

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

JESSICA BARBOSA FANIS

**COMPÓSITOS CERÂMICA-POLÍMERO OBTIDOS POR IMPRESSÃO 3D
APLICADOS NA IMOBILIZAÇÃO DO FUNGO *Aspergillus oryzae* IPT-301 PARA A
PRODUÇÃO DE FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS**

POÇOS DE CALDAS/MG

2025

JESSICA BARBOSA FANIS

**COMPÓSITOS CERÂMICA-POLÍMERO OBTIDOS POR IMPRESSÃO 3D
APLICADOS NA IMOBILIZAÇÃO DO FUNGO *Aspergillus oryzae* IPT-301 PARA A
PRODUÇÃO DE FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para
obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia de
Materiais pela Universidade Federal de Alfenas. Área de
concentração: Cerâmicas
Orientadora: Prof.^a Dr.^a Sylma Carvalho Maestrelli
Coorientador: Prof. Dr. Juliano Marini

POÇOS DE CALDAS/MG

2025

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Campus Poços de Caldas

Fanis, Jéssica Barbosa.

Compósitos cerâmica-polímero obtidos por impressão 3D aplicados na imobilização do fungo *Aspergillus oryzae* IPT-301 para a produção de frutooligossacarídeos / Jéssica Barbosa Fanis. - Poços de Caldas, MG, 2025.
96 f. : il. -

Orientador(a): Sylma Carvalho Maestrelli.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) -
Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, MG, 2025.
Bibliografia.

1. Óxido de alumínio. 2. Poliácido láctico. 3. Acrilonitrila butadieno estireno. 4. Polietileno tereftalato glicol. 5. Modelagem por deposição fundida. I. Maestrelli, Sylma Carvalho, orient. II. Título.

COMPÓSITOS CERÂMICA-POLÍMERO OBTIDOS POR IMPRESSÃO 3D APLICADOS NA IMOBILIZAÇÃO DO FUNGO *Aspergillus oryzae* IPT-301 PARA A PRODUÇÃO DE FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS

A Presidente da banca examinadora abaixo assina a aprovação da Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestra em Ciência e Engenharia de Materiais pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Ciência e Engenharia de Materiais.

Aprovada em: 30 de julho de 2025.

Profa. Dra. Sylma Carvalho Maestrelli
Presidente da Banca Examinadora
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Profa. Dra. Ana Paula Fonseca Albers
Instituição: Universidade Federal de São Paulo, campus São José dos Campos

Prof. Dr. Rodrigo Fernando Costa Marques
Instituição: Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, campus Araraquara



Documento assinado eletronicamente por **Sylma Carvalho Maestrelli, Professor do Magistério Superior**, em 30/07/2025, às 11:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1534436** e o código CRC **48FDDA79**.

AGRADECIMENTOS

A conclusão deste mestrado foi possível graças ao apoio e à colaboração de diversas pessoas, a quem gostaria de expressar minha sincera gratidão.

Primeiramente, agradeço a Deus, por me dar saúde e perseverança para enfrentar os desafios desta caminhada acadêmica.

Aos meus pais, Cida e Rubens, que com seu amor incondicional e sabedoria, sempre me apoiaram e incentivaram em cada passo desta jornada. Agradeço profundamente por serem a base sólida que me sustenta e por sempre acreditarem em meu potencial.

Ao meu companheiro, Augusto, que esteve ao meu lado em todos os momentos, compartilhando alegrias e desafios. Agradeço também aos meus sogros, pelo acolhimento e suporte inestimáveis.

Um agradecimento especial à minha orientadora, prof.^a Sylma, cuja orientação e paciência foram cruciais para o desenvolvimento deste trabalho. Sua experiência e dedicação foram inspirações constantes, e suas críticas e sugestões contribuíram de forma decisiva para o meu crescimento profissional.

Ao meu coorientador, prof. Juliano, pela ajuda nos ensaios realizados no DEMa/UFSCar e por ser sempre solícito e atencioso em todos os momentos que necessitei de sua ajuda.

Aos professores e colegas do Programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (PPGCEM UNIFAL-MG/UNIFEI) e do Laboratório de Materiais (LABMAT), do Programa de Pós-graduação em Engenharia Química (PPGEQ) e do Laboratório de Tecnologia Enzimática e Bioprocessos (LabTEB), que direta ou indiretamente contribuíram para a obtenção deste título, agradeço o compartilhamento de conhecimentos e experiências que enriqueceram minha trajetória.

Finalmente, expresso minha gratidão às demais instituições e profissionais que colaboraram para a realização desta pesquisa, fornecendo recursos e insights essenciais para a concretização deste estudo. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para esta conquista, meu mais sincero agradecimento. Cada gesto de apoio e cada palavra de incentivo fizeram uma diferença significativa e serão sempre lembrados com gratidão.

RESUMO

O alto consumo de açúcares, bem como diversos outros alimentos de alto índice calórico, contribuem significativamente para o desenvolvimento e intensificação de problemas metabólicos, dentre os quais ganham destaque a obesidade, diabetes, hipertensão e problemas cardiovasculares. Diante disso, a indústria alimentícia notou a necessidade de implantar novos meios, mais viáveis, de produção de alimentos funcionais que sejam considerados mais saudáveis e menos agressivos à saúde humana. Os frutooligossacarídeos (FOS) se mostram como uma alternativa mais saudável e menos calórica aos açúcares tradicionalmente utilizados na dieta humana. Assim, o desenvolvimento de tecnologias que permitam a obtenção desses açúcares em larga escala torna-se de suma importância para a sociedade atual. Esta pesquisa investigou a produção de suportes porosos cerâmicos pela técnica de réplica; poliméricos e de compósitos cerâmica-polímero utilizando impressão 3D, e avaliou seu potencial de aplicação na imobilização do fungo *Aspergillus oryzae* IPT-301 para a produção de frutooligossacarídeos (FOS). A pesquisa se dividiu em duas etapas principais: a produção e caracterização dos suportes feitos de alumina, de polímeros (PLA, ABS e PETG) e de compósitos destes materiais (alumina-PLA, alumina-ABS e alumina-PETG); e a avaliação de sua eficácia com base em sua capacidade de imobilização de biomassa catalítica e de sua respectiva atividade de transfrutossilagem (A_{TS}). A produção de FOS a partir desses biocatalisadores visa uma alternativa industrial sustentável e de baixo custo para a síntese de compostos funcionais em larga escala. Os resultados indicaram que suportes poliméricos puros, especialmente o PLA e o ABS, proporcionaram maiores A_{TS} , enquanto materiais com alta carga de biomassa, como os compósitos com Al_2O_3 , apresentaram menores valores de atividade. Esse comportamento foi atribuído à ocorrência de limitações difusionais, ou seja, à dificuldade de o substrato atravessar camadas densas de biomassa ou regiões de baixa porosidade no interior do suporte, dificultando o acesso do reagente às células ativas mais internas e comprometendo a eficiência catalítica do sistema como um todo. A pesquisa comprovou a viabilidade técnica da manufatura aditiva para o desenvolvimento de biocatalisadores customizados e de baixo custo, com forte potencial para aplicação industrial na produção sustentável de açúcares funcionais.

Palavras-chave: Óxido de alumínio; poliácido lático; acrilonitrila butadieno estireno; polietileno tereftalato glicol; modelagem por deposição fundida.

ABSTRACT

The high consumption of sugars and various other high-calorie foods significantly contributes to the development and exacerbation of metabolic issues, notably obesity, diabetes, hypertension, and cardiovascular problems. In response, the food industry has recognized the need to implement new, viable means for producing functional foods that are healthier and less harmful to human health. Fructooligosaccharides (FOS) present a healthier, lower-calorie alternative to sugars commonly used in the human diet. Therefore, the development of technologies for large-scale FOS production is of paramount importance today. This study investigates the production of porous ceramic supports using the replica technique; polymeric and ceramic-polymer composite supports using 3D printing and evaluates their suitability for immobilizing the fungus *Aspergillus oryzae* IPT-301 for FOS production. The research consists of two main stages: (1) the production and characterization of alumina, polymer (PLA, ABS, and PETG), and ceramic-polymer composite (alumina-PLA, alumina-ABS, alumina-PETG) supports; and (2) evaluation of its effectiveness based on its capacity to immobilize catalytic biomass and its respective transfructosylation activity. The production of FOS from these biocatalysts is aimed at a sustainable and low-cost industrial alternative for the synthesis of functional compounds on a large scale. The results showed that pure polymeric substrates, especially PLA and ABS, provided higher *Ats*, while materials with high biomass load, such as composites with Al_2O_3 , presented lower activity values. This behavior was attributed to the occurrence of diffusional limitations, that is, to the difficulty of the substrate to absorb dense layers of biomass or regions of low porosity inside the support, hindering the access of the reagent to the catalytic activity of the system. The research demonstrates the technical feasibility of additive manufacturing for the development of customized and low-cost biocatalysts, with strong potential for industrial application in the sustainable production of functional sugars.

Keywords: Aluminum oxide; polylactic acid; acrylonitrile butadiene styrene; polyethylene terephthalate glycol; fused deposition modeling.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 – Estrutura química dos FOS: (a) 1-kestose, (b) nistose e (c) 1-frutofuranosilnistrose | 23 |
| Figura 2 – Esquema da reação de transfrutossilacção | 26 |
| Figura 3 – Métodos de imobilização enzimática | 29 |
| Figura 4 – Detalhamento das etapas propostas para uso da técnica de réplica na produção de cerâmicas porosas | 34 |
| Figura 5 – Estrutura cristalina do <i>corundum</i> | 35 |
| Figura 6 – Etapas envolvidas na produção de peças por meio da AM | 37 |
| Figura 7 – Esquemática das atividades realizadas na Etapa A | 41 |
| Figura 8 – Filamentos após moagem criogênica de (a) PLA, (b) ABS e (c) PETG | 46 |
| Figura 9 – Esquemática das atividades realizadas na Etapa B | 48 |
| Figura 10 – Curva de DSC/TG para a alumina pura | 52 |
| Figura 11 – Curva de DSC/TG para ABS puro e compósito ABS/Al ₂ O ₃ | 53 |
| Figura 12 – Curva de DSC/TG para PETG puro e compósito PETG/Al ₂ O ₃ | 53 |
| Figura 13 – Curva de DSC/TG para PLA puro e compósito PLA/Al ₂ O ₃ | 55 |
| Figura 14 – Análise de FTIR para a alumina pura | 55 |
| Figura 15 – Análise de FTIR para ABS puro e compósito ABS/Al ₂ O ₃ | 56 |
| Figura 16 – Análise de FTIR para PETG puro e compósito PETG/Al ₂ O ₃ | 57 |
| Figura 17 – Análise de FTIR para PLA puro e compósito PLA/Al ₂ O ₃ | 58 |
| Figura 18 – Espumas de PU, com dimensão de 1 cm x 1 cm x 1 cm e com abertura de 30 ppi, após imersão em barbotina contendo alumina e demais aditivos, antes de qualquer tratamento térmico | 59 |
| Figura 19 – Peça de Al ₂ O ₃ moldada em espuma de 30 ppi, com dimensão de 1 cm ³ , e tratada termicamente a 1600 °C, sendo observada a porosidade resultante da utilização da técnica de réplica | 60 |
| Figura 20 – Isoterma de adsorção do tipo IV, com histerese do tipo H1, obtida em análise de B.E.T. para determinação dos tipos de poros presentes nos suporte de Al ₂ O ₃ | 61 |
| Figura 21 – Imagem de uma camada de esponja de PU obtida por microscópio ótico Zeiss associado ao software AxionVision | 62 |
| Figura 22 – Modelagem computacional para aplicação da técnica FDM, constituído do (a) esboço de camada obtido a partir do fatiamento da esponja; (b) modelo construído após união das camadas; e (C) modelo final | 63 |

| | |
|--|----|
| Figura 23 – Vistas isométrica, superior e lateral do modelo desenvolvido com arestas para garantir suporte mecânico ao produto desenvolvido | 63 |
| Figura 24 – Peças de (a) ABS, (b) PETG, (c) PLA, (d) ABS/Al ₂ O ₃ , (e) PETG/Al ₂ O ₃ e (f) PLA/Al ₂ O ₃ produzidas com a técnica FDM utilizando-se a impressora 3D Creality K1C..... | 64 |
| Figura 25 – Visualização das irregularidades dispostas na parte interna dos suportes de compósito PLA/Al ₂ O ₃ | 65 |
| Figura 26 – Concentração de células de <i>A. oryzae</i> IPT-301, imobilizadas em suporte poroso de óxido de alumínio com abertura de 30 ppi (1,0 x 1,0 x 1,0 cm), em função do tempo de cultivo celular e influência deste tempo nas atividades de transfrutossilação (A _T) das células..... | 67 |
| Figura 27 – Concentração de células de <i>A. oryzae</i> IPT-301, imobilizadas em suporte poroso de PLA (1,0 x 1,0 x 1,0 cm), em função do tempo de cultivo celular e influência deste tempo nas atividades de transfrutossilação das células..... | 70 |
| Figura 28 – Concentração de células de <i>A. oryzae</i> IPT-301, imobilizadas em suporte poroso compósito de PLA/Al ₂ O ₃ (1,0 x 1,0 x 1,0 cm), em função do tempo de cultivo celular e influência deste tempo nas atividades de transfrutossilação das células . | 72 |
| Figura 29 – Crescimento de biomassa catalítica nos suportes de PLA/Al ₂ O ₃ com dimensão de 1 cm ³ durante intervalo de tempo pré-determinado para o cultivo..... | 73 |
| Figura 30 – Concentração de células de <i>A. oryzae</i> IPT-301, imobilizadas em suporte poroso de ABS (1,0 x 1,0 x 1,0 cm), em função do tempo de cultivo celular e influência deste tempo nas atividades de transfrutossilação das células..... | 74 |
| Figura 31 – Concentração de células de <i>A. oryzae</i> IPT-301, imobilizadas em suporte poroso de ABS/Al ₂ O ₃ (1,0 x 1,0 x 1,0 cm), em função do tempo de cultivo celular e influência deste tempo nas atividades de transfrutossilação das células..... | 76 |
| Figura 32 – Concentração de células de <i>A. oryzae</i> IPT-301, imobilizadas em suporte poroso de PETG (1,0 x 1,0 x 1,0 cm), em função do tempo de cultivo celular e influência deste tempo nas atividades de transfrutossilação das células..... | 77 |
| Figura 33 – Concentração de células de <i>A. oryzae</i> IPT-301, imobilizadas em suporte poroso de PETG/Al ₂ O ₃ (1,0 x 1,0 x 1,0 cm), em função do tempo de cultivo celular e influência deste tempo nas atividades de transfrutossilação das células..... | 79 |
| Figura 34 – Ilustração gráfica com os principais resultados obtidos para os diferentes suportes avaliados, comparando seus valores de máxima concentração de biomassa | |

catalítica imobilizada nas 48 h de cultivo, seu tempo ótimo de cultivo e a máxima atividade de transfrutoseilação obtida 81

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 – Estrutura química dos FOS: (a) 1-kestose, (b) nistose e (c) 1-frutofuranosilnistrose | 23 |
| Figura 2 – Esquema da reação de transfrutossilacção | 26 |
| Figura 3 – Métodos de imobilização enzimática | 29 |
| Figura 4 – Detalhamento das etapas propostas para uso da técnica de réplica na produção de cerâmicas porosas | 34 |
| Figura 5 – Estrutura cristalina do <i>corundum</i> | 35 |
| Figura 6 – Etapas envolvidas na produção de peças por meio da AM | 37 |
| Figura 7 – Esquemática das atividades realizadas na Etapa A | 41 |
| Figura 8 – Filamentos após moagem criogênica de (a) PLA, (b) ABS e (c) PETG..... | 46 |
| Figura 9 – Esquemática das atividades realizadas na Etapa B..... | 48 |
| Figura 10 – Curva de DSC/TG para a alumina pura | 52 |
| Figura 11 – Curva de DSC/TG para ABS puro e compósito ABS/Al ₂ O ₃ | 53 |
| Figura 12 – Curva de DSC/TG para PETG puro e compósito PETG/Al ₂ O ₃ | 53 |
| Figura 13 – Curva de DSC/TG para PLA puro e compósito PLA/Al ₂ O ₃ | 55 |
| Figura 14 – Análise de FTIR para a alumina pura | 55 |
| Figura 15 – Análise de FTIR para ABS puro e compósito ABS/Al ₂ O ₃ | 56 |
| Figura 16 – Análise de FTIR para PETG puro e compósito PETG/Al ₂ O ₃ | 57 |
| Figura 17 – Análise de FTIR para PLA puro e compósito PLA/Al ₂ O ₃ | 58 |
| Figura 18 – Espumas de PU, com dimensão de 1 cm x 1 cm x 1 cm e com abertura de 30 ppi, após imersão em barbotina contendo alumina e demais aditivos, antes de qualquer tratamento térmico | 59 |
| Figura 19 – Peça de Al ₂ O ₃ moldada em espuma de 30 ppi, com dimensão de 1 cm ³ , e tratada termicamente a 1600 °C, sendo observada a porosidade resultante da utilização da técnica de réplica | 60 |
| Figura 20 – Isoterma de adsorção do tipo IV, com histerese do tipo H1, obtida em análise de B.E.T. para determinação dos tipos de poros presentes nos suporte de Al ₂ O ₃ | 61 |
| Figura 21 – Imagem de uma camada de esponja de PU obtida por microscópio ótico Zeiss associado ao software AxionVision..... | 62 |
| Figura 22 – Modelagem computacional para aplicação da técnica FDM, constituído do (a) esboço de camada obtido a partir do fatiamento da esponja; (b) modelo construído após união das camadas; e (C) modelo final..... | 63 |

| | |
|---|----|
| Figura 23 – Vistas isométrica, superior e lateral do modelo desenvolvido com arestas para garantir suporte mecânico ao produto desenvolvido | 63 |
| Figura 24 – Peças de (a) ABS, (b) PETG, (c) PLA, (d) ABS/Al ₂ O ₃ , (e) PETG/Al ₂ O ₃ e (f) PLA/Al ₂ O ₃ produzidas com a técnica FDM utilizando-se a impressora 3D Creality K1C | 64 |
| Figura 25 – Visualização das irregularidades dispostas na parte interna dos suportes de compósito PLA/Al ₂ O ₃ | 65 |
| Figura 26 – Concentração de células de <i>A. oryzae</i> IPT-301, imobilizadas em suporte poroso de óxido de alumínio com abertura de 30 ppi (1,0 x 1,0 x 1,0 cm), em função do tempo de cultivo celular e influência deste tempo nas atividades de transfrutossilção (A _T) das células..... | 67 |
| Figura 27 – Concentração de células de <i>A. oryzae</i> IPT-301, imobilizadas em suporte poroso de PLA (1,0 x 1,0 x 1,0 cm), em função do tempo de cultivo celular e influência deste tempo nas atividades de transfrutossilção das células..... | 70 |
| Figura 28 – Concentração de células de <i>A. oryzae</i> IPT-301, imobilizadas em suporte poroso compósito de PLA/Al ₂ O ₃ (1,0 x 1,0 x 1,0 cm), em função do tempo de cultivo celular e influência deste tempo nas atividades de transfrutossilção das células..... | 72 |
| Figura 29 – Crescimento de biomassa catalítica nos suportes de PLA/Al ₂ O ₃ com dimensão de 1 cm ³ durante intervalo de tempo pré-determinado para o cultivo..... | 73 |
| Figura 30 – Concentração de células de <i>A. oryzae</i> IPT-301, imobilizadas em suporte poroso de ABS (1,0 x 1,0 x 1,0 cm), em função do tempo de cultivo celular e influência deste tempo nas atividades de transfrutossilção das células..... | 74 |
| Figura 31 – Concentração de células de <i>A. oryzae</i> IPT-301, imobilizadas em suporte poroso de ABS/Al ₂ O ₃ (1,0 x 1,0 x 1,0 cm), em função do tempo de cultivo celular e influência deste tempo nas atividades de transfrutossilção das células..... | 76 |
| Figura 32 – Concentração de células de <i>A. oryzae</i> IPT-301, imobilizadas em suporte poroso de PETG (1,0 x 1,0 x 1,0 cm), em função do tempo de cultivo celular e influência deste tempo nas atividades de transfrutossilção das células..... | 77 |
| Figura 33 – Concentração de células de <i>A. oryzae</i> IPT-301, imobilizadas em suporte poroso de PETG/Al ₂ O ₃ (1,0 x 1,0 x 1,0 cm), em função do tempo de cultivo celular e influência deste tempo nas atividades de transfrutossilção das células..... | 79 |
| Figura 34 – Ilustração gráfica com os principais resultados obtidos para os diferentes suportes avaliados, comparando seus valores de máxima concentração de biomassa | |

catalítica imobilizada nas 48 h de cultivo, seu tempo ótimo de cultivo e a máxima
atividade de transfrutoseilação obtida 81

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-------------------------------------|---|
| ABS | Acrilonitrila butadieno estireno |
| ABS/Al ₂ O ₂ | Compósito na matriz de ABS com reforço de alumina |
| Al ₂ O ₂ | Óxido de alumínio; Alumina |
| ANVISA | Agência Nacional de Vigilância Sanitária |
| A _T | Atividade de transfrutossilação |
| BET | Ensaio de área de superfície específica |
| C | Carbono |
| CMC | Carboximetilcelulose |
| DNS | Ácido 3,5-dinitrosalicílico |
| DSC/TG | Calorimetria exploratória diferencial |
| FFase | Frutofuranosidase |
| FOS | Frutooligossacarídeos |
| FTase | Frutosiltransferase |
| FTIR | Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier |
| GOD/PAP | Kit enzimático glicose-oxidase |
| H | Hidrogênio |
| MEV | Microscopia Eletrônica de Varredura |
| N | Nitrogênio |
| O | Oxigênio |
| PETG | Polietileno tereftalato glicol |
| PETG/Al ₂ O ₂ | Compósito na matriz de PETG com reforço de alumina |
| PLA | Poliácido láctico |
| PLA/Al ₂ O ₂ | Compósito na matriz de PLA com reforço de alumina |
| PU | Poliuretano |
| PVA | Poli álcool vinílico |
| TG | Termogravimetria |

SUMÁRIO

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 17 |
| 2 | OBJETIVOS | 19 |
| 2.1 | OBJETIVO GERAL | 19 |
| 2.2 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 19 |
| 3 | JUSTIFICATIVA | 20 |
| 3.1 | O QUE HÁ NA LITERATURA ATUALMENTE? | 21 |
| 4 | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 23 |
| 4.1 | FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS | 23 |
| 4.1.1 | Definições, propriedades e aplicações | 23 |
| 4.1.2 | Importância mercadológica e consumo humano | 24 |
| 4.1.3 | Rotas de produção | 25 |
| 4.1.4 | Limitações na produção | 27 |
| 4.2 | IMOBILIZAÇÃO ENZIMÁTICA | 28 |
| 4.2.1 | Suportes porosos | 29 |
| 4.2.2 | Aplicações de suportes porosos na indústria..... | 31 |
| 4.2.3 | Desafios e limitações | 32 |
| 4.3 | PROCESSAMENTO DE CERÂMICAS POROSAS PELA TÉCNICA DE RÉPLICA..... | 33 |
| 4.3.1 | Alumina | 34 |
| 4.4 | TECNOLOGIA FDM (<i>FUSED DEPOSITION MODELING</i>) APLICADA À PRODUÇÃO DE SUPORTES POROSOS | 36 |
| 4.4.1 | PLA (Poliácido láctico)..... | 38 |
| 4.4.2 | ABS (Acrilonitrila butadieno estireno)..... | 38 |
| 4.4.3 | PETG (Polietileno tereftalato glicol)..... | 39 |
| 4.4.4 | Compósitos cerâmica-polímero | 39 |
| 5 | MATERIAIS E MÉTODOS | 41 |
| 5.1 | ETAPA A – PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS SUPORTES POROSOS | 41 |
| 5.1.1 | Caracterização das matérias-primas | 42 |
| 5.1.2 | Produção dos suportes cerâmicos (alumina)..... | 42 |
| 5.1.3 | Produção dos suportes poliméricos | 45 |
| 5.1.4 | Produção dos suportes cerâmica-polímero | 45 |

| | | |
|--------------|--|-----------|
| 5.2 | ETAPA B – AVALIAÇÃO DOS SUPORTES PRODUZIDOS DIANTE DA IMOBILIZAÇÃO DE CÉLULAS MICROBIANAS COM ATIVIDADE CATALÍTICA | 48 |
| 5.2.1 | Produção e imobilização da biomassa catalítica | 48 |
| 5.2.2 | Construção das curvas de crescimento microbiano | 49 |
| 5.2.3 | Quantificação de açúcares redutores e glicose | 49 |
| 5.2.4 | Determinação da atividade enzimática | 49 |
| 6 | RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 51 |
| 6.1 | ETAPA A..... | 51 |
| 6.1.1 | Caracterização das matérias-primas | 51 |
| 6.1.1.1 | Ensaio de DSC/TG | 51 |
| 6.1.1.1.1 | <i>Alumina.....</i> | <i>51</i> |
| 6.1.1.1.2 | <i>ABS e ABS/Al₂O₃.....</i> | <i>52</i> |
| 6.1.1.1.3 | <i>PETG e PETG/Al₂O₃.....</i> | <i>53</i> |
| 6.1.1.1.4 | <i>PLA e PLA/Al₂O₃.....</i> | <i>54</i> |
| 6.1.1.2 | Ensaio de FTIR | 55 |
| 6.1.1.2.1 | <i>Alumina.....</i> | <i>55</i> |
| 6.1.1.2.2 | <i>ABS e ABS/Al₂O₃.....</i> | <i>56</i> |
| 6.1.1.2.3 | <i>PETG e PETG/Al₂O₃.....</i> | <i>57</i> |
| 6.1.1.2.4 | <i>PLA e PLA/Al₂O₃.....</i> | <i>58</i> |
| 6.1.2 | Produção dos suportes porosos de alumina..... | 59 |
| 6.1.2.1 | Ensaio de B.E.T dos suportes de Al ₂ O ₃ | 60 |
| 6.1.3 | Produção dos suportes porosos poliméricos e compósitos | 61 |
| 6.1.4 | Caracterização dos suportes produzidos por meio de densidade aparente e índice de vazios..... | 65 |
| 6.2 | ETAPA B..... | 66 |
| 6.2.1 | Avaliação dos suportes diante da imobilização de células microbianas com atividade catalítica | 66 |
| 6.2.1.1 | Suportes de Al ₂ O ₃ | 66 |
| 6.2.1.2 | Suportes de PLA | 69 |
| 6.2.1.3 | Suportes de PLA/Al ₂ O ₃ | 71 |
| 6.2.1.4 | Suportes de ABS..... | 74 |
| 6.2.1.5 | Suportes de ABS/Al ₂ O ₃ | 75 |
| 6.2.1.6 | Suportes de PETG..... | 77 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 6.2.1.7 | Suportes de PETG/Al ₂ O ₃ | 78 |
| 6.2.1.8 | Quadro-resumo de resultados e discussões..... | 80 |
| 7 | CONCLUSÕES..... | 83 |
| 8 | SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS | 85 |
| | REFERÊNCIAS..... | 86 |

1 INTRODUÇÃO

A incidência crescente de doenças crônicas não transmissíveis, como obesidade, diabetes, dislipidemia, câncer e doenças cardiovasculares, reflete alterações significativas na dieta e no estilo de vida da população, tanto no Brasil quanto em outros países em desenvolvimento. Esse fenômeno está associado a mudanças econômicas, sociais e demográficas que impactam diretamente nos hábitos alimentares, promovendo o consumo de alimentos ultraprocessados e ricos em açúcares e gorduras (Fortes; Muniz, 2009; Rosa; Cruz, 2017). Como resposta a esse cenário, a busca por uma alimentação saudável tem ganhado força, com a ciência e a tecnologia direcionando seus esforços para o desenvolvimento de alimentos que promovam benefícios à saúde além da nutrição básica (Carmen Eremia; Petrescu, 2021).

Nesse contexto, os setores alimentício e farmacêutico têm investido em pesquisas para criar alimentos funcionais, os quais possuem componentes capazes de exercer efeitos biológicos benéficos para a saúde. Esses alimentos vão além das características nutricionais tradicionais, atuando na prevenção de doenças e na promoção da saúde de maneira mais ampla e eficaz (Rosa; Cruz, 2017).

A produção de frutooligossacarídeos (FOS), por exemplo, apresenta uma abordagem inovadora que envolve o uso da enzima frutossiltransferase (FTase), altamente valorizada na indústria por sua capacidade de produzir compostos prebióticos que favorecem a saúde intestinal e o sistema imunológico; contudo, essa produção de forma eficiente utilizando a FTase ainda apresenta desafios técnicos, pois, de um modo geral, enzimas têm um tempo de meia-vida curto quando na forma livre, o que compromete a viabilidade industrial do processo.

Enzimas em sua forma livre geralmente apresentam sensibilidade a fatores como solventes, agitação, temperatura e pH. Além disso, seu uso na forma solúvel enfrenta desafios como o elevado custo de produção e purificação, a instabilidade estrutural ao serem isoladas de seu ambiente natural, com a possível perda de atividade devido às condições do processo e a inibição pelo substrato ou produto. Esses aspectos resultam em uma meia-vida operacional reduzida e em custos elevados (Faria, 2019).

Uma solução promissora para o problema apontado é a imobilização enzimática, uma técnica que aumenta a estabilidade da enzima e prolonga seu tempo de atuação, tornando-a economicamente viável para a produção de FOS em larga escala (Faria, 2019). Dentre os benefícios obtidos pela imobilização enzimática, destaca-se o aumento da estabilidade operacional, a facilidade na separação de produtos e biocatalisadores, a implementação de processos enzimáticos contínuos, a possibilidade de recuperação e reutilização dos biocatalisadores, a redução

dos custos operacionais e a ausência do biocatalisador na corrente de produto (Gonçalves, 2019). Nessa técnica, a enzima fúngica (que se trata de um catalisador de proteína de alto peso molecular produzido por fungos filamentosos) é imobilizada por adsorção em suportes porosos, que desempenham papel crucial na estabilidade e eficiência da enzima durante o processo produtivo.

Com o avanço da tecnologia de impressão 3D, novas possibilidades têm surgido para a criação de suportes enzimáticos personalizados e de alta precisão. A impressão 3D possibilita o design e a fabricação de estruturas porosas específicas, que atendem aos critérios de elevada porosidade (acima de 60%), interconectividade de poros e baixa reatividade. Esses suportes customizados, projetados com precisão para maximizar a eficiência enzimática, representam uma inovação significativa para a indústria alimentícia, permitindo o desenvolvimento de processos mais eficientes e sustentáveis (Prado, 2021).

A aplicação da impressão 3D na criação de suportes enzimáticos também oferece a vantagem de controlar rigorosamente as propriedades físicas dos materiais, como tamanho e distribuição dos poros. Esse controle preciso não apenas permite aumentar a estabilidade da enzima, mas também proporcionar significativa melhora da sua atividade, uma vez que a porosidade e a conectividade dos poros facilitam a difusão de substratos e produtos, otimizando a reação catalisada pela FTase. Dessa forma, a tecnologia 3D surge como uma aliada na busca por soluções inovadoras para o setor alimentício, impulsionando o desenvolvimento de produtos funcionais e saudáveis de maneira economicamente viável.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo principal desta pesquisa envolveu a produção de suportes porosos e inertes a base de compósitos de cerâmica-polímero, de baixo custo, a partir de impressão 3D e avaliação tanto de suas propriedades físicas e químicas quanto de sua aplicabilidade e eficiência na imobilização de células de *Aspergillus oryzae* IPT-301, com atividade enzimática, para a produção de FOS.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Visando alcançar o objetivo geral proposto acima, foram estabelecidos os seguintes objetivos específicos:

- a) Obter peças cerâmicas porosas de alumina a partir da rota de réplica;
- b) Obter peças poliméricas porosas de poliácido láctico (PLA), acrilonitrila butadieno estireno (ABS) e polietileno tereftalato glicol (PETG) a partir da impressão 3D;
- c) Desenvolver e adaptar diferentes formulações de compósitos de cerâmica-polímero (alumina-PLA; alumina-ABS e alumina-PETG);
- d) Estudar e otimizar os parâmetros de processamento necessários para obtenção dos suportes porosos por meio da técnica de impressão 3D (suportes poliméricos e compósitos);
- e) Caracterizar os suportes obtidos pela impressão 3D e por réplica, a partir de medidas de densidade aparente e índice de vazios;
- f) Produzir a biomassa catalítica por cultivo celular submersa em meio de cultura sintético e imobilizá-la nos suportes produzidos;
- g) Determinar a capacidade de crescimento e imobilização de células microbianas com atividade catalítica nos suportes em função do tempo de cultivo submerso por meio da avaliação das curvas de crescimento microbiano;
- h) Comparar e avaliar os resultados de imobilização obtidos para peças porosas de alumina, PLA, ABS e PETG com aqueles envolvendo os compósitos cerâmica-polímero.

3 JUSTIFICATIVA

Assim como ocorre com diversas substâncias, o consumo excessivo de açúcares e outros alimentos com alto índice calórico tem contribuído significativamente para o surgimento e agravamento de distúrbios metabólicos, como obesidade, diabetes, hipertensão e doenças cardiovasculares. Esse cenário tem levado a sociedade a se preocupar cada vez mais com a qualidade de vida e saúde, resultando em uma maior atenção aos alimentos consumidos e na busca por componentes que consigam exercer funções biológicas capazes de prevenir doenças e promover saúde para além do que pode fornecer a nutrição básica (Oliveira, 2020; Rawat *et al.*, 2024).

Nesse contexto, nota-se um aumento na procura da população pelos chamados alimentos funcionais. De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa, 2021), um alimento ou ingrediente que possui propriedades funcionais pode ser definido como aquele capaz de produzir efeitos metabólicos, fisiológicos e/ou benéficos à saúde para além de suas funções nutricionais básicas, devendo, sobretudo, ser seguro para consumo sem supervisão médica.

Com o aumento da busca por alimentos funcionais, os FOS revelam-se como uma alternativa mais saudável e de menor valor calórico em relação aos açúcares tradicionalmente presentes na dieta humana. Os FOS têm ganhado destaque tanto nas indústrias farmacêutica quanto alimentícia, pois são açúcares prebióticos que oferecem uma série de benefícios à saúde, incluindo o fortalecimento da flora bacteriana intestinal, a redução dos níveis de colesterol e triglicérides e a melhora do sistema imunológico como um todo (Oliveira, 2020; Rawat *et al.*, 2024; Rocha *et al.*, 2021).

O mercado de FOS está avaliado em US\$4,24 bilhões no ano de 2025 e estima-se que atinja a margem de US\$11 bilhões até o ano de 2034, com uma taxa composta de crescimento anual (do inglês *compound annual growth rate*, CAGR) de 12,6 % no período entre 2025 e 2034 (Insight Ace Analytic, 2025; Mordor Intelligence, 2025). Diante disso, o desenvolvimento e aperfeiçoamento de tecnologias que permitam a produção em larga escala desses açúcares saudáveis tornam-se cruciais para a sociedade contemporânea e para a economia global. Sabe-se que a produção de FOS a partir da enzima frutossiltransferase (FTase) apresenta uma meia-vida relativamente curta. Para prolongar essa meia-vida e possibilitar uma maior produção de FOS, a utilização de técnicas de imobilização enzimática surge como uma solução promissora (Araújo, 2021; Pereira, 2021).

A crescente demanda por soluções sustentáveis no setor industrial, em consonância com os princípios da Química Verde, aliada à necessidade de produção de compostos específicos, faz com que a aplicação de tecnologias enzimáticas se torne uma alternativa cada vez mais

atrativa para as empresas (Denti, 2021). Além disso, o estudo de técnicas de imobilização de biomassa microbiana catalítica e a exploração de suportes orgânicos de baixo custo são essenciais para o desenvolvimento de biocatalisadores heterogêneos estáveis, que garantam viabilidade produtiva, sustentabilidade e a fabricação em larga escala de bioprodutos de alto valor agregado e relevância comercial, principalmente nas indústrias farmacêutica e alimentícia (Guisan, 2013; Castro *et al.*, 2017).

Com o objetivo de viabilizar a produção de FOS, especialmente no mercado interno, e atender à crescente demanda comercial, o presente trabalho contou com o desenvolvimento de novos produtos – suportes à base de compósitos cerâmica-polímero – obtidos por meio de técnicas de impressão 3D. O intuito é aprimorar o processo biotecnológico de produção de FOS por meio da imobilização de células fúngicas íntegras, buscando-se um biocatalisador robusto que apresente alta atividade, seletividade e especificidade, além de grande estabilidade térmica e operacional, de forma a ser aplicado em diferentes configurações de reatores para a síntese de FOS.

A imobilização nos suportes à base de compósitos cerâmica-polímero foi comparada com a imobilização nos suportes contendo somente a cerâmica e/ou o polímero constituintes do compósito. Sendo assim, foi investigada nesta pesquisa o efeito da imobilização nos seguintes suportes: alumina pura, PLA puro, ABS puro, PETG puro e compósitos alumina-PLA, alumina-ABS e alumina-PETG.

3.1 O QUE HÁ NA LITERATURA ATUALMENTE?

A seleção correta de materiais para a fabricação de suportes porosos é crucial, pois influencia diretamente na eficiência, durabilidade e funcionalidade das estruturas em diversas aplicações, como catálise heterogênea, filtração e imobilização enzimática. Estudos têm explorado o uso de diferentes materiais (cerâmicos, poliméricos e compósitos) na produção dessas estruturas, especialmente com o avanço das tecnologias de manufatura aditiva, como a impressão 3D. A Tabela 1 apresenta um resumo de trabalhos recentes que empregaram diferentes materiais como suportes porosos evidenciando suas respectivas aplicações.

Tabela 1 – Breve registro do que pode ser encontrado na literatura acerca da utilização de materiais porosos

| Material utilizado | Aplicação | Referência |
|---|--------------------------------------|---|
| Alumina-Zircônia | Biomateriais | Silva, 2017. |
| Bucha Vegetal | Imobilização celular | Aranda, 2024. |
| Esponja de Poliuretano (EPU) | Imobilização celular | Cardoso, 2023. |
| Óxido de Alumínio | Imobilização celular | Santos, 2024. |
| Óxido de Titânio | Imobilização celular | Santos, 2024. |
| Óxido de Zinco | Fotocatálise Imobilização celular | Duran, 2024; Faria, 2019; Megda, 2023. |
| PLA | Imobilização celular | Rybarczyk <i>et al.</i> , 2023. |
| PLA reforçado com fibra de Carbono (C-PLA) | Imobilização celular | Ye <i>et al.</i> , 2019. |
| Polietileno de Ultra Alto Peso Molecular (PEUAPM) | Biomateriais | Aparecida; Guastaldi; Fook, 2008. |
| Polihidroxibutirato (PHB) | Imobilização celular | Araújo, 2021. |
| Poliuretano/Poli(ácido láctico) (PU/PDLLA) | Biomateriais | Brandalise, 2016. |
| Polisulfona/Carvão Ativado | Imobilização celular | Olkiewicz <i>et al.</i> , 2025 |

Fonte: Autora (2025)

Os trabalhos apresentados demonstram não apenas a diversidade de materiais empregados como suporte poroso, mas também a importância de alinhar suas propriedades estruturais com os requisitos específicos de aplicação. A crescente adoção de rotas de fabricação inovadoras, aliada ao uso de materiais sustentáveis, aponta para uma tendência promissora no desenvolvimento de sistemas catalíticos mais robustos e reusáveis. A partir deste cenário, este estudo se propõe a avaliar o desempenho de diferentes suportes poliméricos e cerâmicos, com especial atenção às suas características físico-químicas e impacto na atividade enzimática de células imobilizadas.

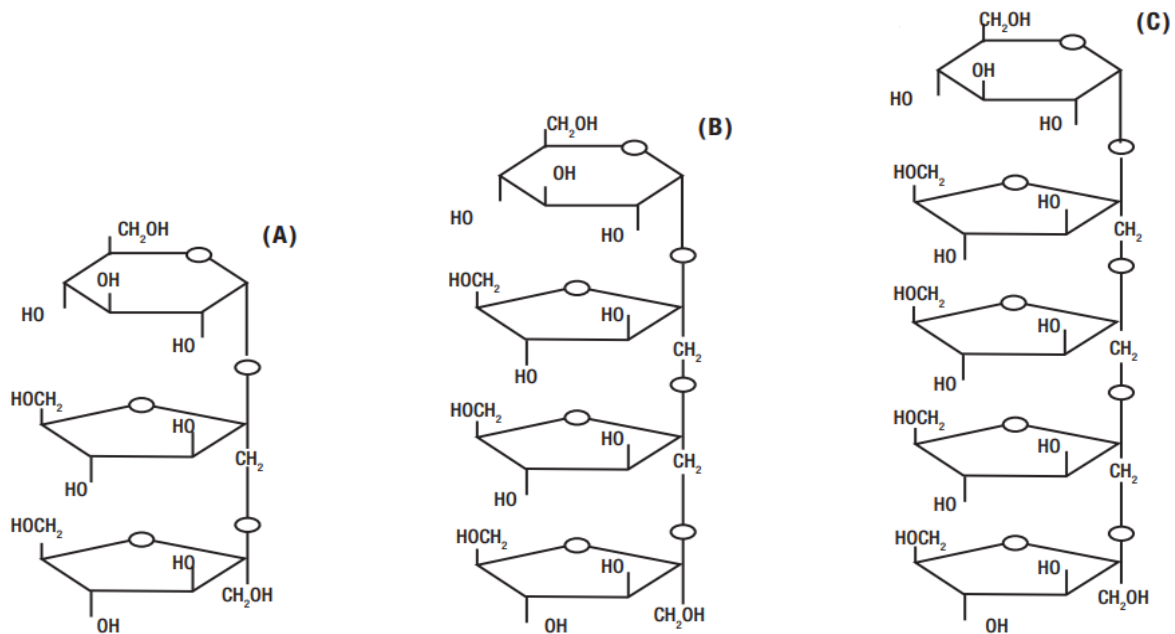
4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS

4.1.1 Definições, propriedades e aplicações

Frutooligossacarídeos (FOS) são oligossacarídeos pertencentes ao grupo frutano formados por cadeias curtas de unidades de frutose, variando geralmente entre dois a nove monossacarídeos de frutose (F) ligados a uma molécula de glicose terminal (G) por meio de ligações glicosídicas do tipo β (2 \rightarrow 1). A estrutura mais comum dos FOS é conhecida como 1-kestose (GF₂), nistose (GF₃) e frutofuranosilnistose (GF₄) (Macedo; Vimercati; Araújo, 2020; Oliveira, 2020). A Figura 1 mostra a estrutura química dos principais FOS citados.

Figura 1 – Estrutura química dos FOS: (a) 1-kestose, (b) nistose e (c) 1-frutofuranosilnistose



Fonte: Fortes; Muniz (2009, p. 245).

Esses compostos são classificados como prebióticos, uma vez que se trata de “componentes alimentares não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro, por estimularem seletivamente a proliferação ou atividade de populações de bactérias desejáveis no cólon” (Saad, 2006, p. 2). De forma complementar, alimentos prebióticos ainda podem inibir a ação de agentes patogênicos, garantindo benefícios adicionais à saúde do hospedeiro (Fortes; Muniz, 2009).

Essa propriedade prebiótica dos FOS faz com que ele contribua para a melhoria da saúde intestinal e tem sido associada à prevenção de doenças como a síndrome do intestino irritável, constipação e câncer colorretal (Rawat *et al.*, 2024).

Os FOS são classificados, ainda, como açúcares não convencionais, não metabolizados pelo organismo humano e sem valor calórico (Passos; Park, 2003). Devido ao seu baixo teor calórico, acompanhado da sua segurança para o consumo por diabéticos e pelo reconhecimento de sua função prebiótica, os FOS são considerados uma alternativa mais saudáveis em comparação aos açúcares amplamente comercializados. Além disso, oferecem diversos benefícios à saúde e nutrição humana, o que tem despertado crescente interesse da indústria, especialmente no contexto de sua aplicação como substitutos aos edulcorantes convencionais (Cunha, 2017; Fortes; Muniz, 2009).

No campo das aplicações industriais, os FOS são amplamente utilizados em alimentos funcionais, tanto pela sua capacidade prebiótica quanto por seu sabor levemente adocicado, que oferece um potencial de substituição parcial do açúcar. São encontrados em produtos como iogurtes, bebidas lácteas, sobremesas, geleias, sorvetes, cereais, biscoitos e barras energéticas, onde atuam não apenas como ingredientes funcionais, mas também como estabilizantes de textura. No setor farmacêutico, os FOS têm sido incorporados em suplementos alimentares com o objetivo de melhorar a saúde gastrointestinal e reforçar a função imunológica (Rosa; Cruz, 2017).

Além de suas propriedades prebióticas e aplicação alimentar, os FOS possuem propriedades tecnológicas que os tornam valiosos na formulação de alimentos. Eles são solúveis em água, não cristalizam, têm boa estabilidade em condições ácidas, e podem atuar como agentes de retenção de umidade, prolongando a vida útil de produtos alimentares. Esses fatores, combinados com suas propriedades nutricionais, tornam os FOS uma classe de compostos altamente versátil e promissora tanto para o setor de alimentos quanto para o setor de saúde.

4.1.2 Importância mercadológica e consumo humano

O mercado de frutooligossacarídeos tem experimentado crescimento significativo nas últimas décadas, impulsionado por uma demanda crescente por alimentos funcionais e produtos que promovam a saúde intestinal (Saad, 2006). Estima-se que o mercado global de FOS continue a crescer a uma taxa expressiva, conforme descrito no item 3, impulsionado pelo aumento do consumo de alimentos funcionais em regiões como América do Norte, Europa e

Ásia-Pacífico, principalmente devido à sua utilização em produtos lácteos, bebidas funcionais, suplementos alimentares e alimentos infantis (Mordor Intelligence, 2025).

Do ponto de vista do consumo humano, os FOS ocorrem naturalmente em pequenas quantidades em alimentos como alcachofra, alho, cebola, banana e chicória (Rosa; Cruz, 2017). Contudo, o consumo diário adequado de FOS recomendado para benefícios à saúde pode não ser atingido apenas por meio da dieta com alimentos naturais. Conforme descrito por Roberfroid, Van Loo e Gibson (1998) e Tuohy *et al.* (2003), o consumo de FOS pode trazer benefícios ao consumidor com doses entre 4 e 20 gramas por dia. No entanto, quantidades superiores podem resultar em efeitos adversos no sistema digestivo, como flatulência, inchaço e desconforto abdominal. Já Coussement (1999) aponta que a ingestão diária de 20 a 30 gramas tende a causar desconforto, sugerindo, assim, uma dose recomendada de 10 gramas por dia. Estudos clínicos demonstram que o consumo regular de FOS pode melhorar a saúde intestinal, aumentar a absorção de minerais e até contribuir para a regulação do sistema imunológico.

A aceitação dos FOS como ingredientes saudáveis e funcionais é uma tendência crescente entre os consumidores que buscam melhorar a digestão e o bem-estar geral por meio de alimentos funcionais e suplementos alimentares.

4.1.3 Rotas de produção

A síntese de FOS para comercialização pode ser realizada por diferentes rotas, sendo as mais comuns:

- (i) Extração direta de fontes vegetais ricas em oligossacarídeos;
- (ii) Hidrólise enzimática da inulina;
- (iii) Reação de transfrutossilacção enzimática da sacarose.

Dentre os métodos citados, a extração direta a partir de fontes vegetais é a menos viável economicamente em decorrência do baixo rendimento do processo e de seu elevado custo (Figueroa-González *et al.*, 2011; Singh; Singh; Kennedy, 2016). O processo consiste na extração de oligossacarídeos de frutose por métodos físico-químicos, seguido de etapas de purificação para remover açúcares indesejados e, finalmente, concentrar os FOS.

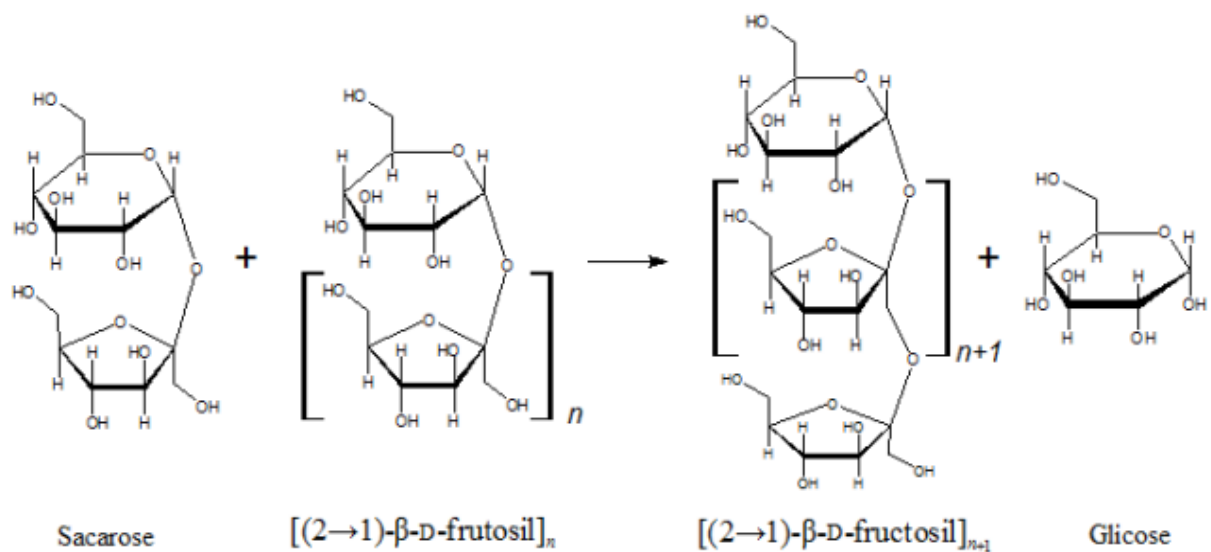
No segundo método exposto, a inulina pode ser extraída por diferentes métodos, como difusão em água quente e o uso de ultrassom, conforme descrito por Lingyun *et al.* (2007) e Li *et al.* (2015). Para a produção de FOS, a inulina passa por um processo de hidrólise enzimática, catalisado por enzimas inulinases, que quebram a molécula de inulina em cadeias lineares compostas de duas a sete unidades de frutose, com ou sem uma unidade terminal de glicose. Essas

enzimas podem ser obtidas tanto de tecidos vegetais quanto de microrganismos. No entanto, o uso de inulinases provenientes de plantas é limitado devido à sazonalidade na produção e ao baixo rendimento das enzimas extraídas desses tecidos (Macedo; Vimercati; Araújo, 2020).

Por fim, tem-se a rota enzimática, diante da qual a produção ocorre por meio da reação de transfrutossilacção da sacarose. As enzimas capazes de realizar tal ação de transfrutossilacção são, sobretudo, as β -frutofuranosidases (FFase, E.C. 3.2.1.26) e as frutossiltransferases (FTase, E.C. 2.4.1.9), que são responsáveis por catalisar a transferência de unidades de frutose para uma molécula de sacarose, formando FOS de diferentes comprimentos. Destaca-se que as FTases ganham ainda mais aplicação na produção dos FOS em decorrência da sua ação catalítica, exibindo altas atividades de transfrutossilacção. (Passos; Park, 2003). Essa rota é altamente eficiente e permite a produção de FOS com uma composição controlada, garantindo alta pureza do produto final.

A reação de transfrutossilacção ocorre quando a FTase se conecta na posição β (2 \rightarrow 1) da molécula de sacarose, clivando-a e separando o grupo frutossil do grupo glicosil. Em seguida, o grupo frutossil se conecta a uma molécula aceptora apropriada, como a sacarose ou outras moléculas de FOS, produzindo um oligômero de frutose e liberando glicose no meio reacional (Rocha *et al.*, 2021), conforme Figura 2.

Figura 2 – Esquema da reação de transfrutossilacção



Fonte: Cunha (2017, p. 25).

O processo enzimático é favorecido industrialmente devido à sua especificidade e condições relativamente brandas de operação, como temperatura moderada e pH neutro, o que

reduz o risco de degradação térmica dos oligossacarídeos. Além disso, é possível otimizar a concentração de sacarose e enzima para maximizar a produção de FOS, tornando o processo mais rentável. No entanto, a dependência de enzimas específicas ainda é um fator limitante no custo, uma vez que a produção em larga escala exige sistemas enzimáticos robustos e de baixo custo.

O fungo que se destaca na produção da FTase é o *Aspergillus oryzae*, possuindo o status de GRAS (*Generally Recognize As Safe*), devido à sua baixa toxicidade na produção de alimentos. Com isso, diversas pesquisas vêm demonstrando a grande capacidade de produção da frutotransferase por este fungo devido à elevada atividade de transfrutossilacção exibida pela enzima microbiana.

4.1.4 Limitações na produção

Apesar dos FOS estarem presentes em diversas fontes naturais, como mencionado anteriormente, a concentração desses oligossacarídeos nessas fontes é relativamente baixa; ainda, a produção em larga escala de FOS a partir dessas matérias-primas é limitada pelas variações sazonais que afetam tanto a disponibilidade quanto a qualidade dos insumos, restringindo a viabilidade industrial e a consistência do fornecimento ao longo do ano (Mussatto *et al.*, 2009).

Outro desafio na produção de FOS através da extração de fontes naturais é o processo de purificação. A separação eficaz dos FOS de impurezas presentes nas matérias-primas pode exigir o uso de técnicas avançadas como a cromatografia, envolvendo maior custo e de difícil implementação em larga escala; uma purificação inadequada pode resultar em produtos de baixa pureza, o que limita suas aplicações em alimentos e suplementos.

No que diz respeito às rotas comerciais aplicáveis (ver item 4.1.3), pode-se dizer que apesar dos avanços nas técnicas de produção, a fabricação em larga escala de frutooligossacarídeos ainda enfrenta várias limitações. A primeira e mais notável barreira é o custo elevado das enzimas necessárias para a rota enzimática de produção. Dessa forma, a produção dos FOS em larga escala é preferencialmente realizada pelo processo de transfrutossilacção, uma vez que a sacarose apresenta custo inferior a inulina (Oliveira, 2020).

Embora o uso de processo enzimáticos seja altamente eficiente e apresente diversas outras vantagens, é válido ressaltar que enzimas são insumos caros e que quando são utilizados em sua forma livre apresentam como principal inconveniente a dificuldade de recuperação e reutilização da enzima, podendo aumentar significativamente o custo do processo produtivo, comprometendo sua viabilidade econômica (Lorenzoni, 2014; Oliveira, 2020). Buscando

viabilizar o uso de enzimas em aplicações industriais, tanto nas industriais farmacêuticas quanto alimentícias, tem-se a emergente tecnologia de imobilização enzimática, que consiste no confinamento físico das células em um espaço físico e que permite sua reutilização por diversas bateladas e/ou sua aplicação em processos contínuos, aumentando sua estabilidade operacional e garantindo o escalonamento do processo.

4.2 IMOBILIZAÇÃO ENZIMÁTICA

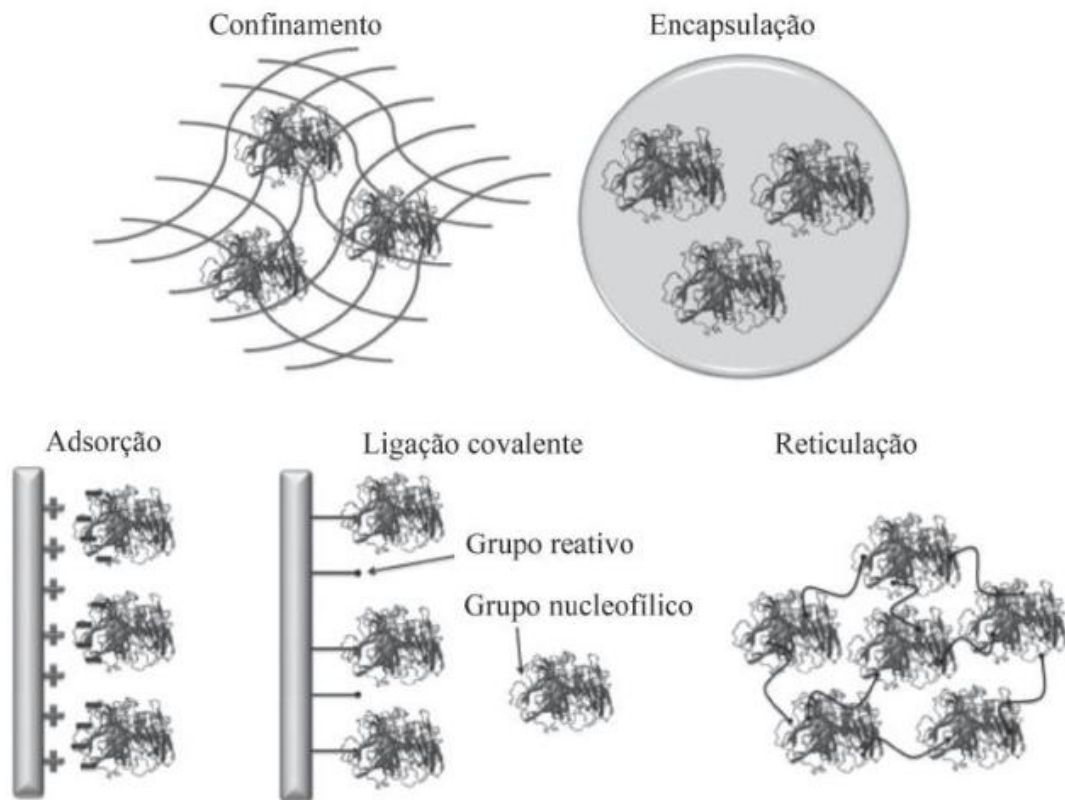
A imobilização enzimática é uma técnica amplamente utilizada em biotecnologia e bioquímica, que envolve o confinamento físico das células em uma região espacial definida, onde suas atividades catalíticas são mantidas tanto em processos contínuos quando descontínuos/batelada. Esse confinamento permite a reutilização das células, otimizando o processo produtivo e prolongando a vida útil do sistema enzimático, além de possibilitar maior controle sobre as condições operacionais, resultando em um processo mais eficiente e estável (Covizzi *et al.*, 2007).

As enzimas podem ser imobilizadas por diferentes métodos, dentre os quais Fernández-Fernández, Sanromán e Moldes (2013) classificam como: confinamento, encapsulação, adsorção, ligação covalente e reticulação, conforme Figura 3.

A escolha do método ideal de imobilização para uma aplicação específica deve ser baseada em vários parâmetros cruciais, como a atividade global do biocatalisador, a capacidade de regeneração e o comportamento de inativação. Além disso, é necessário considerar o custo do processo de imobilização, a toxicidade dos reagentes utilizados, a estabilidade operacional do sistema, as propriedades hidrodinâmicas envolvidas e as características finais desejadas para a enzima imobilizada. Esses fatores, quando devidamente avaliados, garantem a eficiência e a viabilidade do bioprocessamento em diferentes condições operacionais (Souza *et al.*, 2017).

É fundamental destacar que, embora exista uma ampla variedade de protocolos disponíveis para imobilização enzimática, nenhum método ou suporte é universalmente aplicável a todas as enzimas. Portanto, torna-se essencial realizar um estudo prévio das características do suporte de interesse, bem como avaliar os efeitos dos métodos utilizados. Esse processo é crucial para selecionar a técnica mais adequada em cada caso específico, garantindo eficiência e compatibilidade com as propriedades da enzima a ser imobilizada.

Figura 3 – Métodos de imobilização enzimática



Fonte: Adaptado de Fernández-Fernández; Sanromán; Moldes (2013).

4.2.1 Suportes porosos

Dentre os protocolos de imobilização enzimática disponíveis atualmente, a utilização de suportes porosos para o método de adsorção tem se destacado devido à sua eficiência em oferecer uma grande superfície para a interação entre a enzima e o substrato e será a forma abordada nesta pesquisa.

Os principais componentes de um sistema enzimático imobilizado são a enzima, o suporte e o modo de fixação. A maior contribuição para o bom desempenho da enzima imobilizada advém do suporte e, embora existam diferentes materiais que possam ser aplicados na imobilização enzimática, a sua escolha dependerá, fundamentalmente, das características peculiares da enzima e das condições de uso da biomolécula imobilizada (Souza *et al.*, 2017). De um modo geral, alguns dos requisitos básicos que devem ser considerados para a efetiva seleção de um suporte adequado são:

- Elevada área de superfície específica;
- Permeabilidade;
- Estabilidade química e mecânica sob as condições de operação;

- d) Capacidade de regeneração;
- e) Baixo custo de matéria prima e de produção.

De acordo com Souza *et al.* (2017), os suportes destinados à imobilização enzimática podem ser classificados quanto à sua origem em materiais orgânicos e inorgânicos e quanto à sua morfologia em porosos, não porosos e de estrutura em gel.

Os suportes porosos são materiais com uma alta área de superfície específica interna, resultante de sua estrutura microporosa, mesoporosa ou macroporosa. Conforme descrito por Sing *et al.* (1985), sólidos microporosos apresentam poros com dimensões menores que 2 nm; os mesoporosos têm poros entre 2 e 50 nm; e os macroporosos possuem poros maiores que 50 nm.

Esses materiais oferecem uma vasta gama de vantagens para a imobilização de enzimas e seu principal benefício está no aumento da superfície disponível para a adsorção das enzimas, o que pode aumentar significativamente a eficiência da imobilização e, por conseguinte, a atividade catalítica. Outro aspecto importante é que os poros podem proteger as enzimas de condições ambientais adversas, como temperaturas elevadas ou pH extremos, aumentando sua estabilidade operacional. Ressalta-se ainda que os suportes porosos devem ter uma distribuição de poros controlada para otimizar a capacidade e as propriedades de fluxo (Brena; Viera, 2006)

A distribuição do tamanho dos poros em suportes porosos é um fator crítico que influencia a eficiência da imobilização. Suportes com poros pequenos podem restringir o acesso de enzimas maiores, resultando em uma menor capacidade de imobilização. Já os suportes com poros maiores podem permitir uma imobilização mais eficiente de enzimas volumosas, mas ao custo de uma menor proteção contra desnaturação térmica e química. Portanto, o design de suportes porosos para imobilização enzimática geralmente envolve um equilíbrio entre a acessibilidade dos poros e a proteção da enzima contra fatores ambientais desfavoráveis.

Tanto suportes orgânicos quanto inorgânicos apresentam uma gama de vantagens muito superior às desvantagens (Tabela 2), o que justifica a crescente aplicação de suportes porosos nas pesquisas da área biotecnológica (Queissada; Silva, 2020).

Tabela 2 – Principais vantagens e desvantagens de suportes orgânicos e inorgânicos

| Tipo de Suporte | Vantagens | Desvantagens |
|--|--|---|
| Inorgânicos | Rigidez; Elevada porosidade; Resistência microbiana completa; Boa resistência térmica; Boa resistência mecânica; Não apresentam modificação na estrutura em uma larga faixa de pH, temperatura e pressão; Fácil regeneração por processo de pirólise | Baixa quantidade; Alto custo em relação aos orgânicos; Difícil degradação |
| Orgânicos <i>Polímeros Naturais</i> | Se liga facilmente a proteínas e enzimas de forma reversível e irreversível; Disponível em grande quantidade; Baixo custo; Boa resistência térmica; Boa resistência mecânica; Fácil degradação | Modificação na estrutura em uma larga faixa de pressão, pH e temperatura |
| Orgânicos <i>Polímeros Sintéticos</i> | Estrutura porosa; Inertes ao ataque microbiano | Difícil degradação |

Fonte: Adaptado de Queissada; Silva (2020).

4.2.2 Aplicações de suportes porosos na indústria

Os suportes porosos são amplamente utilizados em diversos setores industriais, incluindo a indústria alimentícia, farmacêutica e de biocombustíveis. Na indústria alimentícia, enzimas imobilizadas em suportes porosos têm sido usadas na produção de adoçantes, como fruto-oligossacarídeos (FOS) e outros oligossacarídeos funcionais, por meio de reações de transfrutose e hidrólise controlada. A imobilização de enzimas em suportes porosos permite a realização de processos contínuos, onde as enzimas podem ser reutilizadas várias vezes sem perda

significativa de atividade, aumentando a eficiência do processo (Araújo, 2021; Cunha, 2017; Oliveira, 2020; Pereira, 2021).

Na indústria farmacêutica, a imobilização enzimática tem sido usada para produzir compostos ativos por processos de biocatálise seletiva, onde enzimas fixadas em suportes porosos desempenham um papel crucial no desenvolvimento de medicamentos. O uso de enzimas imobilizadas em suportes porosos tem permitido a criação de processos mais sustentáveis, uma vez que reduz a necessidade de solventes tóxicos e permite a realização de reações em condições mais brandas (Correa, 2021).

O processo de produção comercial de biodiesel é realizado quase que totalmente por via química, mas a rota enzimática, devido às suas vantagens como utilização e produção de resíduos inofensivos ao meio ambiente, tem despertado grande interesse na comunidade científica. No setor de biocombustíveis, enzimas como lipases e celulases têm sido imobilizadas em suportes porosos para a produção de biodiesel e a conversão de biomassa lignocelulósica em açúcares fermentáveis. A imobilização em suportes porosos permite o uso contínuo dessas enzimas em reatores de fluxo, onde a biomassa é degradada ou convertida de forma eficiente; ainda, a imobilização aumenta a resistência das enzimas às condições de reação severas, como temperaturas elevadas ou ambientes ácidos, comuns no processamento de biomassa (Silva, 2022).

4.2.3 Desafios e limitações

Apesar das vantagens, a imobilização enzimática em suportes porosos enfrenta algumas limitações. Um dos principais desafios é o controle da distribuição e tamanho dos poros (Brena; Viera, 2006). Suportes com poros muito pequenos podem impedir que grandes moléculas de substrato alcancem a enzima, limitando a eficiência catalítica. Além disso, o produto da reação pode ficar “preso” dentro dos poros, dificultando sua remoção e levando à inibição enzimática. Para contornar esse problema, é necessário um design cuidadoso dos suportes, considerando tanto o tamanho dos poros quanto as propriedades de difusão do substrato e dos produtos.

Outro desafio é o desgaste mecânico dos suportes porosos, especialmente em processos industriais contínuos. Com o tempo, os suportes podem se desgastar ou fragmentar-se, resultando na liberação das enzimas imobilizadas e na perda de atividade catalítica, bem como na possível contaminação do produto. Isso pode ser particularmente problemático em processos que envolvem altas pressões ou agitação mecânica intensa. A escolha de materiais resistentes e a otimização das condições de operação são essenciais para minimizar esses efeitos adversos.

Por fim, o custo de produção e preparação de suportes porosos de alta qualidade pode ser um obstáculo à sua aplicação em larga escala. O desenvolvimento de materiais mais baratos e igualmente eficientes é uma área de pesquisa ativa, com o objetivo de tornar a imobilização enzimática em suportes porosos financeiramente viável e amplamente aplicável. É importante destacar que o custo da imobilização deve ser compensado pela vida útil do biocatalisador para que se torne atrativo para aplicações industriais em larga escala (Souza *et al.*, 2017).

4.3 PROCESSAMENTO DE CERÂMICAS POROSAS PELA TÉCNICA DE RÉPLICA

O campo de estudos envolvendo os materiais porosos, sobretudo no que se refere ao processamento das chamadas espumas cerâmicas, tem testemunhado significativos avanços nos últimos anos. Diversas técnicas de processamentos relacionadas aos materiais cerâmicos vêm sendo desenvolvidas e adaptadas em resposta ao crescente número de aplicações para estes materiais, dentre as quais podemos citar a queima de partículas orgânicas, réplica, *gelcasting* de espumas cerâmicas etc. (Romano; Pandolfelli, 2006).

De acordo com Haase *et al.* (2024), a técnica de réplica ganha destaque em decorrência de sua simplicidade de execução e de sua capacidade de produzir estruturas celulares únicas com porosidade aberta excepcionalmente alta, chegando a uma taxa de 93 %.

O método de fabricação de cerâmicas porosas foi patenteado em 1963 por Karl Schwarzwald e Arthur V. Somers (Haase *et al.*, 2024) e desde então vem sendo o método mais comum para tal aplicação. O método pode ser dividido em quatro etapas distintas, sendo elas:

- (i) Preparação da suspensão cerâmica (barbotina): Consiste na mistura de partículas cerâmicas com solvente (geralmente água) e aditivos dispersantes, formando uma suspensão homogênea e fluida que será usada para impregnar a matriz de espuma polimérica.
- (ii) Impregnação em matriz de espuma polimérica: Uma espuma polimérica porosa é imersa na barbotina, de modo que a suspensão cerâmica cubra e preencha toda a estrutura porosa da espuma, garantindo que o material cerâmico fique uniformemente distribuído.
- (iii) Secagem: Após a impregnação, a peça impregnada é seca cuidadosamente para evitar rachaduras e deformações. A evaporação do solvente da barbotina endurece a camada cerâmica ao redor da matriz de espuma, preparando-a para receber o devido tratamento térmico.

- (iv) Tratamento térmico para degradação da espuma polimérica e sinterização da estrutura cerâmica: A peça seca é submetida a aquecimento controlado. Inicialmente, o calor degrada e remove a espuma polimérica, criando a estrutura porosa. Em seguida, ocorre a sinterização, na qual as partículas cerâmicas se fundem, formando uma estrutura rígida e resistente com estrutura similar à da esponja precursora.

As etapas descritas e realizadas para aplicação da técnica de réplica nesta pesquisa estão representadas visualmente na Figura 4.

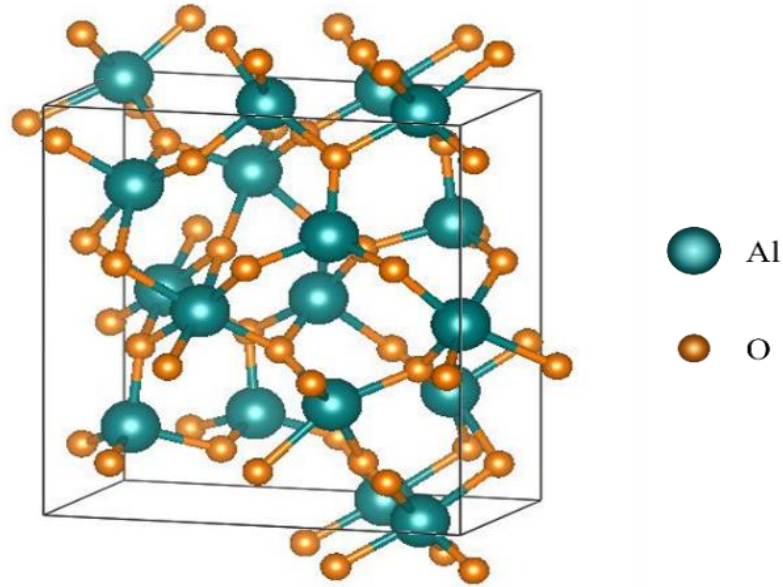
Figura 4 – Detalhamento das etapas propostas para uso da técnica de réplica na produção de cerâmicas porosas



Fonte: Autora (2025)

4.3.1 Alumina

O óxido de alumínio, ou alumina, apresenta diversas formas cristalinas, sendo a alfa alumina ($\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$) a forma termodinamicamente mais estável em todas as temperaturas. Sua principal fonte na natureza é a partir do minério de bauxita, do qual se extrai a alumina por meio do seu beneficiamento fundamentado no processo Bayer de refinamento do alumínio (Sartori, 2015). A $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ apresenta uma estrutura cristalina hexagonal compacta popularmente conhecida como *corundum* (ou córindon), conforme Figura 5.

Figura 5 – Estrutura cristalina do *corundum*

Fonte: Autora (2025)

A alumina é um material cerâmico amplamente utilizado devido às suas excelentes propriedades mecânicas, térmicas e químicas. Ela é notoriamente conhecida por sua elevada dureza, estabilidade térmica em altas temperaturas, resistência ao desgaste, baixa densidade e estabilidade química (Abyzov, 2019). Por essas razões, a alumina é empregada em diversas aplicações industriais, desde abrasivos e revestimentos de alta resistência até componentes eletrônicos e biomédicos. A utilização de alumina como material para suportes porosos expande ainda mais sua aplicabilidade, permitindo o desenvolvimento de dispositivos que combinam resistência mecânica com permeabilidade controlada, essenciais em filtros, catalisadores e suportes enzimáticos.

Suas propriedades e seu alto desempenho em diversos setores permitem classificá-la como um Material de Alta Performance; ou seja, um tipo de material com uma ampla gama de características que atendem de forma eficaz a diferentes demandas e indústrias. Por esses motivos, somados à sua atoxicidade, selecionou-se a alumina para o estudo da viabilidade de sua utilização como matéria-prima cerâmica na produção de suportes porosos para imobilização enzimática, incluindo os materiais compósitos propostos para esta pesquisa.

A técnica de réplica é uma das abordagens mais eficazes para a produção de materiais cerâmicos porosos, incluindo a alumina. Essa técnica tem a vantagem de produzir porosidades altamente controladas e conectadas, resultando em materiais com elevada área de superfície específica, resistência mecânica ajustável e uma distribuição idealizada de poros.

4.4 TECNOLOGIA FDM (*FUSED DEPOSITION MODELING*) APLICADA À PRODUÇÃO DE SUPORTES POROSOS

O termo impressão 3D (ou impressão tridimensional) é frequentemente utilizado, em contexto não técnico, como sinônimo de manufatura aditiva, no entanto, eles podem ser diferenciados. Tomando como referência as definições dispostas na ISO/ASTM 52900:2015, a manufatura aditiva (do inglês *additive manufacturing*, AM) consiste na combinação de materiais, com base em modelos 3D, para a criação de peças, normalmente construindo camada por camada, o que a difere dos métodos de fabricação subtrativa e das abordagens de fabricação formativa. Já a impressão 3D envolve a criação de objetos através da aplicação controlada de material usando um dispositivo de impressão, seja um cabeçote de impressão, um bocal ou alguma outra tecnologia de impressão.

Dessa forma, pode-se afirmar que a impressão 3D é uma técnica de manufatura aditiva, mas nem toda manufatura aditiva é uma impressão 3D, uma vez que a AM abrange outros processos além deste, como, por exemplo, a Deposição Direta de Energia (DED), o *Binder Jetting* e a Manufatura por Laminação de Objetos (LOM).

Diferentes tecnologias de AM podem ser empregadas nas técnicas de impressão 3D e se classificam, basicamente, quanto ao método de processamento e de deposição de camadas do material a ser utilizado. A tecnologia mais popular do mercado, atualmente, é aquela baseada na extrusão do material. Ainda de acordo com as definições propostas pela ISO/ASTM 52900:2015, na tecnologia de extrusão do material, ele é conduzido por um bico ou orifício, sendo depositado de maneira seletiva.

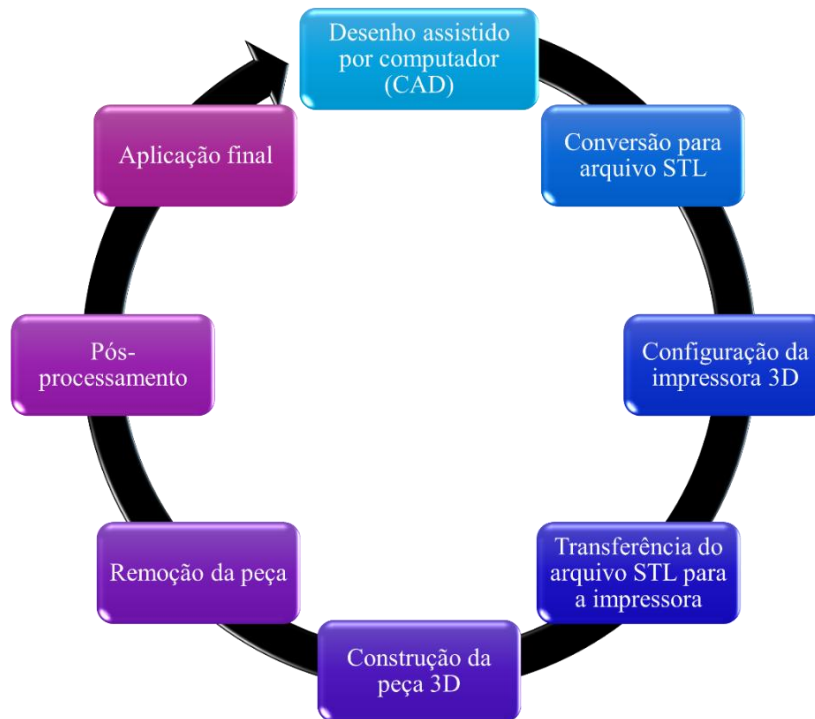
Partindo deste princípio, a modelagem por fusão e deposição (do inglês *fused deposition modeling* – FDM), também conhecida como fabricação por fusão de filamento (FFF), é considerada a tecnologia de impressão 3D de mais fácil acesso e reprodutibilidade e, conseqüentemente, de baixo custo. O método envolve a utilização de materiais termoplásticos na forma de filamentos. Esses filamentos são fundidos e extrudados por uma cabeça de impressão que pode se movimentar nos eixos X e Y sobre uma mesa de impressão. O objeto é construído de maneira gradual, camada por camada (Pereira *et al.*, 2020).

Nesta técnica podem ser empregados materiais compósitos, poliméricos, cerâmicos e metálicos; no entanto, é necessário que os filamentos tenham boa qualidade para conseguir suportar as tensões mecânicas e térmicas provenientes do cabeçote de impressão para alcançar bons resultados de impressão e acabamento na peça final (Pereira *et al.*, 2020). Vale destacar que, apesar da possibilidade de aplicação a materiais metálicos, seu uso nessa técnica não é

comum devido a desafios relacionados ao processamento e às propriedades esperadas dos filamentos.

As etapas gerais que compõem o processo de impressão 3D via tecnologia FDM compreendem desde a criação do arquivo CAD virtual até a peça física resultante, como indicado na Figura 6.

Figura 6 – Etapas envolvidas na produção de peças por meio da AM



Fonte: Autora (2025)

A impressão 3D por extrusão ganhou ampla popularidade nos últimos anos, impulsionada pelo surgimento de projetos de código aberto e pela disponibilidade de máquinas de baixo custo, o que democratizou o acesso à tecnologia para usuários de todos os níveis. Ao mesmo tempo, novos materiais, principalmente filamentos termoplásticos, vêm sendo lançados no mercado para essa técnica de fabricação (Santana *et al.*, 2018).

É comum que a maioria das impressoras FDM no mercado utilizem de polímeros termoplásticos para impressão de peças em 3D. Diante disso, três polímeros têm ganhado destaque no que diz respeito à implementação das técnicas de FDM, sendo eles: poliácido láctico (PLA), acrilonitrila butadieno estireno (ABS) e polietileno tereftalato glicol (PETG).

A Tabela 3 apresenta uma síntese das principais propriedades dos polímeros termoplásticos citados.

Tabela 3 – Propriedades dos principais termoplásticos aplicados na tecnologia FDM

| Propriedades | PLA | ABS | PETG |
|---------------------------------|------------|------------|-------------|
| Densidade (g.cm ⁻³) | 1,25 | 1,04 | 1,23 |
| Resistência à tração (MPa) | 65 | 43 | 49 |
| Resistência à flexão (MPa) | 97 | 66 | 70 |
| Temperatura de extrusão (°C) | 190 - 210 | 220 - 260 | 230 - 250 |
| Reciclabilidade | Sim | Sim | Sim |
| Biodegradabilidade | Sim | Não | Não |
| Toxicidade | Baixa | Média | Baixa |

Fonte: Adaptado de Rajesh *et al.* (2023).

4.4.1 PLA (Poliácido láctico)

O poli(ácido láctico), ou PLA, consiste em um poliéster alifático linear, termoplástico, semicristalino ou amorfo, dependendo de sua estrutura química (presença de estereoisômeros) e condições de processamento. Trata-se de um polímero biodegradável e biocompatível, produzido a partir de recursos renováveis, como amido de milho, batata, alcachofra ou cana-de-açúcar, por meio de processos de bioconversão e polimerização. O PLA possui características atraentes ao mercado industrial, dentre as quais se incluem sua capacidade de ser absorvido pelo organismo, boas propriedades mecânicas, estabilidade térmica e baixo impacto ambiental (Santana *et al.*, 2018; Spohr; Sánchez; Marques, 2021).

Como material para impressão 3D, o PLA é conhecido por sua alta precisão e acabamento superficial suave, além de não liberar gases tóxicos durante o processo de impressão. Outra vantagem é sua alta energia superficial, o que favorece a adesão entre camadas. O material é amplamente utilizado em diversas indústrias, principalmente em implantes médicos biodegradáveis e embalagens alimentícias, sobretudo devido à sua versatilidade e segurança alimentar (Santana *et al.*, 2018).

4.4.2 ABS (Acrilonitrila butadieno estireno)

O terpolímero acrilonitrila butadieno estireno (ABS) é um termoplástico amplamente utilizado em aplicações industriais que exigem robustez e leveza, como peças automotivas, tubulações, brinquedos e eletrodomésticos. Como o próprio nome já sugere, o polímero consiste

em parte de acrilonitrila, que contribui para a resistência térmica e química, parte de butadieno, que fornece resistência ao impacto e tenacidade, e parte de estireno, que promove processabilidade e rigidez (Alhallak; Tirkes; Tayfun, 2020).

Na impressão 3D, o ABS se destaca devido ao seu baixo custo e suas boas propriedades mecânicas. O ABS é conhecido por sua tenacidade e resistência ao impacto, permitindo imprimir peças duráveis que suportarão uso e desgaste extras. (Zur *et al.*, 2020).

4.4.3 PETG (Polietileno tereftalato glicol)

O PETG é um termoplástico que combina as melhores propriedades do ABS (resistência e ductibilidade) com a facilidade de impressão proporcionada pelo PLA. Ele possui alta resistência química, excelente durabilidade, transparência e resistência ao impacto. Essas características tornam o PETG ideal para usos em indústrias alimentícias e médicas (Santana *et al.*, 2018). Além disso, é um material muito utilizado na impressão 3D devido à sua facilidade de extrusão, alta adesão entre camadas, baixa taxa de encolhimento e ausência de odores durante o processo de impressão. Uma vantagem significativa do PETG é sua alta resistência mecânica e térmica, além de ser mais flexível que o PLA e menos propenso a rachaduras, o que o torna ideal para fabricar componentes sujeitos a desgaste físico.

4.4.4 Compósitos cerâmica-polímero

Compósitos são materiais formados pela combinação de dois ou mais componentes com propriedades físicas e químicas distintas. O principal objetivo dos materiais compósitos é unir o melhor de cada componente, resultando em um material que supera as limitações de seus constituintes isolados. Em um compósito típico, há uma fase matriz, que dá suporte estrutural, e uma fase de reforço, que fornece resistência adicional ou outras propriedades desejáveis. Existem diversos tipos de compósitos, que são obtidos por diferentes combinações de metais, cerâmicas e polímeros (Callister; Rethwisch, 2016).

De forma complementar, no livro *Composite Materials: Science and Engineering*, o autor Krishan K. Chawla (1998) diz que um material compósito corresponde àquele em que é feita uma associação de materiais em busca de uma performance superior; no entanto, para que este material seja propriamente denominado compósito, ele deve satisfazer a três condições:

- (i) Ser composto de dois ou mais materiais diferentes (física e/ou quimicamente) possuindo uma interface de separação entre ele;

- (ii) Ser passível de manufatura (com exceção apenas para os compósitos naturais);
- (iii) Ter características que não são encontradas em seus materiais de origem de forma isolada.

Chawla (1998) explora como essas combinações levam a um desempenho aprimorado, incluindo leveza, resistência à corrosão e a possibilidade de customização para aplicações específicas.

A principal vantagem dos compósitos é a capacidade de obter materiais com elevada resistência mecânica e leveza, ideais para aplicações industriais, sobretudo em setores como aviação e esportes. Além disso, compósitos são frequentemente resistentes à corrosão, à fadiga e a danos térmicos. A pesquisa contínua no campo dos compósitos busca aprimorar sua produção, reduzir custos e tornar o ciclo de vida mais sustentável, promovendo ainda mais sua adoção em diversas indústrias.

Diante das características expressas nos tópicos anteriores e daquelas que podem ser observadas na Tabela 3, os três termoplásticos foram destinados ao estudo da viabilidade de utilização como matéria prima polimérica associados à alumina na produção de suportes porosos de compósitos de cerâmica-polímero para imobilização enzimática de baixo custo. Vale ressaltar que outros trabalhos internos do grupo de pesquisa também estão aplicando os materiais citados, sobretudo os poliméricos, para a mesma finalidade. No entanto, aspectos como tamanho de poros, geometria do suporte e geometria dos poros estão sendo investigados, de modo a alcançar o maior rendimento dentro do processo. Demais fatores que possam influenciar no rendimento também estão sob análise. Os experimentos ainda estão em fase de desenvolvimento e seus resultados serão divulgados em trabalhos futuros.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia proposta para esta pesquisa dividiu o procedimento experimental em duas etapas:

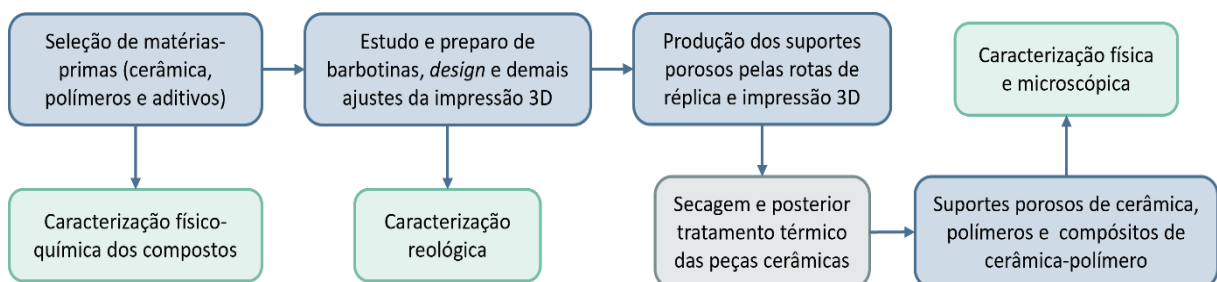
- **Etapa A**, relacionada à caracterização das matérias-primas e à produção e caracterização dos suportes porosos cerâmicos, poliméricos e de compósito cerâmica-polímero;
- **Etapa B**, referente ao estudo da avaliação, aplicabilidade e eficiência dos suportes produzidos para a imobilização de células microbianas com atividade catalítica visando a produção de FOS.

5.1 ETAPA A – PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS SUPORTES POROSOS

A Etapa A consistiu na produção e respectiva caracterização dos suportes porosos desenvolvidos para posterior imobilização celular, conforme esquematizado na Figura 7. Para fins comparativos da aplicabilidade e eficiência das peças produzidas, fez-se necessárias três rotas de produção distintas:

- Produção de peças porosas de base cerâmica (Al_2O_3) a partir da rota de réplica;
- Produção de peças porosas de base polimérica (PLA, PETG e ABS) por meio de impressão 3D;
- Produção de peças porosas de compósitos de cerâmica-polímero (Al_2O_3 -PLA, Al_2O_3 -PETG e Al_2O_3 -ABS) a partir de impressão 3D.

Figura 7 – Esquematização das atividades realizadas na Etapa A



Fonte: Autora (2025)

5.1.1 Caracterização das matérias-primas

A Termogravimetria (TG) foi empregada para avaliar a estabilidade térmica dos materiais, determinando a variação de massa em função da temperatura sob atmosfera controlada. Essa técnica permite a identificação de etapas de degradação térmica para materiais poliméricas (como pirólise e oxidação), o teor de voláteis e/ou resíduos inorgânicos (cinzas), além de fornecer indícios sobre a higroscopicidade e a cinética de degradação dos materiais (Lucas; Soares; Monteiro, 2001). As amostras foram aquecidas de 30 °C a 800 °C, à taxa de 20 °C.min⁻¹, sob atmosfera de nitrogênio.

Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) foi realizada com o objetivo de identificar as transições térmicas características dos materiais, principalmente a temperatura de transição vítrea (T_g) e, eventualmente, picos de fusão e recristalização. As análises foram conduzidas utilizando fluxo de nitrogênio a 50 mL.min⁻¹. O ciclo térmico utilizado consistiu em: (1) aquecimento inicial de 30 °C a 200 °C (10 °C.min⁻¹); (2) isoterma de 3 minutos a 230 °C para eliminação do histórico térmico; (3) resfriamento a 30 °C (10 °C.min⁻¹); e (4) segundo aquecimento de 30 °C a 200 °C (10 °C.min⁻¹).

Já a caracterização química foi realizada por meio da Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), técnica que permite a identificação de grupos funcionais específicos a partir da absorção de radiação na faixa do infravermelho. A absorção ocorre devido às vibrações características das ligações químicas, sendo, portanto, altamente sensível à composição molecular dos materiais analisados (Naranjo *et al.*, 2008). As análises foram realizadas utilizando o espectrômetro Agilent Technologies, modelo Cary 630, na faixa de 4000 a 600 cm⁻¹.

Os três ensaios foram realizados no Laboratório de Materiais (LABMAT) da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG), campus Poços de Caldas/MG.

5.1.2 Produção dos suportes cerâmicos (alumina)

Para produção dos corpos de prova porosos cerâmicos (bem como dos compósitos cerâmica-polímero) utilizou-se alumina calcinada PA-13, produzida pela Alcoa World Alumina LLC, EUA, fornecida na forma de pó sólido branco e inodoro, com área de superfície específica de 11,4 m².g⁻¹ e pureza de 99,8 %, dados fornecidos pelo fabricante. É importante salientar que o valor dessa área de superfície específica foi aquele fornecido pelo fabricante; entretanto, ensaio foi realizado em laboratório para averiguar tal valor.

Neste primeiro momento, o pó de alumina passou por uma etapa de moagem em moinho e meios de moagem de bolas de alumina, a 60 rpm por um período de 3 h, de modo a reduzir o tamanho das partículas, passando da granulometria correspondente à peneira de 80 mesh para a de 150 mesh. O pó de alumina foi então caracterizado via Difractometria de Raios X (DRX), para verificação da cristalinidade e determinação das fases presentes antes dos processos de mistura, e via determinação de área de superfície específica pelo método de B.E.T. Essa caracterização prévia foi essencial para a preparação e otimização da barbotina de alumina a ser produzida para conformação das peças porosas cerâmicas

A caracterização do pó via DRX foi feita através do equipamento *Rigaku Ultima IV* do Laboratório de Cristalografia da Universidade Federal de Alfenas, Alfenas/MG. Empregou-se um tubo de cobre ($K_{\alpha} = 0,1542$ nm), com potencial de aceleração e corrente de 40 kV e 30 mA, respectivamente, em varredura angular contínua entre 15 e 75 ° e passo de 0,02 °. Para fins de análise de resultados, utilizou-se o banco de dados cristalográfico PDF 2003 (*Powder Diffraction File*) da JCPDS-ICDD (*Joint Committee on Powder Diffraction Standards - International Centre for Diffraction Data*).

A técnica de B.E.T. utilizada na determinação da área de superfície específica dos suportes foi realizada em parceria com o Grupo de Físico-Química de Materiais (GFQM) da Universidade Estadual Paulista (Unesp), Araraquara/SP. A Fisissorção de Nitrogênio (B.E.T.), foi feita em equipamento *Micromeritics ASAP 2020 Plus 2.00* na temperatura de 77 K.

Para a produção de peças porosas de base cerâmica, foi utilizado um dos métodos mais comuns para a fabricação de cerâmicas porosas: a técnica de réplica. Conforme descrito no item 4.3 , a metodologia consiste, detalhadamente, das seguintes etapas:

- (i) Seleção de uma esponja de poliuretano (PU) com a estrutura porosa desejada;
- (ii) Corte da esponja em cubos de 1 cm x 1 cm x 1 cm;
- (iii) Produção da suspensão cerâmica (barbotina) obtida pela mistura de partículas cerâmicas em água e aditivos;
- (iv) Imersão dos moldes de PU na barbotina para impregnação;
- (v) Remoção individual das peças com o auxílio de uma pinça e posterior passagem delas por uma calandra para remoção do excesso de barbotina no molde;
- (vi) Encaminhamento das peças para as etapas de secagem e sinterização para remoção da matriz polimérica, mantendo o material cerâmico formado com uma estrutura similar à da esponja precursora (Falk *et al.*, 2014).

Uma barbotina de alumina contendo 55,0 % em massa deste componente foi inicialmente preparada, juntamente com as porcentagens adequadas de aditivos em solução, de acordo

com os procedimentos descritos por Silva (2017). Para sua utilização na técnica de réplica previamente descrita no item 4.3, todos os componentes foram homogeneizados em uma mistura manual. As informações detalhadas sobre a composição mássica da barbotina e as matérias-primas utilizadas estão descritas na Tabela 4.

Tabela 4 – Composição da barbotina para produção dos suportes porosos cerâmicos

| Componentes | Fornecedor | Especificações | Quantidade (% m/m) |
|---|-------------------|-----------------------|-------------------------------|
| Óxido de alumínio (Al ₂ O ₃) | Alcoa | 99,8% pureza | 55 |
| Disperlan | N/A | N/A | 2 |
| Água | N/A | Destilada | 16 |
| Glicerina | Êxodo Científica | CAS 56-81-5 | 4 |
| Polietilenoglicol | Êxodo Científica | CAS 25322-68-3 | 1 |
| Ácido oleico | Êxodo Científica | CAS 112-80-1 | 0,5 |
| Carboximetilcelulose (CMC)* | Êxodo Científica | CAS 9004-32-4 | 1,5 |
| Poli álcool vinílico (PVA)** | Êxodo Científica | CAS 9002-89-5 | 20 |
| Total (% m/m) | | | 100 |

* CMC em solução aquosa com concentração de 1%

** PVA em solução aquosa com concentração de 10%

Fonte: Autora (2025)

Na secagem, as peças porosas foram levadas à Estufa de Secagem e Esterilização FANEM 315-SE a 110 °C por 24 h e, sequencialmente, as peças a verde passaram por tratamento térmico no qual é realizado o processo de queima das peças e a liberação do material polimérico, resultando nas peças cerâmicas porosas a base de alumina que foram aplicadas na Etapa B. Durante a queima, a primeira fase abrange a pré-sinterização, na qual as peças a verde são levadas ao forno até atingirem a temperatura de 650 °C com uma taxa de aquecimento de 1 °C.min⁻¹ e um tempo de patamar de 2 h; na sequência, é realizada a sinterização, diante da qual a temperatura do forno atinge a temperatura de 1600 °C a uma taxa de aquecimento de 0,5 °C.min⁻¹ com o tempo de patamar de 2 h. Todo o processo de tratamento térmico foi realizado nos fornos industriais da Togni S/A Materiais Refratários. Cabe ressaltar que essa condição de queima, bem como a rota de processamento foi previamente estudada até a obtenção das condições mais adequadas para a produção.

5.1.3 Produção dos suportes poliméricos

Para as peças porosas poliméricas, a rota de processamento adotada foi a impressão 3D (utilizando-se uma impressora Creality K1C), partindo-se dos filamentos comerciais adquiridos da Creality, sendo eles: CR-PLA, CR-ABS e CR-PETG, todos com 1,75 mm de espessura para garantir compatibilidade com o equipamento. Para tal, fez-se necessário a investigação prévia das espumas de poliuretano usada na confecção dos suportes de alumina, de modo a obter a “imagem da peça” da espuma por meio de *softwares* específicos. O intuito foi reproduzir os poros (distribuição e geometria) obtidos nas peças cerâmicas também nas peças poliméricas, de modo a garantir a viabilidade da comparação entre os suportes obtidos por réplica e por impressão 3D e consequente análise dos dados de imobilização obtidos com os processos da Etapa B para os diferentes materiais propostos.

Os principais parâmetros utilizados para a impressão dos suportes poliméricos podem ser vistos na Tabela 5.

Tabela 5 – Parâmetros definidos para impressão dos suportes poliméricos

| Parâmetro | ABS | PETG | PLA |
|-------------------------------------|------------|-------------|------------|
| Temperatura do Bico (°C) | 260 | 250 | 230 |
| Temperatura da Mesa (°C) | 100 | 70 | 50 |
| Temperatura da Câmara (°C) | 60 | 35 | 35 |
| Altura da Camada (mm) | 0,24 | 0,24 | 0,24 |
| Altura da 1ª Camada (mm) | 0,20 | 0,20 | 0,20 |
| Velocidade 1ª Camada (mm/s) | 50 | 40 | 60 |
| Velocidade da Parede Externa (mm/s) | 100 | 50 | 200 |
| Velocidade da Parede Interna (mm/s) | 200 | 100 | 300 |
| Velocidade de Preenchimento (mm/s) | 200 | 100 | 250 |

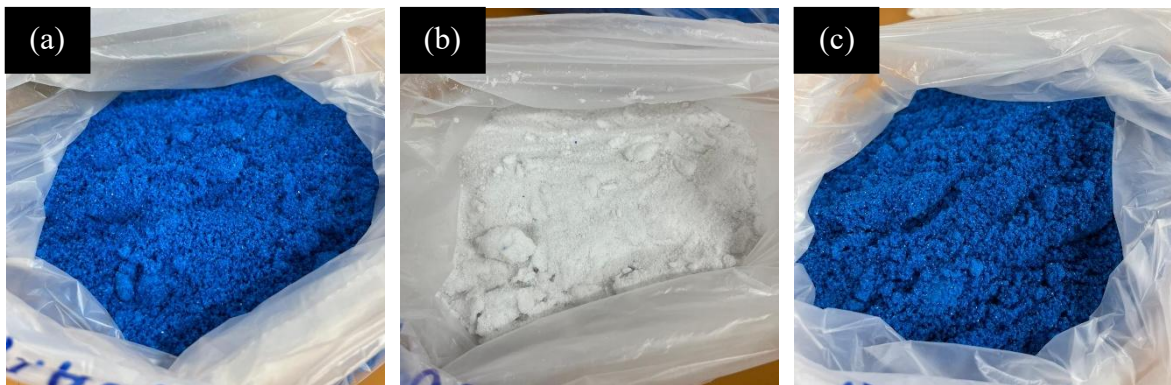
Fonte: Autora (2025)

5.1.4 Produção dos suportes cerâmica-polímero

O teor de cerâmica adicionado à matriz polimérica para obtenção dos compósitos foi de 15 % em massa. Esse valor corresponde ao teor máximo de cerâmica adicionada à matriz polimérica que permite a trabalhabilidade e obtenção de compósitos na forma de filamentos para posterior produção das peças porosas por impressão 3D.

Para a mistura desses materiais e a inserção da maior quantidade de alumina possível na matriz polimérica foi feita a moagem prévia tanto da alumina (em moinho e meios de moagem de bolas de alumina, a 60 rpm durante 1 h), como dos polímeros (pulverização da resina em moinho criogênico modelo Mikro-Bantam, Micron Powder Systems), de modo a facilitar o processo de alimentação na extrusora. Isso se deve ao fato de que a extrusora de filamentos a ser utilizada (DEMa/UFSCar) possui um único alimentador gravimétrico, havendo a necessidade de uma alimentação mais homogênea (pó) de ambos os materiais, produzindo-se um compósito também mais homogêneo. Os pós obtidos por meio dos filamentos poliméricos estão representados na Figura 8.

Figura 8 – Filamentos após moagem criogênica de (a) PLA, (b) ABS e (c) PETG



Fonte: Autora (2025).

Os filamentos foram desenvolvidos no laboratório do Departamento de Engenharia de Materiais (DEMa) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) através de mistura no estado fundido, utilizando-se uma extrusora de dupla rosca, modelo MP19, da B&P *Process Equipment Systems*, com rotação de 80 rpm e velocidade de alimentação de aproximadamente 1 kg/h. A velocidade de puxamento foi ajustada para produzir filamentos homogêneos, com diâmetro médio de 1,75 mm.

O perfil de temperaturas (ajustado de acordo com a formulação) e o torque médio medido no equipamento durante o processamento são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 – Perfil de temperaturas e torque médio medido no equipamento durante o processamento para cada uma das formulações determinadas para os compósitos

| Formulação | Perfil de Temperatura (°C) | Torque (%) |
|---|-----------------------------------|-------------------|
| PLA + 15% Al ₂ O ₃ | 175/190/200/215/215 | 30 |
| ABS + 15% Al ₂ O ₃ | 175/195/210/215/215 | 60 |
| PETG + 15% Al ₂ O ₃ | 215/220/225/230/235 | 50 |

Fonte: Autora (2025)

Após a obtenção da mistura por extrusão, os filamentos produzidos foram direcionados à impressão 3D, seguindo os mesmos modelos e padrões adotados para os suportes poliméricos. Os principais parâmetros utilizados para a impressão dos suportes compósitos podem ser vistos na Tabela 7.

Tabela 7 – Parâmetros definidos para impressão dos suportes compósitos

| Parâmetro | ABS/Al₂O₃ | PETG/Al₂O₃ | PLA/Al₂O₃ |
|-------------------------------------|--|---|--|
| Temperatura do Bico (°C) | 260 | 250 | 230 |
| Temperatura da Mesa (°C) | 100 | 70 | 50 |
| Temperatura da Câmara (°C) | 60 | 35 | 35 |
| Altura da Camada (mm) | 0,24 | 0,24 | 0,24 |
| Altura da 1ª Camada (mm) | 0,20 | 0,20 | 0,20 |
| Velocidade 1ª Camada (mm/s) | 50 | 50 | 40 |
| Velocidade da Parede Externa (mm/s) | 150 | 150 | 100 |
| Velocidade da Parede Interna (mm/s) | 250 | 250 | 200 |
| Velocidade de Preenchimento (mm/s) | 220 | 200 | 150 |

Fonte: Autora (2025)

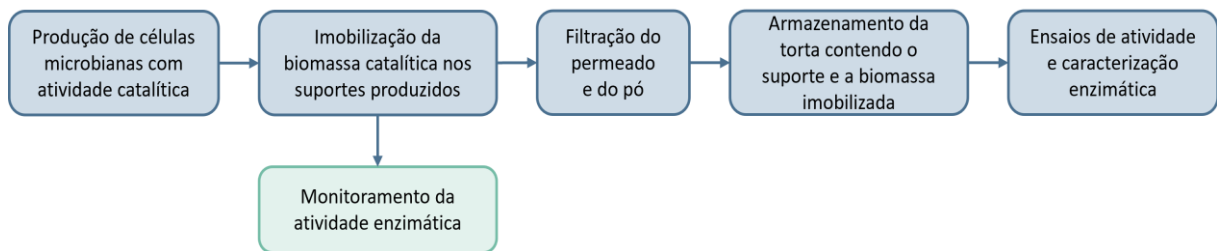
Todos os suportes produzidos (cerâmicos, poliméricos e compósitos) foram caracterizados por meio de medidas de propriedades físicas (densidade e porosidade aparente, utilizando-se o princípio de Arquimedes), de acordo com a norma ABNT NBR 9778.

5.2 ETAPA B – AVALIAÇÃO DOS SUPORTES PRODUZIDOS DIANTE DA IMOBILIZAÇÃO DE CÉLULAS MICROBIANAS COM ATIVIDADE CATALÍTICA

A Figura 9 ilustra as atividades realizadas na Etapa B. Cabe salientar que esse procedimento foi adotado para todos os suportes produzidos, a saber:

- (i) Suporte poroso de alumina obtido a partir da rota de réplica;
- (ii) Suportes porosos de PLA, ABS e PETG, obtidos por impressão 3D;
- (iii) Suportes de alumina-PLA, alumina-ABS e alumina-PETG, obtidos pela mistura prévia das matérias-primas previamente moídas e extrudadas seguido pela impressão 3D

Figura 9 – Esquemática das atividades realizadas na Etapa B



Fonte: Autora (2025)

5.2.1 Produção e imobilização da biomassa catalítica

As células microbianas, com atividade catalítica, foram produzidas por cultivo celular submerso a partir do fungo *Aspergillus oryzae* IPT-301 utilizando meio de cultura sintético. Um volume de 50 mL do meio de cultura foi adicionado em frascos Erlenmeyer, vedados com algodão e esterilizados em autoclave por 15 minutos a 120 °C e 1,022 atm. Posteriormente, o suporte previamente tratado (ver item 5.1) foi adicionado ao meio estéril e incubado em agitador orbital do tipo *shaker*, inoculando-se 500 µL de suspensão de esporos do fungo na concentração de 1×10^7 esporos.mL⁻¹. O cultivo foi conduzido a 30 °C e 200 rpm ao decorrer de 48 horas de processo, com coleta de amostras em intervalos de tempo pré-definidos (Cuervo-Fernandez *et al.*, 2007; Cunha *et al.*, 2019; Ottoni *et al.*, 2012). O conteúdo total do frasco foi filtrado à vácuo e o material retido (células catalíticas imobilizadas no suporte) foi lavado abundantemente com água destilada e usado para construção das curvas de crescimento microbiano e avaliação da atividade enzimática de transfrutossilatação.

5.2.2 Construção das curvas de crescimento microbiano

A quantidade de biomassa catalítica imobilizada nos suportes em função do tempo de fermentação foi obtida mediante determinação de sua massa seca, conforme método descrito por Mussatto *et al.* (2009). Para isso, a quantidade de biomassa imobilizada foi calculada pela diferença entre a massa seca da biomassa imobilizada e a massa de suporte adicionada no cultivo microbiano. Para a determinação da massa seca, a biomassa imobilizada foi seca em estufa a 60 °C por cerca de 24 horas, tempo no qual se obtém massa constante. As curvas de crescimento microbiano foram construídas em função do tempo de cultivo celular (Cunha *et al.*, 2019; Perna *et al.*, 2018).

5.2.3 Quantificação de açúcares redutores e glicose

As concentrações de glicose (G) e açúcares redutores (AR) foram quantificadas pelos métodos colorimétricos GOD/PAP® (kit enzimático glicose-oxidase) e DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico), respectivamente. A concentração de frutose transfrutosilada (transferida) (C_{FT}) no meio reacional foi determinada pela Equação 1 (Chen; Liu, 1996; Cunha *et al.*, 2019; Gonçalves *et al.*, 2020).

$$C_{FT} = 2 * G_G - C_{AR} \quad (1)$$

5.2.4 Determinação da atividade enzimática

A atividade enzimática de transfrutosilação (A_T) foi determinada conforme procedimento descrito por Cuervo-Fernandez *et al.* (2007), Ottoni *et al.* (2012) e Cunha *et al.* (2019). Para isso, o biocatalisador heterogêneo (biomassa imobilizada no suporte) foi incubado com 14,8 mL de solução de sacarose, em concentração de 636 g.L⁻¹, e 5,2 mL de tampão tris-acetato 0,2 mol.L⁻¹, pH 5,5. A reação foi conduzida em banho *Dubnoff* a 50 °C, 190 rpm por 1 h e interrompida pela imersão do meio reacional em água em ebulição por 10 min, seguido por resfriamento em banho de água e gelo por 5 min para inativação enzimática. Na sequência, o meio reacional foi filtrado à vácuo e a concentração de açúcares redutores e glicose foram quantificados (ver item 5.2.3). A atividade de transfrutosilação (A_T) foi calculada pela Equação 2.

$$A_T = \frac{C_{FT} * V_R}{t_R * m_{célula}} \quad (2)$$

Em que C_{FT} é a concentração molar de frutose transfrutossilada (em $\mu\text{mol.L}^{-1}$), V_R é o volume do meio reacional (em L), t_R o tempo de reação (em min) e $m_{célula}$ a massa seca efetiva de células microbianas imobilizadas nos suportes porosos de óxidos de alumínio.

Uma unidade (1 U) de atividade de transfrutossilção foi definida como a quantidade de enzima que transfere um micromol (1 μmol) de frutose transfrutossilada (transferida), sob condições experimentais estabelecidas (Cunha *et al.*, 2019; Garcia *et al.* 2021; Gonçalves *et al.*, 2020).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 ETAPA A

6.1.1 Caracterização das matérias-primas

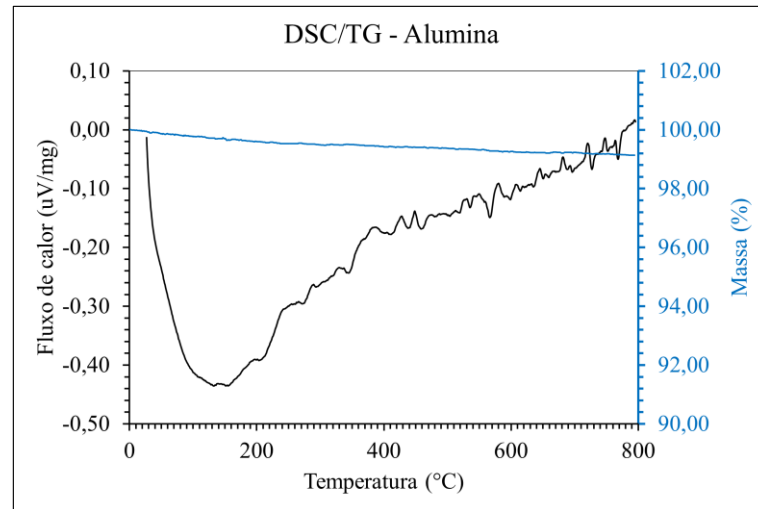
A caracterização das matérias-primas utilizadas neste estudo foi realizada por meio de análises térmicas e químicas, a fim de compreender o comportamento térmico dos polímeros e compósitos, bem como identificar os principais grupos funcionais presentes em suas estruturas e determinar seu grau de pureza. As análises foram conduzidas para os materiais puros (ABS, PLA, PETG e Al_2O_3) e seus respectivos compósitos cerâmica-polímero (ABS/ Al_2O_3 , PLA/ Al_2O_3 , PETG/ Al_2O_3).

6.1.1.1 Ensaio de DSC/TG

6.1.1.1.1 Alumina

Conforme representado pela Figura 10, a alumina pura apresentou boa estabilidade térmica, sem perda significativa de massa ao longo de toda a faixa de temperatura analisada (30 a 800 °C), como indicado pela “curva” de TG praticamente linear e com resíduo final próximo a 99 %. A curva DSC, por sua vez, revela uma tendência endotérmica suave, sem transições nítidas, coerente com o comportamento de óxidos e sua baixa capacidade de absorção de calor associada a eventos de transição.

Figura 10 – Curva de DSC/TG para a alumina pura



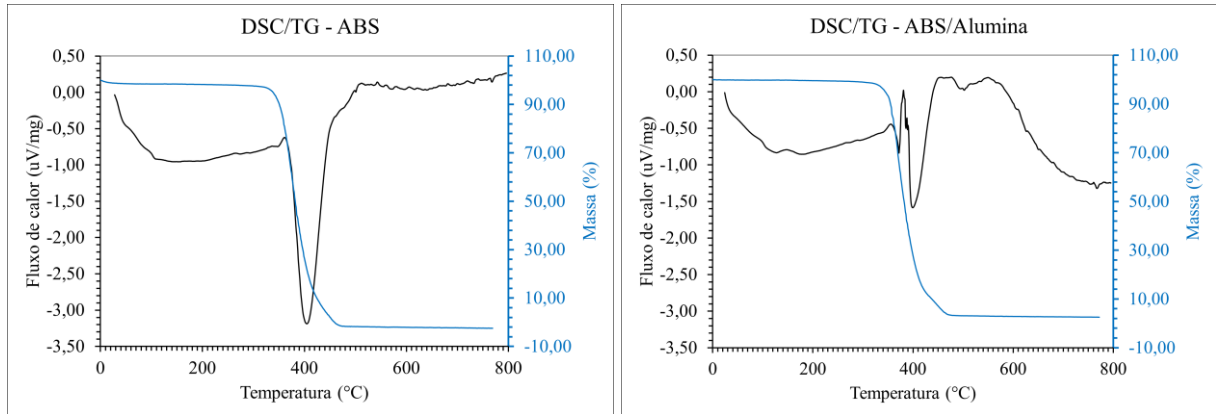
Fonte: Autora (2025)

6.1.1.1.2 ABS e ABS/Al₂O₃

A análise de TG do ABS, disposta na Figura 11, apresenta uma única etapa de degradação acentuada entre aproximadamente 340 °C e 470 °C, com perda de massa superior a 95 %, indicando a decomposição térmica da matriz polimérica. O resíduo final é muito baixo, compatível com a ausência de componentes inorgânicos. No compósito ABS/Al₂O₃, a degradação ocorre na mesma faixa de temperatura, porém com um resíduo final levemente maior, compatível com a fração de carga cerâmica incorporada. Os resultados encontrados se assemelham àqueles evidenciados por Billah *et al.* (2020).

No gráfico de DSC, observa-se um pico endotérmico próximo a 400 °C para ambos os materiais, relacionado ao processo de degradação. O compósito exibe um perfil semelhante, porém com variações na intensidade do fluxo de calor, fato que pode apontar para interações físicas entre matriz e carga, influenciando o desempenho térmico do sistema.

Figura 11 – Curva de DSC/TG para ABS puro e compósito ABS/Al₂O₃



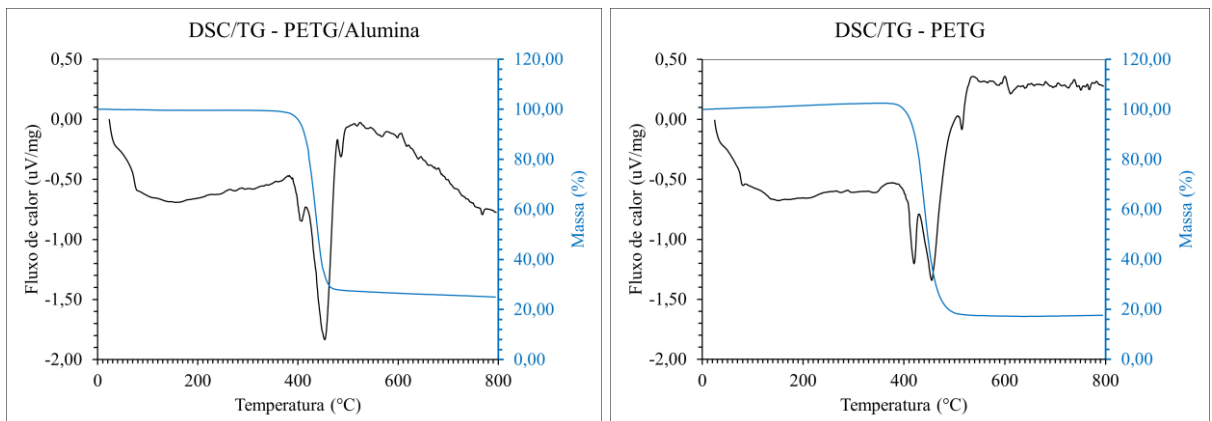
Fonte: Autora (2025)

6.1.1.1.3 PETG e PETG/Al₂O₃

Já na Figura 12, a curva TG do PETG mostra uma degradação térmica principal entre 400 °C e 500 °C, com perda de massa superior a 80 % e resíduo próximo de zero, típico de materiais poliméricos puros. Já no compósito PETG/Al₂O₃, a degradação segue um padrão similar, mas o resíduo final é superior (aproximadamente 25 %), atribuído à presença da alumina inorgânica.

O termograma DSC do PETG mostra uma transição endotérmica em torno de 80 – 90 °C, atribuída à temperatura de transição vítrea (T_g), e um pico mais intenso próximo a 450 °C, associado à degradação térmica, resultados que vão de encontro ao registrado por Kasmí *et al.* (2021). No compósito, o pico se mantém na mesma região, mas com mudanças na intensidade, o que pode indicar interações físicas entre matriz e carga, alterando o comportamento térmico do sistema.

Figura 12 – Curva de DSC/TG para PETG puro e compósito PETG/Al₂O₃



Fonte: Autora (2025)

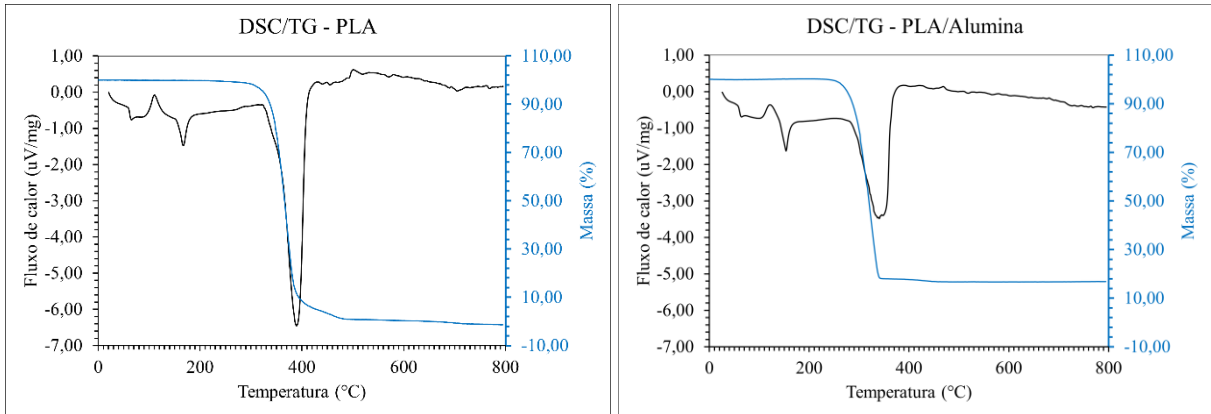
6.1.1.1.4 PLA e PLA/Al₂O₃

A curva TG do PLA apresentou uma única etapa de degradação térmica entre 320 °C e 400 °C, com perda de massa superior a 95%, tal qual foi registrado por Yakdoui e Hadj-Hamou (2020) em seu trabalho e indica uma característica típica de polímeros termodegradáveis com alta fração orgânica. O resíduo final próximo de zero confirma a completa degradação da matriz polimérica em atmosfera inerte. Para o compósito PLA/Al₂O₃, observa-se comportamento semelhante no intervalo de degradação, porém com um resíduo final superior, de aproximadamente 17 %, compatível com a incorporação da fase inorgânica (Al₂O₃), que permanece estável até 800 °C.

No termograma de DSC, o PLA puro apresenta um pico endotérmico próximo a 60 °C, associado à temperatura de transição vítrea (T_g), seguido por um pico mais intenso próximo aos 400 °C, relacionado ao processo de degradação térmica, o que também foi relatado por Yakdoui e Hadj-Hamou (2020) quando analisaram filmes de PLA e compósitos de PLA/TiO₂.Al₂O₃. De forma análoga, nos compósitos ABS/Alumina, PETG/Alumina e PLA/Alumina, as transições térmicas mantêm-se nas mesmas faixas de temperatura, no entanto, é possível notar redução na intensidade do sinal calorimétrico, o que pode indicar que a presença da alumina atua como uma barreira térmica, influenciando a dissipação de calor e dificultando o processo de propagação da degradação.

Além disso, a comparação entre os perfis térmicos do PLA puro e do compósito evidencia que, apesar da presença da carga inorgânica não alterar substancialmente a faixa de decomposição, ela contribui para o aumento da estabilidade térmica do sistema, refletida no resíduo final e na modificação do perfil de fluxo de calor. Esses resultados são consistentes com o comportamento esperado de compósitos poliméricos com reforços cerâmicos dispersos.

Figura 13 – Curva de DSC/TG para PLA puro e compósito PLA/Al₂O₃



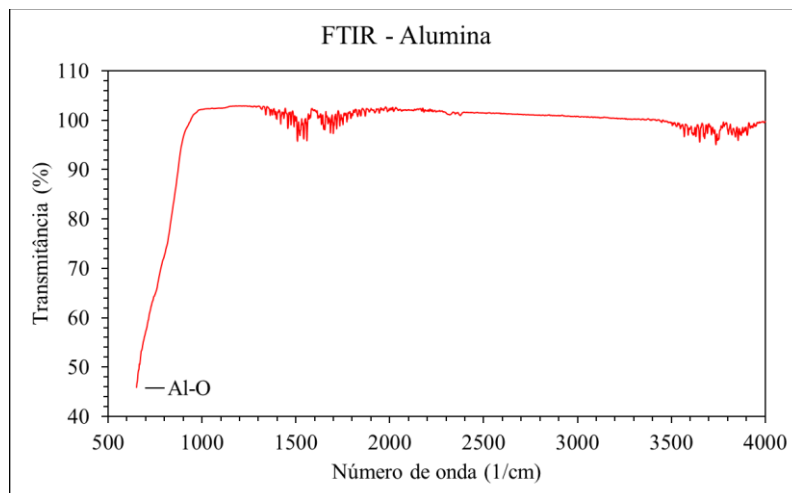
Fonte: Autora (2025)

6.1.1.2 Ensaios de FTIR

6.1.1.2.1 Alumina

O espectro da alumina pura, representado na Figura 14, apresenta banda larga e única entre 500 e 1000 cm⁻¹, atribuída às vibrações de estiramento Al-O, como esperado para óxidos metálicos. A ausência de bandas adicionais confirma a natureza inorgânica e a pureza do material. De acordo com Smirnov *et al.* (2022), espectros semelhantes foram observados para Al₂O₃ em estado puro, com ausência de grupos funcionais orgânicos e predominância de bandas Al-O abaixo de 1000 cm⁻¹.

Figura 14 – Análise de FTIR para a alumina pura

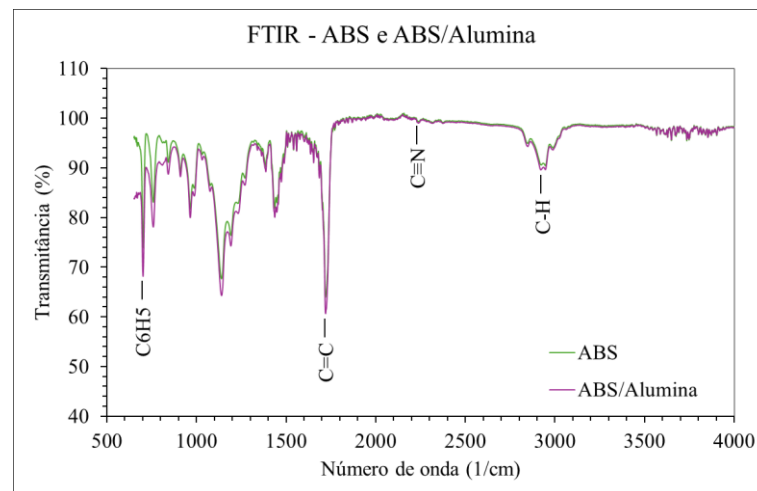


Fonte: Autora (2025)

6.1.1.2.2 ABS e ABS/Al₂O₃

A análise FTIR permitiu identificar os grupos funcionais presentes no ABS e em seu respectivo compósito, como mostra a Figura 15. Em concordância com os registros discutidos por Macedo (2023), a banda em 2231 cm⁻¹ é atribuída ao alongamento da ligação C≡N do grupo nitrila presente no bloco de acrilonitrila, a banda próxima a 3027 cm⁻¹ está associada ao alongamento C-H dos anéis aromáticos de estireno, enquanto as bandas entre 2842 cm⁻¹ e 3000 cm⁻¹ são atribuídas aos alongamentos C-H dos grupos alifáticos. Por fim, ainda se nota a maior banda em torno de 1718 cm⁻¹ associada a ligações C=C e bandas em 758 e 700 cm⁻¹ atribuídas aos grupamentos fenila, resultados semelhantes também foram identificados pela autora nos trabalhos de Kruczala, Bokria e Schlick (2003) e Hirayama e Saron (2018).

Figura 15 – Análise de FTIR para ABS puro e compósito ABS/Al₂O₃



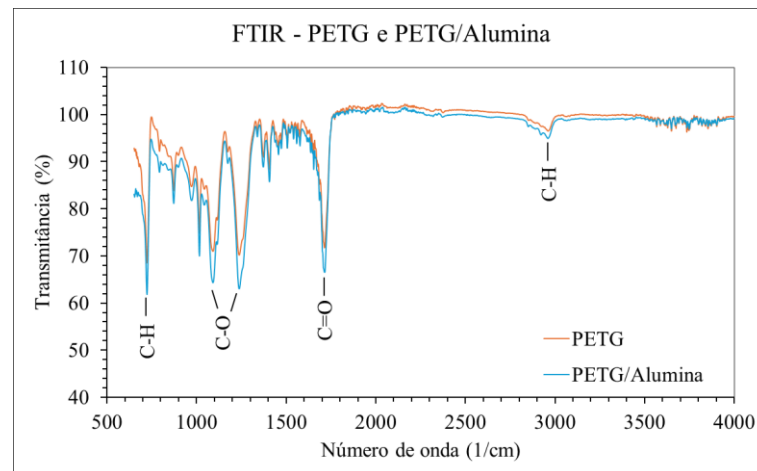
Fonte: Autora (2025)

Observa-se que, após a incorporação de Al₂O₃, as bandas do compósito permaneceram na mesma faixa de número de onda das observadas na amostra polimérica de referência, indicando que não houve alterações significativas na estrutura química do material. No entanto, houve uma redução na transmitância relativa de algumas bandas características do polímero, o que pode ser atribuído à maior presença da carga cerâmica na superfície do compósito, atuando como uma barreira óptica ou interferente físico, e resultando na atenuação da intensidade das bandas associadas à matriz orgânica.

6.1.1.2.3 PETG e PETG/Al₂O₃

As análises de FTIR permitiram identificar a distribuição dos grupos químicos presentes nas amostras de PETG e do compósito PETG/Al₂O₃. De forma condizente com o que foi avaliado por Kasmi *et al.* (2021), o espectro disposto na Figura 16 apresenta um leve estiramento em 2988 cm⁻¹, associado à ligação C-H, enquanto a banda larga em 1713 cm⁻¹ corresponde ao alongamento da ligação C=O do grupo éster. Outras bandas características incluem 1235 cm⁻¹ (dobramento C-O), 1090 cm⁻¹ (dobramento simétrico C-O) e 1015 cm⁻¹ (dobramento C-H). Ainda de acordo com os autores, a banda em 723 cm⁻¹ também está relacionada a vibrações C-H.

Figura 16 – Análise de FTIR para PETG puro e compósito PETG/Al₂O₃



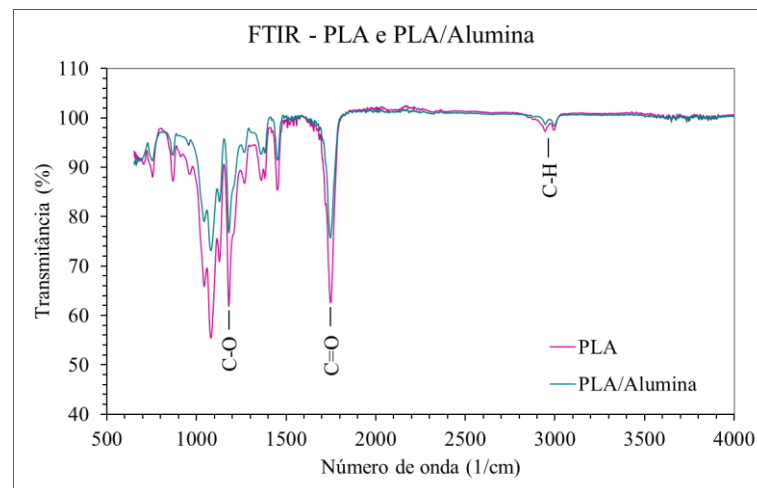
Fonte: Autora (2025)

A adição de Al₂O₃ ao PETG não promoveu alterações significativas nas faixas de absorção dos grupos funcionais característicos do polímero, mantendo-se as bandas dentro da mesma faixa de número de onda observada na amostra pura. No entanto, verificou-se uma redução na transmitância relativa de determinadas bandas do polímero, o que pode ser explicado pela maior concentração da carga cerâmica na superfície do compósito, funcionando como barreira óptica ou interferente físico, diminuindo a intensidade das bandas da matriz orgânica, tal qual ocorre no item 6.1.1.2.2.

6.1.1.2.4 PLA e PLA/Al₂O₃

Os grupos orgânicos de PLA e dos compósitos PLA/Al₂O₃ foram determinados por análise FTIR de modo que as ligações químicas características de cada banda podem ser observadas na Figura 17. Em conformidade com os resultados apresentados por Rabelo (2020), a estrutura química do PLA foi confirmada, o espectro apresenta uma banda intensa em 1750 cm⁻¹ atribuída ao alongamento da ligação C=O (carbonila), característica dos grupos éster. As bandas em 2999 cm⁻¹ e 2945 cm⁻¹ correspondem ao alongamento C-H dos grupos metila (-CH₃). Já a banda em 1180 cm⁻¹ representa o alongamento da ligação C-O dos grupos éster, sendo esta uma das absorções mais características da estrutura do PLA. Os resultados obtidos estão de acordo com os espectros descritos na literatura por Yakdoui e Hadj-Hamou (2020).

Figura 17 – Análise de FTIR para PLA puro e compósito PLA/Al₂O₃



Fonte: Autora (2025)

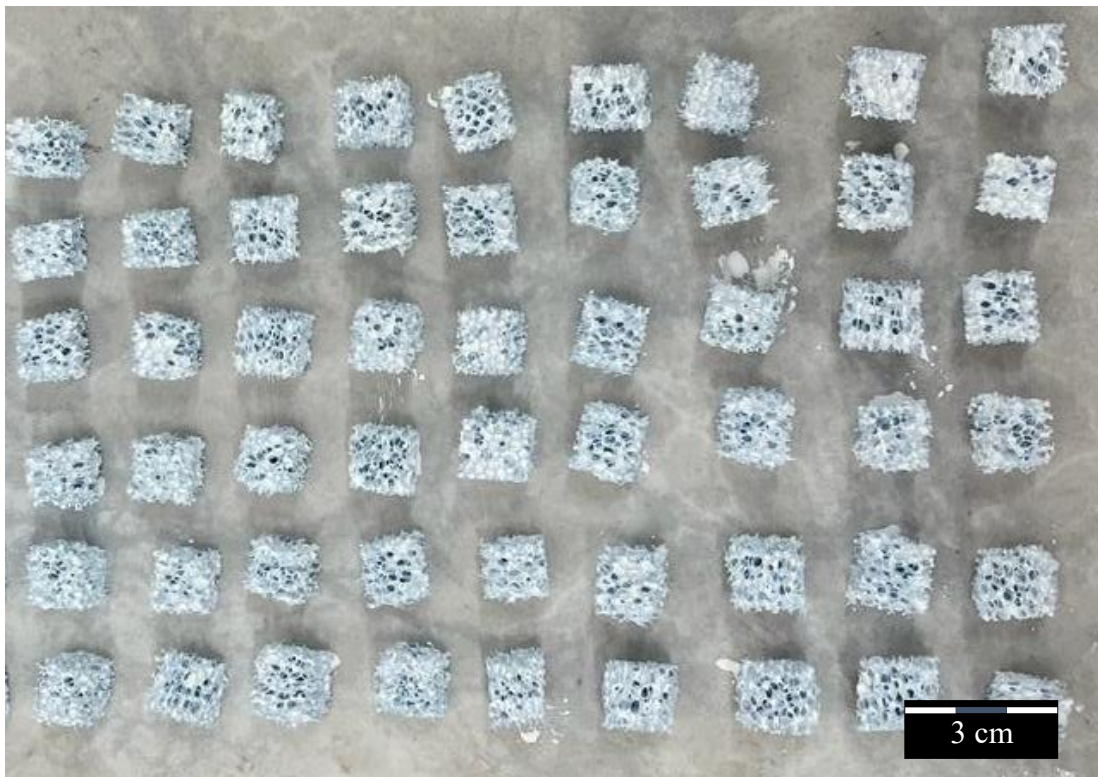
A incorporação de cerâmica à matriz de polimérica resultou, mais uma vez, em espectros FTIR com bandas posicionadas em faixas semelhantes às do polímero puro, indicando preservação da estrutura química principal. Houve, contudo, um decréscimo na transmitância relativa de certas bandas associadas ao polímero, o que pode ser atribuído ao aumento da presença de carga cerâmica na superfície do compósito, que age como barreira óptica ou interferente físico, atenuando as bandas da matriz orgânica, conforme ocorre também nos espectros dos compósitos apresentados anteriormente.

6.1.2 Produção dos suportes porosos de alumina

O ensaio de DRX detectou somente a fase coríndon na alumina, indicando também o alto grau de pureza da matéria prima dentro dos limites de detecção da técnica. A área de superfície específica determinada para o pó foi de $12,2 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$, valor muito semelhante àquele fornecido pelo fabricante ($11,4 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$).

As atividades realizadas nessa etapa estão detalhadas nos itens 4.3 e 5.1.2 deste trabalho. Após o preparo da barbotina (Tabela 4), realizou-se a impregnação das esponjas de PU na mesma. As esponjas foram totalmente submersas na barbotina para garantir uma aderência completa. A Figura 18 mostra os suportes logo após passarem pelos processos descritos, antes de serem encaminhados para a etapa de secagem.

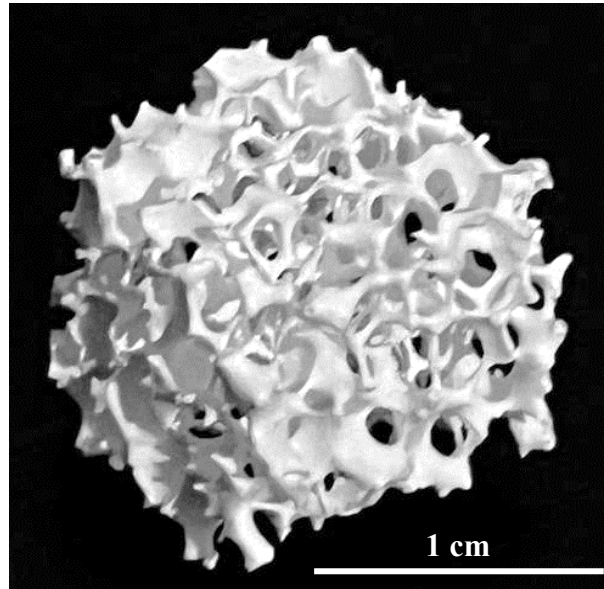
Figura 18 – Espumas de PU, com dimensão de 1 cm x 1 cm x 1 cm e com abertura de 30 ppi, após imersão em barbotina contendo alumina e demais aditivos, antes de qualquer tratamento térmico



Fonte: Autora (2025).

A Figura 19 mostra em detalhe uma peça com abertura de poros de 30 ppi após o processo de tratamento térmico, descrito no item 5.1.2 .

Figura 19 – Peça de Al_2O_3 moldada em espuma de 30 ppi, com dimensão de 1 cm^3 , e tratada termicamente a $1600\text{ }^\circ\text{C}$, sendo observada a porosidade resultante da utilização da técnica de réplica

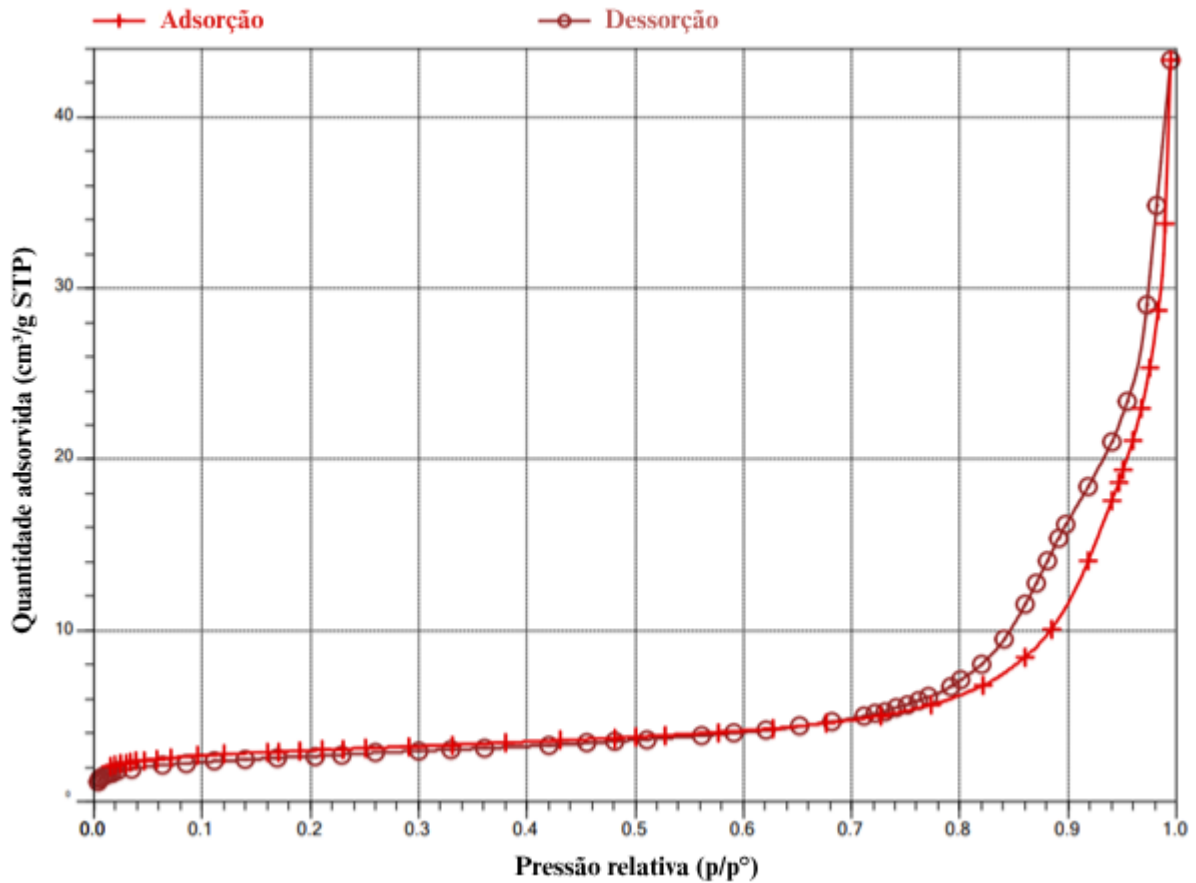


Fonte: Autora (2025).

6.1.2.1 Ensaio de B.E.T dos suportes de Al_2O_3

Os ensaios de B.E.T revelaram uma área de superfície equivalente a $10,30\text{ m}^2.\text{g}^{-1}$. Além disso, determinou-se que o volume de poros corresponde a $0,013\text{ cm}^3.\text{g}^{-1}$ com diâmetro médio equivalente a $5,11\text{ nm}$. Tais valores são característicos de corpos mesoporosos, o que é comprovado com base na análise gráfica da Figura 20.

Figura 20 – Isoterma de adsorção do tipo IV, com histerese do tipo H1, obtida em análise de B.E.T. para determinação dos tipos de poros presentes nos suporte de Al_2O_3



Fonte: Autora (2025).

Tomando como base a classificação da *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC), na Figura 20 está representada uma isoterma do tipo IV, bastante característica de sólidos mesoporosos (Sing *et al.*, 1985). Além disso, há a formação de histerese na isoterma, o que nos permite obter maiores informações acerca da forma dos poros obtidos no suporte. Histereses do tipo H1 são comuns em materiais porosos uniformes com estreita distribuição de tamanhos de poros, o que é notável de forma macroscópica com a observação dos suportes produzidos (Figura 19).

6.1.3 Produção dos suportes porosos poliméricos e compósitos

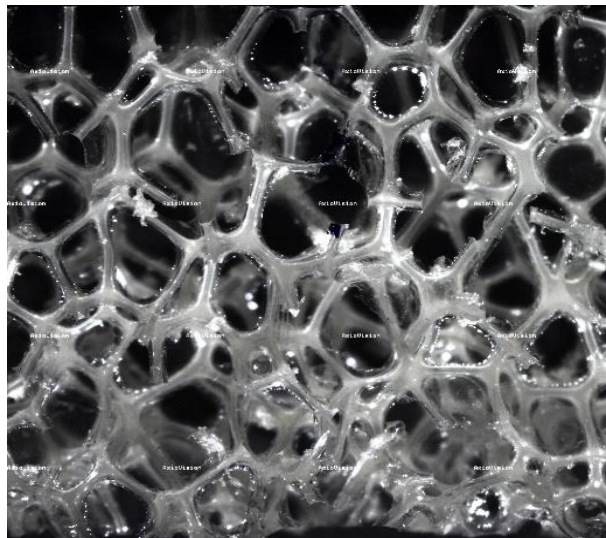
Para manter o padrão de porosidade utilizado na técnica de réplica para produção de suportes de alumina, foi desenvolvido um modelo 3D de suporte poroso com base em uma esponja de poliuretano de 30 ppi. A primeira tentativa de modelagem foi realizada com imagens fotográficas das faces de um cubo de esponja de 1 cm^3 . No entanto, devido à dificuldade em

visualizar o interior da esponja, foram investigados métodos alternativos de obtenção de imagem.

Foram realizados dois testes adicionais. O primeiro consistiu em embutir a esponja em resina e capturar a imagem da superfície pelo método fotográfico, seguida de sucessivos desbastes com lixa para obter novas imagens até escanear toda a esponja. Esse método foi descartado devido à reação química entre a esponja e a resina, que causou deformação nos poros.

No segundo teste, a esponja foi seccionada em fatias finas com cortes únicos, utilizando uma tesoura para evitar deformações. As imagens das superfícies foram capturadas com um microscópio óptico Zeiss em conjunto com o software AxioVision (Figura 21). Foram obtidas duas amostras: uma com 5 fatias de maior espessura e outra com 8 fatias mais finas. As faces de cada fatia foram numeradas, com faces superiores ímpares e inferiores pares. Observou-se que o maior número de fatias finas facilitou a modelagem e forneceu uma representação mais precisa da estrutura interna da esponja.

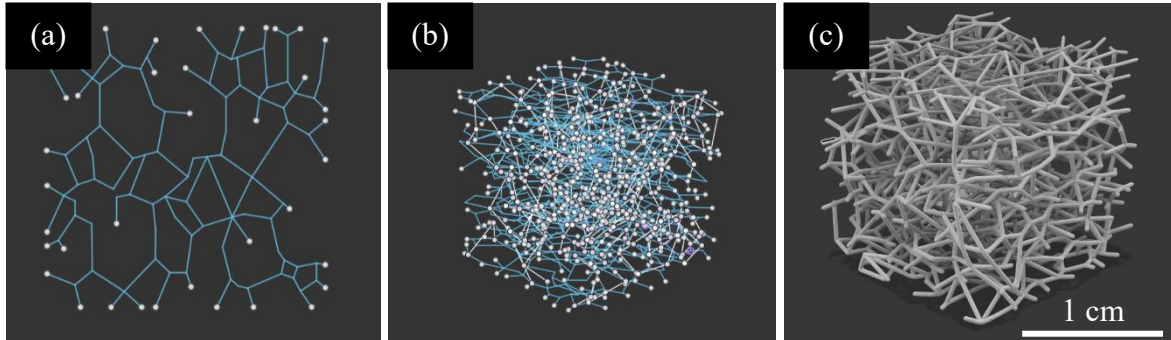
Figura 21 – Imagem de uma camada de esponja de PU obtida por microscópio óptico Zeiss associado ao software AxionVision



Fonte: Autora (2025)

O modelo final foi construído no software CAD Fusion 360, da Autodesk, utilizando esboços em camadas sobrepostas. Com o comando de tubulação, foi possível ajustar a espessura das linhas para corresponder à espessura dos poros da esponja. Esse modelo tridimensional (Figura 22) permite a impressão dos suportes porosos via FDM, com características de porosidade próximas à esponja de PU original.

Figura 22 – Modelagem computacional para aplicação da técnica FDM, constituído do (a) esboço de camada obtido a partir do fatiamento da esponja; (b) modelo construído após união das camadas; e (c) modelo final



Fonte: Autora (2025)

Durante os primeiros testes de impressão com o modelo da Figura 22, notou-se a necessidade de adaptações do desenho a fim de melhorar a estabilidade das peças durante o processo produtivo. Para isso, foram adaptados modelos com a inserção de arestas que pudessem garantir suporte mecânico e, conseqüentemente, maior resistência ao produto. O resultado pode ser visualizado na Figura 23.

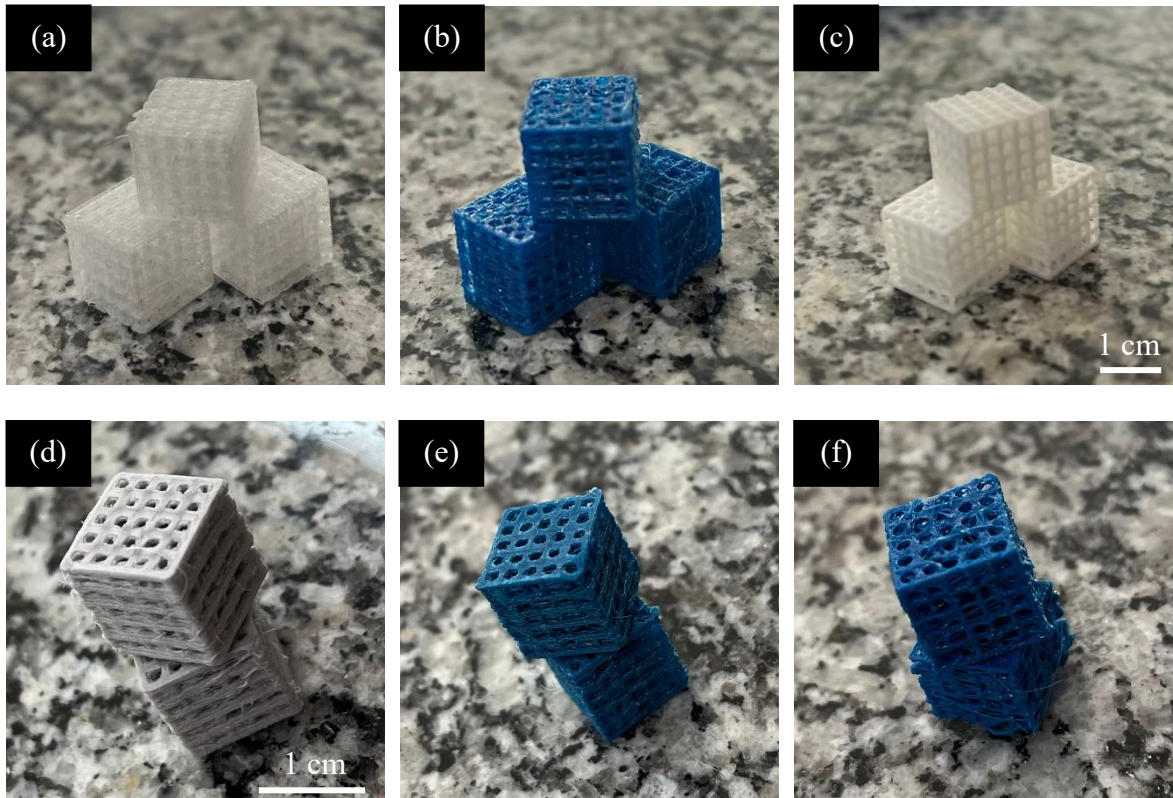
Figura 23 – Vistas isométrica, superior e lateral do modelo desenvolvido com arestas para garantir suporte mecânico ao produto desenvolvido



Fonte: Autora (2025)

O modelo representado na Figura 23 foi então definido como o padrão a ser utilizado durante a impressão dos suportes poliméricos e compósitos, que seguiram os procedimentos descritos nos itens 4.4 , 5.1.3 e 5.1.4 . A escolha do design foi feita de modo a garantir que todos os poros tivessem sustentação suficiente para não romper nenhuma parede durante aplicação do suporte na Etapa B. Os suportes produzidos podem ser visualizados na Figura 24.

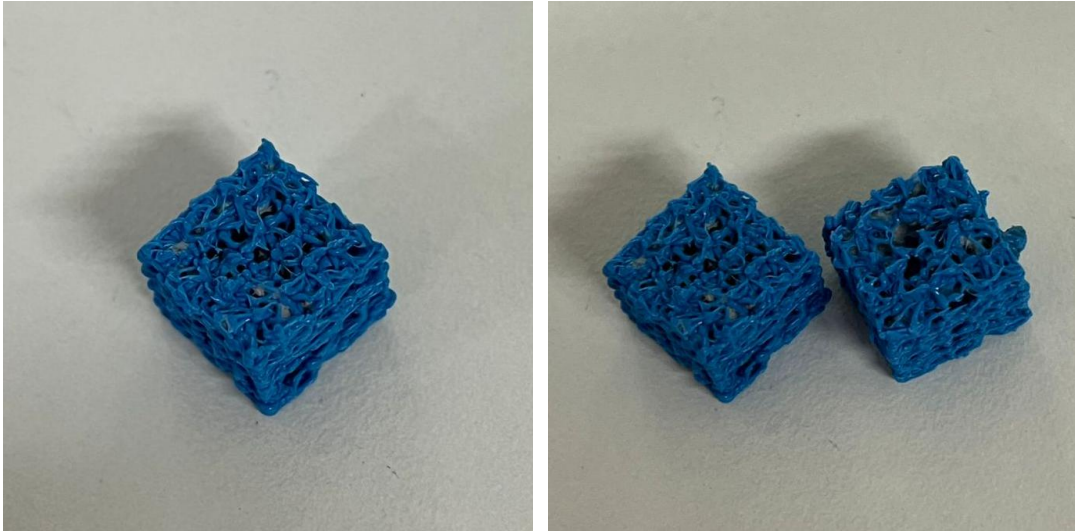
Figura 24 – Peças de (a) ABS, (b) PETG, (c) PLA, (d) ABS/ Al_2O_3 , (e) PETG/ Al_2O_3 e (f) PLA/ Al_2O_3 produzidas com a técnica FDM utilizando-se a impressora 3D Creality K1C



Fonte: Autora (2025)

Mesmo com a modelagem de um design regular para os suportes, o interior das peças apresentou a irregularidade necessária para possibilitar a comparação efetiva entre os diferentes materiais testados. Essa irregularidade foi resultado dos ajustes previamente definidos no equipamento durante o processo de impressão. O interior de um suporte de compósito PLA/ Al_2O_3 pode ser visualizado na Figura 25.

Figura 25 – Visualização das irregularidades dispostas na parte interna dos suportes de compósito PLA/Al₂O₃



Fonte: Autora (2025)

6.1.4 Caracterização dos suportes produzidos por meio de densidade aparente e índice de vazios

A Tabela 8 apresenta os valores de massa (g) e volume real (cm³) dos suportes produzidos, permitindo o cálculo da densidade aparente (ρ_{aparente}) de cada amostra. Com base nesses dados experimentais e nas densidades reais (ρ_{real}) dos materiais puros obtidas da literatura, foi possível estimar o índice de vazios (ϵ) e a porosidade total (η) das amostras por meio da relação entre a densidade real e a densidade aparente. Essa análise visa quantificar o grau de vazios presentes em cada suporte, os quais influenciam diretamente nas propriedades estruturais, difusionais e, conseqüentemente, no desempenho funcional dos materiais em aplicações como suporte para imobilização em reações químicas. As equações utilizadas para montagem da Tabela 8 estão dispostas a seguir:

$$\rho_{\text{aparente}} = \frac{\text{massa do suporte (g)}}{\text{volume do suporte (cm}^3\text{)}} \quad (3)$$

$$\epsilon = \frac{\rho_{\text{real}}}{\rho_{\text{aparente}}} - 1 \quad (4)$$

$$\eta = \frac{\epsilon}{1+\epsilon} \quad (5)$$

Tabela 8 – Densidade aparente e índice de vazios para cada um dos suportes avaliados neste trabalho

| Suportes | Massa (g) | Volume (cm ³) | ρ_{aparente} (g/cm ³) | ρ_{real} (g/cm ³) | ϵ | η |
|-------------------------------------|--------------|------------------------------|--|--|------------|---------|
| Al ₂ O ₃ | 0,43 | 0,50 | 0,86 | 3,95 | 3,5930 | 78,23 % |
| ABS | 0,48 | 1,00 | 0,48 | 1,24 | 1,5833 | 61,29 % |
| PLA | 0,55 | 1,00 | 0,55 | 1,24 | 1,2545 | 55,65 % |
| PETG | 0,51 | 1,00 | 0,51 | 1,24 | 1,4314 | 58,87 % |
| ABS/Al ₂ O ₃ | 0,47 | 1,50 | 0,31 | 1,24 | 2,9574 | 74,73 % |
| PLA/Al ₂ O ₃ | 0,49 | 1,20 | 0,41 | 1,24 | 2,0367 | 67,07 % |
| PETG/Al ₂ O ₃ | 0,43 | 1,00 | 0,43 | 1,24 | 1,8837 | 65,32 % |

Fonte: Autora (2025)

Os resultados indicam uma significativa variação na porosidade total entre os diferentes tipos de suporte. O suporte cerâmico de Al₂O₃ apresentou a maior porosidade (~78 %), condizente com a estrutura altamente porosa, observável a olho nu. Entre os polímeros puros, os valores de porosidade variaram entre 55 % e 62 %, refletindo a influência direta da densidade de preenchimento definida durante a impressão 3D, próxima de 45 %. Nos compósitos poliméricos com Al₂O₃, observou-se uma leve redução na porosidade em relação aos respectivos polímeros puros, com exceção do suporte PETG/ Al₂O₃, que apresentou porosidade superior à do PETG puro. Esse comportamento pode estar relacionado a aspectos microestruturais, como a má dispersão da carga cerâmica ou a formação de microcanais durante a deposição das camadas, aumentando o volume de vazios. Esses resultados reforçam a importância da caracterização por densidade como ferramenta para o entendimento das propriedades porosas dos suportes obtidos.

6.2 ETAPA B

6.2.1 Avaliação dos suportes diante da imobilização de células microbianas com atividade catalítica

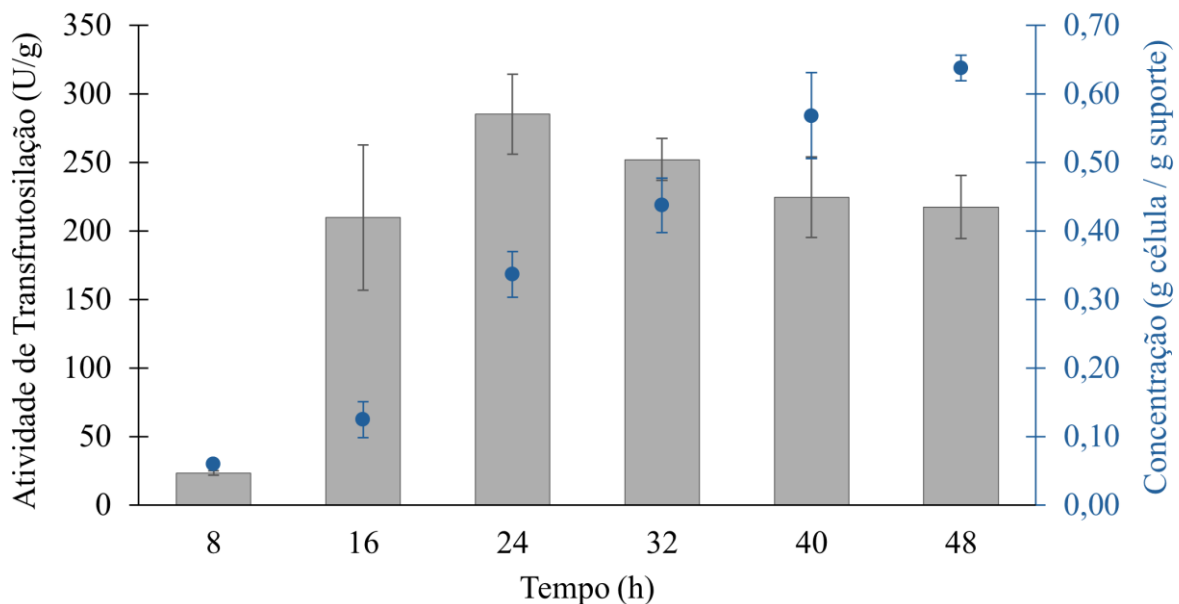
6.2.1.1 Suportes de Al₂O₃

Em conformidade com os métodos descritos no item 5.2.2 , determinou-se a quantidade de biomassa catalítica imobilizada nos suportes de Al_2O_3 em função do tempo de cultivo celular (8 h, 16 h, 24 h, 32 h, 40 h e 48 h). Para isso, foram coletados os seguintes dados em formato de triplicata para cada um dos tempos de cultivo:

- Massa inicial do suporte (m_{suporte})
- Massa seca de biomassa imobilizada com o suporte (m_{seca})
- Massa final de biomassa imobilizada ($m_{\text{célula}} = m_{\text{seca}} - m_{\text{suporte}}$)

Sob posse das massas informadas, foi possível calcular a concentração de células imobilizadas ($C = g_{\text{célula}} / g_{\text{suporte}}$) em cada um dos tempos estipulados do cultivo, gerando a curva de crescimento microbiano (Figura 26).

Figura 26 – Concentração de células de *A. oryzae* IPT-301, imobilizadas em suporte poroso de óxido de alumínio com abertura de 30 ppi (1,0 x 1,0 x 1,0 cm), em função do tempo de cultivo celular e influência deste tempo nas atividades de transfrutossilção (A_T) das células



Fonte: Autora (2025)

De acordo com Shuler e Kargi (2002), uma curva de crescimento microbiano é composta por quatro fases, divididas entre: (1) fase de latência (lag); (2) fase exponencial ou logarítmica (log); (3) fase estacionária; e (4) fase de declínio ou morte.

A partir da análise da Figura 26 e considerando as fases de uma curva de crescimento, observa-se que até o tempo de 16 h ocorre a fase lag, onde as células se adaptam ao novo ambiente. No intervalo entre 16 h e 48 h ocorre a fase log, que tem início quando os fungos se

encontram em plena capacidade de atividade enzimática num meio cujo suprimento de nutrientes é superior às necessidades do microrganismo. Dentro dessa fase, as células se multiplicam rapidamente, resultando em um aumento exponencial na massa celular e na densidade populacional do meio no decorrer do tempo. Esse crescimento é equilibrado, com todos os componentes da célula crescendo na mesma taxa (Shuler; Kargi, 2002). O intervalo de tempo estipulado não permite concluir nenhuma informação sobre as fases estacionária e de declínio

No tempo de 48 h tem-se a máxima concentração de células imobilizadas, cujo valor foi de $0,64 \pm 0,02 \text{ g}_{\text{célula}} \cdot \text{g}_{\text{suporte}}^{-1}$. Sob condições semelhantes de operação, a máxima concentração de células imobilizadas relatada por Santos (2024) foi de $0,14 \pm 0,001 \text{ g}_{\text{célula}} \cdot \text{g}_{\text{suporte}}^{-1}$. De forma comparativa, o valor expresso nesta pesquisa equivale a aproximadamente 4,5 vezes ao que foi declarado por Santos (2024), indicando que as adaptações feitas no processo de queima dos suportes foram efetivas e garantiram maior estabilidade para as peças no que diz respeito à resistência mecânica, levando a uma maior efetividade na imobilização de células microbianas com atividade catalítica.

Seguindo com a metodologia descrita no item 5.2.3 , foi possível realizar a quantificação da concentração de açúcares redutores (AR) e de glicose (G) no meio reacional após retirada da biomassa produzida.

A quantificação de açúcares redutores foi feita pelo método DNS, que permite relacionar a absorbância das amostras (A) com a concentração de AR no meio (C_{AR}) utilizando-se de uma curva de calibração feita com amostras de concentrações conhecidas que é previamente determinada para cada um dos espectrofotômetros disponíveis no laboratório. Dessa forma, a Equação 6 indica a relação obtida pela curva de calibração para as análises realizadas:

$$A = 0,712 * C_{AR} - 0,037 \quad (6)$$

Em contrapartida, a quantificação de glicose foi feita pelo método GOD/PAP®, que permite relacionar a absorbância das amostras (A) com a concentração de G no meio (C_G) utilizando-se do fator f de correção, que é determinado de acordo com amostras padronizadas fornecidas em cada kit enzimático utilizado. Nesse caso, fatores distintos foram utilizados para cada tempo de cultivo das amostras. Dessa forma, a Equação 7 relaciona o fator f para os tempos de 8 h, 16 h e 24 h, enquanto a Equação 8 relaciona o fator para os tempos de 32 h, 40 h e 48h:

$$C_G = A * 607,1 / 100 \quad (7)$$

$$C_G = A * 609,2/100 \quad (8)$$

Com isso, foi possível quantificar a concentração de açúcares redutores e de glicose na biomassa produzida e seus valores estão dispostos na Tabela 9:

Tabela 9 – Concentração de açúcares redutores, glicose e frutose transferida após atividade enzimática das células imobilizadas nos suportes de óxido de alumínio

| Tempo (h) | C _{AR} (g / L) | C _G (g / L) | C _{FT} (g / L) = 2* C _G – C _{AR} |
|-----------|-------------------------|------------------------|---|
| 8 | 0,7427 | 0,7527 | 0,7628 |
| 16 | 10,6859 | 12,8492 | 15,0126 |
| 24 | 25,8895 | 38,5343 | 51,1790 |
| 32 | 30,2591 | 44,8774 | 59,4958 |
| 40 | 45,8958 | 49,6968 | 53,4979 |
| 48 | 51,6542 | 63,5865 | 75,5188 |

Fonte: Autora (2025)

Novamente, conforme descrito no item 5.2.4 , determinou-se, por fim, a atividade catalítica de transfrutossilatação (A_T) nos suportes em função do tempo de cultivo celular. A determinação da A_T é feita com base nas concentrações de frutose transferida (F_T) e seus valores estão dispostos, juntamente com a concentração de células imobilizadas, no gráfico da Figura 26.

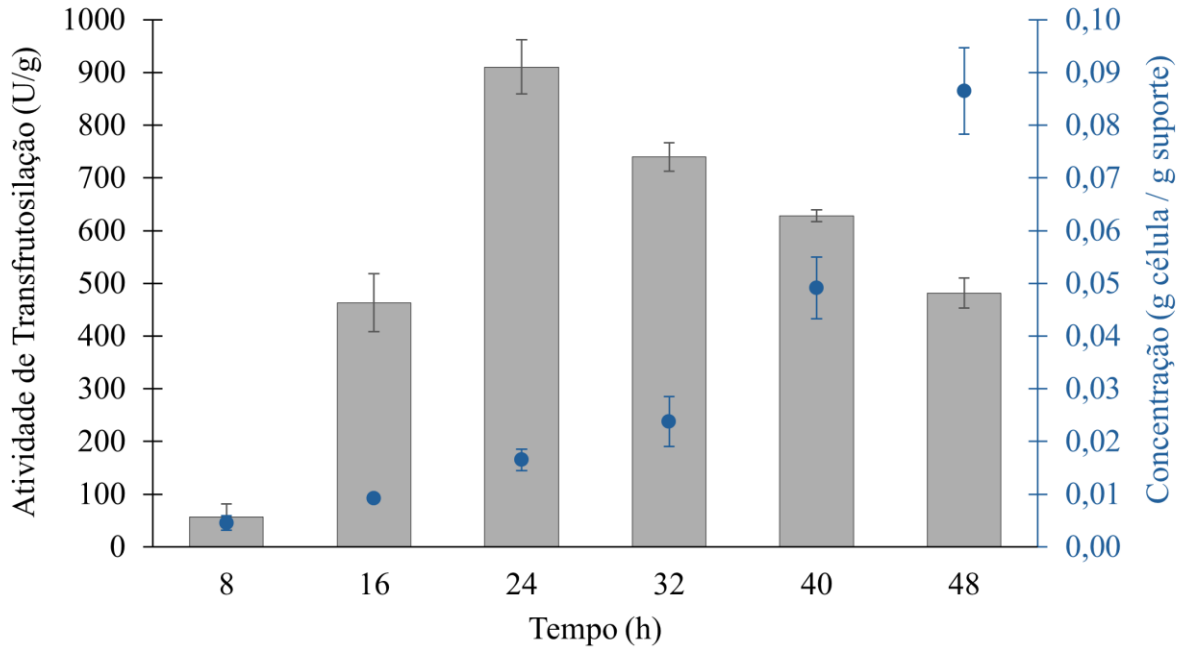
A Figura 26 mostra que o maior valor de atividade de transfrutossilatação foi de $285,09 \pm 29,13 \text{ U.g}^{-1}$ para o tempo de cultivo celular de 24 h. Após esse tempo, a atividade começa a cair gradativamente, mostrando que o período de 24 h pode ser considerado o intervalo de tempo ótimo para imobilização celular nos suportes porosos de alumina sob as condições investigadas nesta pesquisa. Estes resultados indicam que a otimização do tempo de cultivo é crucial para maximizar a produção de FOS pela imobilização enzimática de *A. oryzae* e o comportamento visto se mostra consistente com estudos anteriores que indicam que a imobilização enzimática pode melhorar a estabilidade e a atividade catalítica das enzimas (Queissada; Silva, 2020).

6.2.1.2 Suportes de PLA

De maneira análoga aos procedimentos apresentados no item 6.2.1.1 e em conformidade com as metodologias descritas nos itens 5.2.2 , 5.2.3 e 5.2.4 , foi determinada a quantidade

de biomassa catalítica imobilizada nos suportes de PLA para o tempo pré-estabelecido de cultivo celular, assim como suas respectivas A_{Ts} . Os resultados obtidos estão representados na Figura 27.

Figura 27 – Concentração de células de *A. oryzae* IPT-301, imobilizadas em suporte poroso de PLA (1,0 x 1,0 x 1,0 cm), em função do tempo de cultivo celular e influência deste tempo nas atividades de transfrutossilação das células



Fonte: Autora (2025)

A análise dos dados gráficos da Figura 27 mostra que, até 16 h, ocorre a fase lag; entre 16 h e 48 h, inicia-se a fase log, na qual os fungos atingem sua capacidade máxima de atividade enzimática, beneficiados por um suprimento de nutrientes superior à sua demanda. O intervalo de tempo analisado, no entanto, não permite inferências conclusivas sobre as fases estacionária e de declínio. A maior concentração de células imobilizadas foi observada em 48 h, atingindo um valor de $0,086 \pm 0,008 \text{ g}_{\text{célula}} \cdot \text{g}_{\text{suporte}}^{-1}$.

Com base nos cálculos detalhados no item 6.2.1.1, foi possível quantificar a concentração de açúcares redutores e glicose na biomassa produzida, cujos valores estão apresentados na Tabela 10:

Tabela 10 – Concentração de açúcares redutores, glicose e frutose transferida após atividade enzimática das células imobilizadas nos suportes de PLA

| Tempo (h) | C_{AR} (g / L) | C_G (g / L) | C_{FT} (g / L) = 2* C_G – C_{AR} |
|------------------|-------------------------------|------------------------------|---|
| 8 | 0,5411 | 0,3689 | 0,1966 |
| 16 | 6,3058 | 4,9318 | 3,5578 |
| 24 | 13,1094 | 12,1615 | 11,2135 |
| 32 | 18,9212 | 16,9226 | 14,9240 |
| 40 | 36,0277 | 31,8586 | 27,6896 |
| 48 | 42,0385 | 36,3980 | 30,7574 |

Fonte: Autora (2025)

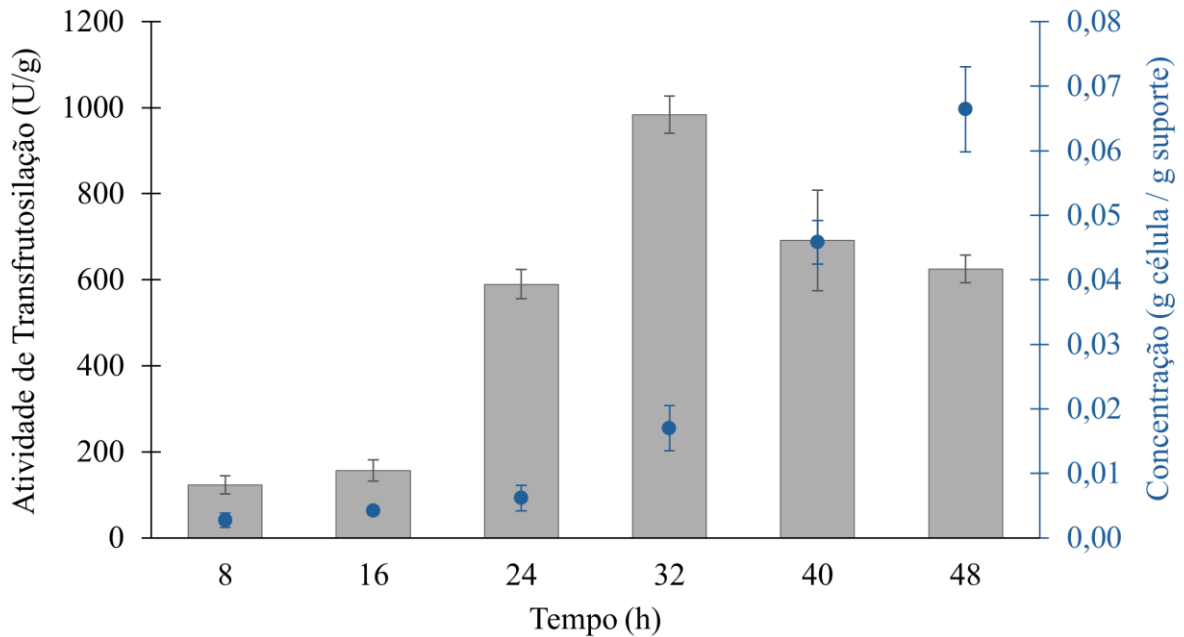
Em seguida, foi determinada a A_T nos suportes em função do tempo de cultivo, sendo os resultados representados no gráfico da Figura 27.

A Figura 27 revela que o maior valor de A_T foi de $910,16 \pm 51,47 \text{ U.g}^{-1}$ para um tempo de cultivo celular de 24 h. Após esse período, observa-se uma queda gradual da atividade, indicando que 24 h pode ser considerado o intervalo de tempo ideal para a imobilização celular nos suportes porosos de PLA sob as condições investigadas nesta pesquisa.

6.2.1.3 Suportes de PLA/Al₂O₃

Novamente, conforme o procedimento detalhado no item 6.2.1.1 e em alinhamento com as metodologias descritas nos itens 5.2.2 a 5.2.4 foram obtidos os dados referentes à biomassa catalítica imobilizada nos suportes de PLA/Al₂O₃ e suas respectivas A_T s considerando o tempo de cultivo previamente definido. Os resultados obtidos estão representados na Figura 28.

Figura 28 – Concentração de células de *A. oryzae* IPT-301, immobilizadas em suporte poroso compósito de PLA/Al₂O₃ (1,0 x 1,0 x 1,0 cm), em função do tempo de cultivo celular e influência deste tempo nas atividades de transfrutossilção das células

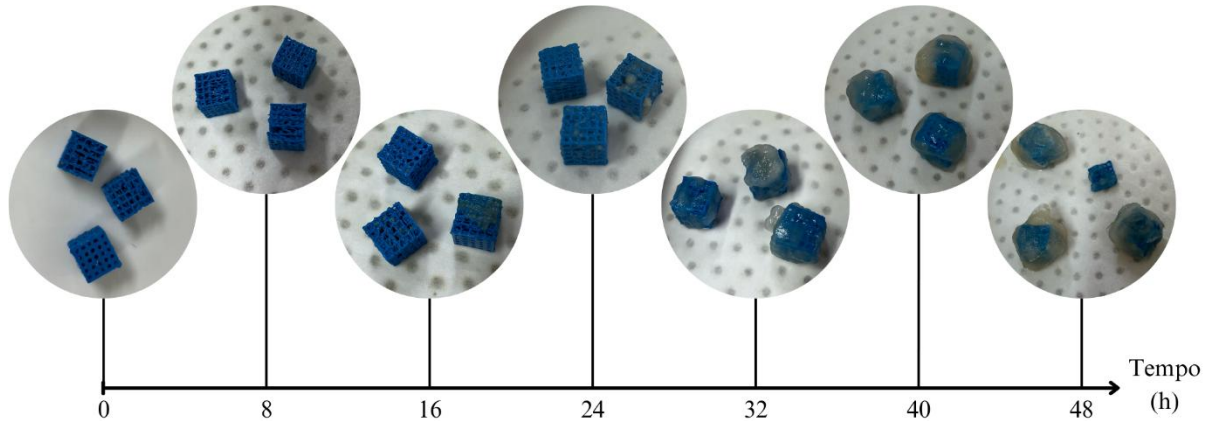


Fonte: Autora (2025)

A análise dos dados gráficos da Figura 28 revela que, até 24 h, ocorre a fase lag; entre 24 h e 48 h, observa-se a fase log, na qual os fungos atingem sua maior taxa de crescimento e atividade enzimática; e, novamente, o intervalo de tempo analisado não permite uma avaliação precisa das fases estacionária e de declínio. O maior acúmulo de células immobilizadas foi registrado em 48 horas, atingindo $0,07 \pm 0,01 \text{ g}_{\text{célula}} \cdot \text{g}_{\text{suporte}}^{-1}$.

A Figura 29 a seguir, permite avaliar fisicamente como ocorre, na prática, o crescimento de biomassa catalítica nos poros dos suportes utilizados. Nota-se que a biomassa se fixa ao suporte de dentro para fora, uma vez que para os tempos iniciais quase não é visível a sua formação. Já para os tempos finais, onde se alcançam os máximos valores de células immobilizadas, é nítida a formação de uma película que encobre todo o suporte.

Figura 29 – Crescimento de biomassa catalítica nos suportes de PLA/Al₂O₃ com dimensão de 1 cm³ durante intervalo de tempo pré-determinado para o cultivo



Fonte: Autora (2025)

Para quantificar os açúcares redutores presentes no meio, utilizou-se o método DNS e a determinação da concentração de glicose foi realizada pelo método GOD/PAP®. Os valores calculados estão dispostos na Tabela 11:

Tabela 11 – Concentração de açúcares redutores, glicose e frutose transferida após atividade enzimática das células imobilizadas nos suportes de PLA/Al₂O₃

| Tempo (h) | C _{AR} (g / L) | C _G (g / L) | C _{FT} (g / L) = 2* C _G – C _{AR} |
|-----------|-------------------------|------------------------|---|
| 8 | 0,4038 | 0,3302 | 0,2566 |
| 16 | 1,9378 | 1,2416 | 0,5454 |
| 24 | 7,5904 | 5,1542 | 2,7180 |
| 32 | 29,8373 | 21,6568 | 13,4764 |
| 40 | 44,4394 | 33,9291 | 23,4189 |
| 48 | 59,1114 | 50,3583 | 41,6052 |

Fonte: Autora (2025)

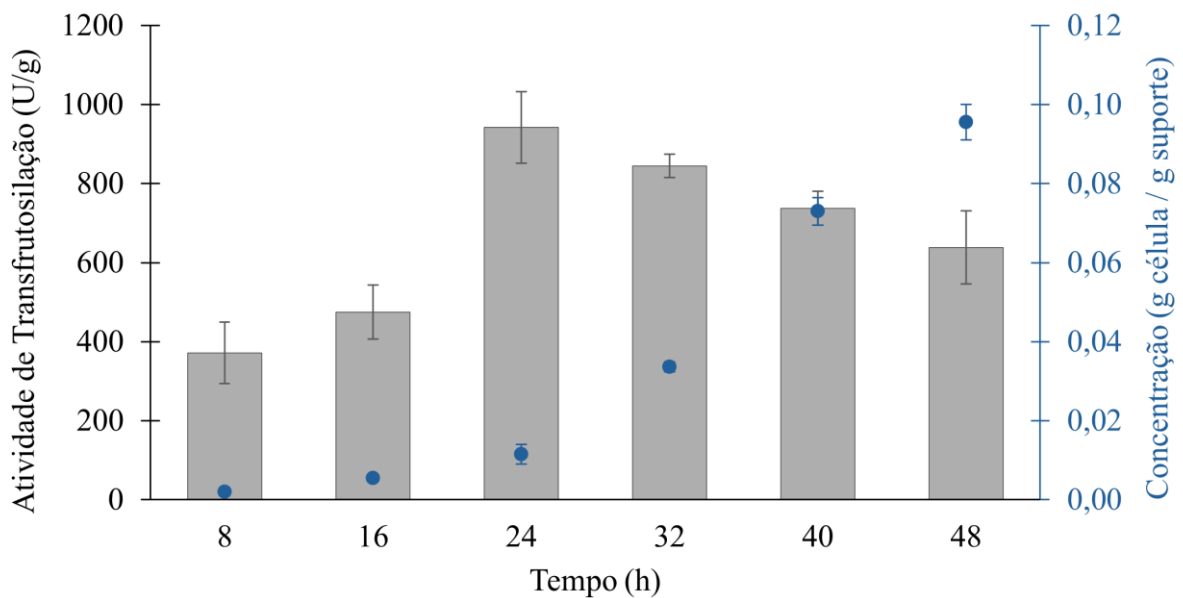
Por fim, foi determinada a A_T ao longo do tempo de cultivo celular, e seus valores foram comparados com a concentração de células imobilizadas, conforme ilustrado na Figura 28.

Os resultados indicam que a A_T atingiu seu maior valor em 32 h de cultivo, registrando 983,45 ± 43,12 U.g⁻¹. Após esse período, observa-se uma queda progressiva na atividade, sugerindo que 32 h é o tempo ideal para a imobilização celular nos suportes porosos de PLA/Al₂O₃, considerando as condições reproduzidas neste estudo.

6.2.1.4 Suportes de ABS

Assim como realizado no item 6.2.1.1 , e seguindo as metodologias descritas previamente (itens 5.2.2 , 5.2.3 e 5.2.4), foi determinada a concentração de biomassa catalítica imobilizada nos suportes de ABS para o período de cultivo celular estabelecido, juntamente com as respectivas A_{Ts} . Os resultados obtidos estão representados na Figura 30.

Figura 30 – Concentração de células de *A. oryzae* IPT-301, imobilizadas em suporte poroso de ABS (1,0 x 1,0 x 1,0 cm), em função do tempo de cultivo celular e influência deste tempo nas atividades de transfrutossiliação das células



Fonte: Autora (2025)

Com as evidências dispostas nos gráficos da Figura 30, é possível afirmar que o maior acúmulo de células imobilizadas foi registrado em 48 horas, atingindo $0,096 \pm 0,004$ $g_{célula} \cdot g_{suporte}^{-1}$.

A quantificação de açúcares redutores foi realizada pelo método DNS e a determinação da concentração de glicose foi realizada por meio do método GOD/PAP®, utilizando fatores de correção específicos para cada tempo de cultivo. Com esses dados, foi possível quantificar a concentração frutose transferida, cujos valores estão dispostos na Tabela 12.

Tabela 12 – Concentração de açúcares redutores, glicose e frutose transferida após atividade enzimática das células imobilizadas nos suportes de ABS

| Tempo (h) | C_{AR} (g / L) | C_G (g / L) | C_{FT} (g / L) = 2* C_G – C_{AR} |
|------------------|-------------------------------|------------------------------|---|
| 8 | 0,4510 | 0,4523 | 0,4536 |
| 16 | 1,5670 | 1,6301 | 1,6932 |
| 24 | 7,1089 | 6,9891 | 6,8692 |
| 32 | 16,9579 | 17,9089 | 18,8599 |
| 40 | 35,2697 | 35,2936 | 35,3175 |
| 48 | 43,9425 | 43,1246 | 42,3066 |

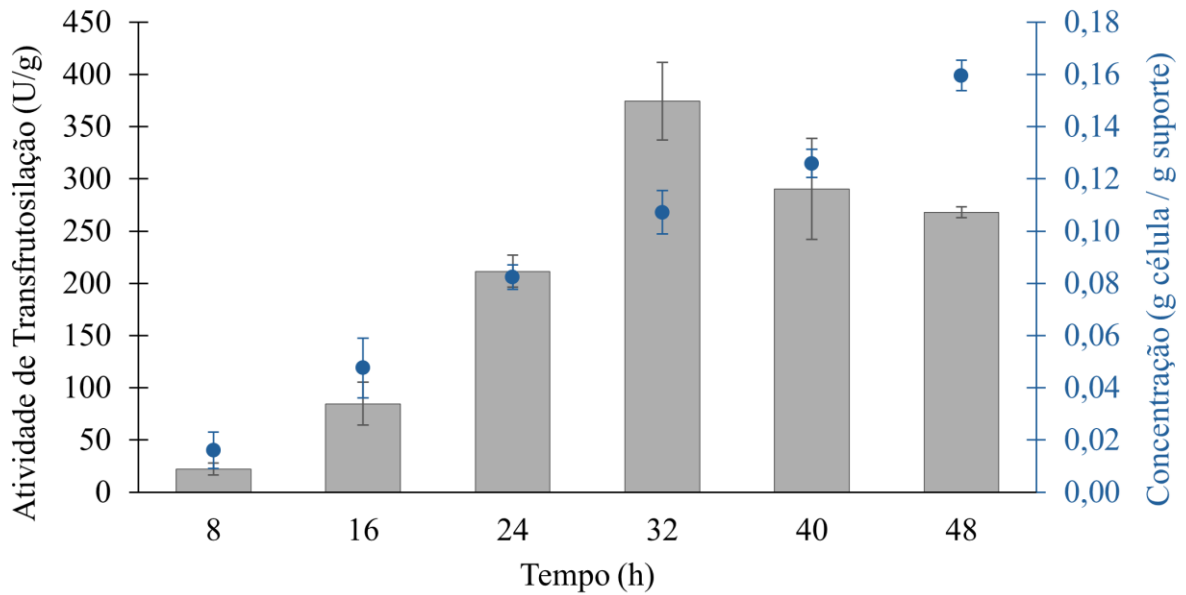
Fonte: Autora (2025)

Posteriormente, a A_T foi avaliada em função do tempo de cultivo, e seus valores foram comparados com a concentração de células imobilizadas, conforme representado na Figura 30. Os resultados evidenciam que o maior valor de A_T , registrado às 24 h de cultivo celular, foi de $942,12 \pm 91,02 \text{ U.g}^{-1}$. A partir desse ponto, observa-se uma redução progressiva da atividade, indicando que 24 h é o tempo ideal para a imobilização celular nos suportes porosos de ABS, considerando as condições investigadas neste estudo.

6.2.1.5 Suportes de ABS/ Al_2O_3

A quantificação da biomassa catalítica imobilizada nos suportes de ABS/ Al_2O_3 bem como suas A_{Ts} , foi conduzida conforme os procedimentos do item 6.2.1.1 e os protocolos metodológicos descritos nos itens 5.2.2 , 5.2.3 e 5.2.4 , respeitando-se o tempo pré-estabelecido de cultivo celular. Os resultados obtidos estão representados na Figura 31.

Figura 31 – Concentração de células de *A. oryzae* IPT-301, imobilizadas em suporte poroso de ABS/Al₂O₃ (1,0 x 1,0 x 1,0 cm), em função do tempo de cultivo celular e influência deste tempo nas atividades de transfrutoseilação das células



Fonte: Autora (2025)

A análise dos dados gráficos da Figura 31 indica que o maior acúmulo de células imobilizadas foi registrado em 48 horas, atingindo $0,16 \pm 0,01 \text{ g}_{\text{célula}} \cdot \text{g}_{\text{suporte}}^{-1}$.

A quantificação de açúcares redutores foi realizada pelo método DNS e a determinação da concentração de glicose foi realizada por meio do método GOD/PAP®, conforme protocolos descritos anteriormente. A quantificação da concentração de glicose e açúcares redutores na biomassa formada tem seus valores dispostos na Tabela 13.

Tabela 13 – Concentração de açúcares redutores, glicose e frutose transferida após atividade enzimática das células imobilizadas nos suportes de ABS/Al₂O₃

| Tempo (h) | C _{AR} (g / L) | C _G (g / L) | C _{FT} (g / L) = 2* C _G – C _{AR} |
|-----------|-------------------------|------------------------|---|
| 8 | 0,6685 | 0,4411 | 0,2136 |
| 16 | 8,4470 | 5,7067 | 2,9664 |
| 24 | 10,5159 | 11,6962 | 12,8765 |
| 32 | 21,5027 | 25,7085 | 29,9143 |
| 40 | 47,0611 | 36,4204 | 25,7797 |
| 48 | 66,2631 | 48,6667 | 31,0702 |

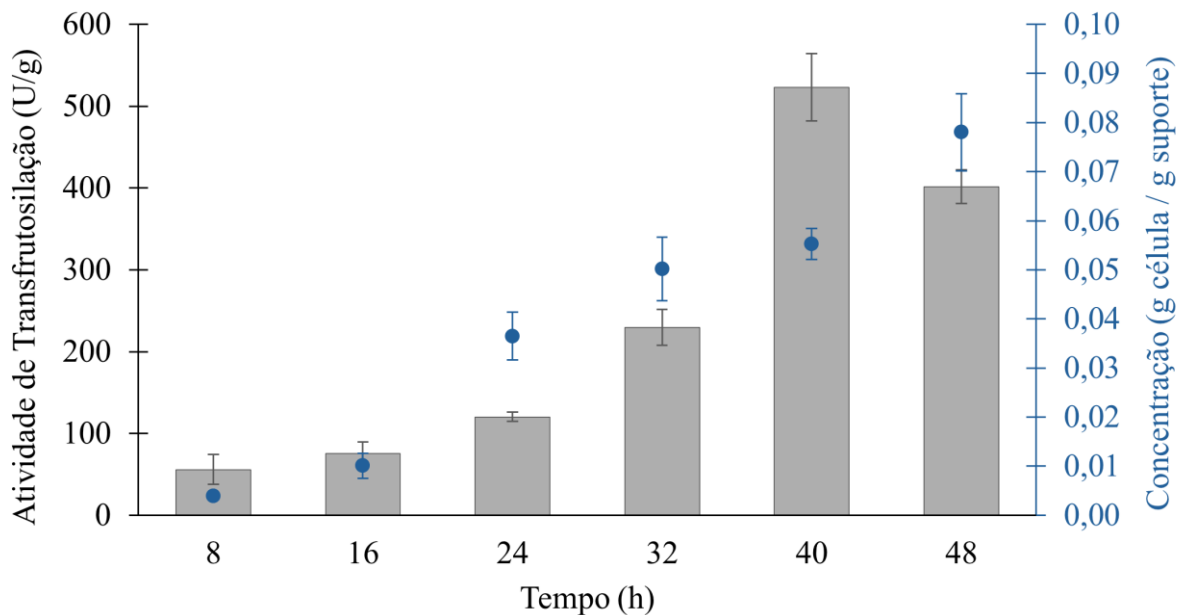
Fonte: Autora (2025)

Posteriormente, a A_T foi avaliada em função do tempo de cultivo, e seus valores foram comparados com a concentração de células imobilizadas, conforme representado na Figura 31. Os resultados evidenciam que o maior valor de A_T , registrado às 32 h de cultivo celular, foi de $374,44 \pm 37,19 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$. Logo, pode-se definir que 32 h é o tempo ótimo para as condições avaliadas.

6.2.1.6 Suportes de PETG

Com base na abordagem empregada no item 6.2.1.1 e nas metodologias descritas nos itens 5.2.2, 5.2.3 e 5.2.4, procedeu-se à determinação da biomassa catalítica imobilizada nos suportes de PETG para o tempo de cultivo estipulado, juntamente com a análise de suas A_{Ts} . Os dados obtidos estão representados na Figura 32.

Figura 32 – Concentração de células de *A. oryzae* IPT-301, imobilizadas em suporte poroso de PETG (1,0 x 1,0 x 1,0 cm), em função do tempo de cultivo celular e influência deste tempo nas atividades de transfrutossilção das células



Fonte: Autora (2025)

A análise da curva de crescimento celular indica a ocorrência de uma fase lag até aproximadamente 16 h, período em que os microrganismos se adaptam ao ambiente de cultivo. Entre 16 h e 48 h, verifica-se a fase log, caracterizada por um aumento expressivo na concentração celular. A maior quantidade de células imobilizadas foi observada em 48 h, atingindo um valor de $0,08 \pm 0,01 \text{ g}_{\text{célula}}\cdot\text{g}_{\text{suporte}}^{-1}$.

A quantificação dos açúcares redutores foi realizada utilizando o método DNS, enquanto a concentração de glicose foi determinada via método GOD/PAP®, com aplicação de fatores de correção específicos para cada tempo de cultivo. A partir desses dados, foi possível determinar os valores de C_{AR} , C_G e C_{FT} , conforme apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 – Concentração de açúcares redutores, glicose e frutose transferida após atividade enzimática das células imobilizadas nos suportes de PETG

| Tempo (h) | C_{AR} (g / L) | C_G (g / L) | C_{FT} (g / L) = 2* C_G - C_{AR} |
|------------------|------------------------------------|---------------------------------|--|
| 8 | 0,3592 | 0,2644 | 0,1697 |
| 16 | 2,3730 | 1,4932 | 0,6135 |
| 24 | 8,9820 | 6,1971 | 3,4123 |
| 32 | 16,3087 | 12,6371 | 8,9655 |
| 40 | 45,7125 | 34,1839 | 22,6553 |
| 48 | 50,2834 | 37,5495 | 24,8155 |

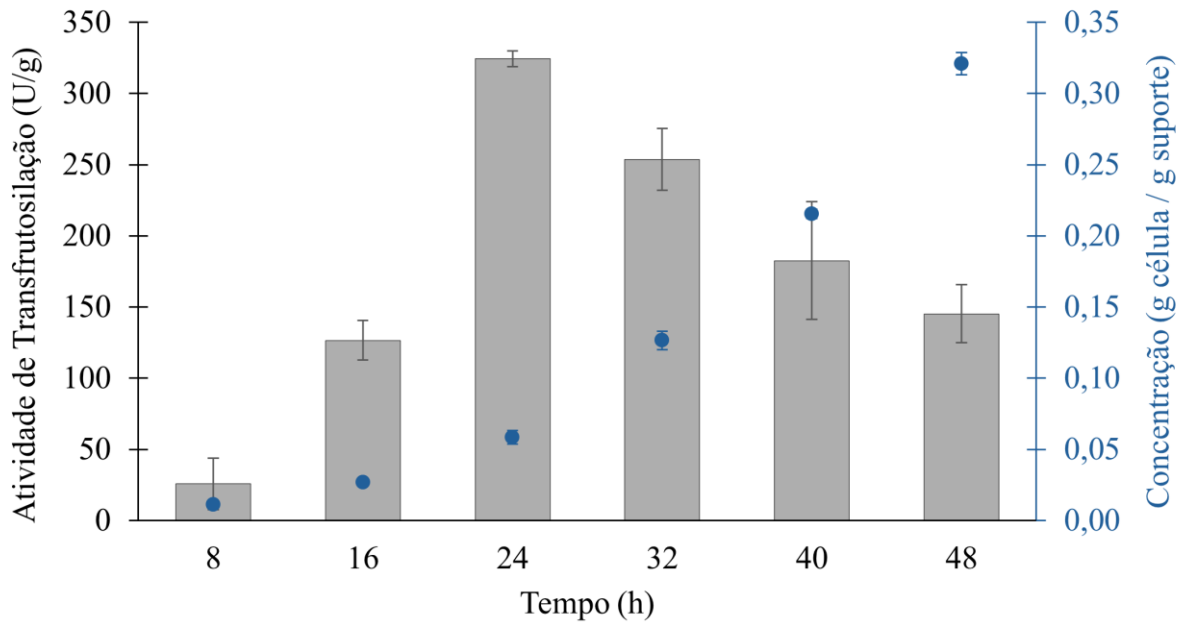
Fonte: Autora (2025)

Quanto à atividade de transfrutossilção, o maior valor obtido foi de $523,13 \pm 41,28$ U.g⁻¹, observado no tempo de 40 h de cultivo. Após esse ponto, registrou-se uma queda gradual da atividade enzimática, o que permite sugerir que 40 h constitui o tempo ideal de imobilização celular nos suportes de PETG, considerando as condições experimentais adotadas neste estudo.

6.2.1.7 Suportes de PETG/Al₂O₃

Seguindo o mesmo protocolo descrito anteriormente, os suportes compósitos de PETG/Al₂O₃ foram avaliados quanto à concentração de biomassa imobilizada e à atividade de transfrutossilção em decorrência do tempo de cultivo celular. Os resultados estão representados na Figura 33.

Figura 33 – Concentração de células de *A. oryzae* IPT-301, imobilizadas em suporte poroso de PETG/Al₂O₃ (1,0 x 1,0 x 1,0 cm), em função do tempo de cultivo celular e influência deste tempo nas atividades de transfrutossilação das células



Fonte: Autora (2025)

A análise da curva de crescimento demonstra que a fase lag se estende até 24 h, sugerindo uma adaptação inicial mais lenta dos microrganismos ao material compósito. A partir desse ponto, inicia-se a fase log, com crescimento acentuado da biomassa imobilizada até 48 h, quando se observou o maior valor registrado de concentração celular, atingindo $0,32 \pm 0,01$ $\text{g}_{\text{célula}} \cdot \text{g}_{\text{suporte}}^{-1}$.

A quantificação dos açúcares redutores foi conduzida por meio do método DNS, e a determinação da glicose foi realizada via método GOD/PAP®, utilizando fatores de correção específicos conforme o tempo de cultivo. Os valores obtidos para C_{AR} , C_G e C_{FT} estão dispostos na Tabela 15.

Tabela 15 – Concentração de açúcares redutores, glicose e frutose transferida após atividade enzimática das células imobilizadas nos suportes de PETG/Al₂O₃

| Tempo (h) | C_{AR} (g / L) | C_G (g / L) | C_{FT} (g / L) = 2* C_G – C_{AR} |
|------------------|-------------------------------|------------------------------|---|
| 8 | 0,3481 | 0,2680 | 0,1880 |
| 16 | 7,3639 | 4,9377 | 2,5115 |
| 24 | 19,3156 | 16,2063 | 13,0970 |
| 32 | 30,7467 | 26,7847 | 22,8226 |
| 40 | 49,0102 | 38,0527 | 27,0953 |
| 48 | 57,9985 | 46,0431 | 34,0878 |

Fonte: Autora (2025)

A A_T apresentou seu valor máximo em 24 h, alcançando $324,42 \pm 6,51 \text{ U.g}^{-1}$. Após esse tempo, houve declínio progressivo da atividade enzimática. Considerando esse comportamento, infere-se que o tempo ideal de imobilização celular nos suportes de PETG/Al₂O₃ seja de 24 h, dentro das condições avaliadas nessa pesquisa.

6.2.1.8 Quadro-resumo de resultados e discussões

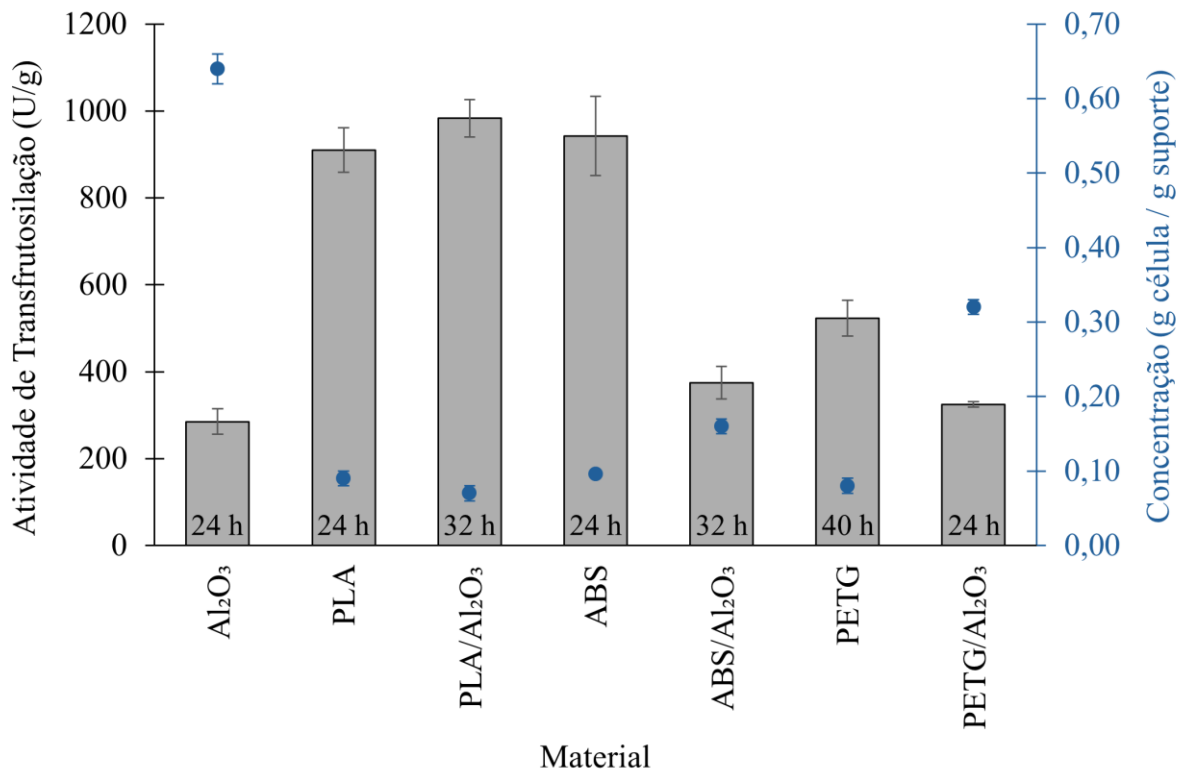
Com o objetivo de facilitar a visualização e a comparação dos resultados obtidos para os sete diferentes suportes avaliados, foi elaborado um quadro-resumo, apresentado na Tabela 16, bem como um gráfico que representa suas informações (Figura 34). Esse quadro reúne os valores máximos de concentração de biomassa imobilizada para cada material estudado, acompanhados de seus respectivos tempos ótimos de cultivo celular e das maiores atividades de transfrutossilção observadas nesse mesmo tempo.

Tabela 16 – Quadro-resumo com os principais resultados obtidos para os diferentes suportes avaliados, comparando seus valores de máxima concentração de biomassa catalítica imobilizada, seu tempo ótimo de cultivo e a máxima atividade de transfrutossilção obtida nesse tempo

| Material do suporte | Concentração de biomassa imobilizada (g.célula.gsuporte ⁻¹) | Tempo ótimo de A _T (h) | Atividade de transfrutossilção (U.g ⁻¹) |
|-------------------------------------|---|-----------------------------------|---|
| Al ₂ O ₃ | 0,64 ± 0,02 | 24 | 285,09 ± 29,13 |
| PLA | 0,09 ± 0,01 | 24 | 910,16 ± 51,47 |
| PLA/Al ₂ O ₃ | 0,07 ± 0,01 | 32 | 983,45 ± 43,12 |
| ABS | 0,096 ± 0,004 | 24 | 942,12 ± 91,02 |
| ABS/Al ₂ O ₃ | 0,16 ± 0,01 | 32 | 374,44 ± 37,19 |
| PETG | 0,08 ± 0,01 | 40 | 523,13 ± 41,28 |
| PETG/Al ₂ O ₃ | 0,32 ± 0,01 | 24 | 324,42 ± 6,51 |

Fonte: Autora (2025)

Figura 34 – Ilustração gráfica com os principais resultados obtidos para os diferentes suportes avaliados, comparando seus valores de máxima concentração de biomassa catalítica imobilizada nas 48 h de cultivo, seu tempo ótimo de cultivo e a máxima atividade de transfrutossilção obtida



Fonte: Autora (2025)

Os suportes contendo Al_2O_3 , embora eficazes na imobilização de grandes quantidades de biomassa (como observado nos compósitos ABS/ Al_2O_3 e PETG/ Al_2O_3), apresentaram as menores atividades de transfrutossilção. Essa tendência aponta para um possível efeito de limitação difusional, em que o acúmulo de biomassa dificulta o acesso do substrato às células localizadas nas regiões mais internas do suporte, comprometendo a eficiência catalítica do sistema como um todo.

Dentre os suportes poliméricos avaliados, os materiais à base de PLA e ABS se destacaram por apresentarem os maiores valores de atividade de transfrutossilção, evidenciando seu elevado potencial para aplicações catalíticas na imobilização de *Aspergillus oryzae* IPT-301. Mussatto *et al.* (2009) encontraram para a imobilização do *Aspergillus japonicus*, em materiais sintéticos, valores de concentração de células imobilizadas iguais a 1,13, 0,48 e 1,25 $\text{g}_{\text{célula}} \cdot \text{g}_{\text{suporte}}^{-1}$ para esponja de aço inoxidável, espuma de PU e fibra vegetal, respectivamente. Para estes valores, o tempo de cultivo foi de 48 h, tal qual ocorreu para todos os materiais avaliados neste trabalho. Relataram, também, que para os três suportes avaliados, o tempo que alcançou maiores concentrações de FOS foi de 24 h, dentro do qual a fibra vegetal produziu $116,3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, a esponja de aço inoxidável $111,8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ e a esponja de PU $110,3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, tempo que também se equipara àqueles encontrados para o PLA e ABS nas condições estipuladas.

Ademais, o suporte de maior destaque do ponto de vista do valor de A_T foi aquele a base do compósito PLA/ Al_2O_3 . Para o tempo de 32 h, a biomassa catalítica imobilizada nesse suporte conseguiu atingir uma atividade de transfrutossilção próximo a $1.000 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$, valor significativo quando comparado àquele obtido para os suportes a base de Al_2O_3 pura.

De modo complementar, Furlani *et al.* (2020) relataram que a estabilidade térmica e operacional das enzimas após imobilização pode ser significativamente melhorada. Esse fator é crucial para a viabilidade econômica e industrial do processo de produção de FOS, uma vez que permite a reutilização do biocatalisador e reduz os custos operacionais, que é o principal objetivo desse estudo. Com isso, a imobilização de *A. oryzae* em suportes porosos de óxido de alumínio, PLA, ABS, PETG e seus compósitos não só otimiza a atividade enzimática, como também proporciona maior estabilidade e eficiência na produção de FOS. Esses resultados são promissores para a aplicação industrial da produção dos açúcares citados, destacando a importância do tempo de cultivo celular e pH adequado para maximizar a atividade de transfrutossilção.

7 CONCLUSÕES

Esta pesquisa evidenciou o potencial dos compósitos cerâmica-polímero, obtidos por impressão 3D, como suportes para a imobilização de células do fungo *Aspergillus oryzae* IPT-301 com atividade catalítica voltada à produção de frutooligossacarídeos (FOS). O trabalho envolveu a produção de suportes porosos a partir de PLA, ABS, PETG, alumina e suas combinações em compósitos, sendo estes avaliados quanto à capacidade de imobilização da biomassa catalítica e à atividade de transfrutossilação (A_T) resultante. O desenvolvimento de materiais com porosidade controlada, elevada área de superfície específica e compatibilidade com o microrganismo estudado mostrou-se crucial para o desempenho dos biocatalisadores.

Os suportes poliméricos de PLA e ABS apresentaram as maiores atividades de transfrutossilação entre os materiais poliméricos testados, evidenciando sua viabilidade como potenciais materiais a serem utilizados na imobilização enzimática, tornando-os os maiores destaques deste trabalho. Por outro lado, os suportes com maior concentração de biomassa imobilizada — especialmente os que continham Al_2O_3 — apresentaram menor desempenho catalítico, indicando que o excesso de biomassa pode dificultar o transporte de substrato às células mais internas do suporte, impactando negativamente a conversão enzimática. Esses dados são fundamentais para reforçar o papel do projeto estrutural dos suportes na eficiência dos bioprocessos, uma vez que bons resultados dependerão da abertura dos poros, da sua forma geométrica e da proporção entre buracos e paredes que irão compor o suporte.

Ao final da etapa experimental, esperava-se estabelecer uma correlação entre a porosidade das peças desenvolvidas (Tabela 8) e os resultados obtidos para a máxima concentração de biomassa catalítica imobilizada, bem como para a máxima atividade de transfrutossilação em cada material avaliado. No entanto, até o momento, não foi identificada uma relação consistente entre os resultados observados, indicando a necessidade de estudos adicionais sobre esse aspecto.

Diversos fatores podem influenciar tanto a concentração de biomassa catalítica imobilizada quanto a atividade de transfrutossilação, dificultando a obtenção de uma correlação direta entre esses parâmetros. Entre eles, destacam-se as propriedades intrínsecas do suporte, como porosidade, área superficial, rugosidade e composição química, que afetam a adesão e a viabilidade celular. Além disso, variáveis relacionadas ao processo de imobilização, como pH e temperatura, bem como fatores operacionais durante a reação, como disponibilidade de substrato, presença de inibidores e difusão de massa, podem impactar significativamente o desempenho

catalítico. A interação desses elementos evidencia a complexidade do sistema e reforça continuidade da pesquisa no sentido de compreender e otimizar tais condições.

Os resultados obtidos comprovam também que a impressão 3D, aliada à formulação de compósitos, permite a fabricação de suportes personalizados com propriedades ajustáveis às demandas de processos biotecnológicos. Isso representa uma alternativa economicamente viável, tecnicamente eficaz e alinhada aos princípios da sustentabilidade industrial, favorecendo a produção de açúcares funcionais de forma mais acessível.

Dessa forma, esta dissertação contribui significativamente para o avanço do uso de manufatura aditiva na área de biotecnologia aplicada à produção de alimentos funcionais. Os achados aqui apresentados abrem novas possibilidades para o desenvolvimento de biocatalisadores robustos e reutilizáveis, com aplicação potencial em processos contínuos e escalonáveis.

8 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Espera-se que os conhecimentos gerados sirvam de base para investigações futuras, dentre as quais sugere-se:

- a) Aprofundar a investigação sobre a modificação das estruturas porosas, avaliando o impacto de diferentes diâmetros de poros, formatos geométricos e arquiteturas estruturais dos suportes, com destaque para aqueles produzidos a partir de PLA e/ou ABS, a fim de otimizar o transporte de massa e o desempenho catalítico;
- b) Realizar ensaios de estabilidade operacional e reutilização dos biocatalisadores desenvolvidos, com o objetivo de determinar sua vida útil em ciclos sucessivos e verificar sua viabilidade em contextos industriais de médio e longo prazo;
- c) Elaborar análises técnico-econômicas que considerem o custo de produção e as vantagens econômicas da reutilização dos suportes, fornecendo subsídios para sua aplicação em escala industrial com maior embasamento financeiro;
- d) Estender os estudos às condições operacionais variadas (pH, temperatura, concentração de substrato), avaliando a robustez e estabilidade dos biocatalisadores em diferentes situações;
- e) Implementar testes em reatores de leito fixo operando em regime contínuo, analisando parâmetros como altura do leito catalítico, vazão volumétrica e reciclo de substrato, além da quantificação de coeficientes de transferência de massa, para verificar a escalabilidade do sistema proposto.

REFERÊNCIAS

- ABYZOV, A. M. Aluminum oxide and alumina ceramics (review). Part 1. Properties of Al₂O₃ and commercial production of dispersed Al₂O₃. **Refractories and Industrial Ceramics**, [s. l.], v. 60, n. 1, p. 24-32, 15 maio 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11148-019-00304-2>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11148-019-00304-2>. Acesso em: 05 set. 2024.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Guia nº 55: **Guia para Avaliação de Alegação de Propriedade Funcional e de Saúde para Substâncias Bioativas Presentes em Alimentos e Suplementos Alimentares**. 2021. Disponível em: <https://antigo.anvisa.gov.br/legislacao/?inheritRedirect=true#/visualizar/466281>. Acesso em: 08 out. 2024.
- ALHALLAK, L. M.; TIRKES, S.; TAYFUN, U. Mechanical, thermal, melt-flow and morphological characterizations of bentonite-filled ABS copolymer. **Rapid Prototyping Journal**, [s. l.], v. 26, n. 7, p. 1305-1312, 17 jun. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1108/RPJ-12-2019-0321>. Disponível em: <https://www.emerald.com/rpj/article-abstract/26/7/1305/370023/Mechanical-thermal-melt-flow-and-morphological?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: 22 jul. 2024.
- APARECIDA, A. H.; GUASTALDI, A. C.; FOOK, M. V. L. Desenvolvimento e caracterização de suportes porosos de Polietileno de Ultra Alto Peso Molecular (PEUAPM) para utilização como biomaterial para reposição e regeneração óssea. **Polímeros**, [s. l.] v. 18, n. 4, p. 277-280, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0104-14282008000400004>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/po/a/fqKCysPXHTdv3GSR5RtYqxN/?lang=pt>. Acesso em: 22 jan. 2025.
- ARANDA, I. A. **Imobilização de células de *Aspergillus oryzae* IPT-301 em esponja vegetal para a síntese enzimática de fruto-oligossacarídeos**. 2024. 93 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas - MG, 2024. Disponível em: <https://btdt.unifal-mg.edu.br:8443/handle/tede/2566>. Acesso em: 03 fev. 2025.
- ARAÚJO, I. M. **Imobilização de frutossiltransferase extracelular de *Aspergillus oryzae* IPT-301 em polihidroxibutirato e sua caracterização bioquímica para a produção de frutooligossacarídeos**. 2021. 92 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas - MG, 2021. Disponível em: <https://btdt.unifal-mg.edu.br:8443/handle/tede/2058>. Acesso em: 02 nov. 2024.
- BILLAH, K. M. M.; LORENZANA, F. A. R.; MARTINEZ, N. L.; WICKER, R. B.; ESPALIN, D. Thermomechanical characterization of short carbon fiber and short glass fiber-reinforced ABS used in large format additive manufacturing. **Additive Manufacturing**, [s. l.] v. 35, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.addma.2020.101299>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214860420306710?via%3Dihub>. Acesso em: 14 jan. 2025.

BRANDALISE, R. N. **Desenvolvimento de suportes porosos de poliuretano/poli(ácido láctico) produzidos por fluido supercrítico para aplicação em engenharia de tecidos.** 2016. 78 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos e Tecnologias) – Centro de Ciências Exatas e da Tecnologia, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul – RS, 2016. Disponível em: <https://repositorio.ucs.br/xmlui/handle/11338/1402>. Acesso em: 14 out. 2024.

BRENA, B. M.; VIERA, F. B. Immobilization of enzymes: a literature survey. *In: GUISAN, J. M. Immobilization of Enzymes and Cells.* 2. ed. Totowa, New Jersey: Humana Press, 2006. Cap. 2, p. 15-30. DOI: 10.1007/978-1-62703-550-7_2. Disponível em: https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-62703-550-7_2#citeas. Acesso em: 25 nov. 2024.

CALLISTER, W. D.; RETWISCH, D. G. **Ciência e engenharia de materiais: uma introdução.** 9. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2016.

CARDOSO, M. F. M. **Implementação de reator de leito fixo empacotado com células de *Aspergillus oryzae* IPT - 301 imobilizadas em esponja de poliuretano para a produção enzimática de frutooligosacarídeos.** 2023. 66 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas - MG, 2023. Disponível em: <https://bdtd.unifal-mg.edu.br:8443/handle/tede/2425>. Acesso em: 12 out. 2024.

CARMEN EREMIÁ, M.; PETRESCU, M. M. Production, purification and immobilization of inulinases from *Aspergillus species*. **Romanian Biotechnological Letters**, Romania, v. 26, n. 3, p. 2685-2691, 11 abr. 2021. University of Bucharest (Bucharest University Press). DOI: <http://dx.doi.org/10.25083/rbl/26.3/2685-2691>. Disponível em: <https://www.e-repository.org/rbl/vol.26/iss.3/13.pdf>. Acesso em: 26 nov. 2024.

CASTRO, C.C.; NOBRE, C.; DUPREZ, M.-E.; WEIRELD, G. de; HANTSON, A.-L. Screening and selection of potential carriers to immobilize *Aureobasidium pullulans* cells for fructo-oligosaccharides production. **Biochemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 118, p. 82–90, fev. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2016.11.011>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369703X16303175?via%3Dihub>. Acesso em: 10 set. 2024.

CHAWLA, K. K. **Composite materials: science and engineering.** 2nd. ed. New York: Springer-Velarg, 1998.

CHEN, W. C.; LIU, C. H. Production of β -fructofuranosidase by *Aspergillus japonicus*. **Enzyme and Microbial Technology**, [s. l.], v. 18, n. 2, p. 153-160, fev. 1996. DOI: [https://dx.doi.org/10.1016/0141-0229\(95\)00099-2](https://dx.doi.org/10.1016/0141-0229(95)00099-2). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0141022995000992>. Acesso em: 23 out. 2024.

CORREA, G. R. **Biocatálise aplicado a desenvolvimento de medicamento: um recorte na sustentabilidade.** 2021. 34 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) – Universidade do Sul de Santa Catarina, Tubarão – SC, 2021. Disponível em: <https://repositorio.animaeducacao.com.br/items/55c8f54e-8335-40a7-86dc-114c09ca91ca/full>. Acesso em: 14 out. 2024.

COUSSEMENT, P. A. A. Inulin and oligofructose: safe intakes and legal status. **The Journal of Nutrition**, Belgium, v. 129, n. 7, p. 1712-1417, jul. 1999. DOI: <https://doi.org/10.1093/jn/129.7.1412s>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022316623021077?via%3Dihub>. Acesso em: 13 nov. 2024.

COVIZZI, L. G.; GIESE, E. C.; GOMES, E.; DEKKER, R. F. H.; SILVA, R. Imobilização de células microbianas e suas aplicações biotecnológicas. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológica**, Londrina, v. 28, n. 2, p. 143-160, 15 dez. 2007. DOI: <https://doi.org/10.5433/1679-0375.2007v28n2p143>. Disponível em: <https://ojs.uel.br/revistas/uel/index.php/semexatas/article/view/1897>. Acesso em: 02 dez. 2024.

CUERVO-FERNÁNDEZ, R.; OTTONI, C. A.; SILVA, E. S. da; MATSUBARA, R. M. S.; CARTER, J. M.; MAGOSSO, L. R.; WADA, M. A. A.; RODRIGUES, M. F. de A.; MAREMA, B. G.; MAIORANO, A. E. Screening of β -fructofuranosidase-producing microorganisms and effect of pH and temperature on enzymatic rate. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 75, n. 1, p. 87-93, maio 2007. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0803-x>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-006-0803-x>. Acesso em: 08 out. 2024.

CUNHA, J. S. **Produção e caracterização da enzima frutossiltransferase de *Aspergillus oryzae* IPT-301 visando a obtenção de frutooligossacarídeos**. 2017. 96 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas - MG, 2017. Disponível em: <https://btd.unifal-mg.edu.br:8443/handle/tede/1022>. Acesso em: 18 out. 2024.

CUNHA, J. S.; OTTONI, C. A.; MORALES, S. A. V.; 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**, [s. l.], v. 36, n. 2, p. 657-668, jun. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20190362s20180572>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjce/a/8JDTQCb88fJ3NjR9hPPGvKf/?lang=en>. Acesso em: 25 ago. 2024.

DENTI, A. F. Tecnologia enzimática: classificação, imobilização, suportes e aplicações. **Revista Perspectiva**, Erechim, v. 45, n. 171, p. 97-110, 13 out. 2021. DOI: <https://doi.org/10.31512/persp.v.45.n.171.2021.168.p.97-110>. Disponível em: <http://ojs.uricer.edu.br/ojs/index.php/perspectiva/article/view/168>. Acesso em: 18 set. 2024.

DURAN, K. A. **Desenvolvimento de corpos porosos de ZnO para fotodegradação de fluoxetina**. 2024. 63 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas - MG, 2024. Disponível em: <https://btd.unifal-mg.edu.br:8443/handle/tede/2518>. Acesso em: 02 fev. 2025.

FALK, G. S.; RODRIGUEZ, A. L.; ACCHAR, W.; FOLETTTO, E. L. Impregnação de catalisadores em suporte de espuma cerâmica de alumina. **Cerâmica**, [s. l.], v. 60, n. 353, p. 102-107, mar. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0366-69132014000100015>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ce/a/MVChTxNKfBLDRKhvPySn6NM/?lang=pt>. Acesso em: 16 jul. 2024.

FARIA, F. P. **Obtenção de cerâmicas porosas de óxido de zinco para aplicação em fotocatalise**. 2019. 99 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas - MG, 2019. Disponível em: <https://bdtd.unifal-mg.edu.br:8443/handle/tede/2179>. Acesso em: 03 nov. 2024.

FARIA, L. L. **Imobilização da enzima frutossiltransferase extracelular de *Aspergillus oryzae* IPT-301 em sílica-gel para produção de frutooligossacarídeos**. 2019. 90 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas – MG, 2019.

FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, M.; SANROMÁN, M. A.; MOLDES, D. Recent developments and applications of immobilized laccase. **Biotechnology Advances**, [s. l.], v. 31, n. 8, p. 1808-1825, dez. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.02.013>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S073497501200064X?via%3Dihub>. Acesso em: 06 jan. 2025.

FIGUEROA-GONZÁLEZ, I.; QUIJANO, G.; RAMÍREZ, G.; CRUZ-GUERRERO, A. Probiotics and prebiotics-perspectives and challenges. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s. l.], v. 91, n. 8, p. 1341-1348, 28 mar. 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.4367>. Disponível em: <https://scijournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.4367>. Acesso em: 21 ago. 2024.

FORTES, R. C.; MUNIZ, L. B. Efeitos da suplementação dietética com frutooligossacarídeos e inulina no organismo humano: estudo baseado em evidências. **Comunicação em Ciências da Saúde**, [s. l.], v. 20, n. 3, p. 241-252, 2009. Disponível em: https://bvsm.sau.gov.br/bvs/periodicos/ccs_artigos/2009Vol20_3art05efeitossup.pdf. Acesso em: 17 out. 2024.

FURLANI, I. L.; AMARAL, B. S.; OLIVEIRA, R. V.; CASS, Q. B. Imobilização enzimática: conceito e efeitos na proteólise. **Química Nova**, [s. l.], v. 43, n. 4, p. 463-473, 16 abr. 2020. DOI: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170525>. Disponível em: <https://quimicanova.sbq.org.br/pdf/RV20190460>. Acesso em: 18 set. 2024.

GARCIA, R. L.; DIAS, G. S.; MORALES, S. A. V.; XAVIER, M. C. A.; SILVA, E. S.; MAIORANO, A. E.; TARDIOLI, P. W.; R.F. PERNA. Glutaraldehyde-crosslinked cells from *Aspergillus oryzae* IPT-301 for high transfructosylation activity: optimization of the immobilization variables, characterization and operational stability. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, [s. l.], v. 38, p. 273-285, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s43153-021-00110-9>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s43153-021-00110-9>. Acesso em: 02 out. 2024.

GUISAN, J. M. **Immobilization of enzymes and cells: methods and protocols**. 3rd. ed. New York: Humana Press, 2013.

GONÇALVES, M. C. P. **Imobilização de frutossiltransferase microbiana em gel de alginato e sua caracterização para a produção de frutooligosacarídeos**. 2019. 139 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas - MG, 2019. Disponível em: <https://bdtd.unifal-mg.edu.br:8443/handle/tede/1503>. Acesso em: 05 out. 2024.

GONÇALVES, M. C. P.; MORALES, S. A. V.; SILVA, E. S.; MAIORANO, A. E.; PERNA, R. F.; KIECKBUSCH, T. G. Entrapment of glutaraldehyde-crosslinked cells from *Aspergillus oryzae* IPT-301 in calcium alginate for high transfructosylation activity. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, [s. l.], v. 95, n. 9, 21 abr. 2020. DOI: <http://doi.org/10.1002/jctb.6429>. Disponível em: <https://scijournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jctb.6429>. Acesso em: 13 out. 2024.

HAASE, D.; FÜSSEL, A.; ADLER, J.; PETASCH, U. 60 years of open-celled ceramics based on replica technique: applications, obstacles, and opportunities. **Advanced Engineering Materials**, [s. l.], v. 26, n. 15, 16 fev. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1002/adem.202301804>. Disponível em: <https://advanced.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/adem.202301804>. Acesso em: 20 jun. 2024.

HIRAYAMA, D.; SARON, C. Morphologic and mechanical properties of blends from recycled acrylonitrile-butadiene-styrene and high-impact polystyrene. **Polymer**, [s. l.], v. 135, p. 271-278, 17 jan. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2017.12.038>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0032386117312089?via%3Dihub>. Acesso em: 06 mar. 2025.

INSIGHT ACE ANALYTIC. Fructooligosaccharide market size, share & trends analysis report by source (sucrose, insulin), by form (solid, liquid), by application (infant formulations, food & beverages, animal feed, dietary supplements, pharmaceuticals), by region, and by segment forecasts (2025-2034). **Insight Ace Analytic**. 2025. Disponível em: <https://www.insightaceanalytic.com/report/global-fructooligosaccharide-market-/1449>. Acesso em: 28 mai. 2025.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO/ASTM 52900: Additive manufacturing – General principles – Terminology**. Geneva, 2015. Disponível em: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso-astm:52900:ed-1:v1:en>. Acesso em: 05 jul. 2024.

KASMI, S.; GINOUX, G.; ALLAOUI, S.; ALIX, S. Investigation of 3D printing strategy on the mechanical performance of coextruded continuous carbon fiber reinforced PETG. **Journal of Applied Polymer Science**, [s. l.], v. 138, n. 37, 05 maio 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/app.50955>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/app.50955>. Acesso em: 05 maio 2025.

KRUCZALA, K.; BOKRIA, J. G.; SCHLICK, S. Thermal aging of heterophasic propylene–ethylene copolymers: spatial and temporal aspects of degradation based on ESR, ESR imaging, and FTIR. **Macromolecules**, [s. l.], v. 36, n. 6, p. 1909-1919, 22 fev. 2003. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/ma025701q>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ma025701q>. Acesso em: 08 maio 2025.

LI, W.; ZHANG, J.; YU, C.; LI, Q.; DONG, F.; WANG, G.; GU, G.; GUO, Z. Extraction, degree of polymerization determination and prebiotic effect evaluation of inulin from Jerusalem artichoke. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 121, p. 315-319, maio 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.12.055>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S014486171401251X?via%3Dihub>. Acesso em: 12 dez. 2024.

LINGYUN, W.; JIANHUA, W.; XIAODONG, Z.; DA, T.; YALIN, Y.; CHENGGANG, C.; TIANHUA, F.; FAN, Z. Studies on the extracting technical conditions of inulin from Jerusalem artichoke tubers. **Journal of Food Engineering**, [s. l.], v. 79, n. 3, p. 1087-1093, abr. 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.03.028>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0260877406003074?via%3Dihub>. Acesso em: 12 dez. 2024.

LORENZONI, A. S. G. **Produção de frutooligossacarídeos e açúcar invertido utilizando enzimas imobilizadas**. 2014. 55 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre – RS, 2014. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/96930/000918933.pdf?sequence=1>. Acesso em 21 out. 2024.

LUCAS, E. F.; SOARES, B. G.; MONTEIRO, E. E. C. **Caracterização de polímeros: determinação de peso molecular e análise térmica**. Rio de Janeiro: E-Papers, 2001.

MACEDO, B. R. **Obtenção e caracterização de compósito em matriz polimérica de ABS utilizando argila refratária para a retardância de chama**. 2023. 108p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas – MG. 2023. Disponível em: <http://bdtd.unifal-mg.edu.br:8080/handle/tede/2335>. Acesso em: 16 nov. 2024.

MACEDO, L. L., VIMERCATI, W. C.; ARAÚJO, C. S. Fruto-oligossacarídeos: aspectos nutricionais, tecnológicos e sensoriais. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 23, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.08019>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjft/a/ZnJqy6PtvfFdmh3gwYq3xJR/?lang=pt>. Acesso em: 09 nov. 2024.

MEGDA, F. **Imobilização da frutossiltransferase de *Aspergillus oryzae* IPT-301 em óxido de zinco para produção de frutooligossacarídeos**. 2023. 66 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas - MG, 2023. Disponível em: <https://bdtd.unifal-mg.edu.br:8443/handle/tede/2340>. Acesso em: 14 nov. 2024.

MORDOR INTELLIGENCE. Fructooligosaccharides market size & share analysis - growth trends & forecasts (2025 - 2030). **Mordor Intelligence**. 2025. Disponível em: <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/fructo-oligosaccharides-fos-market>. Acesso em: 31 mar. 2025.

MUSSATTO, S. I.; AGUILAR, C. N.; RODRIGUES, L. R.; TEIXEIRA, J. A. Colonization of *Aspergillus japonicus* on synthetic materials and application to the production of fructooligosaccharídeos. **Carbohydrate Research**, [s. l.], v. 344, n. 6, p. 795–800, 21 abr. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carres.2009.01.025>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0008621509000391?via%3Dihub>. Acesso em: 15 jul. 2024.

NARANJO, A.; NORIEGA, M. P.; OSSWALD, T. A.; ROIDÁN-ALZATE, A.; SIERRA, J. D. **Plastics testing and characterization**: industrial applications. Cincinnati: Hanser, 2008.

OLIVEIRA, R. L. **Desenvolvimento de processos de produção de fructooligosaccharídeos em reator enzimático utilizando enzimas com atividade de transfrutossilacção imobilizadas**. 2020. 174 p. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Rede Nordeste de Biotecnologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife – PE. 2020. Disponível em: <http://www.tede2.ufrpe.br:8080/tede2/handle/tede2/8780>. Acesso em: 20 out. 2024.

OLKIEWICZ, M.; MONTORNES, J. M.; GARCIA-VALLS, R.; GULACZYK, I.; TYLKOWSKI, B. Porous polysulfone/activated carbon capsules as scaffolds for enzyme immobilization. **Journal of Carbon Research**, v. 11, n. 14, fev. 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/c11010014>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2311-5629/11/1/14>. Acesso em: 23 mar. 2025.

OTTONI, C. A.; CUERVO-FERNÁNDEZ, R.; PICCOLI, R. M.; MOREIRA, R.; GUILARTEMARESMA, B.; SILVA, E. S. da; RODRIGUES, M. F. A.; MAIORANO, A. E. Media optimization for β -fructofuranosidase production by *Aspergillus oryzae*. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, [s. l.], v. 29, n. 1, p. 49-59, mar. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0104-66322012000100006>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjce/a/y4HXkFKZ5g8FgDzJrMRwQzn/?lang=en>. Acesso em: 28 nov. 2024.

PASSOS, L. M. L.; PARK, Y. K. Fructooligosaccharídeos: implicações na saúde humana e utilização em alimentos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 2, p. 385-390, abr. 2003. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782003000200034>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/Dj7tvsNZMGdtJjZzrW75jmt/?lang=pt>. Acesso em: 25 jun. 2024.

PEREIRA, G. G.; FIGUEIREDO, S.; FERNANDES, A. I.; PINTO, J. F. Polymer selection for hot-melt extrusion coupled to fused deposition modelling in pharmaceuticals. **Pharmaceutics**, [s. l.], v. 12, n. 9, p. 795-858, ago. 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12090795>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1999-4923/12/9/795>. Acesso em: 10 jul. 2024.

PEREIRA, R. S. **Imobilização da enzima frutossiltransferase extracelular de *Aspergillus oryzae* IPT-301 em sabugo de milho para a produção de frutooligossacarídeos.** 2021. 71 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas - MG, 2021. Disponível em: <https://bdtd.unifal-mg.edu.br:8443/handle/tede/2063>. Acesso em: 18 out. 2024.

PERNA, R. F.; CUNHA, J. S.; GONÇALVES, M. C. P.; BASSO, R. C.; SILVA, E. S.; MAIORANO, A. E. Microbial fructosyltransferase: production by submerged fermentation and evaluation of pH and temperature effects on transfructosylation and hydrolytic enzymatic activities. **International Journal of Engineering Research & Science**, [s. l.], v. 4, n. 3, p. 43-50, mar. 2018. <http://doi.org/10.5281/zenodo.1213538>. Disponível em: <https://zenodo.org/records/1213538>. Acesso em: 11 dez. 2024.

PRADO, J. P. Z. **Imobilização da enzima frutossiltransferase extracelular de *Aspergillus oryzae* IPT-301 em sílica gel pura e funcionalizada para produção de frutooligossacarídeos.** 2021. 104 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas - MG, 2021. Disponível em: https://bdtd.unifal-mg.edu.br:8443/bitstream/tede/1932/5/Dissertacao_JosePedroZanettiPrado_2021_PPGEQ.pdf. Acesso em: 28 out. 2024

QUEISSADA, D. D.; SILVA, J. A. Imobilização enzimática em suportes orgânicos e inorgânicos: vantagens e desvantagens. **Holos Environment**, [s. l.], v. 20, n. 2, p. 271-286, 16 mar. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.14295/holos.v20i2.12378>. Disponível em: <https://www.cea-unesp.org.br/holos/article/view/12378>. Acesso em: 28 set. 2024.

RABELO, L. H. **Obtenção e caracterização de compósito PLA/argila refratária com propriedades de retardância de chama.** 2020. 111p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas – MG. 2020. Disponível em: <https://bdtd.unifal-mg.edu.br:8443/handle/tede/1733>. Acesso em: 18 jan. 2025.

RAJESH, K. V. D.; GANESH, N.; REDDY, S. Y. K.; MISHRA, H.; NAIDU, T. M. V. P. S. T. Experimental research on the mechanical characteristics of fused deposition modelled ABS, PLA and PETG specimens printed in 3D. **Materials Today: Proceedings**, [s. l.], p. 1-9, 4 jul. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2023.06.343>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2214785323037380?via%3Dihub>. Acesso em: 04 fev. 2025.

RAWAT, H. K.; NATH, S.; SHARMA, I.; KANGO, N. Recent developments in the production of prebiotic fructooligosaccharides using fungal fructosyltransferases. **Mycology**, v. 15, p. 1-21, 02 abr. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1080/21501203.2024.2323713>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21501203.2024.2323713>. Acesso em: 08 jan. 2025.

ROBERFROID, M. B.; VAN LOO, J. A.; GIBSON, G. R. The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. **The Journal of Nutrition**, [s. l.], v. 128, n. 1, p. 11-19, jan. 1998. DOI: <https://doi.org/10.1093/jn/128.1.11>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002231662301670X?via%3Dihub>. Acesso em: 04 fev. 2025.

ROCHA, R. J. *et al.* Imobilização de frutossiltransferase microbiana em bagaço de cana e sabugo de milho para a produção de frutooligossacarídeos. *In: Web Encontro Nacional de Engenharia Química*, 1, 2021, Diamantina (MG). **Anais eletrônicos** [...]. Diamantina, 2021, online. DOI: 10.29327/138535.1-49. Disponível em: <https://www.even3.com.br/anais/wendeq2021/345335-imobilizacao-defrutossiltransferase-microbiana-em-bagaco-de-cana-e-sabugo-de-milho-para-a-producao-defrutooligos>. Acesso em: 09 out. 2024.

ROMANO, R. C. O.; PANDOLFELLI, V. C. Obtenção e propriedades de cerâmicas porosas pela técnica de incorporação de espuma. **Cerâmica**, [s. l.], v. 52, n. 322 p. 213-219, jun. 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0366-69132006000200015>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ce/a/fNmS9qqVXnQZBnxvjbrNLjJ/?lang=pt>. Acesso em: 28 jul. 2024.

ROSA, L. P. de S.; CRUZ, D. J. Aplicabilidade dos frutooligossacarídeos como alimento funcional. **Nutrivisa Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde**, Fortaleza, v. 4, n. 1, p. 68-79, 2017. DOI: <https://doi.org/10.59171/nutrivisa-2017v4e9018>. Disponível em: <https://revistas.uece.br/index.php/nutrivisa/article/view/9018>. Acesso em: 05 jul. 2024.

RYBARCZYK, A.; SMULEK, W.; GRZYWACZYK, A.; KACZOREK, E.; JESIONOWSKI, T.; NGHIEM, L. D.; ZDARTA, J. 3D printed polylactide scaffolding for laccase immobilization to improve enzyme stability and estrogen removal from wastewater. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 381, ago. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.129144>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852423005709?via%3Dihub>. Acesso em: 14 dez. 2024.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, [s. l.], v. 42, n. 1, mar. 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-93322006000100002>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbcf/a/T9SMSGKc8Mq37HXJyhSpM3K/?lang=pt>. Acesso em: 08 ago. 2024.

SANTANA, L.; ALVES, J. L.; SABINO NETTO, A. C.; MERLINI, C. Estudo comparativo entre PETG e PLA para impressão 3D através de caracterização térmica, química e mecânica. **Revista Matéria**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 4, mar. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1517-707620180004.0601>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rmat/a/dpWDvBJzSXYtzbKnJdDqHVg/?lang=pt>. Acesso em: 15 fev. 2025.

SANTOS, E. D. **Imobilização de células de *Aspergillus oryzae* IPT-301 em suportes inorgânicos e sua aplicação como biocatalisadores para a produção de frutooligossacarídeos**. 2024. 74 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas - MG, 2024. Disponível em: <https://bdt.unifal-mg.edu.br:8443/handle/tede/2559>. Acesso em: 20 out. 2024.

SARTORI, T. A. I. C. **Biocerâmicas porosas de alumina e de alumina-zircônia recobertas com fosfato de cálcio para implantes ósseos**. Orientador: Profa. Dra. Elíria M. J. Agnolon Pallone. 2015. 89 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/74/74133/tde-17092015-092938/pt-br.php>. Acesso em: 23 out. 2024.

SHULER, M. L.; KARGI, F. **Bioprocess Engineering**. 2. ed. New Jersey: PrenticeHall, Inc., 2002.

SILVA, A. D. R. **Obtenção de cerâmicas porosas de alumina-zircônia pelo método da réplica recobertas com fosfato de cálcio**. 2017. 121 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2017. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/74/74133/tde-22112017-165352/pt-br.php>. Acesso em: 04 jun. 2024.

SILVA, T. L. S. **Enzimas para a produção de biodiesel: uma perspectiva geral**. 2022. 46 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia) – Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Santa Cruz do Sul, 2022. Disponível em: https://repositorio.uergs.edu.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/2359/_taassia_enzimas_para_a_producao_de_biodiesel_uma_perspectiva_geral-revisado-28-07-2022.pdf?sequence=1&isAllowed=y#:~:text=O%20poss%C3%ADvel%20uso%20de%20enzimas,e%20aumento%20da%20estabilidade%20enzim%C3%A1tica.. Acesso em: 17 set. 2024.

SING, K. S. W.; EVERETT, D. H.; HAUL, R. A. W.; MOSCOU, L.; PIEROTTI, R. A.; ROUQUÉROL, J.; SIEMIENIEWSKA, T. Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity (Recommendations 1984). **Pure and Applied Chemistry**, Great Britain, v. 57, n. 4, p. 603-619, 1985. DOI: <http://dx.doi.org/10.1351/pac198557040603>. Disponível em: <https://www.degruyterbrill.com/document/doi/10.1351/pac198557040603/html>. Acesso em: 14 fev. 2025.

SINGH, R. S.; SINGH, R. P.; KENNEDY, J. F. Recent insights in enzymatic synthesis of fructooligosaccharides from inulin. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 85, p. 565-572, abr. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.026>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141813016300277>. Acesso em: 21 nov. 2024.

SMIRNOV, A.; SELEZNEV, A.; PERETYAGIN, P.; BENTSEVA, E.; PRISTINSKIY, Y.; KUZNETSOVA, E.; GRIGORIEV, S. Rheological characterization and printability of polylactide (PLA)-alumina (Al₂O₃) filaments for fused deposition modeling (FDM). **Materials**, [s. l.], v. 15, n. 23, 25 nov. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/ma15238399>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1996-1944/15/23/8399>. Acesso em: 10 mar. 2025.

SOUZA, L. T. A.; VERÍSSIMO, L. A. A.; PESSELA, J. B. C.; SANTORO, M. M.; RESENDE, R. R.; MENDES, A. A. Imobilização enzimática: princípios fundamentais e tipos de suporte. *In*: RESENDE, R. R. **Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria**. São Paulo: Editora Edgard Blücher Ltda, 2017. v. 4, cap. 15, p. 529-568. DOI: 10.5151/5566-15. Disponível em: <https://openaccess.blucher.com.br/article-details/imobilizacao-enzimatica-principios-fundamentais-e-tipos-de-suporte-20266/>. Acesso em: 29 jun. 2024.

SPOHR, D. L.; SÁNCHEZ, F. A. L.; MARQUES, A. C. Estudo da viabilidade de fabricação de filamentos compósitos sustentáveis para impressão 3D a partir de uma matriz PLA reforçada com resíduos de fibras de madeira. **Mix Sustentável**, Florianópolis, v. 7, n. 4, 2021. DOI: <https://doi.org/10.29183/2447-3073.MIX2021.v7.n4.115-126>. Disponível em: <https://ojs.sites.ufsc.br/index.php/mixsustentavel/article/view/4894>. Acesso em: 26 jan. 2025.

TUOHY, K. M.; PROBERT, H. M.; SMEJKAL, C. W.; GIBSON, G.R. Using probiotics and prebiotics to improve gut health. **Drug Discovery Today**, [s. l.], v. 8, n. 15, p. 692-700, ago. 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(03\)02746-6](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(03)02746-6). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1359644603027466?via%3Dihub>. Acesso em: 29 out. 2024.

YAKDOUMI, F. Z.; HADJ-HAMOU, A. S. Effectiveness assessment of TiO₂-Al₂O₃ nanomixture as a filler material for improvement of packaging performance of PLA nanocomposite films. **Journal of Polymer Engineering**, [s. l.], v. 40, n. 10, p. 848-858, 2020. <https://doi.org/10.1515/polyeng-2020-0105>. Disponível em: <https://www.degruyterbrill.com/document/doi/10.1515/polyeng-2020-0105/html>. Acesso em: 28 jan. 2025.

YE, J.; CHU, T.; CHU, J.; GAO, B.; HE, B. A versatile approach for enzyme immobilization using chemically modified 3D-printed scaffolds. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, [s. l.], v. 7, n. 21, p. 18048-18054, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b04980>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acssuschemeng.9b04980>. Acesso em: 02 fev. 2025.

ZUR, P.; KOLODZIEJ, A.; BAIER, A.; KOKOT, G. Optimization of ABS 3D-Printing method and parameters. **European Journal of Engineering Science and Technology**, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 44-51, 2020. DOI: <https://doi.org/10.33422/ejest.v3i1.160>. Disponível em: <https://dpublication.com/journal/EJEST/article/view/160>. Acesso em: 25 nov. 2024.