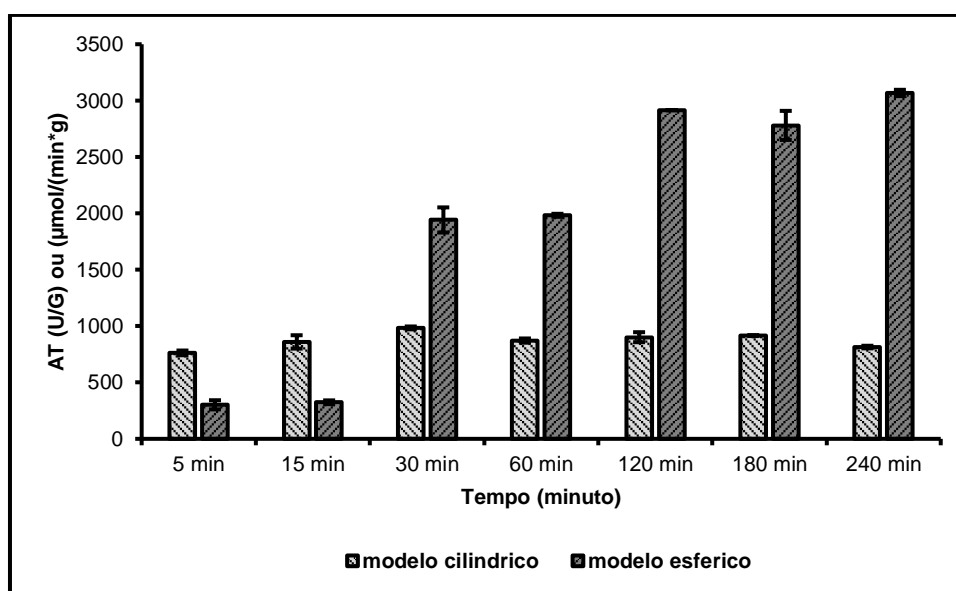
TEMPO (min)	AR (g/L)	G (g/L)	FT(g/L)
5	1,13	1,18	1,23
15	1,15	1,24	1,33
30	1,19	4,57	7,96
60	1,53	4,83	8,13
120	1,76	6,86	11,95
180	1,79	6,59	11,40
240	1,83	7,20	12,58

FONTE: Autor próprio; 2025.

Os resultados apresentam que o modelo esférico, teve um comportamento que indica, dentro do intervalo avaliado, que o reator de leito fixo operou de forma estável, sem apresentar perda expressiva de seletividade ou de produtividade. A ausência de diferença pode estar relacionada ao equilíbrio estabelecido e transferência após um período inicial de operação, que sugere que o sistema atingiu um estado quase estacionário.

Observou-se uma elevada atividade de transfrutossilacção [AT] nos suportes de geometria cilíndrica e esférica, com melhores resultados no esférico, evidenciando um aumento progressivo ao longo do tempo de reação. O estudo de Oliveira *et al.*, (2020), reportou comportamento semelhante com enzimas imobilizadas para a produção de fruto-oligossacarídeos em reatores enzimáticos. Os resultados obtidos para a [AT] estão detalhadas no gráfico 1 abaixo.

GRÁFICO 1 - Determinação da atividade enzimática g/L, pelo modelo cilíndrico e esférico



FONTE: Autor próprio; 2025.

No modelo cilíndrico, o tempo de 30 minutos resultou em maior atividade de transfrutossilacção em comparação com 4 horas, indicando que tempos de residência mais curtos favorecem essa rota reacional. Esse comportamento pode estar relacionado à intensificação de reações de hidrólise em tempos mais longos, conforme relatado por Lorenzoni *et al.*, (2015). Esses achados reforçam que o desempenho ótimo do PBR ocorre em condições de menor tempo de residência, embora ajustes operacionais e correções metodológicas ainda sejam necessários para validar a seletividade do processo.

Resultados semelhantes foram relatados por Dias *et al.*, (2022), apesar de algumas condições com vazão o tempo da reação foram diferentes, mas ao verificar que a produção de FOS em PBR se manteve estável em diferentes tempos de residência quando a carga enzimática

foi adequada ao fluxo de substrato comparando com a AT dele que foi 660 U g^{-1} . Nesse contexto, a constância dos resultados obtidos é positiva. Os ensaios catalíticos realizados em diferentes tamanhos de partícula e empacotamento do leito evidenciaram variações relevantes no desempenho do reator de leito fixo (PBR). Foi observado que modelo esférico apresentaram maior atividade de transfrutossilacção, possivelmente em função da maior área superficial disponível para difusão do substrato.

Contudo, modelo cilíndrico demonstraram boa estabilidade operacional, com menor queda de atividade ao longo do tempo, o que sugere menor sensibilidade. Além disso, verificou-se que o aumento da razão massa de biocatalisador/vazão volumétrica elevou a conversão de sacarose, embora valores muito altos tenham resultado em ganhos marginais, evidenciando um ponto ótimo de operação. Esses resultados demonstram que tanto a geometria das partículas quanto a configuração do leito têm papel determinante na eficiência do processo, reforçando a importância do controle estrutural possibilitado pela manufatura aditiva na otimização de sistemas contínuos para a produção de FOS.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento do sistema reacional em reator de leito fixo (PBR) com células de *Aspergillus oryzae* IPT-301 imobilizadas em suportes de PLA impressos em 3D representa um avanço significativo para a produção contínua de fruto-oligossacarídeos (FOS). A avaliação do tamanho das partículas e do tipo de empacotamento modelo esférico demonstrou ser determinante para o desempenho do reator, influenciando diretamente a atividade enzimática, o rendimento de FOS e a conversão da sacarose. Os resultados obtidos confirmaram a importância do controle geométrico proporcionado pela manufatura aditiva, que possibilitou otimizar o contato entre substrato e biocatalisador. Além disso, a análise da estabilidade operacional e a vazão de $1 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ evidenciou que os biocatalisadores mantiveram desempenho satisfatório durante a operação contínua, reforçando a viabilidade do sistema para aplicações de maior escala. Dessa forma, o projeto não apenas atingiu os objetivos propostos, mas também demonstrou o potencial dos suportes de PLA como alternativa sustentável e eficiente em bioprocessos enzimáticos, consolidando a impressão 3D como uma ferramenta estratégica para inovação.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq – Brasil, CNPq Universal processo nº 408302/2023-2, Agência

Financiadora de Estudos e Projetos – Finep: “Programa De Recuperação E Expansão Da Infraestrutura De Pesquisa Científica E Tecnológica Em Universidades E Icts – Pró-Infra E Mcti/Finep/Fndct/Ação Transversal Infraestrutura Para A Amazônia Legal 2024 Pró-Amazônia E Chamada Pública Mcti/Finep/Fndct/Ct-Verde Amarelo – Laboratórios Abertos De Prototipagem E Espaços Compartilhados - 01/2022; Referência:1312/22”, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-CAPES e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG (No. APQ-00793-24). Os autores também agradecem o apoio científico do Instituto de Pesquisas Tecnológicas de São Paulo (IPT/SP).

REFERÊNCIAS

- BELMONTE-IZQUIERDO, Y.; SALOMÉ-ABARCA, L. F.; GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ, J. C.; LÓPEZ, M. G. Fructooligosaccharides (FOS) production by microorganisms with fructosyltransferase activity. **Fermentation**, 9(11), 968, 2023. <https://doi.org/10.3390/fermentation9110968>
- CUNHA, J. S.; OTTONI, C. A.; MORALES, S. A.; SILVA, E. S.; MAIORANO, A. E.; PERNA, R. F. Synthesis and characterization of fructosyltransferase from *Aspergillus oryzae* IPT-301 for high fructooligosaccharides production. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, 36, 657-668, 2019. <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20190362s20180572>
- DALLASTRA, E. D. G.; DIAS, A. C. P.; DE MORAIS, P. B.; DA SILVA, J. F. M.; CASCIATORI, F. P.; GRAJALES, L. M.; Desenvolvimento de um novo biorreator de bandeja em escala piloto para fermentação em estado sólido visando a intensificação do processo. **Chemical Engineering and Processing-Process Intensification**, 193, 109526, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2023.109526>
- DIAS, G. S.; SANTOS, E. D.; XAVIER, M. C.; ALMEIDA, A. F.; SILVA, E. S.; MAIORANO, A. E.; MORALES, S. A. Estudo sobre a atividade de transfructosilação de células de *Aspergillus oryzae* IPT-301 em um reator de leito fixo visando à produção de fructooligosacarídeos. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, 97 (10), 2904-2911, 2022. <https://doi.org/10.1002/jctb.7163>
- FARIA, L. L.; MORALES, S. A. V.; PRADO, J. P. Z.; DIAS, G. D. S.; DE ALMEIDA, A. F.; XAVIER, M. D. C. A.; PERNA, R. F. Caracterização bioquímica da fructosiltransferase extracelular de *ASPERGILLUS ORYZAE* IPT-301 imobilizada em gel de sílica para a produção de fructooligosacarídeos. **Biotechnology Letters**, 43 (1), 43-59, 2021. <https://link.springer.com/article/10.1007/S10529-020-03016-7#citeas>
- GONÇALVES, M.; MORALES, S.; PERNA, R.; KIECKBUSCH, T. IMOBILIZAÇÃO DA BIOMASSA CATALÍTICA DE *Aspergillus oryzae* ipt-301 em alginato e avaliação da sua estabilidade operacional para a produção de fructooligosacarídeos. <https://www.researchgate.net/publication/358647200>
- LORENZONI, A. S. G.; AYDOS, L. F.; KLEIN, M. P.; AYUB, M. A. Z.; RODRIGUES, R. C.; HERTZ, P. F. Continuous production of fructooligosaccharides and invert sugar by chitosan

immobilized enzymes: comparison between fluidized and packed bed reactors. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2014.11.002>
LU, J.; LI, J.; YIN, J.; LI, C.; ZHANG, S.; GUO, J.; DUAN, J. Frutooligossacarídeo diminui a produção do precursor da toxina urêmica através da modulação da via do metabolismo da tirosina mediada por micróbios intestinais. **Future Foods**, 4, 100069, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100069>

MARTINS, G. N.; URETA, M. M.; TYMCZYSZYN, E. E.; CASTILHO, P. C.; GOMEZ-ZAVAGLIA, A. Aspectos tecnológicos da produção de frutooligossacarídeos e galactooligossacarídeos. Síntese enzimática e hidrólise. **Frontiers in nutrition**, 6, 78. Volume 6 – 2019. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00078>

MELLADO-MOJICA, E.; CALVO-GÓMEZ, O.; JOFRE-GARFIAS, A. E.; DÁVALOS-GONZÁLEZ, P. A.; DESJARDINS, Y.; LÓPEZ, M. G. Frutooligossacarídeos como marcadores moleculares de origem geográfica, região de cultivo, antecedentes genéticos e potencial prebiótico em morangos: um estudo TLC, HPAEC-PAD e FTIR. **Avanços na Química Alimentar**, 1, 100064, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100064>

MELZER, T. M.; MANOSSO, L. M.; YAU, S. Y.; GIL-MOHAPPEL, J.; BROCARD, P. S. Em busca de um envelhecimento saudável: efeitos da nutrição na função cerebral. **Revista Internacional de Ciências Moleculares**, 22 (9), 5026, 2021. <https://doi.org/10.3390/ijms22095026>

MUSSATTO, S. I.; AGUILAR, C. N.; RODRIGUES, L. R.; TEIXEIRA, J. A. Colonização de *Aspergillus japonicus* em materiais sintéticos e aplicação na produção de frutooligossacarídeos. **Carbohydrate Research**, 344 (6), 795-800, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2009.01.025>

NIU, Z.; ZOU, M.; BEI, T.; ZHANG, N.; LI, D.; WANG, M.; TIAN, H. Efeito dos frutooligossacarídeos na colonização de *Lactobacillus rhamnosus* AS 1.2466 T no intestino de camundongos. **Ciência de Alimentos e Bem-Estar Humano**, 12 (2), 607-613, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2022.07.063>

OJWACH, J.; ADETUNJI, A. I.; MUTANDA, T.; MUKARATIRWA, S. Produção de oligossacarídeos a partir de fungos coprófilos: um alimento funcional emergente com potenciais propriedades promotoras da saúde. **Biotechnology Reports**, 33, e00702, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2022.e00702>

OLIVEIRA, R. L. Desenvolvimento de processos de produção de fruto-oligossacarídeos em reator enzimático utilizando enzimas com atividade de transfrutoseilação imobilizadas. 2022. 108 f. Disponível em: <http://www.tede2.ufrpe.br:8080/tede2/handle/tede2/8780>.

PACHEKREPAPOL, U.; SOMBOONCHAI, N.; KRIMJAI, W. Propriedades físico-químicas, reológicas e microbiológicas de iogurte funcional sem lactose suplementado com frutooligossacarídeos. **Journal of food processing and preservation**, 45 (1), e15017, 2021. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15017>

POSE-BOIRAZIAN, T.; MARTÍNEZ-COSTAS, J.; EIBES, G. Impressão 3D: uma tecnologia emergente para imobilização de biocatalisadores. **Macromolecular Bioscience**, 22 (9), 2200110, 2022. <https://doi.org/10.1002/mabi.202200110>

QUEISSADA, D. D.; DA SILVA, J. A. Imobilização enzimática em suportes orgânicos e inorgânicos: vantagens e vantagens. **Holos Meio Ambiente**, v. 2, pág. 271-286, 2020. <https://doi.org/10.14295/holos.v20i2.12378>

SKORDA, S.; BARDAKAS, A.; SEGKOS, A.; CHOUCHOUMI, N.; HOURDAKIS, E.; VEKINIS, G.; TSAMIS, C. Influência da dopagem de SiC nas propriedades mecânicas, elétricas e ópticas do PLA impresso em 3D. **Journal of Composites Science**, 8 (3), 79, 2024. <https://doi.org/10.3390/jcs8030079>