

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

José Luiz Vilches

**Preparação e caracterização de membranas microfibras de gelatina obtida
de resíduo de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**

Ilha Solteira

2019

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS

José Luiz Vilches

Preparação e caracterização de membranas microfibrosas de gelatina obtida de resíduo de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre. Especialidade: Física da Matéria Condensada

José Antonio Malmonge
Orientador

Ilha Solteira

2019

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

Vilches, José Luiz.
V699p Preparação e caracterização de membranas microfibras de gelatina obtida de resíduo de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) / José Luiz Vilches. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2019
86 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Física da Matéria Condensada, 2019

Orientador: José Antonio Malmonge
Inclui bibliografia

1. Gelatina de tilápia, . 2. Fiação por sopro em solução. 3. Ácido tânico. 4. Microfibras de gelatina.


Raiane da Silva Santos
Supervisora Técnica de Seção

Seção Técnica de Referência, Atendimento ao usuário e Documentação
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação
CRB/8 - 9999

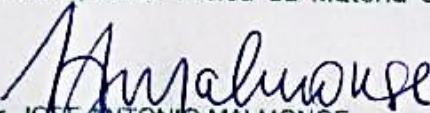
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

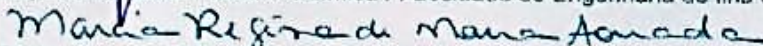
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Preparação e caracterização de membranas microfibrosas de gelatina obtida de resíduo de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)

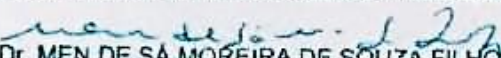
AUTOR: JOSÉ LUIZ VILCHES

ORIENTADOR: JOSE ANTONIO MALMONGE

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em CIÊNCIA DOS MATERIAIS, área: Física da Matéria Condensada pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. JOSE ANTONIO MALMONGE
Departamento de Física e Química / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira


Profa. Dra. MARCIA REGINA DE MOURA AOUADA
Departamento de Física e Química / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira


Dr. MEN DE SA MOREIRA DE SOUZA FILHO
Embrapa Agroindústria Tropical - CNPAT

Ilha Solteira, 09 de setembro de 2019

“Liberdade não é poder escolher
entre preto e branco, mas sim
abominar este tipo de propostas
de escolha.”
- Theodor W. Adorno

Agradecimentos

À minha mãe, Ana, com toda preocupação e carinho por estar sempre disposta a ajudar e me ver bem.

Ao meu pai, Carlos, por todo apoio e incentivo em tomar minhas próprias decisões desde sempre.

À minha namorada, Maitê, por me manter calmo, pelo companheirismo, por ser uma das minhas bases, e que por vezes, preocupa-se mais comigo do que com ela mesma.

Aos meus irmãos, Gustavo e Daiane pela ajuda e compreensão em mais uma etapa de minha formação.

Agradeço à minha família, especialmente ao Jhoni, Helena e Amauri por palavras que me serviram para perceber e lidar com certos detalhes de forma diferente.

À um grande amigo, Everton Tortorello (*in memoriam*), pelas boas lembranças que permanecem.

Aos meus amigos, Motta, José Eduardo, Marcos, Fábio, Daniel, Wesley Fernando, Joeder, Fábio Abrantes, Raul, Gabriel, Camilo, Alberto, Ricardo, Lucas, Tiago, Guilherme, Maykon, Josiane, Karla, Danilo e tantos outros que possivelmente não me vêm à memória neste momento, mas com quem certamente compartilhei bons momentos durante esse tempo.

Ao Dr. Alex Sanches, ao Prof. Dr. Luiz Malmonge, à Profa. Dra. Márcia, ao Prof. Dr. Michael e ao Prof. Dr. Men de Sá Moreira de Souza Filho pela ajuda, discussões e ideias, que colaboraram no desenvolvimento do trabalho.

Ao Bibis, por horas de concentração e dedicação em nossos estudos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro.

E finalmente, ao professor José Antonio Malmonge, que com toda paciência e conhecimento, vêm ajudando na minha formação em todos os aspectos da vida e a crescer como pesquisador.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Resumo

Em 2018, o Brasil se consolidou como o 4º maior produtor mundial de tilápia. Em decorrência da sua larga produção, grande quantidade de subprodutos, como pele e ossos, resultantes do processamento da tilápia são descartados. Torna-se imperativo então buscar formas de aproveitar esses subprodutos, buscando aplicações como na área de alimentação, áreas da saúde, fármacos entre outras. Neste sentido, este trabalho focou na fabricação e caracterização de membranas microfibras de gelatina de tilápia (*Oreochromis Niloticus*), produzidas utilizando a técnica de fiação por sopro em solução (FSS). As fibras poliméricas foram obtidas a partir da gelatina de tilápia (GT) dissolvida em ácido acético/água (80/20 v/v), em diferentes concentrações. Verificou-se que aumentando a viscosidade da solução, aumentou-se o diâmetro médio das fibras de aproximadamente 280 ± 73 nm (0,086 Pa.s) para aproximadamente 1195 ± 365 nm (1,88 Pa.s). Os termogramas (TG) para diferentes concentrações apresentaram perfis similares, com estabilidade térmica abaixo de 180 °C. A curva de DSC apresentou dois eventos endotérmicos, sendo o segundo, no intervalo de 100-130 °C, fortemente influenciado pelo diâmetro das microfibras, deslocando para maiores temperaturas de acordo com o aumento do diâmetro médio das microfibras. Esse comportamento está associado à difusão da água, ou seja, microfibras com menor diâmetro facilitam a evaporação de água devido ao menor caminho de difusão. Membranas fibrosas de gelatina incorporadas com ácido tânico (AT) nas concentrações de 3, 5, 10, 15 e 20 % m/m também foram produzidas. Os mesmos perfis das curvas de TG e DSC foram obtidos, apresentando comportamento similar às fibras sem AT. A reticulação pelo AT foi verificada, medindo a massa seca das membranas depois de submersas em água e também por FT-IR. Foi observado um deslocamento da banda amida I para menor valor de número de onda, indicando a ocorrência de reticulação. Um aumento na massa remanescente (massa seca) foi observado com o aumento da concentração de AT, atingindo um valor em torno de 40 % em relação à massa inicial para a amostra contendo 20 % de AT, indicando a ocorrência de reticulação.

Palavras-chave: gelatina de tilápia, fiação por sopro em solução, ácido tânico, microfibras de gelatina.

Abstract

In 2018, Brazil consolidated itself as the 4th largest tilapia producer in the world. As a result of its large production, large amounts of by-products, such as skin and bones, resulting from the processing of tilapia are discarded. It is therefore imperative to look for ways to take advantage of these by-products seeking applications such as in the area of food, health, drugs and others. In this sense, this work focused on the manufacture and characterization of tilapia gelatin microfiber membranes (*Oreochromis Niloticus*), produced using the solution blow Spinning (FSS) technique. The concentration and viscosity of fish gelatin solution, in acid acetic/water (80 % v/v), were examined to investigate the effects on the morphology of the gelatin microfibers. It was found that increased solution viscosity leads to increase of fibers diameters from approximately 280 ± 73 nm at viscosity ~ 0.086 Pa.s. to approximately 1195 ± 365 nm at viscosity ~ 1.88 Pa.s. The TG thermograms showed similar thermal profiles for all fibrous mat gelatins with thermal stability at temperatures below 180°C . The DSC curve showed two endothermic peaks being the second one, in the range of $100\text{-}130^{\circ}\text{C}$, strongly influenced by the microfiber diameters. It shifts to higher temperature increasing the microfiber diameter. This behavior was associated to the diffusion of water. Microfibers with smaller diameters tend to saturate quickly in moist environments, but also facilitate water evaporation owing to the smaller diffusion pathways. Tannic acid (AT) incorporated fibrous gelatin membranes at concentrations of 3, 5, 10, 15 and 20 % w/w were also produced. The same profile of TG and DSC curves were obtained, presenting similar behavior to fibers without AT. The effect of tannic acid on gelatin was evaluated by measuring the dry mass of the membranes after being inserted into rest water at room temperature and also by FT-IR. A shift of the amide I band to a lower value of wave numbers was observed, indicating the occurrence of crosslinking. An increase in the remaining mass (dry mass) was observed with the increase of AT concentration reaching a value around 40 % (compared to the initial mass), for the sample containing 20 % AT, thus confirming the occurrence of crosslinking.

Palavras-chave: Nile Tilapia gelatin, Solution Blow Spinning, tannic acid, gelatin microfibers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química da gelatina.....	20
Figura 2 - Estrutura química do Ácido Tânico.....	23
Figura 3 - Número de publicações ao longo dos anos que tratam sobre fibras como um dos tópicos.	24
Figura 4 - Representação da configuração da técnica de EF.....	25
Figura 5 - Representação das diferentes regiões observadas durante o processo de estiramento da solução polimérica durante a EF.	26
Figura 6 - Esquema de funcionamento da técnica de Fiação por Sopro em Solução.	27
Figura 7 - Esquema de fluxo de gás e variações de pressão do sistema de duas agulhas concêntricas da técnica de FSS.	28
Figura 8 - Fotografia do sistema de FSS “home made”.....	37
Figura 9 – MEV das membranas microfibras de GT nas regiões central e lateral obtidas a partir da técnica FSS com agulha de 22G; (a) GT15a Lateral; (b) GT15a Centro; (c) GT20a Lateral; (d) GT20a Centro; (e) GT25a Lateral; (f) GT25a Centro; Ampliação de 1000 vezes.	47
Figura 10 - MEV das membranas microfibras de GT nas regiões central e lateral obtidas a partir da técnica FSS com agulha de 25 G; (a) GT15b Lateral; (b) GT15b Centro; (c) GT20b Lateral; (d) GT20b Centro; (e) GT25b Lateral; (f) GT25b Centro; Ampliação de 1000 vezes.	48
Figura 11 - MEV das microfibras de GT obtidas a partir da técnica FSS e suas respectivas distribuições de frequência dos diâmetros (DFD) das microfibras; (a) GT15b; (b) DFD – GT15b; (c) GT20b; (d) DFD - GT20b; (e) GT25b; (f) DFD - GT25b; Ampliação de 5000 vezes.	50
Figura 12 – (a) Imagem MEV para microfibras obtidas a partir das técnicas FSS e EF (GTE30C); e (b) DFD – GTE30C; para a manta com 20% (m/v) de concentração de GT. Aumento de 5000 vezes.....	52
Figura 13 – Imagens MEV para microfibras obtidas a partir das técnicas FSS e EF com diversas temperaturas em banho de US e suas respectivas distribuições de frequência dos diâmetros (DFD) das microfibras: (a) GTE40C; (b) DFD – GTE40C; (c) GTE45C; (d) DFD – GTE45C; (e) GTE50C; (f) DFD – GTE50C; (g) GTE55C; (h) DFD – GTE55C; (i) GTE60C; (j) DFD – GTE60C. Ampliação de 5000 vezes.....	53
Figura 14 – Imagens MEV para as membranas microfibras de GT com diferentes concentrações de Ácido Tânico e distribuição de frequência dos diâmetros (DFD) das microfibras; (a) GTE3%AT; (b) DFD – GTE3%AT; (c) GTE5%AT; (d) DFD - GTE5%AT; (e) GTE10%AT; (f) DFD - GTE10%AT; (g) GTE15%AT; (h) DFD – GTE15%AT; (i) GTE20%AT; (j) DFD – GTE20%AT; Ampliação de 5000 vezes.....	55
Figura 15 - Imagens da membrana GTE50C em água deionizada para diferentes tempos de exposição: (a) 0 min; (b) 0,5 min; (c) 2 min; (d) 6,5 min; (e) 7,5 min; (f) 12 min; (g) 15 min; (h) 17 min; (i) 27 min.	57

Figura 16 - Imagens da membrana GTE3%AT em água deionizada para diferentes tempos de exposição: (a) 0 min; (b) 0,5 min; (c) 2 min; (d) 6,5 min; (e) 7,5 min; (f) 12 min; (g) 15 min; (h) 17 min; (i) 27 min; (j) 60 min; (k) 360 min; (l) 1740 min.	59
Figura 17 - Variação da massa total das membranas com diferentes concentrações de AT submersas em água para diferentes tempos de exposição.	61
Figura 18 - Curva TG/DTG das membranas microfibrasas para diferentes concentrações de GT e GT em grãos; (a) TG; (b) DTG.	63
Figura 19 - Curva TG/DTG das membranas microfibrasas de GT para diferentes temperaturas em banho de US; (a) TG; (b) DTG.	64
Figura 20 - Curva TG/DTG das membranas microfibrasas de GT para diferentes concentrações de AT; (a) TG; (b) DTG.	65
Figura 21 - Curvas de DSC das membranas microfibrasas obtidas de diferentes concentrações de GT; (a) 1º corrida; (b) 1º e 2º corrida (somente para a amostra GT20b). Os termogramas no modo modulado (c) reversível e (d) não reversível, são referentes a amostra GT15b e foram obtidos nas seguintes condições: $\pm 1,00^{\circ}\text{C}$ e 60s de amplitude e período de modulação, respectivamente.	67
Figura 22 - Curvas DSC das mantas microfibrasas para temperatura em banho de ultrassom com 40, 50 e 60 °C e concentração da solução de 20%.	69
Figura 23 - Curvas DSC das mantas microfibrasas GTE40C e GTE60C, condicionadas por 20 h em 45 % de UR em dessecador contendo sílica.	70
Figura 24 - Curvas DSC das amostras GTE50C, GTE3%AT, GTE10%AT e GTE20%AT. Primeira curva de aquecimento.	71
Figura 25 - Espectros de difração raio-X para as amostras GT15b, GT20b e GT25b.	72
Figura 26 – Espectros de difração raio-X para as amostras GTE40C, GTE50C E GTE60C.	73
Figura 27 – Espectroscopia de FT-IR para as amostras GTE50C, GTE20%AT e AT puro.	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Volume de solução de AT utilizado em 5 mL de GT para obter as concentrações de 3, 5, 10, 15 e 20 % de AT.....	36
Tabela 2 – Parâmetros variados durante o estudo de obtenção de fibras de GT a partir da técnica FSS com agulha de 22 G e as membranas formadas para cada combinação de parâmetros.	43
Tabela 3 - Resultados da avaliação subjetiva das membranas microfibrosas de GT.	45
Tabela 4 - Diâmetro médio das microfibras produzidas e viscosidade da solução para diferentes concentrações.	51
Tabela 5 - Dimensões das membranas em diferentes tempos de exposição em água.	58
Tabela 6 - Comportamento das membranas com diferentes concentrações de AT submersas em água para o mesmo tempo de exposição.	61
Tabela 7 – Perda de massa e resíduo final das amostras de GT15b, GT20b e GT25b.	63
Tabela 8 - Perda de massa e resíduo final das amostras GTE40C, GTE50C E GTE60C.	65
Tabela 9 - Perda de massa e resíduo final das membranas de GT com 3, 5, 10, 15 e 20 % de AT.....	66
Tabela 10 - Pico e entalpia referentes ao segundo evento endotérmico das curvas de DSC.....	71

LISTA DE ABREVIATURAS

AA – Ácido Acético Glacial

AT - Ácido Tânico

DFD – Distribuição de Frequência dos Diâmetros

DSC - Calorimetria Exploratória Diferencial

DTG - Termogravimetria Derivada

EF – Eletrofiação

FSS – Fiação por Sopros em Solução

FT-IR - Espectroscopia de Infravermelho por transformada de Fourier

GT - Gelatina de Tilápia.

GT15a – membrana produzida com 15 % (m/v) de GT a partir da FSS com agulha 22G.

GT15b – membrana produzida com 15 % (m/v) de GT a partir da FSS com agulha 25G.

GT20a – membrana produzida com 20 % (m/v) de GT a partir da FSS com agulha 22G.

GT20b – membrana produzida com 20 % (m/v) de GT a partir da FSS com agulha 25G.

GT25a – membrana produzida com 25 % (m/v) de GT a partir da FSS com agulha 22G.

GT25b – membrana produzida com 25 % (m/v) de GT a partir da FSS com agulha 25G.

GTE30C - membrana produzida com 20 % (m/v) de GT e tratamento térmico em banho de US à 30 °C a partir da FSS com tensão aplicada.

GTE40C – membrana produzida com 20 % (m/v) de GT e tratamento térmico em banho de US à 40 °C a partir da FSS com tensão aplicada.

GTE45C – membrana produzida com 20 % (m/v) de GT e tratamento térmico em banho de US à 45 °C a partir da FSS com tensão aplicada.

GTE50C – membrana produzida com 20 % (m/v) de GT e tratamento térmico em banho de US à 50 °C a partir da FSS com tensão aplicada.

GTE55C – membrana produzida com 20 % (m/v) de GT e tratamento térmico em banho de US à 55 °C a partir da FSS com tensão aplicada.

GTE60C – membrana produzida com 20 % (m/v) de GT e tratamento térmico em banho de US à 60 °C a partir da FSS com tensão aplicada.

GTExC - membrana produzida com 20 % (m/v) de GT e tratamento térmico em banho de US a partir da FSS com tensão aplicada.

GTE3%AT – membrana de GT modificada quimicamente com 3 % (m/m) de AT a partir da FSS com tensão aplicada.

GTE5%AT – membrana de GT modificada quimicamente com 5 % (m/m) de AT a partir da FSS com tensão aplicada.

GTE10%AT – membrana de GT modificada quimicamente com 10 % (m/m) de AT a partir da FSS com tensão aplicada.

GTE15%AT – membrana de GT modificada quimicamente com 15 % (m/m) de AT a partir da FSS com tensão aplicada.

GTE20%AT – membrana de GT modificada quimicamente com 20 % (m/m) de AT a partir da FSS com tensão aplicada.

GTEx%AT - membrana de GT modificada quimicamente com AT a partir da FSS com tensão aplicada.

H₂O – Água deionizada

MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura

T - Temperatura

TG - Análise Termogravimétrica

T_g – Temperatura de transição vítrea

UR – Umidade Relativa

Sumário

1. Introdução	15
2. Objetivo Geral	18
2.1 Objetivo Específico	18
3. Revisão Bibliográfica	19
3.1 Colágeno e Gelatina	19
3.2 Gelatina de Peixe.....	20
3.3 Reticulação da gelatina	21
3.4 Nanofibras	23
3.5 Eletrofiação – EF.....	24
3.6 Fiação por Sopros em Solução - FSS	27
3.7 Parâmetros que influenciam no processo de fiação	29
3.7.1 Parâmetros de solução.....	29
3.7.2 Parâmetros de processo.....	31
3.7.3 Parâmetros de ambiente.....	33
4. Experimental	34
4.1 Materiais e métodos	34
4.1.1 Gelatina da pele de Tilápia	34
4.1.2 Ácido Acético Glacial	34
4.1.3 Ácido Tânico (AT).....	35
4.2 Preparo das soluções de GT	35
4.3 Produção das membranas microfibras.....	36
4.3.1 Produção de membranas com a técnica FSS.....	36
4.3.2 Produção de membranas com a técnica FSS com tensão elétrica aplicada.....	37
4.3.3 Análise Subjetiva	38
4.3.4 Umidade Relativa (UR)	38
4.4 Caracterização	39
4.4.1 Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV	39
4.4.2 Análise Termogravimétrica - TG	39
4.4.3 Calorimetria Exploratória Diferencial - DSC	40
4.4.4 Difração de raio-X.....	40
4.4.5 Viscosidade da Solução	40
4.4.6 Espectroscopia de Infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR)	40
4.4.7 Comportamento das membranas em água	41

5. Resultados e Discussão	42
5.1 Morfologia das membranas microfibrosas	42
5.1.1 Estudo dos parâmetros para obtenção das fibras a partir da FSS	42
5.1.2 Análise Subjetiva	45
5.1.3 Influência do calibre da agulha e concentração polimérica na produção das microfibras..	47
5.1.4 Influência da concentração de GT na morfologia das membranas.....	49
5.1.5 Estudo da morfologia das microfibras produzidas utilizando a FSS com tensão aplicada (EF)	51
5.1.6 Estudo da morfologia das membranas para diferentes temperaturas em banho de ultrassom (US)	53
5.1.7 Estudo da morfologia das membranas reticuladas com AT	55
5.2 Comportamento das membranas em água	57
5.4 Análises térmicas.....	62
5.4.1 TG/DTG	62
5.4.2 DSC	67
5.5 Raio-X	72
5.6 FT-IR.....	73
6. Conclusão	75
Referências.....	77

1. Introdução

Uma das maiores fontes de obtenção de gelatina se restringe principalmente à pele e ossos de bovinos e suínos. Cerca de 98 % de toda a produção de gelatina é oriunda dessas fontes e o baixo custo associado ao produto pode ser considerado como um dos motivos para essa preferência [1]. Entretanto, existem algumas restrições quanto ao consumo de produtos dessa origem por questões religiosas. A produção de gelatina a partir da pele de suínos não é aceitável pelo judaísmo e islamismo e a gelatina derivada de bovinos só é aceitável se for produzida de acordo com alguns requisitos dessas religiões. Além disso, o surgimento da chamada encefalopatia espongiforme bovina (popularmente conhecida como doença da “vaca louca”) durante a década de 80, gerou certa desconfiança em seu consumo, sob o risco de transmissão da doença para humanos e foi um fator determinante no aumento do interesse em procurar por fontes alternativas para produção de gelatina [1, 2].

Esforços foram realizados nos últimos anos em pesquisas, na busca por produtos que possuam as mesmas propriedades funcionais da gelatina derivada de mamíferos. Possuindo propriedades equivalentes, a gelatina derivada da pele, escamas e ossos de peixes, tornou-se candidata como alternativa na substituição da gelatina derivada de mamíferos, por não estar associada ao risco de transmissão da encefalopatia espongiforme bovina [1] e por não apresentar restrições religiosas. Vários trabalhos e patentes já foram publicados tratando sobre métodos de extração [3, 4, 5], além de pesquisas empregadas na investigação das propriedades funcionais apresentadas pela gelatina de peixe [6, 7, 8, 9], tratando-se de um material de interesse em aplicações tecnológicas em algumas áreas, bem como em áreas biomédicas [10] e na indústria de alimentos [11].

A escolha da reutilização de resíduos de peixe como material desse projeto, tem relação com a quantidade de subprodutos desse tipo produzidos no Brasil e ao redor do mundo. Em 2016, um total de 80 milhões de toneladas de peixes foram produzidos pela piscicultura no mundo, dentre os quais, a Tilápia do Nilo está entre a mais produzida em termos de volume, contando com uma produção de aproximadamente 4.199.566 t (toneladas) [12]. O Brasil consolidou-se como o 4º maior produtor mundial de Tilápia em 2018, contribuindo com aproximadamente

400.000 t do total de 6 milhões de toneladas produzidas mundialmente, representando cerca de 6,67 % da oferta global. Liderando o ranking de produção da espécie está a China, que produziu cerca de 1,86 milhão de toneladas no mesmo ano [13]. Em decorrência da sua larga produção, grande quantidade de subprodutos, bem como pele e ossos resultantes do processamento da Tilápia são descartados, causando danos ambientais e desperdício de recursos que poderiam ser reaproveitados para outros fins. Sabendo da larga produção mundial e especificamente no Brasil, torna-se interessante buscar formas de reaproveitar esses resíduos gerados, por meio do desenvolvimento de novos materiais.

Para aumentar a perspectiva de aplicações do produto, torna-se interessante a investigação do material em diferentes conformações, em que suas propriedades funcionais possam ser otimizadas. A produção de microfibras de gelatina a partir da técnica de eletrofiação (EF), tem sido bastante estudada por se mostrar promissora, principalmente na aplicação em áreas biomédicas como em engenharia de tecidos [14, 15], entrega controlada de fármacos [16] e na indústria de alimentos [17]. O interesse na produção de microfibras está relacionado principalmente às interessantes características, como elevada área superficial e flexibilidade nas funcionalidades de superfície, as quais podem atribuir diferentes funcionalidades para a gelatina, de maneira otimizar suas propriedades, como por exemplo, adesão e proliferação celular, biocompatibilidade, possibilitando assim, novas aplicações tecnológicas.

Além da EF, a fiação por sopro em solução (FSS) é uma técnica eficiente na produção de fibras e vem sendo utilizada na fabricação de fibras poliméricas com dimensões que chegam à escala nano/micrometro [18, 19]. A FSS apresenta algumas vantagens em relação a técnica EF, como a não necessidade de campo elétrico como força eletromotriz de arraste da solução. Essa função é desempenhada por meio de um gás que pode ser ar, por exemplo. Assim o espectro de solvente a ser utilizado é maior, pois a constante dielétrica do solvente torna-se uma variável sem importância. Outra vantagem a se destacar é que a taxa de produção da FSS é maior do que na técnica de EF. Portanto, o seu emprego na produção de membranas microfibras de gelatina de peixe deve ser explorado, tendo em vista a melhor eficiência na produção que a técnica proporciona e também com base na baixa quantidade de trabalhos existentes na literatura com abordagens equivalentes.

Neste contexto, o presente trabalho investigou as condições experimentais para produzir membranas microfibrosas de Gelatina de Tilápia (GT) utilizando a técnica de FSS. As membranas foram modificadas quimicamente, acrescentando ácido tânico (AT) nas soluções utilizadas. As características microestruturais das membranas microfibrosas produzidas foram caracterizadas utilizando Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). A estabilidade das membranas em meio aquoso também foi estudada, verificando seu comportamento em água a sua dinâmica de absorção. As propriedades térmicas da gelatina foram investigadas através das técnicas de Análise Termogravimétrica (TG/DTG) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). As características microestruturais foram estudadas utilizando Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR) e Difração de raio-X.

2. Objetivo Geral

O presente estudo visa a produção e caracterização de membranas microfibrosas de gelatina de resíduo de tilápia (GT) por meio da técnica FSS e a sua modificação química utilizando ácido tânico (AT).

2.1 Objetivo Específico

- Obter membranas microfibrosas de GT por meio da técnica de FSS;
- Investigar a influência dos parâmetros de FSS na produção de microfibras de GT usando Ácido Acético como solvente;
- Investigar a influência dos parâmetros de FSS na morfologia das microfibras obtidas;
- Modificar quimicamente as membranas de GT utilizando AT;
- Investigar a estabilidade das membranas quando expostas a elevada umidade;
- Estudar as propriedades térmicas das membranas produzidas a partir de diferentes concentrações de GT;
- Investigar a influência do banho de ultrassom nas soluções, nas propriedades térmicas, morfológicas e estrutural das microfibras obtidas.

3. Revisão Bibliográfica

3.1 Colágeno e Gelatina

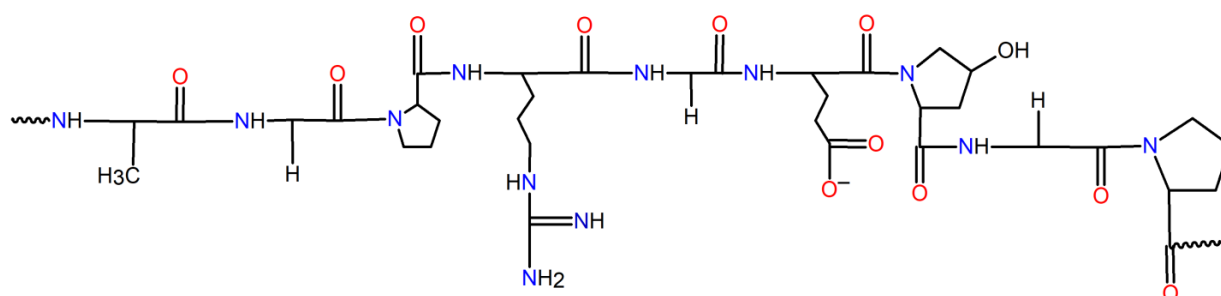
A gelatina é um biopolímero natural derivado do colágeno, do qual compartilha semelhanças quase idênticas na sua composição e nas propriedades biológicas. Pode ser obtida a partir da desnaturação térmica, física ou química do colágeno e é composta por resíduos de amino ácidos em diferentes proporções e combinações [20, 21]. O colágeno é a fonte a partir do qual a gelatina é preparada em grandes quantidades e normalmente é extraído de alguns mamíferos, como bovinos e suínos. Funciona como uma proteína extracelular e estrutural presente em ossos, tendões, pele e tecidos conjuntivos. As características do colágeno incluem: a presença de excepcional composição de amino ácidos, aproximadamente 33 % de glicina e 22 % de prolina; e uma estrutura rígida formando uma trípla hélice. Essa estrutura tripla hélice se caracteriza por três cadeias polipeptídicas paralelas, organizadas numa bobina de conformação helicoidal [1, 22].

A partir da hidrólise parcial do colágeno, obtém-se a gelatina que é um polímero de alto peso molecular, que pode variar entre 80.000 e 375.000 g/mol [23]. A gelatina pode ser produzida a partir do pré tratamento ácido do colágeno, que resulta em gelatina do tipo A, ou a partir do pré tratamento alcalino do colágeno, resultando em gelatina do tipo B, o que causa uma diferença nos pontos isoelétricos [24]. Para a gelatina tipo A, o ponto isoelétrico encontra-se entre 7-9 e para a gelatina tipo B, entre 4-5 [25]. Por conseguinte, a maioria das funcionalidades da gelatina derivam da tripla hélice do colágeno [2]. Durante sua produção, a água quente utilizada para a separação do colágeno vinculado à matéria prima, desnatura a estrutura tripla hélice em cadeias individuais. Ao resfriar, as cadeias podem se reorganizar em novas estruturas tripla hélice, mas não necessariamente como eram originalmente [1].

Estruturalmente, três aminoácidos são responsáveis pela tripla hélice da gelatina: a glicina (gly), prolina (pro) e hidroxiprolina (hyp). Destes, aproximadamente um terço da cadeia é composta por glicina, um terço é dividida entre prolina e hidroxiprolina e o restante está distribuída entre outros amino ácidos e resíduos, em

menores concentrações. As variações da concentração desses amino ácidos no material resultam na mudança de algumas de suas propriedades, como por exemplo, a temperatura de gelificação, a força de gel e a temperatura de fusão [10, 26]. A Figura 1 ilustra a composição da gelatina em termos de sua estrutura química.

Figura 1 - Estrutura química da gelatina.



Fonte: Próprio autor.

Devido a sua origem biológica, a gelatina é um bom material para adesão e proliferação celular, porém possui limitações em suas aplicações, por se tratar de um material pobre em propriedades mecânicas e ser solúvel em água [20, 27, 28, 21]. Como forma de melhorar esses aspectos da gelatina, o AT tem sido o principal agente reticulante para a gelatina [20, 29, 30].

Outras características que a tornam um material interessante, está no seu baixo custo de produção e fácil obtenção, pois é derivada da proteína estrutural mais abundante encontrada no corpo animal, além de ser biocompatível e biodegradável [20, 26, 27-30], o que torna o material atrativo no que diz respeito às possibilidades de aplicação tecnológica. Devido sua biodegradabilidade, biocompatibilidade e baixo custo, esse material tem sido estudado para aplicação tecnológica em áreas alimentícias, com o desenvolvimento de filmes finos para embalagens [31, 32], nas áreas biomédicas e farmacêuticas, tal como em estudos de hidrogéis para a regeneração de tecidos e entrega de vacinas e fármacos, e em biosensores inteligentes [33, 34, 35, 36].

3.2 Gelatina de Peixe

A gelatina derivada de fontes de animais aquáticos, como a pele e ossos tanto de peixes de água quente quanto de água fria, é uma possível alternativa para

a gelatina derivada de mamíferos [1, 10]. Uma das vantagens do uso dessas fontes alternativas é por não estarem associadas ao risco de contaminação de encefalopatia espongiforme bovina. A gelatina de peixe também se torna promissora por apresentar mínimas restrições para o Judaísmo e ser aceitável para o Islamismo. Além disso, a pele de peixes é o principal subproduto do processamento da indústria do pescado, gerando desperdício e poluição. No entanto, esse subproduto pode ser convertido em grandes quantidades de gelatina [1, 37] e desse modo agregar valor ao produto final, além de reduzir de forma considerável o desperdício e poluição.

Em geral, a gelatina de peixe apresenta menores concentrações de pro e hyp quando comparada com a gelatina mamífera [1]. De acordo com alguns estudos, a menor concentração desses dois aminoácidos na gelatina de peixe pode resultar em menores valores para a temperatura de gelificação e de fusão, já que ambos contribuem para a estabilização da estrutura tripla hélice original do colágeno [10, 38]. Essa diferença na concentração de aminoácidos, também afeta na temperatura de transição do estado de gel para estado de solução da gelatina. Enquanto a gelatina de peixe apresenta transição de estado de gel para estado de solução abaixo temperatura ambiente, a gelatina mamífera mostra sua transição acima desta. Portanto, isso permite que a gelatina de peixe possa ser utilizada em vários processos de fabricação sem a necessidade de aquecimento [10].

3.3 Reticulação da gelatina

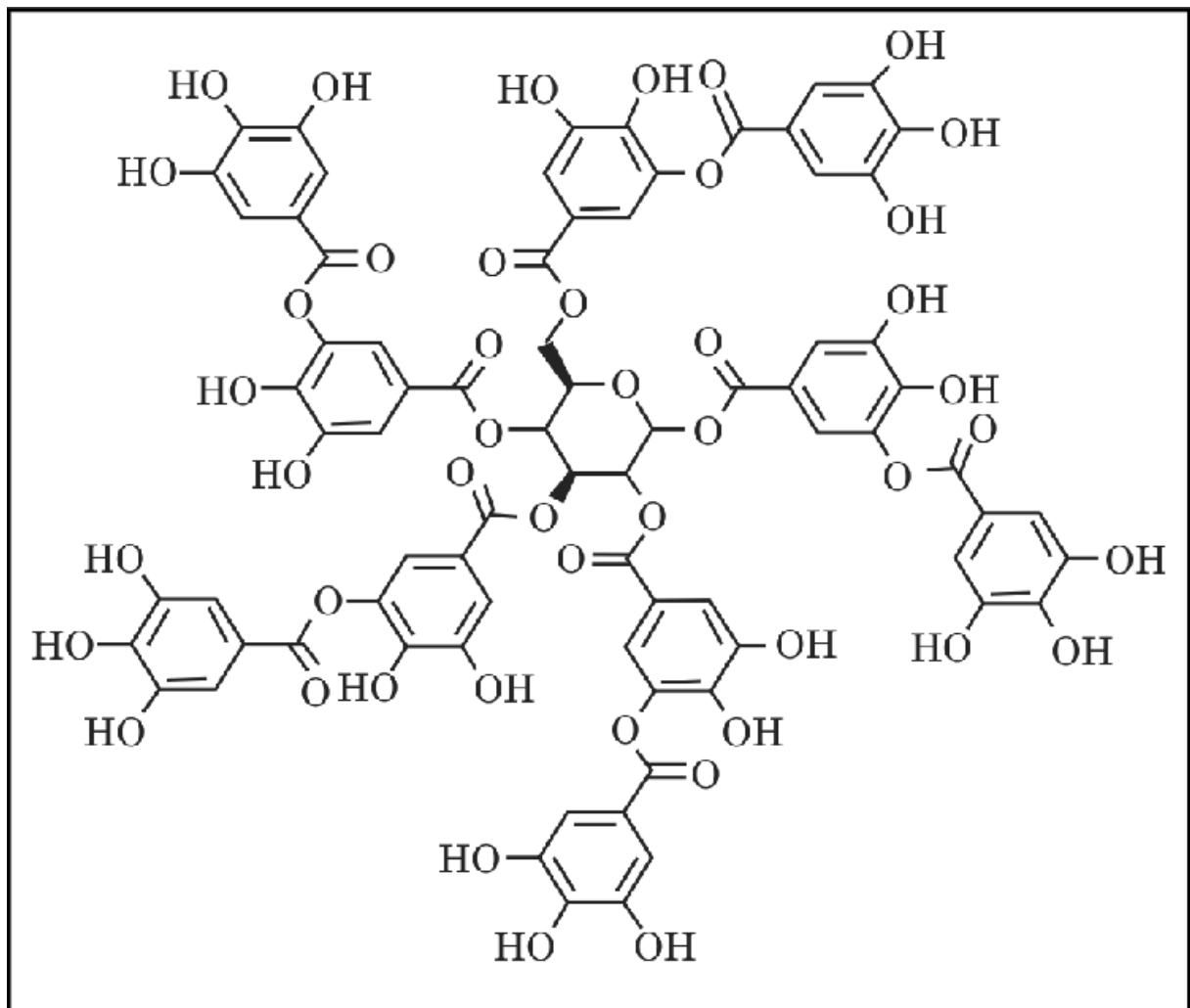
O entrecruzamento via reações químicas das cadeias poliméricas da gelatina, pode ser feito a partir da adição de um agente reticulante, que leva à formação de ligações químicas covalentes entre as suas cadeias [39]. Acrescentar agentes reticulantes entre as cadeias poliméricas pode causar mudanças nas propriedades físicas do polímero. Essas mudanças dependem do grau de reticulação e da presença ou não de cristalinidade. A reticulação pode reduzir a elasticidade do polímero, reduzir sua viscosidade e torná-lo insolúvel. Também proporciona um aumento da temperatura de transição vítrea (T_g), uma redução do ponto de fusão e um aumento da resistência à tração e tenacidade [40].

Em geral, a reticulação na molécula de gelatina pode ocorrer de duas formas: pontes podem ser formadas dentro da fita polipeptídica (reticulação intramolecular), ou resíduos de amino ácidos de duas fitas pepitídicas podem formar uma ponte

(reticulação intermolecular). A reticulação das moléculas de gelatina é um conhecido fenômeno que pode envolver uma série de reações químicas. A formação de reticulação do tipo desmosina, conhecida por ocorrer em fibras de elastina é uma possível reação envolvida. Nesta reação, grupos aldeídos terminais podem ser atacados por grupos ϵ -aminos livres, causando uma série de reações que resultam na reticulação, contendo anéis de piridínio [41].

Outro possível evento de reticulação na gelatina envolve a reação de grupos ϵ -amino lisil com um aldeído, formando grupos amino(hidroximetil), que eliminam água e formam imina. A imina pode reagir com resíduos de outros grupos de (hidroximetil)amino-lisina para formar um éter dimetileno. O éter pode então se rearranjar para formar um metileno ligado entre dois grupos ϵ -amino da lisina. Um terceiro processo, envolve a formação de uma imina a partir da reação do grupos ϵ -amino da lisina e um aldeído, com a subsequente formação de um amina [41].

No intuito de melhorar as propriedades mecânicas e estabilidade em água, o ácido tânico (AT) têm se tornado um dos principais agentes reticulantes para a gelatina [29, 42]. Trata-se de um ácido pertencente à classe dos taninos, que são compostos polifenólicos naturais, encontrados amplamente em quase todas as plantas [20, 43] e sua estrutura molecular está representada na Figura 2. Uma vantagem de sua utilização, é por não envolver o uso de componentes tóxicos proibidos em embalagens de alimentos e aplicações médicas [44]. Além disso, possui forte afinidade com proteínas ricas em prolina, como a gelatina [44, 45].

Figura 2 - Estrutura química do Ácido Tânico.

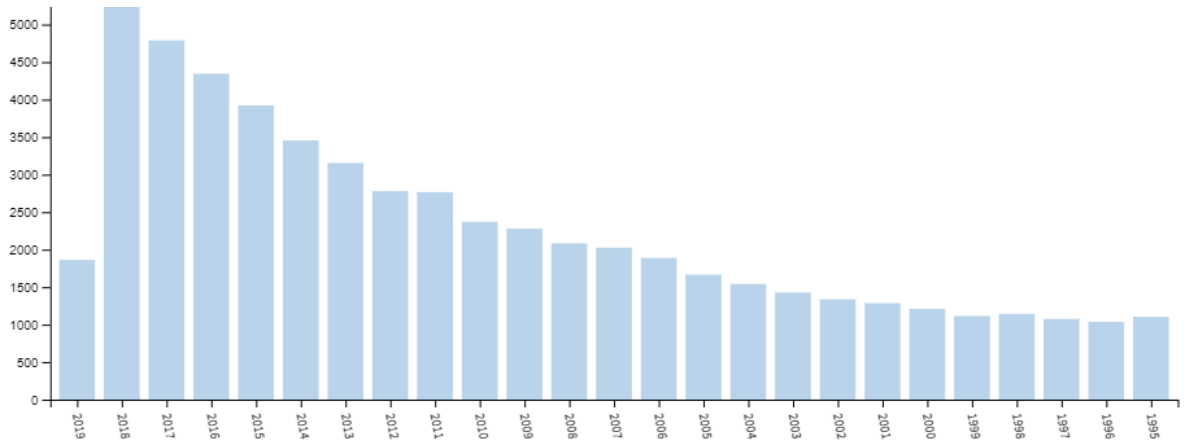
Fonte: ABDEL-SHAFY, et al (2017) [46].

3.4 Nanofibras

Ao reduzir o diâmetro de fibras de materiais poliméricos entre as dimensões de micrômetros e nanômetros, surgem interessantes características, devido principalmente ao aumento na área superficial do material e nas funcionalidades de superfície que podem ser realizadas. Essas características proporcionam novas possibilidades de aplicações [47], como na filtração [48], em engenharia de tecidos [49], na liberação controlada de fármacos [50], no reforço de nanocompósitos [47] e em suturas [51]. É possível notar um crescente interesse em pesquisas relacionadas ao assunto, decorrente da quantidade de artigos publicados ao longo dos anos. A Figura 3 apresenta um gráfico de barras com o número de artigos publicados a cada

ano desde 1995. Foi utilizada a palavra “fibers” na caixa de pesquisa e os resultados filtrados por Ciência de Materiais como área do conhecimento.

Figura 3 - Número de publicações ao longo dos anos que tratam sobre fibras como um dos tópicos.



Fonte: Web of Knowledge – Periódicos Capes. Disponível em: <<https://is.gd/deU930>>.

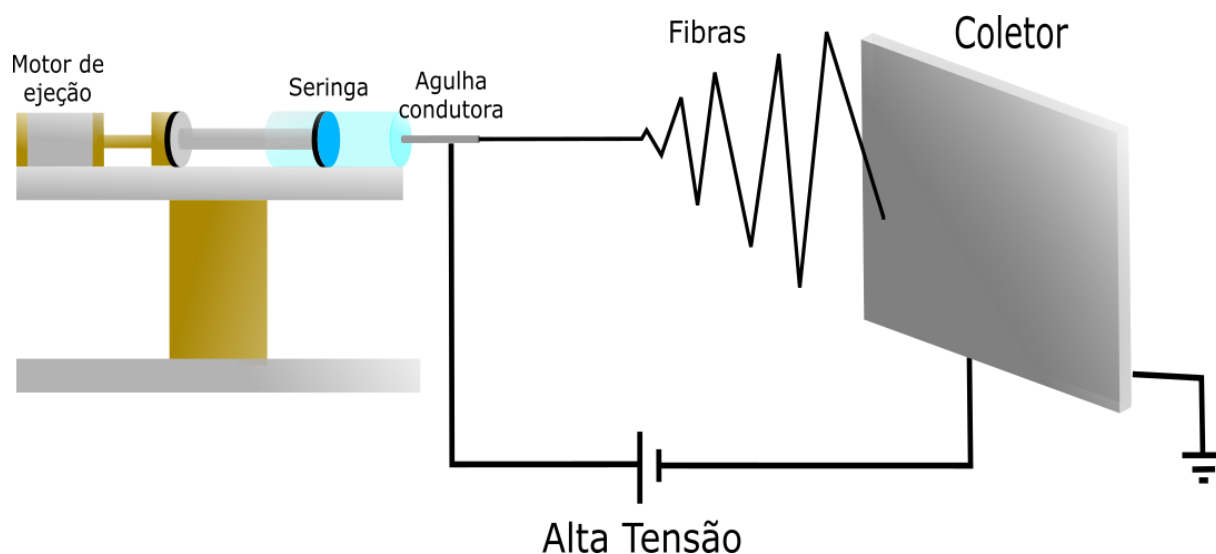
É possível identificar um considerável número de técnicas utilizadas para a produção de microfibras poliméricas [52, 53, 54], dentre as quais, a chamada eletrofiação (EF) pode ser destacada na produção de microfibras contínuas, sem interrupção em um intervalo de espaço considerável, e em larga escala para uma grande variedade de polímeros [47, 55]. Uma técnica conceitualmente similar à EF foi desenvolvida no ano de 2008, chamada Fiação por Sopro em Solução (FSS), também tem obtido êxito na produção de nano e microfibras de uma série de polímeros [18, 56].

3.5 Eletrofiação – EF

A técnica *electrospinning* (eletrofiação) para produção de nanofibras poliméricas, passou a ser muito utilizada depois de 1994, mas a ideia básica surgiu mais de 60 anos antes. Entre 1934 e 1944 uma série de patentes [57, 58, 59, 60, 61] foram publicadas por Formhals, descrevendo configurações experimentais para a produção de filamentos poliméricos usando forças eletrostáticas. Basicamente, esses filamentos eram formados a partir da solução polimérica com a aplicação de um campo elétrico entre dois eletrodos. A solução era ejetada no sistema através de um pequeno orifício e o solvente evapora durante a viagem até o coletor [47].

O aparato consiste basicamente de uma fonte de tensão de alta voltagem, uma seringa, onde a solução é armazenada, conectada com uma agulha metálica (comumente chamada por “spinnerette”) e um coletor de metal a uma distância de trabalho (d) da ponta da agulha [47]. O esquema geral para a configuração está representado na Figura 4. A fonte de alimentação pode ser tanto de tensão contínua (DC) ou tensão alternada (AC), sendo que a primeira é mais usual [62, 63, 64]. Com o auxílio de uma bomba ejetora acoplada à seringa, a solução é ejetada a partir da agulha sob taxa constante e controlada. As gotas que são ejetadas da agulha ficam altamente eletrificadas devido à alta tensão aplicada entre a agulha e o coletor (que pode variar entre 5 e 57kV) [65, 66]. Devido a ação do campo elétrico (E), cargas são induzidas e se distribuem uniformemente sobre a superfície da gota. Essas cargas superficiais causam forças de repulsão eletrostática entre si e a gota se sujeita à ação da chamada força de atração Coulombiana [62].

Figura 4 - Representação da configuração da técnica de EF.



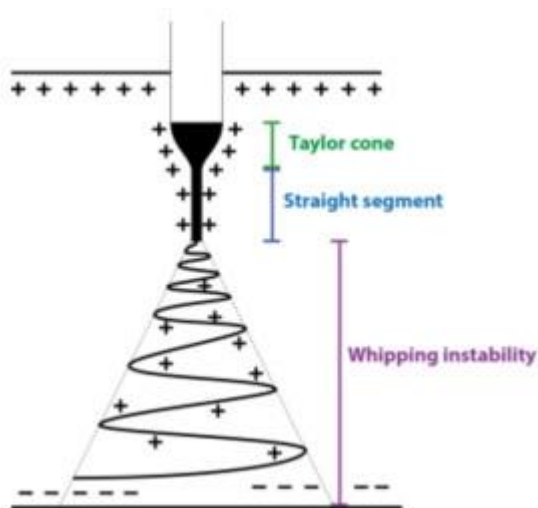
Fonte: Próprio autor.

Quando o campo elétrico atinge um valor crítico, as forças de repulsão entre as cargas superam a tensão superficial do fluido, deformando a gota na forma de um cone em direção às linhas do campo elétrico, conhecido como cone de Taylor [66, 67]. As diferentes regiões observadas pela solução polimérica em processo de estiramento podem ser observadas a partir da representação na Figura 5. Um jato de solução eletricamente carregado é ejetado da ponta da agulha. Durante o percurso até o coletor, o jato eletricamente carregado sofre um processo de

estiramento contínuo, enquanto o solvente evapora. O diâmetro do jato pode ser reduzido até a casa de algumas dezenas de nanômetros durante sua trajetória e ser depositado com orientação aleatória no coletor [66].

Observa-se um espalhamento do jato após a região de estiramento, como se ele se dividisse em diversas fibras. O que na realidade ocorre é um movimento de oscilação de alta frequência, descrito pela fibra produzida pelo alongamento do jato de solução. Esta região, chamada de região de espalhamento, é responsável pela disposição aleatória das fibras e ocorre devido uma instabilidade na solução estirada, causada pela interação entre as cargas distribuídas ao longo da fibra formada e o campo elétrico [62].

Figura 5 - Representação das diferentes regiões observadas durante o processo de estiramento da solução polimérica durante a EF.



Fonte: ANGAMMANA, et al (2011) [68].

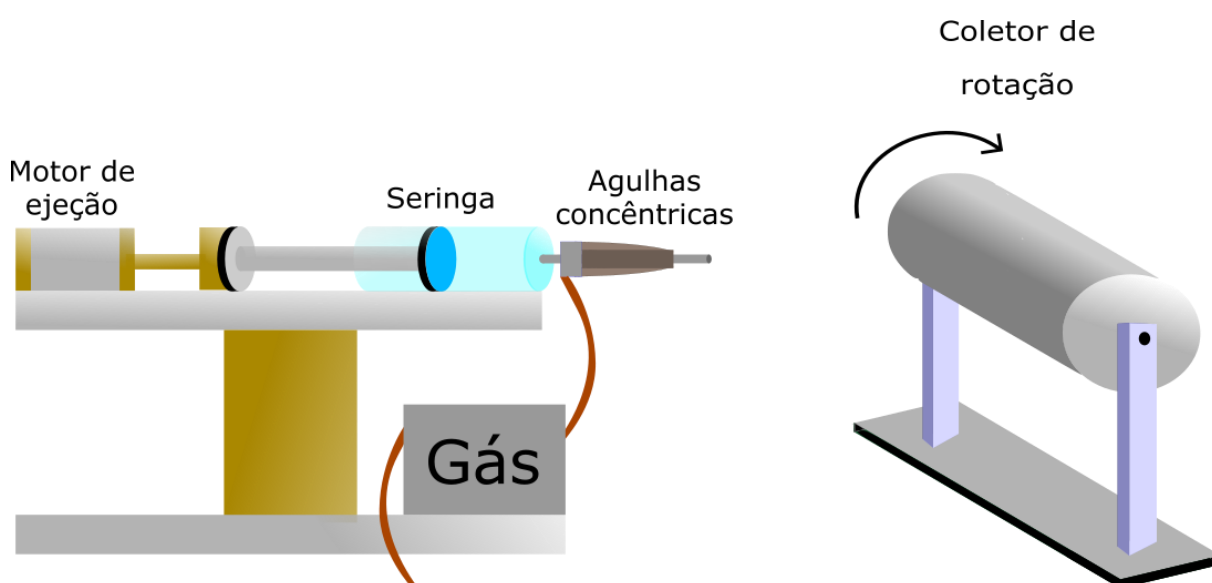
O processo de EF sofre a influência de alguns parâmetros que se relacionam com as propriedades da solução polimérica e as variáveis de processo. Propriedades da solução incluem viscosidade, elasticidade, condutividade e tensão superficial; variáveis de processo podem envolver pressão hidrostática na agulha, potencial elétrico aplicado e distância de trabalho; enquanto que os parâmetros de ambiente abrangem a temperatura da solução, a umidade e a velocidade do ar na câmara de EF [47, 67].

3.6 Fiação por Sopros em Solução - FSS

Apresentando-se como uma técnica alternativa à EF na produção de fibras poliméricas, a FSS (ou Solution Blowspinning) foi reportada inicialmente por Medeiros et al [18]. Nessa técnica, dispensa-se o uso do campo elétrico (alta voltagem) como força de arraste e o uso de material condutor para o coletor. Torna-se possível então o uso de uma gama maior de soluções poliméricas, já que não necessita que a solução possua alta constante dielétrica, além de não afetar polímeros sensíveis à tensão ou ao aquecimento. Além disso, a taxa de ejeção de solução é superior [66, 19] na técnica FSS do que na EF, tornando-a mais produtiva. A Figura 6 representa os elementos que fazem parte da configuração básica para a técnica de FSS. Essencialmente, o aparato é composto por duas agulhas concêntricas, em que de forma simultânea a solução é ejetada através da agulha interna e um fluxo de gás passa pela agulha externa. A solução que se encontra dentro da seringa é ejetada de forma controlada (taxa constante). O fluxo de gás tem a pressão controlada e o gás normalmente utilizado é o ar. Um coletor em formato cilíndrico de rotação é posicionado à uma distância de trabalho (d) da extremidade da agulha onde as fibras são coletadas.

O processo de fiação por sopro é fundamentado nos princípios de Bernoulli, em que mudanças de pressão refletem em variações na energia cinética do gás. O

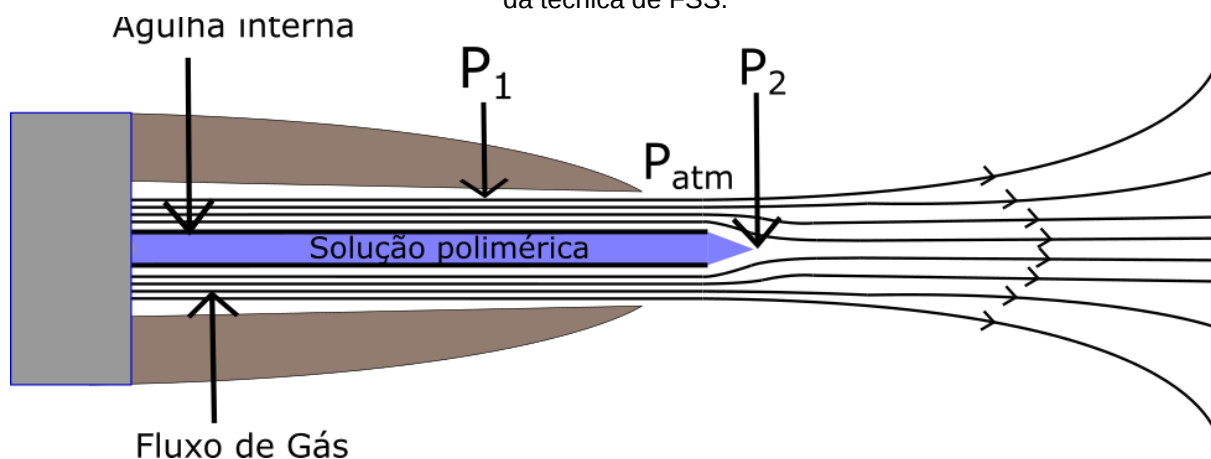
Figura 6 - Esquema de funcionamento da técnica de Fiação por Sopros em Solução.



Fonte: Próprio autor.

comportamento do sistema pode ser melhor visualizado a partir da Figura 7. Conforme o gás sob alta pressão (P_1) flui para fora da agulha, ocorre uma queda brusca para a pressão atmosférica (P_{atm}), causando um acréscimo em sua energia cinética. Por consequência, há um aumento na velocidade do gás nessa região e isso promove uma queda de pressão próxima à ponta da agulha mais interna (P_2). A solução polimérica por sua vez, ao sair da ponta da agulha adquire a forma de um cone, induzido pelo cisalhamento causado pelo gás em alta velocidade. Jatos finos de solução polimérica são estirados e acelerados em direção ao coletor enquanto o solvente evapora de forma simultânea, formando fibras que são depositadas no coletor [18].

Figura 7 - Esquema de fluxo de gás e variações de pressão do sistema de duas agulhas concêntricas da técnica de FSS.



Fonte: Próprio autor.

Em termos de velocidade de produção, essa técnica pode ser considerada superior à EF, visto que a taxa de ejeção entre 20 e 200 $\mu\text{L}/\text{min}$ foram testadas com sucesso, contra uma faixa de 4 a 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ do EF [18]. O baixo custo para montagem, fácil implementação, facilidade de deposição de fibras em qualquer superfície são outras vantagens que a FSS possui em relação à EF [18, 19]. Os parâmetros que influenciam o processo de fiação por sopro, basicamente são os mesmos que influenciam no processo de produção de fibras na EF, ou seja, são parâmetros relacionados às propriedades da solução e ao processo.

3.7 Parâmetros que influenciam no processo de fiação

Este tópico é destinado para apresentação e discussão de alguns aspectos importantes, sobre os principais parâmetros que resultam em modificações na morfologia das fibras produzidas pelas técnicas FSS e EF, já tratadas anteriormente. Serão abordadas ideias gerais, que devem ser consideradas na produção de fibras, relacionadas aos parâmetros de solução e de processo.

3.7.1 Parâmetros de solução

É possível descrever uma série de grandezas físicas utilizadas para caracterizar soluções. Entretanto, a presente discussão se limitará em levantar apenas as propriedades que podem ter alguma influência na produção das fibras em ambas as técnicas. Apesar de utilizar meios distintos, as técnicas de FSS e EF sustentam os mesmos princípios para obtenção de fibras, isto é, o que se altera é somente a natureza da força responsável pelo estiramento das fibras. Pode-se considerar como principais parâmetros (da solução polimérica) que afetam a fiação: a viscosidade, a viscoelasticidade, a concentração, a tensão superficial, a massa molecular, a volatilidade do solvente e a condutividade [19]. A condutividade afeta somente em procedimentos que envolvem a EF.

A viscosidade é um parâmetro que atua fortemente no processo de fiação e relaciona-se com propriedades de escoamento do fluido. A interação entre as moléculas adjacentes gera atrito entre as camadas internas da solução, causando uma resistência ao fluir. Essa interação é afetada pelo número de moléculas presentes em determinado volume. Assim um aumento na concentração reflete em um aumento dessas interações, e a viscosidade do fluido por sua vez também torna-se maior [66]. Logo, a concentração e a viscosidade associam-se em um comportamento linear em regimes de concentração diluído, semi diluído não emaranhado, semi diluído emaranhado e concentrado [69, 70]. O aumento da concentração resulta no aumento da viscosidade que é a resistência ao escoamento apresentada pelo fluido. A formação de fibras ocorre quando a força de arraste responsável pelo estiramento das fibras é maior que a resistência ao escoamento

oferecida pela solução em questão. Geralmente quando a viscosidade é maior as fibras formadas possuem maior diametro. Entretanto, quando a viscosidade atinge valores mais elevados, a tendência de cisalhamento é reduzida consideravelmente, pois nessas condições, a densidade de cadeias é alta [10], o que pode ocasionar em um limite de concentração para a formação de fibras.

O comportamento viscoelástico do material também vale ser destacado. É importante durante a fiação, que a solução escoie continuamente quando submetida à forças externas [71]. Em um comportamento elástico, o líquido assumirá uma forma geométrica de equilíbrio quando deformado pela ação de forças externas, diferente da conformação inicial [19, 70, 71]. De modo geral, para o processo de fiação ocorrer, é preciso uma concentração mínima em que o fluído apresente viscosidade e viscoelasticidade adequadas que permitam o escoamento uniforme, contínuo e estável ao fluído. Essa concentração mínima associa-se com um nível de emaranhamento das cadeias presente no regime semi diluído [19], em que as moléculas se interpenetram e estão entrelaçadas.

Associada à concentração em que o material será trabalhado, a massa molecular dá informações sobre tamanho das cadeias e a sua facilidade de emaranhamento, o que não ocorre para massas moleculares muito baixas em concentrações reduzidas. O emaranhamento das cadeias é necessário para o seu estiramento, e um aumento na concentração muitas vezes não permite o processo de fiação, pois a solução atinge um alto valor de viscosidade antes que ocorra o emaranhamento. Geralmente, "beads" (pequenas esferas de polímero) são formadas ao longo das fibras para baixos valores de massa molecular. Valores acima de 100.000 são considerados de alta massa molecular, enquanto polímeros entre 50.000 e 100.000 podem ser considerados de baixa massa molecular [17, 66].

A tensão superficial é outro parâmetro que também tem influência na morfologia das fibras. Torna-se importante para a estabilização do jato e tem relação com a formação do cone de Taylor [72]. A ação da tensão superficial tende a minimizar a área superficial do líquido, como resultado da interação entre as moléculas das camadas mais internas e mais externas que formam a superfície, de modo a atingir uma menor energia de equilíbrio. Sua ação pode levar à formação de

"beads" ao longo das fibras, desfavorecendo a sua formação, mas o problema pode ser solucionado com a sua redução [19].

A redução na tensão superficial pode ser feita por meio da diminuição da concentração, o que implica numa redução da viscosidade [66] ou a partir da modificação ou mistura de solventes. Além de contribuir na redução da tensão superficial, a escolha de um solvente adequado pode facilitar na formação e secagem das fibras [73, 74]. Esse fator está associado à volatilidade do solvente, parâmetro que também afeta na fiação.

O solvente interfere na formação e na morfologia das fibras, o que está relacionado à sua taxa de evaporação [19, 75]. O uso de diferentes solventes reflete em variadas tensões superficiais, enquanto que a viscosidade é ditada significativamente pela concentração polimérica [66]. É conveniente a escolha de solventes com alta taxa de evaporação, de modo que a fibra formada não sofra deformações após a deposição no coletor por se encontrar ainda em forma de solução [19].

A condutividade da solução é um parâmetro importante na fiação realizado pela técnica de EF [76]. Quanto maior o valor da condutividade, mais cargas podem ser mobilizadas e a solução polimérica pode ser estirada mais facilmente sob influência do campo elétrico. Desta forma, a preparação de soluções usando solventes com alta condutividade torna-se importante para a técnica com a finalidade de melhorar o resultado do produto final [76]. É importante salientar que a influência desse parâmetro atinge somente as fibras produzidas a partir da EF, já que a Fiação por Sopro utiliza gás para o estiramento das fibras.

3.7.2 Parâmetros de processo

Parâmetros relacionados ao processo, são considerados intrínsecos ao equipamento, fazem parte do processamento das fibras e não possuem dependência com as propriedades e condições da solução [19]. São flexíveis a alterações de acordo com as necessidades do experimento ou do operador e

incluem a distância de trabalho, a velocidade de rotação do coletor, a inserção e tamanho da agulha, a taxa de injeção de solução e a pressão do fluxo de gás.

Distância de trabalho: trata-se da distância entre o bico da agulha de injeção e o coletor. Não tem significantes efeitos sobre a morfologia das fibras, porém influencia na distribuição de diâmetros das fibras obtidas. Necessita de um valor mínimo para a completa evaporação do solvente e um valor máximo que garanta que as fibras alcancem o coletor e sejam coletadas [66].

Rotação do coletor: Não tem significantes efeitos sobre o diâmetro da fibra ou na sua distribuição, mas pode afetar na morfologia da manta. Em baixas rotações, não tem influência direta na morfologia das fibras, coletando fibras sem uma direção específica. Para rotações elevadas (valores acima de 1000 rpm), é possível maior orientação das fibras e a distribuição de diâmetros diminui, resultado de um maior estiramento das fibras [72].

Inserção e diâmetro da agulha: é a distância que vai da base da agulha externa até a ponta da agulha interna do bico de ejeção e só deve ser considerada no sistema de FSS, essa distância afeta principalmente na formação do cone de Taylor. Quando a ponta da agulha interna está muito próxima da base da agulha externa, capilar por onde sai o fluxo de gás, a estabilização da gota para formação do cone é dificultada, por se tratar de uma zona de mudança de pressão repentina e ponto onde o fluxo de gás possui alta velocidade. Aumentando essa distância, a força de arraste vai se reduzindo até não possuir mais condições para deformação da gota e estiramento das fibras. Portanto, o ideal é uma distância intermediária em que haja possibilidade da formação do cone [19].

Não há muitas informações na literatura sobre a influência do diâmetro da agulha na produção de fibras. Em geral, o diâmetro médio observado nos trabalhos reportados na literatura estão em torno de 0,5 mm [19]. Diâmetros mais largos podem acarretar em um excesso de solução no bico da agulha e dificultar o estiramento da solução, exigindo uma força de arraste mais elevada para o estiramento da solução. Por outro lado, diâmetros mais finos podem ter área superficial reduzida e não suportar as forças de arraste exercidas pelo fluxo de gás, comprometendo a estabilidade do cone.

Taxa de injeção: ao passo que a solução é ejetada da ponta da agulha, é preciso ser repostado com mesma taxa de modo que não haja interrupção no jato. O controle da taxa de ejeção torna-se importante na estabilização do jato, associando-se com a sua velocidade [19, 66] e torna-se o ponto importante na produtividade da técnica. Tem influência no diâmetro das fibras produzidas, sendo que taxas mais baixas resultam em fibras com menores diâmetros. Considera-se ótima a taxa de injeção, quando obtém-se fibras com diâmetros reduzidos e uma distribuição estreita [71].

Pressão do gás: o estiramento da solução e formação das fibras é consequência da força de arraste causada pela diferença de pressão ao redor da ponta da agulha interna. Para deformar e esticar o fluído, é preciso que a pressão do gás seja suficiente, tal que as forças exercidas sobre a superfície do fluído superem a tensão superficial deste. Por esta razão, há um valor mínimo a partir do qual torna-se possível o estiramento das fibras [19]. Elevados valores de pressão podem, em alguns casos, originar fibras com diâmetros mais largos, já que a alta pressão implica numa maior força de arraste e condições favoráveis para puxar maiores quantidades de solução [66]. Por outro lado, tais condições podem também na maioria dos casos, facilitar a evaporação do solvente, resultando em fibras com diâmetros menores [71].

3.7.3 Parâmetros de ambiente

Parâmetros relacionados ao ambiente, como a temperatura e umidade, são parâmetros de ambiente que podem influenciar na morfologia e produção das fibras. A temperatura pode causar mudanças na viscosidade da solução e como consequência pode alterar o diâmetro das fibras produzidas. A umidade relativa também pode alterar a formação de fibras: o solvente evapora com mais facilidade em baixa umidade, podendo produzir poros nas fibras [62, 66]. Em contrapartida, alta umidade prejudica a evaporação do solvente, podendo causar a fusão das fibras entre seus pontos de contato [66, 77].

4. Experimental

4.1 Materiais e métodos

4.1.1 Gelatina da pele de Tilápia

A gelatina da pele de tilápia foi fornecida pela Embrapa Agroindústria Tropical, e sua obtenção está descrita por Santos et al. [78] e transcrito aqui. Os resíduos de tilápia (pele, ossos e escamas) foram lavados em água deionizada, imersos em solução de NaCl 0,5 % por 15 min. Em seguida, foram lavados novamente em água deionizada e imersos em ácido acético (0,2 M) por 45 min, neutralizado em solução de NaOH (1 M) e em seguida, separados da solução. O resíduo foi então submetido a um tratamento alcalino em solução de NaOH (0,2 M) na proporção 1:3 de solução (resíduo precipitado: solução de NaOH), onde permaneceu sob agitação por 45 min. O material foi então neutralizado com H_2SO_4 (1 M) e centrifugado por 5 min à 2795 x g. Em seguida, o precipitado foi pesado e submetido a um tratamento ácido em solução de H_2SO_4 de 0,2 M na proporção de 1:3 de solução (precipitado: H_2SO_4) sob agitação por 45 min. Em seguida, foi neutralizado com NaOH e novamente centrifugado como descrito anteriormente. O precipitado foi então extraído com água a 45 °C na proporção de 1:5 (precipitado: água) por 2 h, filtrado usando um filtro de papel com porosidade de 28 μm sob vácuo dinâmico, e finalmente liofilizado e moído usando um moinho analítico (A11 Basic, Ika, Staufen, Germany).

4.1.2 Ácido Acético Glacial

O Ácido Acético Glacial (CH_3COOH) foi adquirido da empresa Labsynth Produtos para Laboratório Ltda, sob referência A1019. Suas características gerais são:

- Ponto de Fusão: 17 °C;
- Ponto de ebulição inicial: 117 °C;
- Densidade: 1,050 g/cm³;

- Massa Molecular: 60,05 g/mol.

4.1.3 Ácido Tânico (AT)

O Ácido Tânico P.A. foi adquirido da empresa Neon Comercial Ltda, sob referência 3698. As especificações gerais do produto são:

- Ponto de fusão: entre 225 e 220 °C;
- Fórmula Molecular: $C_{76}H_{52}O_{46}$;
- Massa Molecular: 1701,20 g/mol;

4.2 Preparo das soluções de GT

Concentrações de 15, 20 e 25 % de GT (em massa) foram obtidas dissolvendo grãos de gelatina em mistura de ácido acético glacial nas proporções ácido acético/ água deionizada de 70:30, 80:20, 90:10 e 100:0 (v/v). Primeiramente, à mistura de solventes foram adicionados os grãos de gelatina e então a solução foi deixada sob agitação constante na temperatura de 50 °C durante 1 h. Após esse período, a solução foi resfriada até a temperatura ambiente, na qual permaneceu em agitação por mais 15 horas. Por fim, as soluções permaneceram durante 1h em banho de ultrassom. Foram preparadas amostras com diferentes temperaturas durante o banho de ultrassom: 30 °C, 40 °C, 45 °C, 50 °C, 55 °C e 60 °C.

Foram também preparadas soluções de gelatina na concentração de 20 % (m/v) contendo diferentes concentrações de ácido tânico em relação à massa da gelatina. Para tal, o AT foi dissolvido em água deionizada na concentração de 10 % (m/v) antes de ser misturado com a solução. O volume de solução de AT a ser acrescentado em 5 mL da solução de GT foi calculado de acordo com a concentração de 20 % (m/v) de GT. A Tabela 1 apresenta o volume utilizado em 5 mL de solução de GT para obter concentrações de 3, 5, 10, 15 e 20 % (m/m) de AT. Sob estas condições, a concentração de gelatina que inicialmente era de 20 % (m/v), variou conforme adicionou-se a solução com AT. Esses novos valores encontram-se organizados na Tabela 1.

Tabela 1 – Volume de solução de AT utilizado em 5 mL de GT para obter as concentrações de 3, 5, 10, 15 e 20 % de AT.

Concentração de AT (m/m)	3 %	5 %	10 %	15 %	20 %
Volume em 5 mL de GT (mL)	0,3	0,5	1,0	1,5	2,0
Concentração resultante de GT (%)	18,9	18,2	16,7	15,4	14,3

Fonte: Próprio autor.

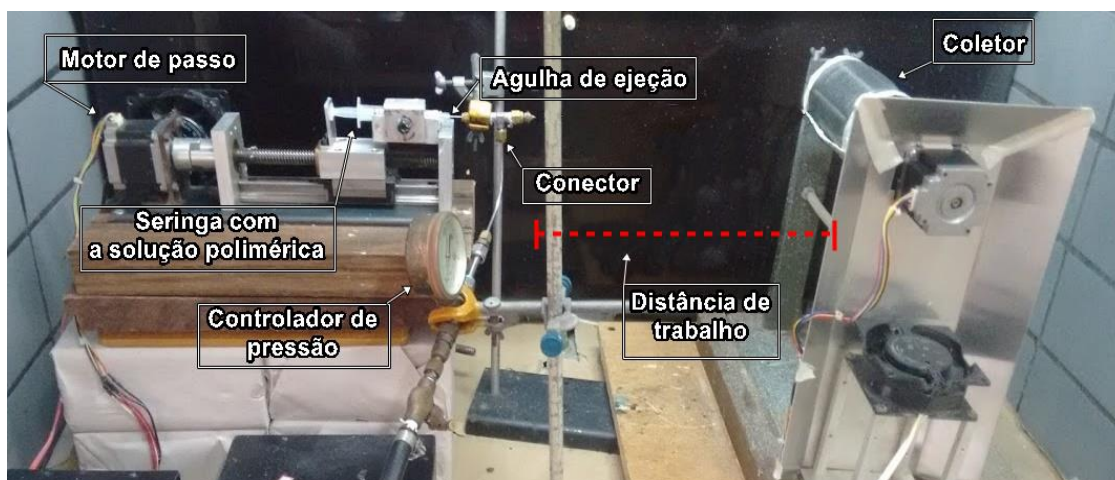
Designou-se as nomenclaturas GT15a, GT20a e GT25a para as membranas fibrosas fiadas com a técnica FSS utilizando agulha de calibre 22 G, e GT15b, GT20b e GT25b para as membranas fiadas utilizando a agulha de calibre 25 G, a partir das soluções de gelatina nas concentrações 15%, 20% e 25% (m/v), respectivamente. Membranas produzidas com a inserção de tensão entre o coletor e o bico da agulha de ejeção, foram indicadas como GTE na composição da nomenclatura. Para as membranas fiadas a partir das soluções tratadas a 30, 40, 45, 50, 55 e 60 °C durante o banho de ultrassom, designou-se as nomenclaturas GTE30C, GTE40C, GTE45C, GTE50C, GTE55C e GTE60C, respectivamente. As membranas fiadas com concentrações de 3, 5, 10, 15 e 20 % (m/m) de AT foram nomeadas como GTE3%AT, GTE5%AT, GTE10%AT, GTE15%AT e GTE20%AT, respectivamente.

4.3 Produção das membranas microfibrosas

4.3.1 Produção de membranas com a técnica FSS

O sistema FSS utilizado neste trabalho foi desenvolvido no grupo de polímeros. A Figura 8 apresenta a fotografia do sistema utilizado.

Figura 8 - Fotografia do sistema de FSS “home made”.



Fonte: ROTTA , et al (2016) [79].

Para a obtenção da membrana fibrosa utilizando a técnica FSS, a solução de GT foi transferida para uma seringa de 5 mL e colocada no suporte da “bomba injetora” (Figura 8) . As melhores condições para a formação de microfibras foram determinadas e mantidas para todos os experimentos. Os parâmetros utilizados foram: 8,1 mL/h e 200 kPa para as taxas de injeção e pressão de gás comprimido, respectivamente. As microfibras foram coletadas em um cilindro com 75 mm de diâmetro, envolvido por uma folha de teflon, mantido a uma velocidade angular de 70 rpm e com distância de trabalho de aproximadamente 21 cm. As concentrações de gelatina testadas foram de 15, 20 e 25 % (m/v), pois soluções acima de 25 % de concentração se apresentaram com alta viscosidade e soluções abaixo de 15 % não apresentaram viscosidade para garantir a fiação. Após o processo de fiação, as membranas microfibrosas foram armazenadas em uma dessecadora contendo sílica gel.

4.3.2 Produção de membranas com a técnica FSS com tensão elétrica aplicada

No sistema de FSS foi acoplado entre a agulha e o coletor uma fonte de alta tensão, na tentativa de coletar fibras que eram espalhadas e não coletas pelo

coletor. Os parâmetros utilizados na FSS foram mantidos para os testes conduzidos com a fonte acoplada, com excessão da distância de trabalho, que neste caso teve um aumento para aproximadamente 35 cm. Uma tensão de 3,5 kV foi aplicada entre a agulha e o coletor. Duas tiras de papel alumínio foram colocadas sob o coletor (o qual estava revestido com uma folha de teflon) em regiões opostas do cilindro para o direcionamento do campo elétrico gerado. Após o processo de fiação, as membranas microfibrosas de gelatina foram armazenadas em um dessecador contendo sílica gel.

4.3.3 Análise Subjetiva

Após finalizar o processo de fiação, as membranas foram avaliadas subjetivamente de acordo com algumas características apresentadas. As membranas foram classificadas como “Excelente”, “Boa” e “Deficiente” de acordo com a homogeneidade e manuseabilidade apresentada. Avaliou-se a homogeneidade com base na presença ou não de gotas de solução e na mudança da cor das membranas, por toda sua extensão. Foram classificadas como “deficientes” as membranas com elevada quantidade de gotas de solução depositadas em sua extensão, regiões que a cor das membranas se tornava mais escura e opaca. As classificações “boa” e “excelente” foram atribuídas conforme observou-se a redução das características já descritas. A manuseabilidade foi avaliada de acordo com a facilidade em separar a membrana do coletor de teflon e com a possibilidade de manipulação das membranas sem que as mesmas se rompessem com facilidade. Os critérios utilizados para classificar como “excelente”, “boa” e “deficiente” seguiram a mesma lógica, de acordo com a satisfação de tais características.

4.3.4 Umidade Relativa (UR)

Para algumas caracterizações térmicas e morfológicas as amostras foram condicionadas em ambiente com umidade controlada. O controle de UR foi

realizado em dessecador hermeticamente isolado, utilizando solução de glicerina com 78 % (v/v) de concentração em temperatura de 20 °C. Verificou-se que nessas condições descritas, a UR manteve-se próxima a 45 %.

4.4 Caracterização

4.4.1 Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV

As micrografias das amostras foram obtidas por meio de um Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) da Carl Zeiss, modelo EVO-LS15. Para as análises, as amostras foram recobertas com Ouro (Au). As ampliações das medidas foram ajustadas de acordo com a necessidade para análises morfológicas, variando entre 200 e 20.000 vezes. As amostras, antes das análises por MEV, foram previamente condicionadas por volta 20 h em umidade relativa de aproximadamente 45 % em temperatura ambiente.

A partir das imagens obtidas, foram estudados os aspectos das fibras formadas, a homogeneidade das amostras, e com auxílio do software IMAGE J (National Institutes of Health, USA), foi medido o diâmetro de um total de 100 fibras aleatórias. Para cada imagem, dados estatísticos da frequência de ocorrência de diâmetros foram levantados e cada amostra foi caracterizada em função do seu diâmetro médio (d_m), de acordo com cada condição testada para todas as amostras obtidas.

4.4.2 Análise Termogravimétrica - TG

Análises termogravimétrica (TG) foram realizadas em um equipamento da TA instruments, modelo SDT Q600. As análises foram realizadas entre os intervalos de 25 e 800 °C, com taxa de aquecimento de 10 °C.min⁻¹ e em atmosfera de nitrogênio com fluxo de 60 mL.min⁻¹. Foram utilizadas massas no intervalo de 6,8 – 9,0 mg de amostras, condicionadas em placas de alumina. Para essas análises, as amostras foram previamente condicionadas em UR de aproximadamente 45 %, em temperatura ambiente, por 20 horas.

4.4.3 Calorimetria Exploratória Diferencial - DSC

As propriedades térmicas das fibras poliméricas obtidas também foram estudadas por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). As medidas foram realizadas em um equipamento da TA instruments, modelo DSC25. Para as análises, utilizou-se os seguintes parâmetros: rampa de aquecimento de 5 °C.min⁻¹; faixa de temperatura entre 0 e 180 °C; massa da amostra no intervalo de 5,8 – 7,8 mg; e vazão de nitrogênio de 50 mL.min⁻¹.

4.4.4 Difração de raio-X

As medidas de difração de raios-X foram realizadas utilizando um Difratorômetro de raios-X da Shimadzu Corp., modelo XRD-6000, radiação CuK α e comprimento de onda $\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$. Foi utilizado um intervalo 2θ entre 4 e 40 °, tensão de 30 kV, corrente de 40 mA e passo de medida de 0,02 °. Para a realização das medidas utilizou-se um porta amostra de vidro.

4.4.5 Viscosidade da Solução

Os testes de viscosidade foram realizados utilizando um viscosímetro de OSTWALD-FENSKE para líquidos transparentes, N° 300 (com constante de viscosímetro $k = 0,22$) para as amostras com 15 e 20 % (m/v) de GT e N° 350 ($k = 0,55$) para as amostras com 25 % (m/v) de GT. Para cada amostra foram realizadas um total de 10 medidas e a média desses valores foi considerada.

4.4.6 Espectroscopia de Infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR)

Medidas do espectro de absorção no infravermelho foram realizadas em um espectrômetro NEXUS 670, Nicolet Instrument Corporation. As amostras foram

maceradas com KBr peneirado em rede tamanho 38 μm . Pastilhas de KBr foram preparadas e o espectro obtido em uma faixa de 4000 a 400 cm^{-1} a 4 cm^{-1} de resolução e 128 scans.

4.4.7 Comportamento das membranas em água

As medidas de absorção de água foram feitas através de hidratação das membranas e sua pesagem. Amostras de aproximadamente 2 cm x 2 cm de dimensão foram secas em estufa à 40 °C por 16 h e submersas em água à temperatura ambiente (27 °C). Para facilitar no processo de pesagem das amostras, uma peneira de aço inox foi utilizada como suporte para a sua manipulação, garantindo sustentação suficiente para as membranas. As massas iniciais das amostras foram verificadas, e em seguida, imersas em água. As amostras foram mantidas submersas em água (sem agitação) por períodos determinados e retiradas para pesagem. O excesso de água na superfície das amostras foi retirado com papel toalha e em seguida, pesada em balança analítica com precisão 0,0001 g. A massa remanescente foi obtida submetendo a amostra a 40 °C por 16 h em estufa, para eliminação da água absorvida.

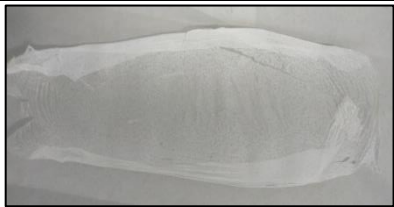
5. Resultados e Discussão

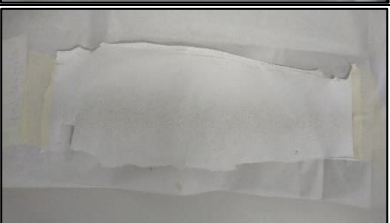
5.1 Morfologia das membranas microfibrosas

5.1.1 Estudo dos parâmetros para obtenção das fibras a partir da FSS

Uma das vantagens da técnica FSS, está na liberdade da mudança dos parâmetros de instrumentos (vazão, distância de trabalho e pressão) durante a realização do experimento. Por exemplo, para uma dada solução em determinada concentração, é possível variar os parâmetros de maneira rápida com o experimento em execução, até que se consiga obter ou não fibras (observação visual). A Tabela 2 apresenta as variações estudadas indicando ou não a presença de fibras. Ressalta-se que não foi possível obter fibras para solventes com proporção de 100 % de ácido acético (AA) e 70:30 v/v (AA: H₂O). Imagens das membranas obtidas para as variações em que foi possível obter fibras estão dispostas na Tabela 2.

Tabela 2 – Parâmetros variados durante o estudo de obtenção de fibras de GT a partir da técnica FSS com agulha de 22 G e as membranas formadas para cada combinação de parâmetros.

Solvente (v/v)	β (mL/h)	P (kPa)	d (m)	b (mm)	R (rpm)	Concentração de Gelatina (%)	Fibras
100:0 (AA:H ₂ O)	—	—	—	—	—	—	—
90:10 (AA:H ₂ O)	< 6,2	< 67	< 0,21	3,0 - 6,0	50 – 70	—	—
	6,2 - 8,1	67 – 200	0,21-0,30	3,0 - 6,0	50 – 70	15	
						20	
						25	

	> 8,1	> 200	> 0,30	3,0 - 6,0	50 – 70	—	—
80:20 (AA:H ₂ O)	< 6,2	< 67	< 0,21	3,0 - 6,0	50 – 70	—	—
						15	
	6,2 - 8,1	67 – 200	0,21-0,30	3,0 - 6,0	50 – 70	20	
						25	
	> 8,1	> 200	> 0,30	3,0 - 6,0	50 – 70	—	—
70:30 v/v (AA:H ₂ O)	—					15	
						20	
						25	

Fonte: Próprio autor.

5.1.2 Análise Subjetiva

Realizou-se uma avaliação subjetiva em que foram verificadas algumas características das membranas obtidas. Avaliou-se a homogeneidade das membranas levando-se em conta a quantidade de regiões contínuas, visíveis a olho nú e também de cores diferenciadas. Além disso, avaliou-se a manuseabilidade das membranas, em que se observaram riscos de ruptura ao serem manuseadas [80, 81]. Os resultados dessa avaliação encontram-se organizados na Tabela 3.

Tabela 3 - Resultados da avaliação subjetiva das membranas microfibrosas de GT.

Membranas avaliadas	*Característica	
	Homogeneidade	Manuseabilidade
90:10 - GT15	+	+
90:10 - GT20	+	+
90:10 - GT25	+	+
80:20 - GT15	++	+++
80:20 - GT20	++	+++
80:20 - GT25	++	+++
80:20 – GTExC	++	+++
80:20 – GTEx%AT	++	+++
70:30 (para todas as concentrações)	+	+
* +++ Excelente; ++ Boa; + Deficiente.		

Fonte: Próprio autor.

As membranas produzidas com solução na proporção 90:10 (AA:H₂O) não apresentaram as características descritas anteriormente. Observou-se a presença de grande quantidade de regiões contínuas ao longo das membranas, principalmente na região central da membrana. A região central mostrou-se mais escura do que o branco característico das membranas microfibrosas de GT. Por esse motivo, foram consideradas com homogeneidade deficiente. Foi necessário separá-las do coletor com o auxílio de uma pinça e espátula, de forma que não rasgassem durante o processo, pois apresentavam-se frágeis e de difícil

manipulação, sendo consideradas também deficientes no parâmetro manuseabilidade.

Com relação à homogeneidade, notou-se a presença de menores quantidades de regiões contínuas para as membranas produzidas a partir de solução com 80:20 (AA:H₂O). Essas gotas de solução encontravam-se mais concentradas na região central, mas não influenciaram de forma significativa nas características visuais percebidas ao longo da manta. Por esse motivo, foram classificadas com boa homogeneidade. No quesito manuseabilidade, as membranas foram retiradas com facilidade do coletor sem a necessidade de cuidados específicos. Mostraram-se de manuseio simples, podendo ser dobradas sem serem danificadas, portanto foram classificadas com excelente manuseabilidade.

Para aquelas produzidas com solução de 70:30 (AA:H₂O), notou-se elevada presença de regiões contínuas ao longo da membrana, o que deixava visualmente as membranas mais parecidas com um filme. Por esse motivo, foram classificadas com homogeneidade deficiente. Não foi possível separá-las do coletor, sendo classificadas também com manuseabilidade deficiente.

Para as membranas produzidas a partir da FSS com inserção de tensão e diferentes tratamentos térmicos (GTExT), utilizou-se soluções com 80:20 (AA:H₂O) e 20 % (m/v) de concentração de GT, devido à sua classificação quanto à homogeneidade e manuseabilidade. As membranas mantiveram-se classificadas com boa homogeneidade, de acordo com a presença de baixa quantidade de regiões contínuas na região central, que não prejudicaram de forma significativa na sua homogeneidade. Não houve mudanças aparentes em relação à manuseabilidade, mostrando-se de simples separação do coletor e de fácil manipulação. A adição de AT não alterou essas características das membranas.

Tendo em vista essa análise visual, adotou-se como parâmetros instrumentais utilizados para a obtenção das membranas fibrosas no decorrer deste estudo, os seguintes parâmetros: taxa de injeção (β): 8,1 mL/h; pressão do gás (P): 200 kPa; distância de trabalho (d): ~0.21 m; inserção da agulha da agulha (b): 6 mm; rotação do coletor (R): 70 rpm.

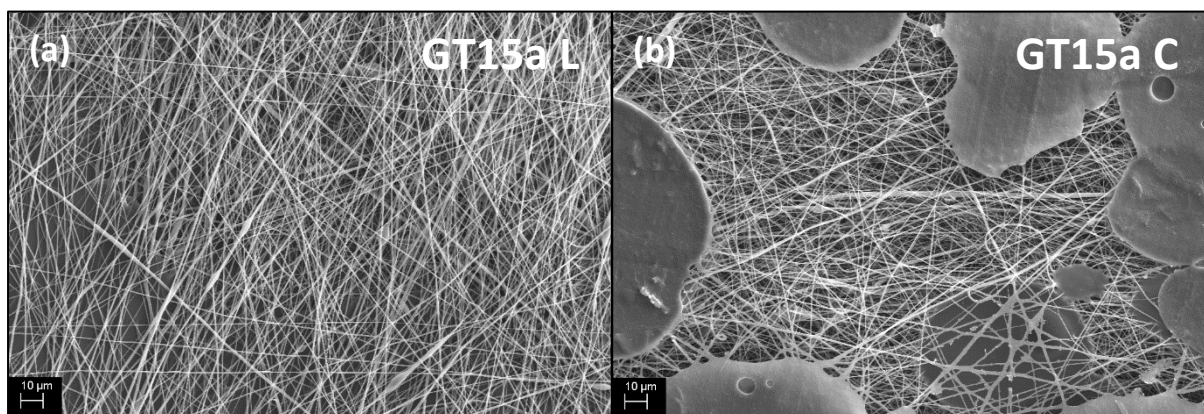
5.1.3 Influência do calibre da agulha e concentração polimérica na produção das microfibras

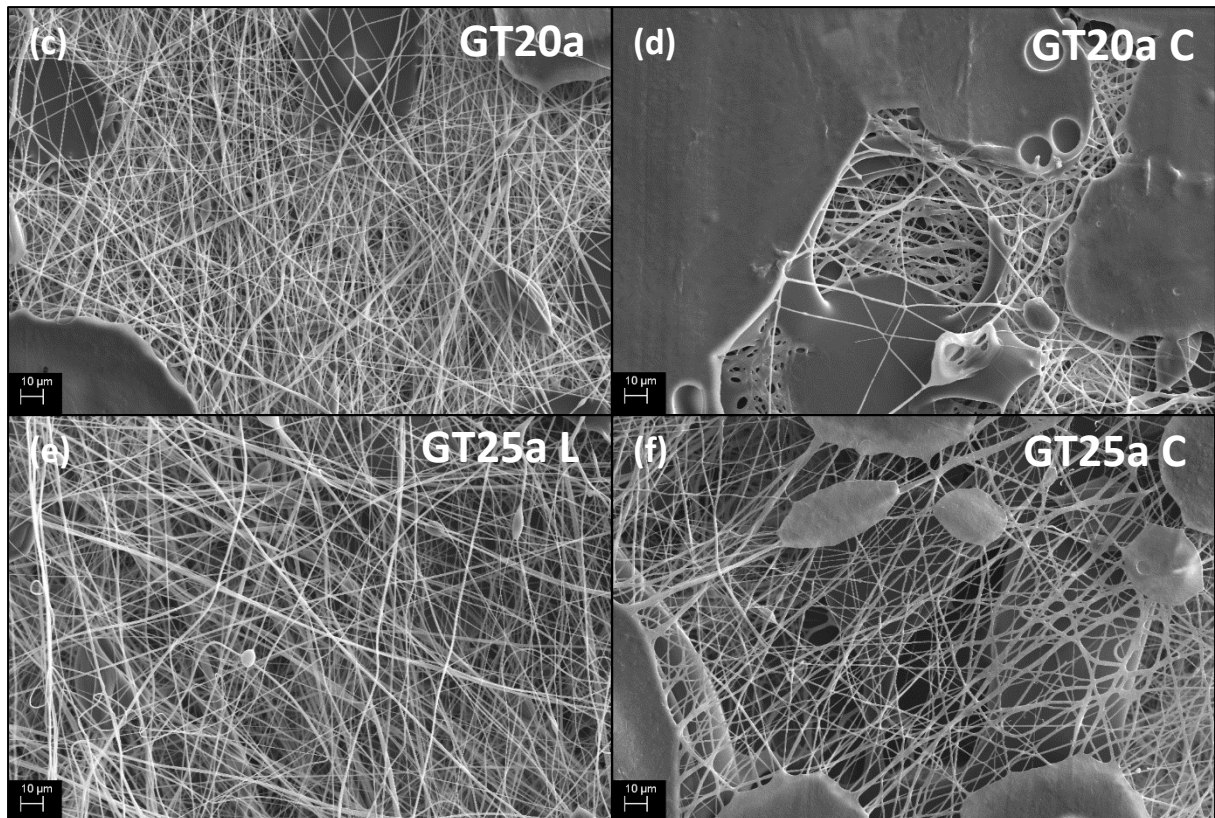
Para o estudo da influência do calibre da agulha na produção das microfibras de GT, foram utilizadas duas agulhas com calibre de 22 G e 25 G como bico ejetor de solução. Para cada calibre de agulha, foram produzidas amostras com concentrações de 15, 20 e 25 % (m/v). Notou-se durante a coleta das microfibras a presença de gotas na região central da manta, principalmente para a agulha de 22 G. Análises de MEV foram feitas em duas regiões distintas das membranas: próximas às bordas e próximas ao centro e estão apresentadas na Figura 9.

É possível notar a partir das micrografias das bordas das membranas, Figura 9(a), (c) e (e), a presença de microfibras em sua maioria lisas, espalhadas de forma homogênea e em direções aleatórias. Além disso, é possível notar a presença de algumas regiões contínuas na membrana GT20a, Figura 9(c), fato que ocorre por toda a extensão da manta.

Por outro lado, as micrografias retiradas do centro das membranas, Figura 9(b), (d) e (f), apresentam considerável quantidade de regiões contínuas depositadas com as microfibras. Essa diferença estrutural está relacionada com a quantidade de solução não estirada ao sair do bico da agulha.

Figura 9 – MEV das membranas microfibras de GT nas regiões central e lateral obtidas a partir da técnica FSS com agulha de 22G; (a) GT15a Lateral; (b) GT15a Centro; (c) GT20a Lateral; (d) GT20a Centro; (e) GT25a Lateral; (f) GT25a Centro; Ampliação de 1000 vezes.

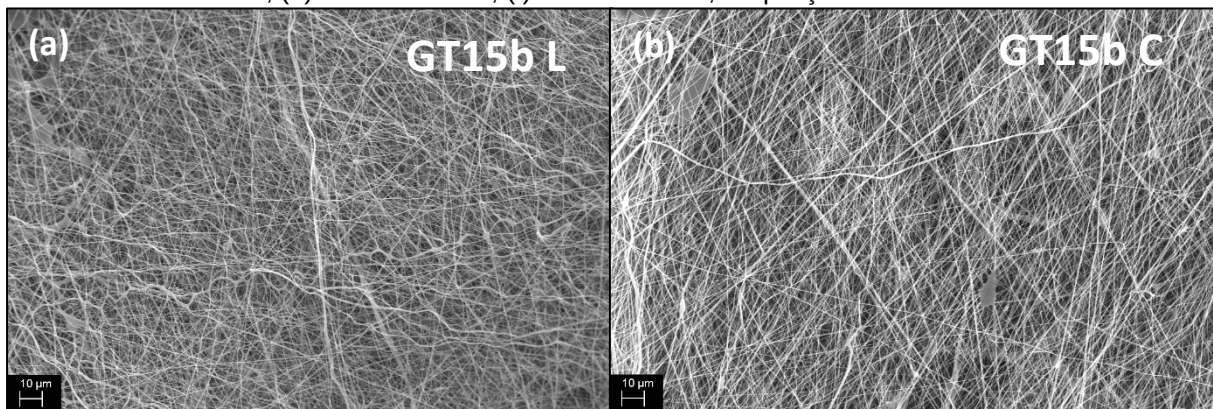


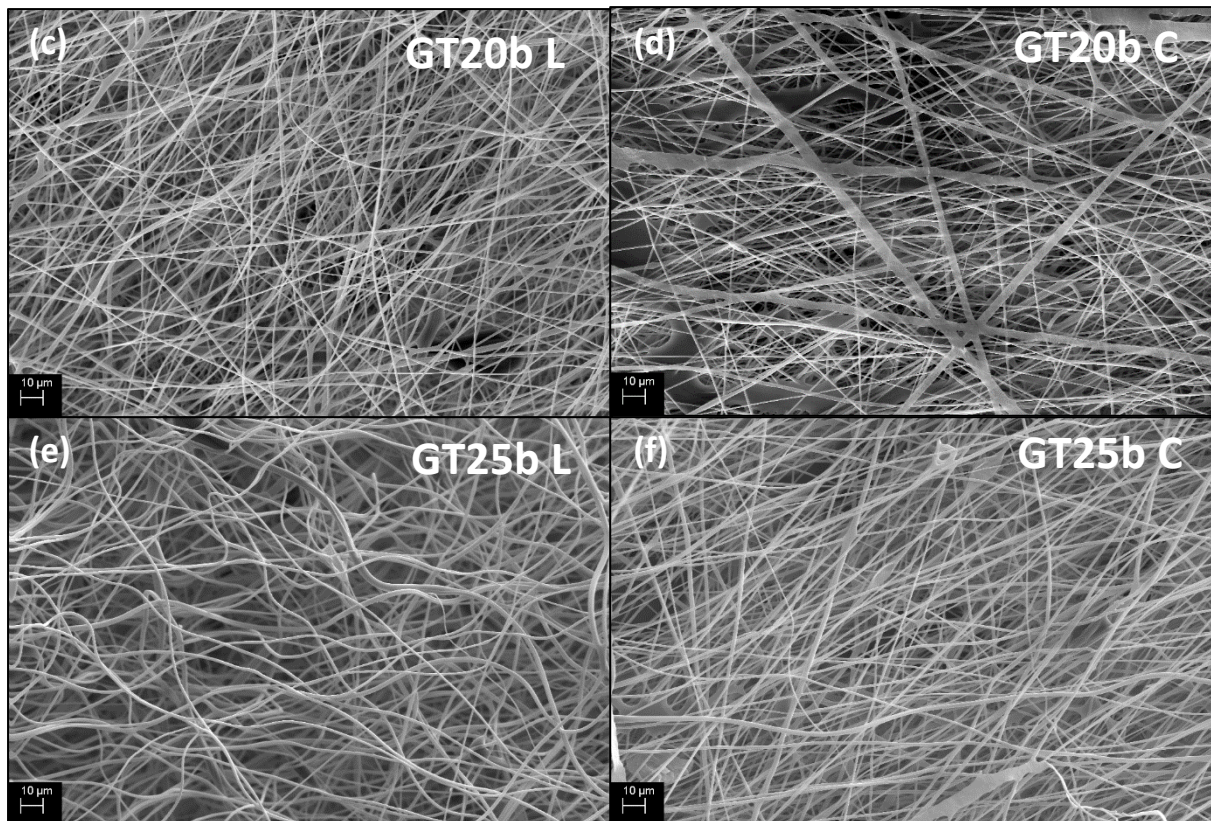


Fonte: Próprio autor.

Como pode ser observado a partir da Figura 10, é possível reduzir a deposição de regiões contínuas nas membranas quando utilizamos uma agulha de 25 G. As microfibras coletadas para a região central e lateral da manta se mostraram lisas, espalhadas de forma homogênea e sem uma direção preferencial. É possível observar a presença de algumas fibras mais grossas e achatadas na borda da amostra GT20b, Figura 10(d). Essa estrutura achatada de algumas fibras, pode ser resultado de jatos estirados que não secaram durante sua trajetória até o coletor.

Figura 10 - MEV das membranas microfibras de GT nas regiões central e lateral obtidas a partir da técnica FSS com agulha de 25 G; (a) GT15b Lateral; (b) GT15b Centro; (c) GT20b Lateral; (d) GT20b Centro; (e) GT25b Lateral; (f) GT25b Centro; Ampliação de 1000 vezes.





Fonte: Próprio autor.

Ao alterar o calibre da agulha de 22 para 25 G, estamos na realidade reduzindo o diâmetro da agulha na qual a solução é ejetada. O efeito dessa redução é um aumento na velocidade com que a solução sai da agulha, já que a taxa de ejeção é mantida, como pode se verificar pela equação da continuidade [82]:

$$Av = \text{constante} \quad (1)$$

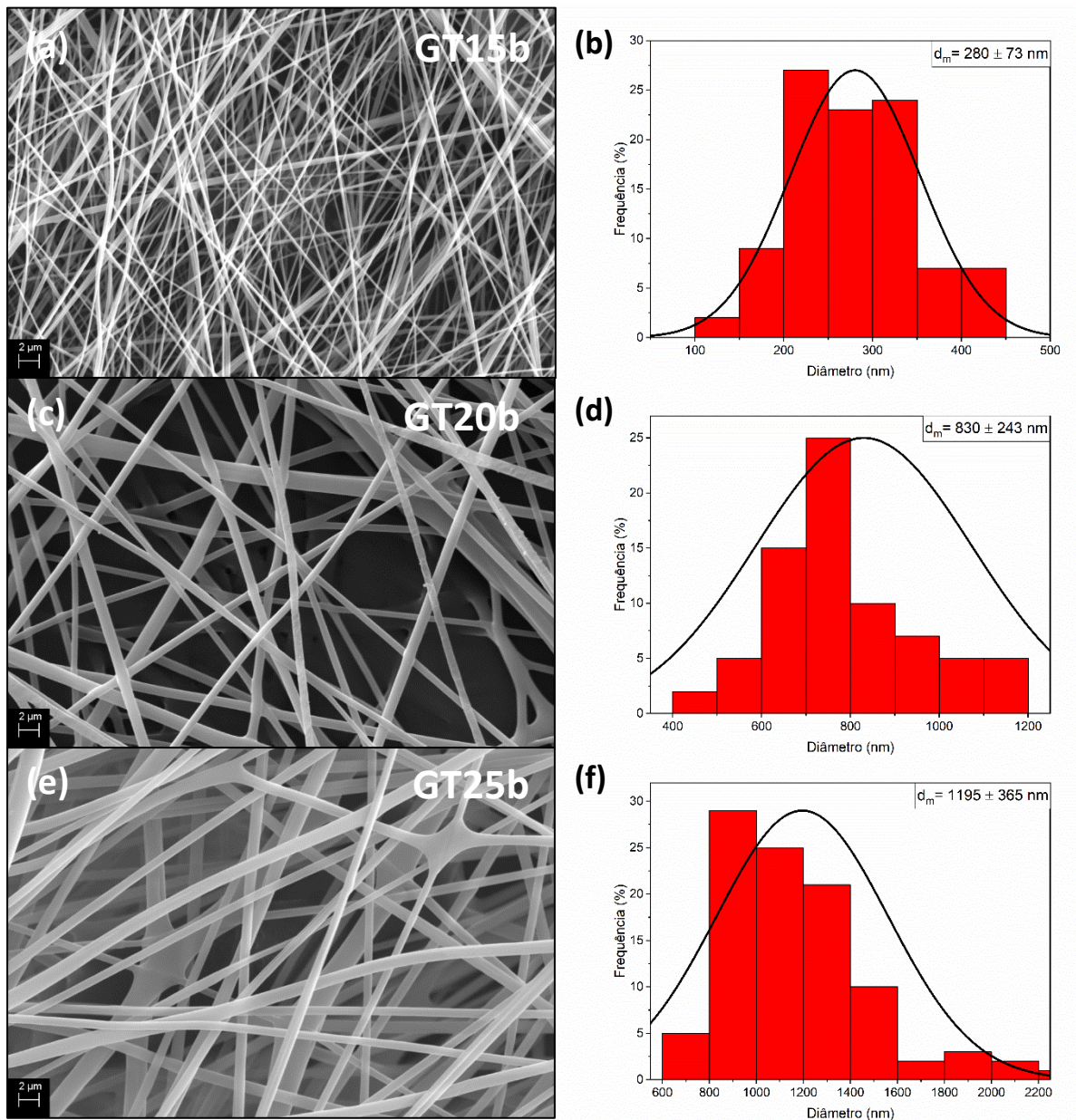
em que A é a área da secção transversal da agulha e v a velocidade do fluído. A redução do diâmetro facilita o estiramento da solução pela força de arraste. Isso pode estar relacionado com o fato da agulha de 25 G produzir membranas com menor quantidade de regiões contínuas em sua estrutura.

5.1.4 Influência da concentração de GT na morfologia das membranas

O estudo da influência da concentração de GT na morfologia das membranas microfibrosas foi avaliada para as membranas GT15b, GT20b e GT25b. A Figura 11 apresenta as micrografias das amostras obtidas de diferentes concentrações.

Também são apresentadas as distribuições de frequência dos diâmetros (DFD) das microfibras produzidas. Assim como descrito na seção anterior, as microfibras coletadas apresentam-se visualmente lisas, espalhadas de forma homogênea e aleatória ao longo da manta.

Figura 11 - MEV das microfibras de GT obtidas a partir da técnica FSS e suas respectivas distribuições de frequência dos diâmetros (DFD) das microfibras; (a) GT15b; (b) DFD – GT15b; (c) GT20b; (d) DFD - GT20b; (e) GT25b; (f) DFD - GT25b; Ampliação de 5000 vezes.



Fonte: Próprio autor.

Observa-se grandes diferenças entre o diâmetro das microfibras conforme a concentração aumenta. Essa observação é reforçada pelas distribuições de frequência dos diâmetros (DFD), traçadas para os diâmetros das microfibras presentes nas amostras, Figura 11(b), (d) e (f). Verifica-se que conforme aumentamos a concentração de GT, há um deslocamento no diâmetro médio das microfibras, com valores em 280 nm, 830 nm e 1195 nm para as amostras GT15b, GT20b e GT25b, respectivamente. Esses valores estão relacionados com o aumento da viscosidade de acordo com a variação da concentração da solução polimérica.

A viscosidade é um dos parâmetros relacionados às propriedades da solução polimérica que possuem forte influência na morfologia e na produção de microfibras, durante o processo de fiação. Sabe-se que a concentração da solução polimérica interfere em sua viscosidade e consequentemente, na fiação. Portanto, um aumento na concentração de gelatina, acarreta numa maior quantidade de cadeias em determinado volume, devido a redução nas distâncias intermoleculares da gelatina, dificultando o cisalhamento entre suas cadeias [10]. Portanto, o estiramento das cadeias poliméricas durante o processo de fiação torna-se mais difícil com o aumento na concentração da solução, aumentando assim o diâmetro das fibras com o aumento de sua viscosidade, como indicado na Tabela 4.

Tabela 4 - Diâmetro médio das microfibras produzidas e viscosidade da solução para diferentes concentrações.

Amostra	GT15b	GT20b	GT25b
Diâmetro médio (nm)	280 ± 73	830 ± 243	1195 ± 365
Viscosidade (Pa.s)	0,086 ± 0.002	0,279 ± 0.004	1,88 ± 0.02

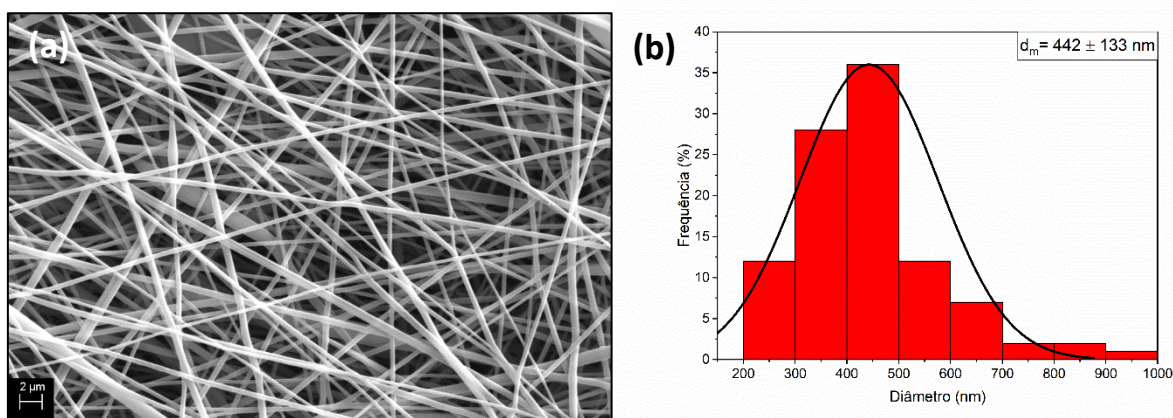
Fonte: Próprio autor.

5.1.5 Estudo da morfologia das microfibras produzidas utilizando a FSS com tensão aplicada (EF)

Durante o processo de fiação usando a técnica de FSS, observou-se que parte das microfibras eram espalhadas, não sendo coletadas pelo coletor. Visando aumentar a efetividade da coleta de microfibras, foram aplicadas diferentes tensões

entre a ponta de agulha de ejeção e o coletor. A tensão foi variada gradativamente durante o processo de fiação e verificou-se que em torno de 3,5 kV todas as fibras espalhadas se direcionavam para o coletor. Então, adotou-se esse valor de tensão para acoplar com o sistema de FSS. Os testes foram conduzidos somente para a concentração de 20 % (m/v) de GT. A Figura 12 apresenta a imagem de MEV da amostra obtida nessas condições e a distribuição de frequência dos diâmetros das microfibras coletadas. Observa-se (Figura 12 (a)) que as microfibras apresentam-se lisas, espalhadas de forma homogênea e aleatória, sem direção preferencial e sobrepostas em variados planos. A distribuição de frequência dos diâmetros (DFD) para a amostra coletada com o auxílio do EF mostra que o diâmetro das microfibras variam entre 200 e 1000 nm, sendo que o valor médio é de aproximadamente 442 nm. Por outro lado, para a amostra produzida sem o auxílio da EF, a faixa de diâmetros das microfibras foi de 400 à 1200 nm, com média em aproximadamente 830 nm. Percebe-se uma redução de aproximadamente 46 % no diâmetro médio para as microfibras coletadas.

Figura 12 – (a) Imagem MEV para microfibras obtidas a partir das técnicas FSS e EF (GTE30C); e (b) DFD – GTE30C; para a manta com 20% (m/v) de concentração de GT. Aumento de 5000 vezes.



Fonte: Próprio autor.

Esses resultados indicam que antes da inserção da tensão entre a agulha e o coletor para a fiação, as microfibras mais finas não eram coletadas. No processo de fabricação, as fibras mais finas são secas mais rapidamente e adquirem carga devido ao atrito com o ar e então sofrem repulsão entre si. Aplicando o campo elétrico essas fibras são então atraídas para o coletor melhorando a efetividade de produção. O campo elétrico gerado devido a aplicação da alta tensão não contribui

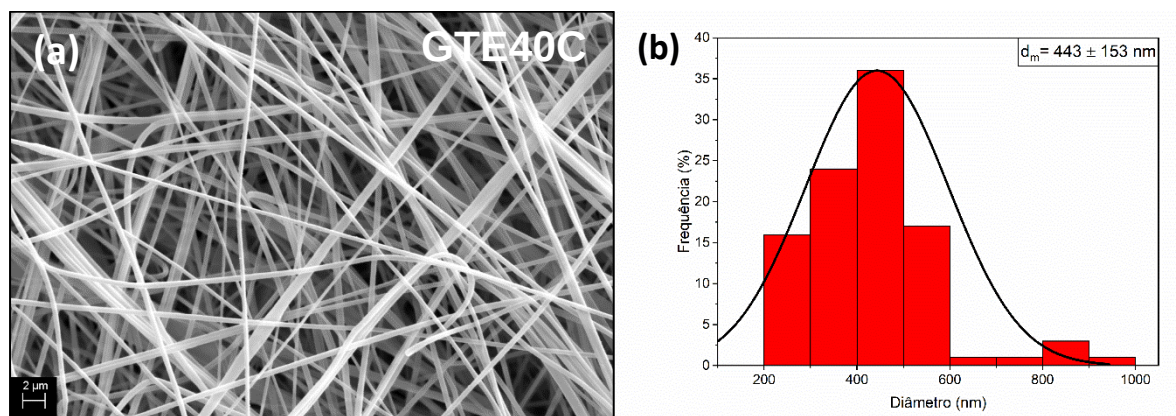
de forma significativa no estiramento das cadeias de GT, uma vez que removendo o fluxo de gás a solução não é arrastada em direção ao coletor.

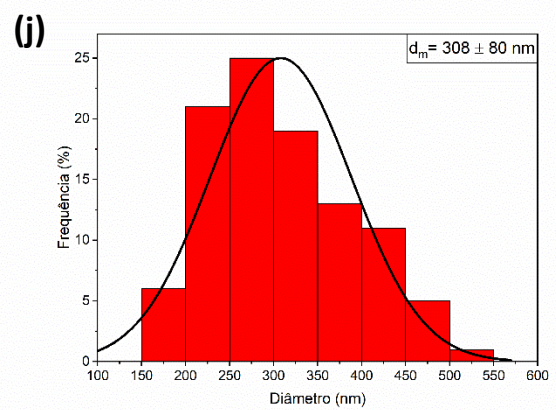
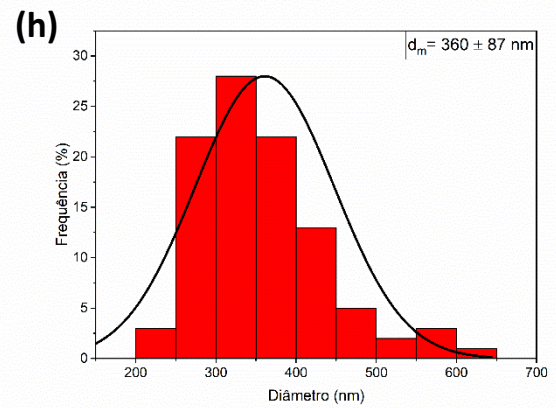
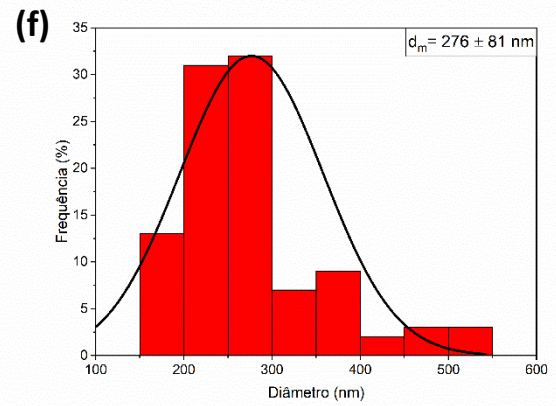
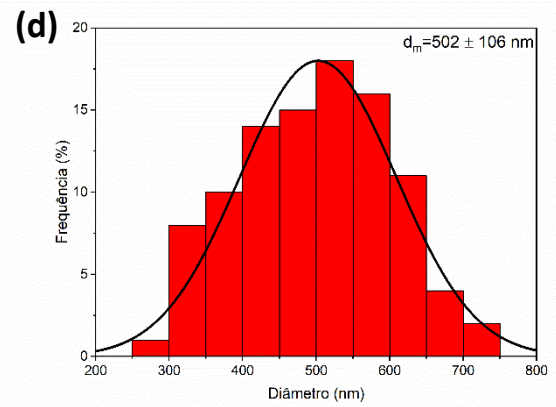
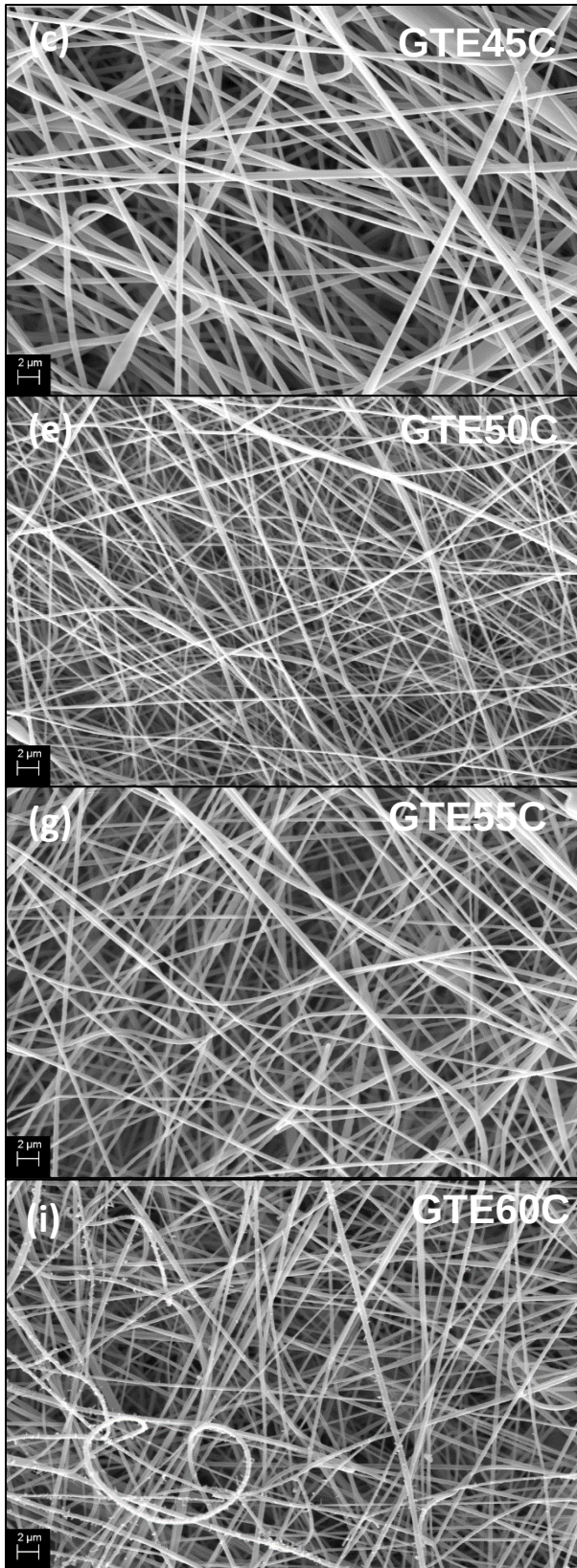
5.1.6 Estudo da morfologia das membranas para diferentes temperaturas em banho de ultrassom (US)

As imagens de MEV das amostras GTE40C, GTE45C, GTE50C, GTE55C e GTE60C, produzidas com soluções de GT previamente submetidas a banho de ultrassom em diferentes temperaturas durante 1 h, estão apresentadas na Figura 13, acompanhadas das suas respectivas distribuições de frequência de diâmetros das microfibras.

Verifica-se que o diâmetro médio das microfibras está na faixa entre 276 e 502 nm. Realça a diferença entre o diâmetro médio para as amostras tratadas em temperatura $T \leq 45\text{ }^{\circ}\text{C}$ para aquelas tratadas em $T \geq 50\text{ }^{\circ}\text{C}$. As distribuições referentes às amostras em $T \leq 45\text{ }^{\circ}\text{C}$ mostram valores do diâmetro médio das microfibras na faixa entre 443 e 502 nm (Figura 13 (b) e (d)). Em comparação, há uma redução para os valores apresentados nas distribuições das amostras tratadas em $T \geq 50\text{ }^{\circ}\text{C}$, que variam entre 276 e 360 nm e estão próximas, se considerarmos o intervalo da incerteza das medidas realizadas, como pode-se verificar na Figura 13(f), (h) e (j). Essa diferença pode estar associada com uma possível desnaturação devido ao tempo de exposição da gelatina em meio básico com temperatura, aumentando assim a mobilidade das cadeias.

Figura 13 – Imagens MEV para microfibras obtidas a partir das técnicas FSS e EF com diversas temperaturas em banho de US e suas respectivas distribuições de frequência dos diâmetros (DFD) das microfibras: (a) GTE40C; (b) DFD – GTE40C; (c) GTE45C; (d) DFD – GTE45C; (e) GTE50C; (f) DFD – GTE50C; (g) GTE55C; (h) DFD – GTE55C; (i) GTE60C; (j) DFD – GTE60C. Ampliação de 5000 vezes.





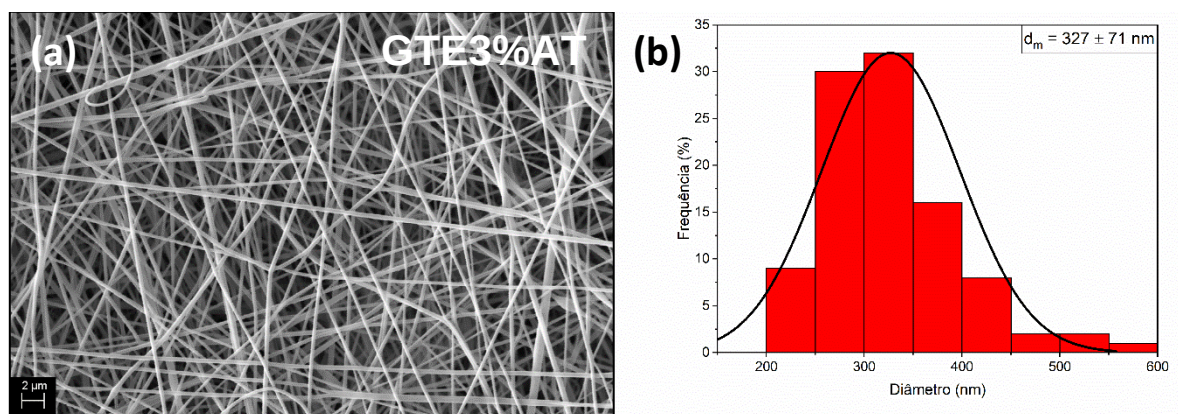
Fonte: Próprio autor.

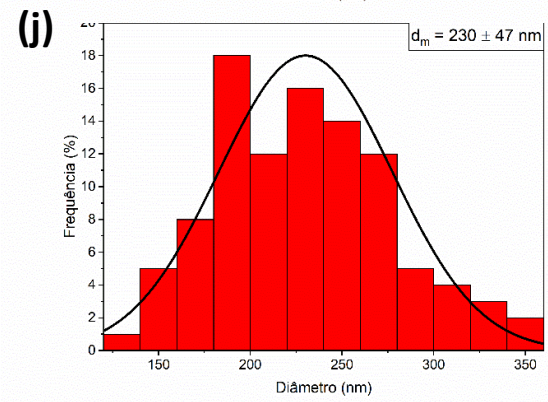
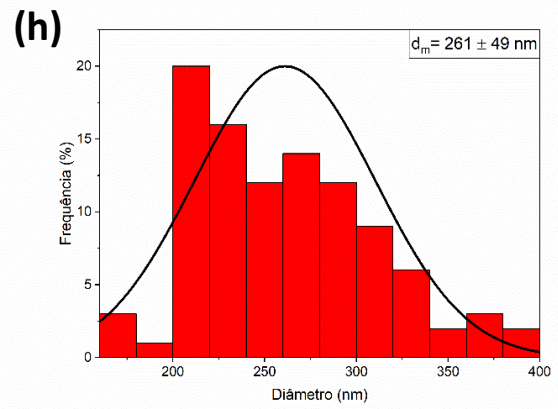
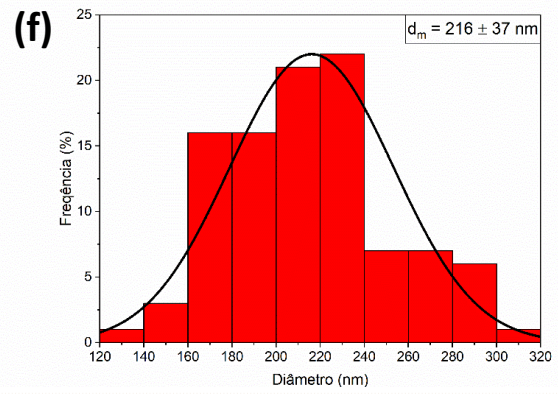
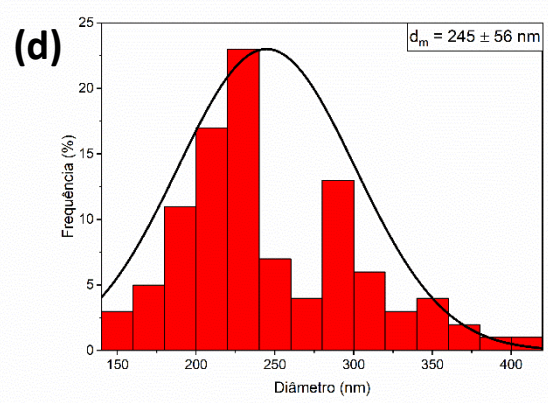
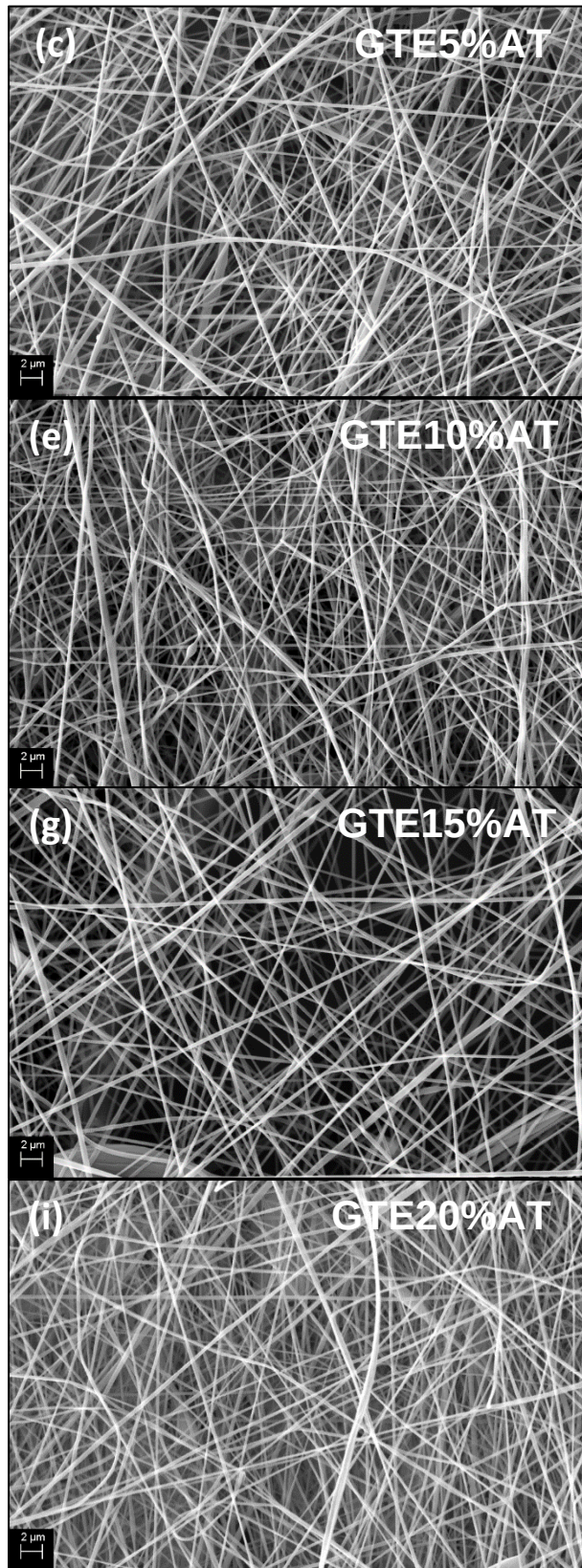
5.1.7 Estudo da morfologia das membranas reticuladas com AT

Torna-se necessário atentar-se à algumas propriedades que a gelatina possui e que podem se tornar fatores que prejudicam a qualidade das membranas para algumas aplicações. Por ser um material hidrofílico, as suas propriedades mecânicas são bastante afetadas na presença de umidade [10, 28, 83]. Uma das maneiras de alterar as propriedades mecânicas das membranas é realizar a reticulação de suas cadeias por meio de reticulantes. Na literatura encontram-se estudos em que se utilizam diferentes ácidos para reticulação [83, 84, 85, 86, 87] e entre eles se destaca o AT, principalmente por não ser tóxico [44]. Neste trabalho, microfibras de gelatina reticuladas com AT foram obtidas e sua morfologia investigada.

As imagens MEV para as amostras GTE3%AT, GTE5%AT, GTE10%AT, GTE15%AT e GTE20%AT, em que a concentração de AT foi variada, estão dispostas na Figura 14, acompanhadas das suas respectivas distribuições de frequência do diâmetro das microfibras. Verifica-se que as imagens mostram microfibras lisas, espalhadas de forma homogênea e em direções aleatórias em todas as micrografias. Verifica-se também que não houve um aumento do diâmetro das microfibras com o aumento da concentração do AT, o que parece ser contraditório uma vez que com o aumento do AT, a viscosidade deveria aumentar devido às reticulações. No entanto, como foi apresentado na Tabela 1, com o aumento da concentração de AT, diminui a concentração final da solução, compensando assim o aumento da viscosidade.

Figura 14 – Imagens MEV para as membranas microfibras de GT com diferentes concentrações de Ácido Tânico e distribuição de frequência dos diâmetros (DFD) das microfibras; (a) GTE3%AT; (b) DFD – GTE3%AT; (c) GTE5%AT; (d) DFD - GTE5%AT; (e) GTE10%AT; (f) DFD - GTE10%AT; (g) GTE15%AT; (h) DFD – GTE15%AT; (i) GTE20%AT; (j) DFD – GTE20%AT; Ampliação de 5000 vezes.



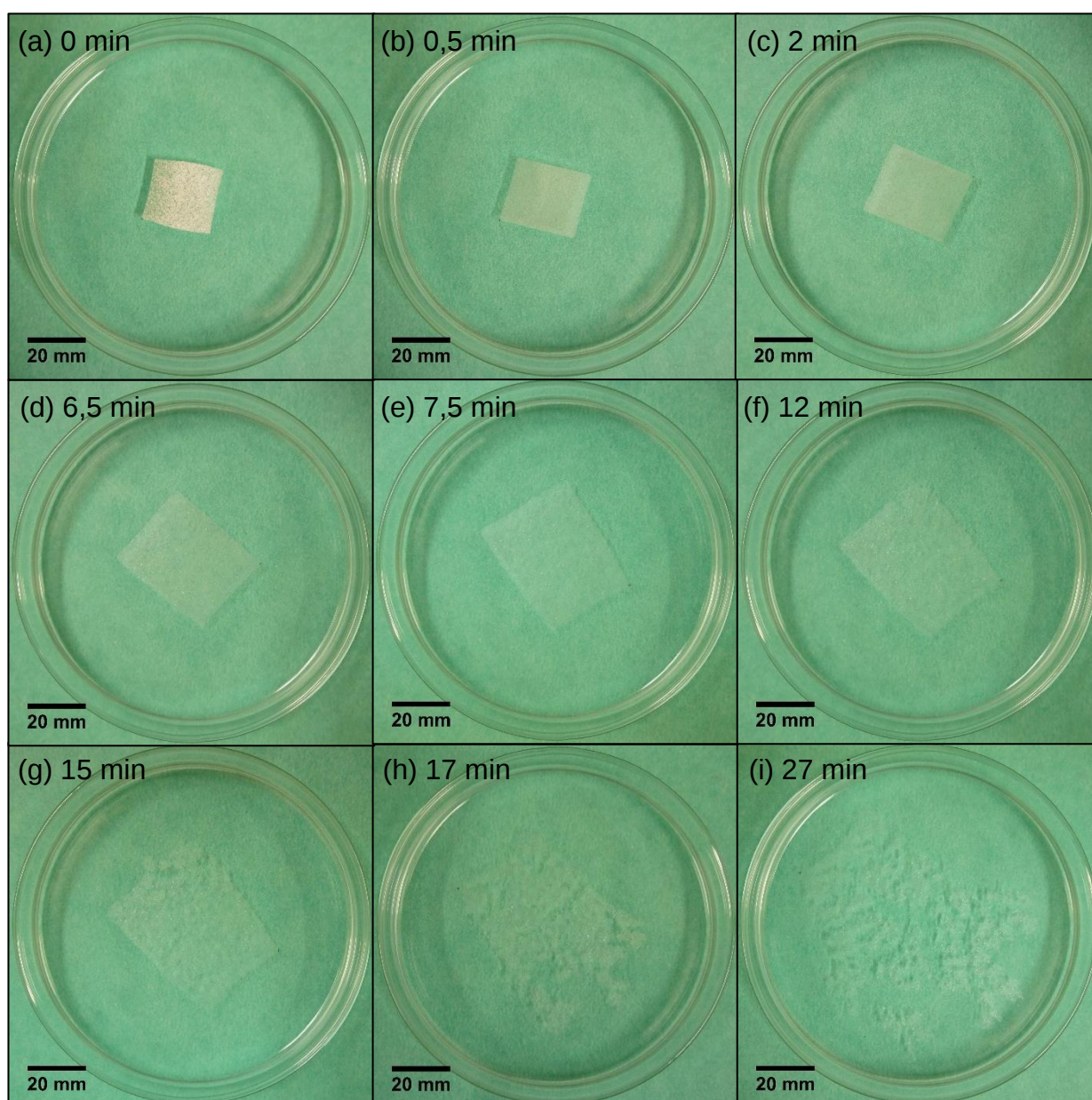


Fonte: Próprio autor.

5.2 Comportamento das membranas em água

Uma das formas de verificar a estabilidade das membranas expostas em ambientes com presença de água, foi observar seu comportamento em contato com água deionizada. A Figura 15 apresenta as imagens obtidas para uma membrana de GT (GTE50C) em contato com água deionizada com 0 min, 0,5 min, 2 min, 6,5 min, 7,5 min, 12 min, 15 min, 17 min e 27 min de exposição. As dimensões iniciais da membrana foram de 21 x 24 mm.

Figura 15 - Imagens da membrana GTE50C em água deionizada para diferentes tempos de exposição: (a) 0 min; (b) 0,5 min; (c) 2 min; (d) 6,5 min; (e) 7,5 min; (f) 12 min; (g) 15 min; (h) 17 min; (i) 27 min.



Fonte: Próprio autor.

A Figura 15(a) apresenta a membrana ainda seca em contato inicial com a água. Após 0,5 min, há um aumento nas dimensões da membrana e verifica-se uma mudança na sua cor, que vai de um branco opaco para uma coloração transparente, como pode-se observar a partir da Figura 15(b) e em tempos maiores de exposição. Verifica-se um aumento sucessivo da membrana de acordo com o aumento do tempo de exposição em água, como apresentado na Tabela 5. Esse aumento reflete a difusão das moléculas da água nas microfibras de gelatina, que tendem a inchar [88]. Aos 15 min de exposição (Figura 15(g)), a membrana atinge aproximadamente 38 x 49 mm e a partir de 17 min a manta já encontra-se deformada, como pode ser observado a partir da Figura 15(h) e (i). Com o aumento da absorção de água, ocorre uma consequente desintegração da gelatina inchada, ou seja, ocorre sua solubilização [88].

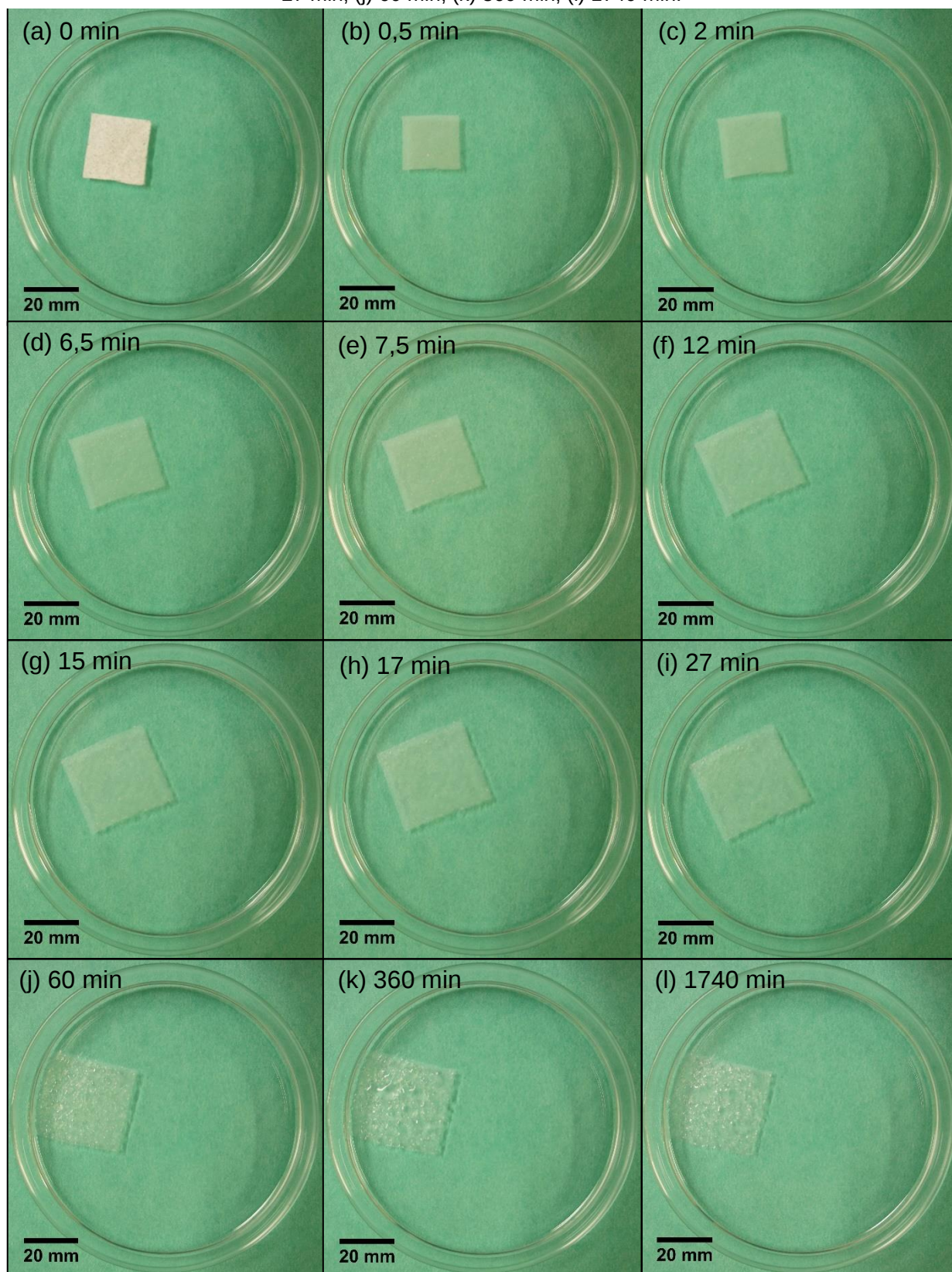
Tabela 5 - Dimensões das membranas em diferentes tempos de exposição em água.

		Tempo (min)	0	0,5	2	6,5	7,5	12
Dimensões (mm)	GTE50C		21 x 24	22 x 26	25 x 30	31 x 39	35 x 43	36 x 45
	GTE3%AT		22 x 23	19 x 21	22 x 23	26 x 29	26 x 29	29 x 32
		Tempo (min)	15	17	27	60	360	1740
Dimensões (mm)	GTE50C		38 x 49	—	—	—	—	—
	GTE3%AT		29 x 33	30 x 34	30 x 35	31 x 35	32 x 37	32 x 34

Fonte: Próprio autor.

Para averiguar se as membranas com AT se tornaram mais estáveis em contato com água, o mesmo estudo foi realizado para a amostra GTE3%AT. A Figura 16 apresenta os registros de imagens feitas para diferentes tempos de exposição da membrana em água com 22 x 23 mm. Observa-se que a partir de 0,5 min de exposição, (Figura 16(b)), a membrana adquire uma coloração transparente. A partir de 6,5 min (Figura 16(d)) nota-se um aumento no tamanho da membrana de 26 x 29 mm. Esse comportamento se mantém para tempos de exposição maiores na Figura 16(e), (f), (g), (h), (i), (j) e (k), chegando a um máximo de 32 x 37 mm nas suas dimensões. É importante notar que a amostra não se deforma, mesmo após 29 h de exposição em água, indicando maior estabilidade. As informações relacionadas às mudanças nas dimensões das membranas para os diferentes tempos de exposição em água estão organizados na Tabela 5.

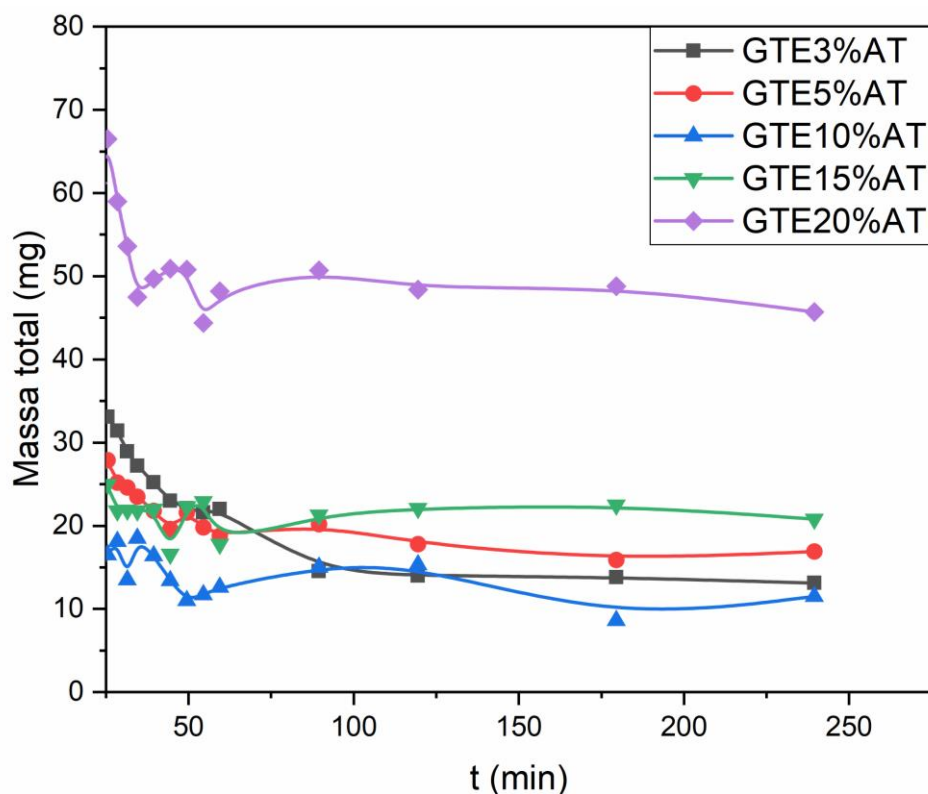
Figura 16 - Imagens da membrana GTE3%AT em água deionizada para diferentes tempos de exposição: (a) 0 min; (b) 0,5 min; (c) 2 min; (d) 6,5 min; (e) 7,5 min; (f) 12 min; (g) 15 min; (h) 17 min; (i) 27 min; (j) 60 min; (k) 360 min; (l) 1740 min.



Fonte: Próprio autor.

Em outro experimento, as amostras GTE3%AT, GTE5%AT, GTE10%AT, GTE15%AT e GTE20%AT, foram imersas em água deionizada (similar à Figura 15) e suas massas foram aferidas em diferentes tempos, como ilustra a Figura 17. Verifica-se que a massa resultante (gelatina contendo água) tende a um valor constante, indicando uma estabilização na perda de massa. Para averiguar a porcentagem de massa restante em relação à massa inicial, as amostras após estarem submersas por 240 minutos, foram então submetidas a 40 °C por 16 h em estufa, para a evaporação da água. As massas foram então aferidas (massa remanescente). Os resultados estão apresentados na Tabela 6, juntamente com a espessura das amostras e a massa inicial, antes de serem imersas na água. Observa-se que com o aumento da concentração de AT, ocorre um aumento na porcentagem da massa remanescente, atingindo o valor de aproximadamente 40 % (em relação à massa inicial) para a amostra GTE20%AT. Comparando as amostras GTE3%AT, GTE5%AT e GTE10%AT, verifica-se que a primeira foi que obteve maior porcentagem de massa remanescente. Esse resultado pode estar relacionado com a espessura das amostras. Verifica-se que a amostra GTE3%AT é a mais espessa. Em uma comparação com as amostras com espessura próximas, observa-se um nítido aumento da massa remanescente, indicando a ocorrência da reticulação. Outra observação a ser feita em relação à perda de massa das amostras, é que na Figura 16(k), após 360 min de contato com a água, a amostra aparenta não ter perdido massa, ou seja, que a gelatina não tinha sido dissolvida. Isto ocorre porque a membrana estava em repouso. Para os dados da Figura 17, as membranas eram retiradas da água para pesagem, promovendo assim a agitação da água e como consequência, colaborando com o “desmanche” das membranas.

Figura 17 - Variação da massa total das membranas com diferentes concentrações de AT submersas em água para diferentes tempos de exposição.



Fonte: Próprio autor.

Tabela 6 - Comportamento das membranas com diferentes concentrações de AT submersas em água para o mesmo tempo de exposição.

Amostras	GTE3%AT	GTE5%AT	GTE10%AT	GTE15%AT	GTE20%AT
Massa inicial (mg)	10,9	12,2	10,1	11,0	14,5
Massa final seca (mg)	1,5	1,3	1,0	2,0	5,9
Massa remanescente (%)	13,8	10,6	9,9	18,2	40,7
Expressura (µm)	45 ± 4	39 ± 4	36 ± 3	35 ± 7	38 ± 4

Fonte: Próprio autor.

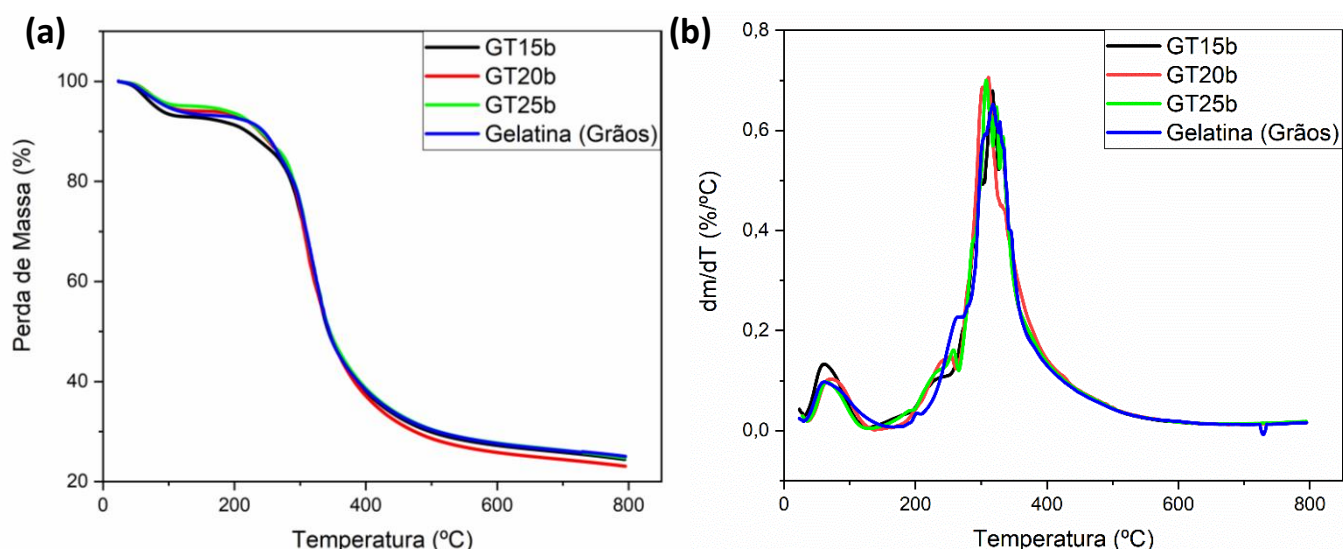
5.4 Análises térmicas

5.4.1 TG/DTG

A Figura 18 representa as curvas TG e DTG obtidas para as amostras GT15b, GT20b e GT25b, produzidas utilizando a FSS, condicionadas em temperatura de 20 °C e umidade relativa de aproximadamente 45 % por 20 h. Também é apresentada a curva de TG para a gelatina na forma de grãos, como recebida. É possível observar a presença de três estágios de perda de massa. A primeira está localizada em um intervalo entre 30 e 160 °C e está relacionada à evaporação de água presente nas amostras, adsorvida durante a manipulação e obtenção, devido às condições de armazenamento empregadas [89, 90, 91]. Isso ocorre devido ao caráter altamente hidrofílico apresentado pela gelatina [90]. Nota-se que a perda de água das membranas sofre uma redução de acordo com o aumento no diâmetro das microfibras. Foram registradas, perdas de água de aproximadamente 6,8 %, 5,8 % e 4,7 % para as membranas GT15b, GT20b e GT25b, respectivamente. Essa redução se relaciona com a dificuldade de difusão da água nas microfibras, que se torna maior para diâmetros maiores.

Classifica-se que ligações entre moléculas de água e proteínas podem ser divididas em três diferentes formas, de acordo com seu estado. Primeiro, pode estar classificada como ligações intramoleculares de hidrogênio, que desempenham um papel importante na estabilização da proteína. Segundo, pode estar ligada às proteínas em forma de ligações de hidrogênio e, tratam-se de moléculas de água absorvida por grupos polares de macromoléculas de colágeno e gelatina. Essas ligações estão localizadas fora da estrutura helicoidal. Terceiro, água absorvida pelas proteínas que resultam em camadas polimoleculares [89, 92]. A Tabela 7 apresenta os valores da perda de massa em cada evento e o resíduo final das quatro amostras.

Figura 18 - Curva TG/DTG das membranas microfibrosas para diferentes concentrações de GT e GT em grãos; (a) TG; (b) DTG.



Fonte: Próprio autor.

O segundo estágio está localizado entre 160 e 260 °C e pode estar relacionado com a degradação da proteína [89, 93]. Verifica-se que a perda de massa para esse evento tende a aumentar conforme aumentamos a concentração de gelatina, com valores que vão de 6,1, 7,4 e 8,7 %. O terceiro evento de degradação pode ser atribuído à decomposição térmica da gelatina [89, 90] entre o intervalo de 260 e 550 °C. O resíduo final das amostras permanece no intervalo entre 23,2 e 24,8 %, o que está de acordo com a literatura [94]. Como resultado da alta temperatura do tratamento, esses resíduos correspondem a uma parcela de materiais inorgânicos, que permanecem misturadas com a gelatina mesmo após o processo de extração.

A curva do termograma obtida da gelatina em forma de grãos apresentou o mesmo perfil das curvas obtidas das membranas fiadas, apresentando os três principais estágios de perda de massa.

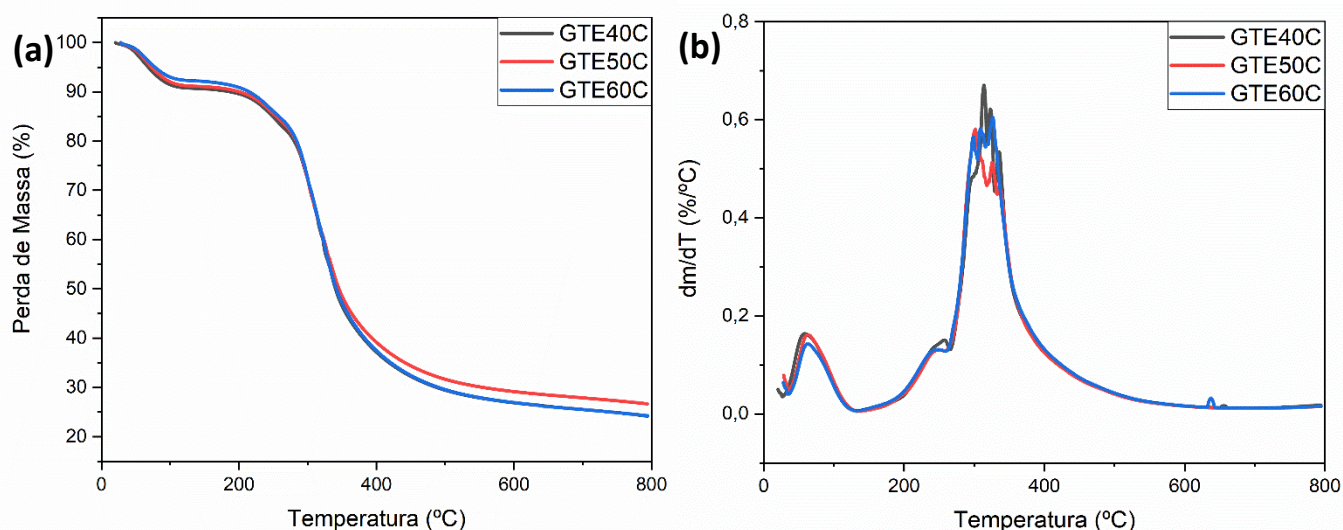
Tabela 7 – Perda de massa e resíduo final das amostras de GT15b, GT20b e GT25b.

Amostras	GT15b	GT20b	GT25b	Gelatina (Grãos)
Ev. 1 (%)	6,8	5,8	4,7	6,5
Ev. 2 (%)	6,1	7,4	8,7	9,0
Ev. 3 (%)	58,2	59,8	57,5	56,7
Resíduo final (%)	24,6	23,2	24,8	25,1

Fonte: Próprio autor.

A Figura 19 apresenta as curvas TG e DTG obtidas para as amostras GTE40C, GTE50C E GTE60C. É possível observar a presença de três faixas de perda de massa. A primeira está localizada em um intervalo entre 30 e 130 °C. Como visto anteriormente, esse pico refere-se à evaporação de água presente nas membranas [89, 90, 91]. Destaca-se aqui que os valores encontrados nesse primeiro estágio são maiores que 31 % em relação aos valores encontrados para as amostras obtidas sem o uso de EF. Esta diferença está associada ao fato de que usando o EF em associação com FSS, ocorre também a coleta de fibras mais finas (item 5.1.4) e consequentemente maior é a absorção de água devido a maior área de contato.

Figura 19 - Curva TG/DTG das membranas microfibrosas de GT para diferentes temperaturas em banho de US; (a) TG; (b) DTG.



Fonte: Próprio autor.

O segundo evento de perda de massa encontra-se no intervalo entre 160 e 260 °C, e refere-se à degradação das proteínas. O terceiro evento localiza-se no intervalo entre 260 e 550 °C e está relacionada com a decomposição térmica das proteínas. Finalmente, o resíduo final não apresentou uma variação ou tendência considerável em relação ao tempo de banho de ultrassom e com a adição da técnica EF.

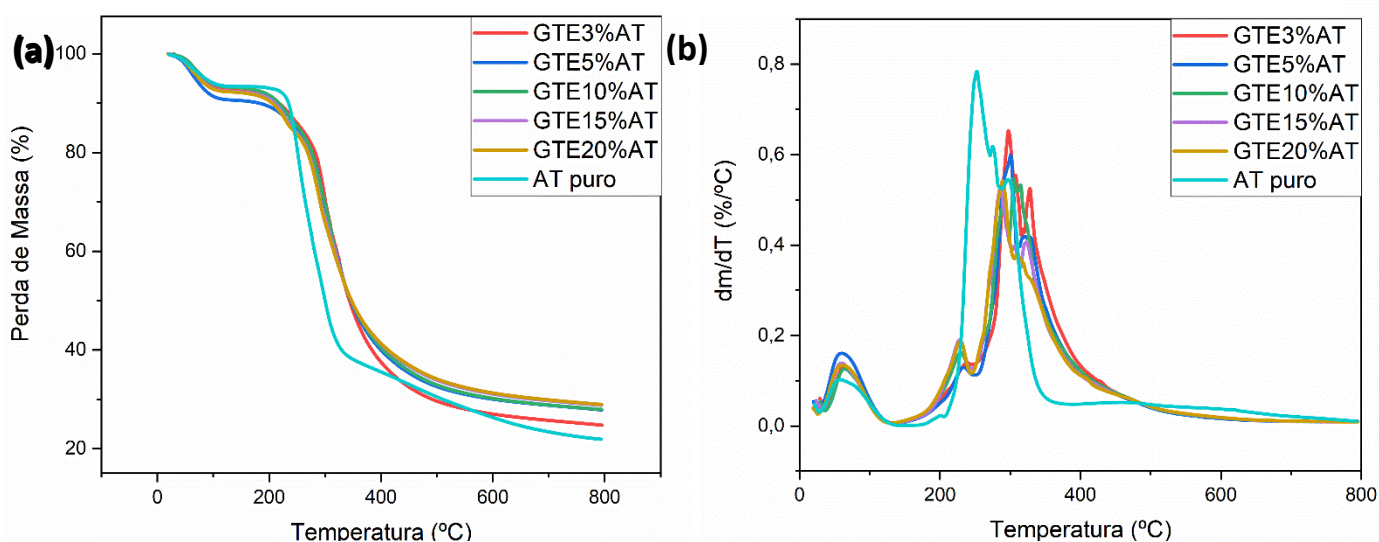
Tabela 8 - Perda de massa e resíduo final das amostras GTE40C, GTE50C E GTE60C.

Amostras	GTE40C	GTE50C	GTE60C
Ev. 1 (%)	8,9	8,3	7,2
Ev. 2 (%)	7,0	6,7	7,8
Ev. 3 (%)	54,6	57,7	56,8
Resíduo final (%)	24,2	26,7	24,3

Fonte: Próprio autor.

As curvas de TG e DTG obtidas para as membranas reticuladas com AT e AT puro encontram-se na Figura 20. A curva TG para o AT puro apresenta três principais eventos de perda de massa. A primeira em torno de 6,3 % no intervalo entre 28 e 140 °C, atribuída à etapas preliminares de oxidação e à saída de voláteis do AT [95 , 96]. O segundo evento entre 207 e 286 °C com perda de massa de aproximadamente 35,5 % atribuída à despolimerização do AT. O terceiro evento localiza-se entre 286 e 382 °C com pico em 296 °C, com aproximadamente 34,5 % de perda de massa, representa a degradação do material [96]. O resíduo final, composto por carbono [96], está em torno de 21,9 %, valor próximo de estudos encontrados na literatura para análises de TG para o AT, sob atmosfera de nitrogênio.

Para as membranas reticuladas com o AT, observa-se o mesmo comportamento das curvas vistas anteriormente para as membranas somente com GT: três eventos de perda de massa. O primeiro evento localiza-se entre 36 e 139 °C, indicando evaporação de água da amostra. O segundo intervalo de perda de massa está entre 145 e 265 °C e refere-se à degradação da proteína.

Figura 20 - Curva TG/DTG das membranas microfibras de GT para diferentes concentrações de AT; (a) TG; (b) DTG.

Fonte: Próprio autor.

O terceiro evento entre 265 e 650 °C, com perda de massa entre 53,9 à 60,8 % (Tabela 9) é atribuída a decomposição térmica da gelatina. Verifica-se um aumento do resíduo final das amostras com o aumento da concentração de AT, atingindo cerca de 29 %. Altas temperaturas podem promover reações de reticulação entre grupos de hidroxila e ácido carboxílico, formados pela divisão da cadeia polifenólica [44, 97], o que pode levar a um aumento no resíduo final.

Tabela 9 - Perda de massa e resíduo final das membranas de GT com 3, 5, 10, 15 e 20 % de AT.

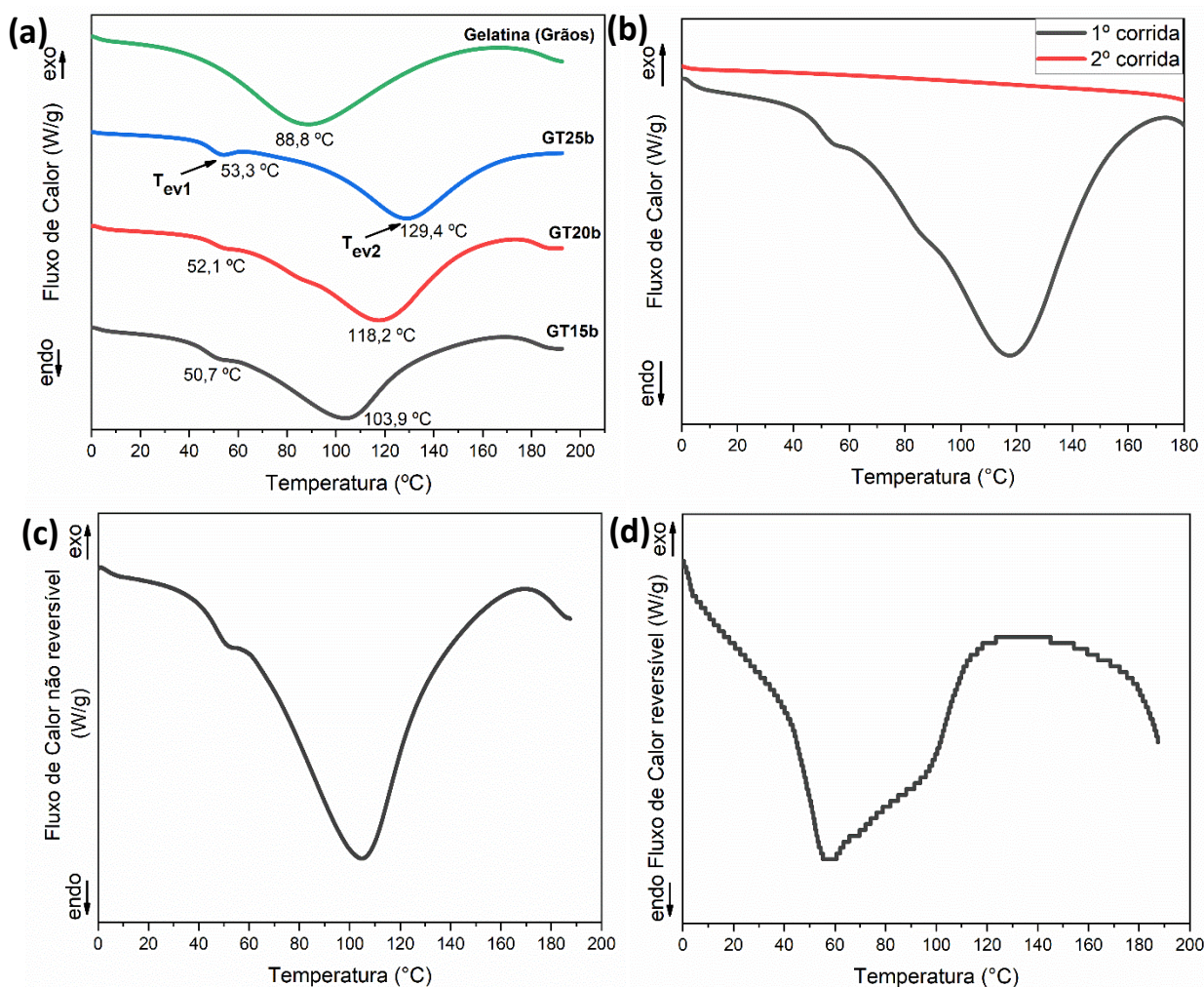
Amostras	GTE3%AT			GTE5%AT			GTE10%AT		
Eventos	1º ev.	2º ev.	3º ev.	1º ev.	2º ev.	3º ev.	1º ev.	2º ev.	3º ev.
Perda de massa (%)	6,4	6,8	60,8	9,0	6,3	54,8	6,8	7,3	55,6
Resíduo final (%)		24,8			27,9			28,1	
Amostras	GTE15%AT			GTE20%AT			AT puro		
Eventos	1º ev.	2º ev.	3º ev.	1º ev.	2º ev.	3º ev.	1º ev.	2º ev.	3º ev.
Perda de massa (%)	7,2	7,9	54,8	7,5	7,9	53,9	6,3	35,5	34,5
Resíduo final (%)		28,9			29,0			21,9	

Fonte: Próprio autor.

5.4.2 DSC

As análises de DSC foram realizadas para as amostras GT15b, GT20b e GT25b. Também é apresentada a curva de DSC para a gelatina na forma de grão, como recebida. As curvas obtidas são apresentadas na Figura 21. Adicionalmente é apresentando a curva de fluxo de calor não reversível, Figura 21(c), e reversível, Figura 21(d), para a amostra GT15b. Analisando as curvas de DSC apresentadas na Figura 21(a), observa-se a presença de dois eventos endotérmicos, relativos ao primeiro ciclo de aquecimento realizado para as amostras fiadas.

Figura 21 - Curvas de DSC das membranas microfibrosas obtidas de diferentes concentrações de GT; (a) 1ª corrida; (b) 1ª e 2ª corrida (somente para a amostra GT20b). Os termogramas no modo modulado (c) reversível e (d) não reversível, são referentes a amostra GT15b e foram obtidos nas seguintes condições: $\pm 1,00^\circ\text{C}$ e 60s de amplitude e período de modulação, respectivamente.



Fonte: Próprio autor.

O primeiro evento (T_{ev1}), observado em torno de 50 °C, trata-se da superposição de processos reversíveis e irreversíveis, como ilustram as Figura 21(c) e (d). Foi possível observar por meio da curva reversível a presença de um evento característico de T_g , que se encontra sobreposto a eventos entálpicos (curva irreversível), como possíveis transições da estrutura tripla hélice para a estrutura helicoidal, previamente reestabelecidas [98]. Essa transição se caracteriza pela quebra de ligações de hidrogênio presentes na estrutura tripla hélice [98, 99]. Há um aumento nos valores de T_{ev1} identificados nas curvas DSC para as amostras GTE15b, GTE20b e GTE25b, que vão de 50,7 °C, 52,1 °C e 53,3 °C, respectivamente. Percebe-se que as amostras com maiores concentrações de água, apresentaram menores valores para a T_{ev1} , e isso está de acordo com o efeito plastificante que a água causa na matriz [98, 100].

A temperatura associada ao segundo evento endotérmico (T_{ev2}) presente nas curvas DSC está relacionado com o diâmetro das microfibras, com picos nas temperaturas de 103,9, 118,2 e 129,4 °C para as amostras GT15b, GT20b e GT25b, respectivamente, como pode ser observado na Figura 21(a). Tratam-se de picos que abrangem uma larga faixa de temperatura e podem estar relacionados com a sobreposição de alguns eventos térmicos, bem como a evaporação de água [100, 101, 102, 103] e o processo contínuo de fusão e de recristalização de pequenos e imperfeitos cristalitos de gelatina [102]. Também é possível notar que o T_{ev2} tende a se sobrepor sobre os picos de T_{ev1} e esse comportamento pode ser explicado pela concentração de água presente nas amostras. Aquelas com menores diâmetros revelaram maiores concentrações de água, devido à maior área de contato.

Percebe-se que os valores crescentes do diâmetro das microfibras foram seguidos de um aumento nas temperaturas do T_{ev2} . Esse comportamento relaciona-se com o fato de a difusão da água ser dificultado conforme aumenta-se o diâmetro das microfibras. A segunda curva de aquecimento não apresentou nenhum evento térmico e apenas a curva obtida para a amostra GT20b de concentração está representada na Figura 21(b). Isso ocorre devido a total fusão dos cristalitos de gelatina e evaporação da água na primeira rampa de aquecimento [98].

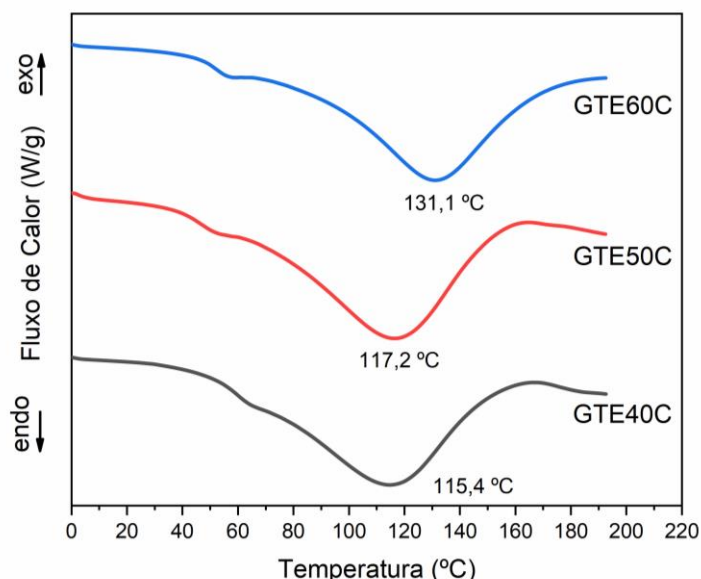
A curva de DSC obtida dos grãos, apresentou apenas um evento endotérmico em torno de 88,8 °C. Este evento está relacionado com a superposição de eventos térmicos associado a transições da estrutura tripla hélice para a estrutura helicoidal, evaporação de água e fusão de estrutura molecular ordenada ou agregada. A

diferença de temperatura em relação às das membranas fiadas é atribuído à maior quantidade da tripla hélice existente na gelatina na forma de grãos. Para obter as membranas fiadas, a gelatina na forma de grão é dissolvida em ácido acético, o que pode levar a um grau maior de desnaturação.

A Figura 22 representa as curvas obtidas para as amostras GTE40C, GTE50C e GTE60C. Nota-se a presença de dois picos endotérmicos, característicos da gelatina utilizada. Há uma ordem crescente na temperatura do valor máximo do segundo evento (T_{ev2}), que segue o aumento da temperatura de tratamento em banho de ultrassom. Essa variação apresenta seu menor valor em 115,4 °C para a amostra tratada à 40 °C, 117,2 °C para a amostra GTE50C e 131,1 °C para a amostra GTE60C.

O aquecimento durante o banho de ultrassom pode levar à desnaturação das ligações em tripla hélice de colágeno remanescentes, as quais ocorrem com maior facilidade a temperaturas acima da temperatura do primeiro evento. Ao resfriar, essas cadeias de gelatina podem se reassociar em novas estruturas tripla hélice [104], deslocando então o pico do segundo evento para maior temperatura.

Figura 22 - Curvas DSC das mantas microfibras para temperatura em banho de ultrassom com 40, 50 e 60 °C e concentração da solução de 20%.

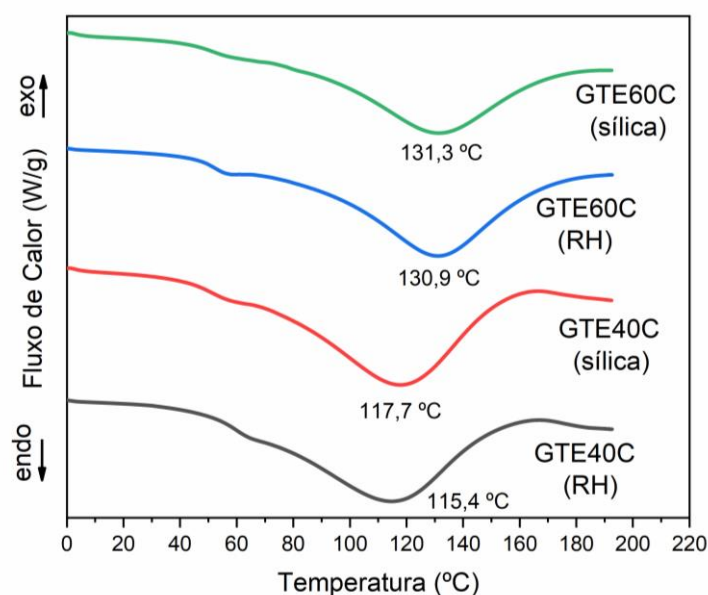


Fonte: Próprio autor.

As curvas DSC apresentadas na Figura 23 foram obtidas a partir das membranas GTE40C e GTE60C em banho de ultrassom, condicionadas de formas

distintas. Em ambiente com UR controlada de 45 % e temperatura de 20 °C, cada amostra permaneceu por 20 h antes da realização dos testes. Para comparação, amostras das mesmas membranas foram condicionadas a 20 °C em dessecador contendo sílica, pelo mesmo período. Observa-se os dois eventos endotérmicos característicos para o material em todas as curvas obtidas. Verifica-se, Figura 23, que as amostras condicionadas em 45 % de UR, mostraram que o pico do segundo evento endotérmico ocorreu para temperaturas menores, em relação ao das amostras armazenadas em dessecador. Para as membranas produzidas a partir do tratamento a 40 °C da solução em banho de US, a amostra condicionada em umidade mostrou pico em 115,4 °C, enquanto a amostra condicionada em dessecador apresenta pico em 117,7 °C. Já para as membranas produzidas a partir do tratamento a 60 °C da solução em banho de US, a amostra armazenada em umidade apresentou pico em 130,9 °C e a amostra armazenada em dessecador, 131,3 °C. Essa diferença pode estar relacionada com a maior concentração de água presente nas amostras expostas em UR, já que a evaporação de água das membranas está presente no intervalo em que localiza-se esse evento endotérmico [100, 101, 102].

Figura 23 - Curvas DSC das mantas microfibrosas GTE40C e GTE60C, condicionadas por 20 h em 45 % de UR em dessecador contendo sílica.

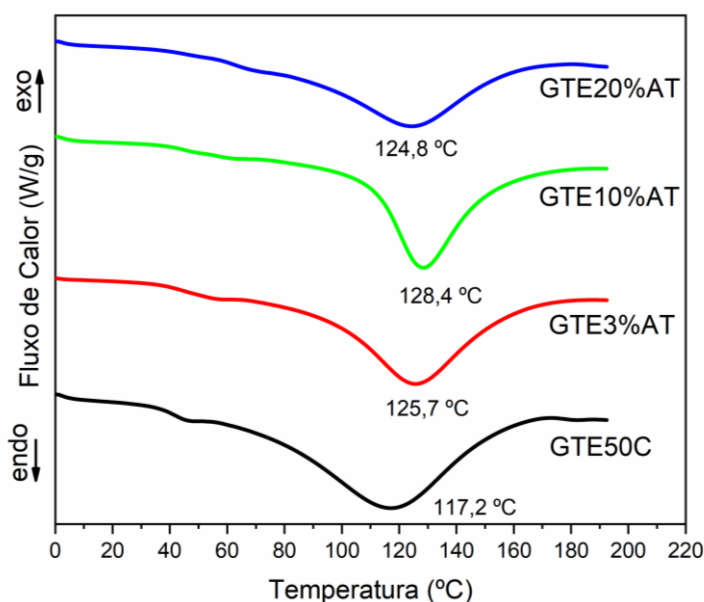


Fonte: Próprio autor.

A Figura 24 representa a primeira curva de DSC obtida para as amostras GTE50C e GTE3%AT, GTE10%AT e GTE20%AT. Observa-se que a adição de AT

provocou um deslocamento no segundo evento endotérmico para maiores temperaturas. Ao contrário da temperatura, a entalpia (ΔH_m) apresenta uma redução, conforme aumenta-se a concentração de AT de 3 % para 20 %. Um resumo desses resultados está apresentado na Tabela 10. Resultado semelhante foi obtido por Penã et al. [44], no qual utilizou gelatina tipo A, obtida da pele de porco e AT. Penã sugeriu que a presença de AT altera a formação da estrutura helicoidal da gelatina, provavelmente atrapalhando as ligações de hidrogênio entre as cadeias de gelatina, criando novas interações de hidrogênio entre grupos hidroxila da molécula de ácido tânico e grupos polares da gelatina, e interações hidrofóbicas [44].

Figura 24 - Curvas DSC das amostras GTE50C, GTE3%AT, GTE10%AT e GTE20%AT. Primeira curva de aquecimento.



Fonte: Próprio autor.

Tabela 10 - Pico e entalpia referentes ao segundo evento endotérmico das curvas de DSC.

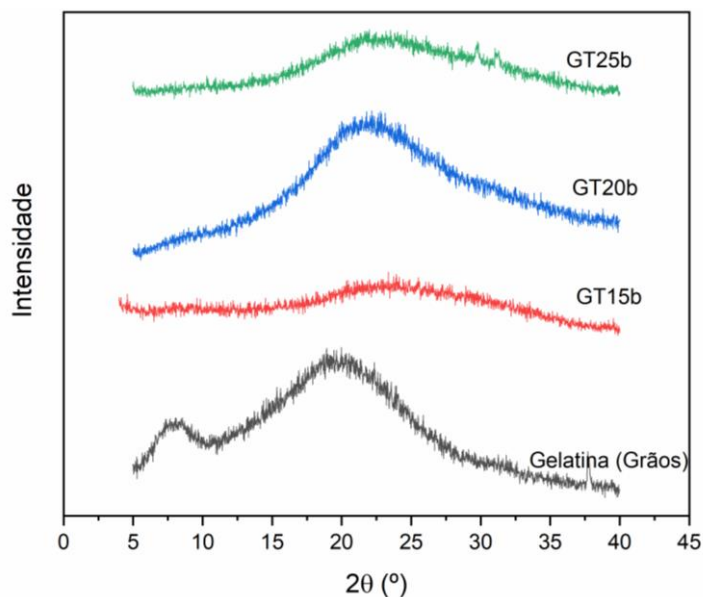
Amostras	GTE50C	GTE3%AT	GTE10%AT	GTE20%AT
Pico (°C)	117,2	125,7	128,4	124,7
Entalpia (J/g)	239,7	195,4	164,7	122,5

Fonte: Próprio autor.

5.5 Raio-X

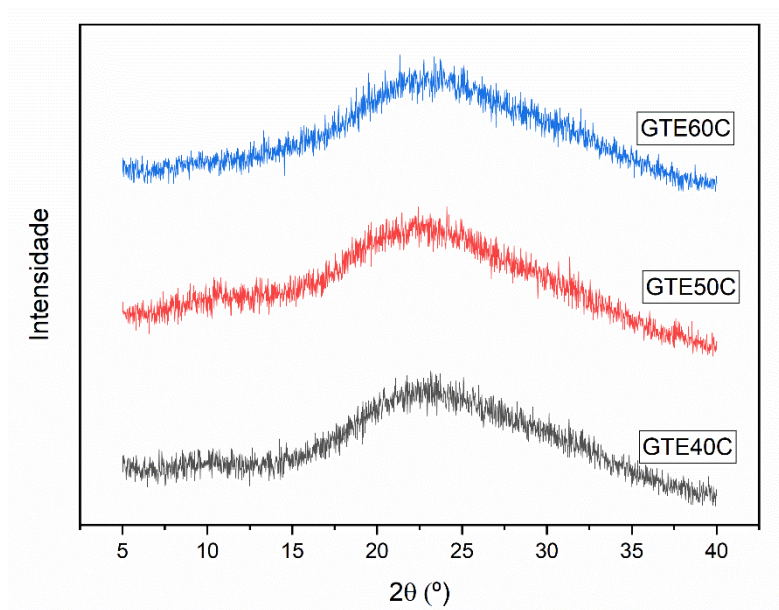
A presença de estruturas tripla hélice na gelatina podem ser investigadas através da análise da difração de raio-X [105, 106]. A Figura 25, apresenta os espectros de difração de raio-X da gelatina na forma de grãos e das membranas GT15b, GT20b e GT25b. Observa-se que a curva da gelatina apresentou um pico largo em torno de 20° relativo à fração amorfa da gelatina e um outro, mais agudo por volta de 8° correspondente à tripla hélice, cuja intensidade é proporcional ao conteúdo de tripla-hélice existente na gelatina [107]. Para as membranas, esse pico foi consideravelmente reduzido, ocorrência que está relacionada ao fato da gelatina ter sido previamente dissolvida, tratada em ultrassom e adicionada à possível desnaturação que ocorre quando a gelatina é dissolvida em meio básico (ácido acético/água (80/20)). Similar a este resultado, foi encontrado para as amostras obtidas a partir das soluções de gelatina tratada com diferentes temperaturas, como ilustra a Figura 26.

Figura 25 - Espectros de difração raio-X para as amostras GT15b, GT20b e GT25b.



Fonte: Próprio autor.

Figura 26 – Espectros de difração raio-X para as amostras GTE40C, GTE50C E GTE60C.



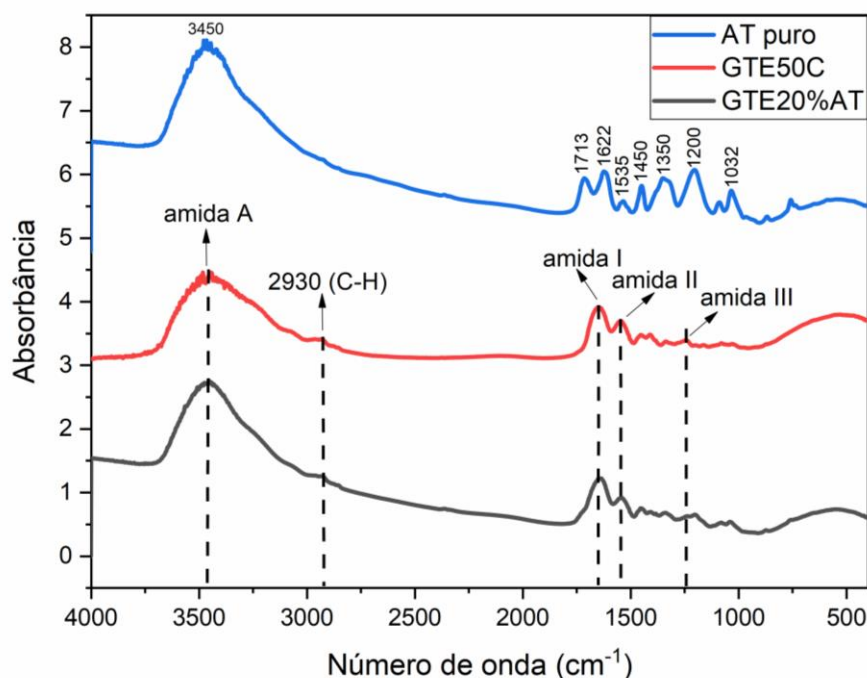
Fonte: Próprio autor.

5.6 FT-IR

A estrutura química da membrana GTE50C e da membrana GTE20%AT foram investigadas a partir de espectroscopia FT-IR. A Figura 27 apresenta os espectros obtidos para as membranas de GT e para o ácido tânico puro (AT puro), utilizado no presente estudo.

O espectro de absorção do AT puro apresenta uma banda larga em torno de 3470 cm^{-1} , atribuída ao estiramento OH [108, 109]. As bandas em 1713 e 1200 cm^{-1} estão relacionadas às deformações axiais dos grupos C=O e C-OCH, respectivamente) [109, 110]. Vibrações de estiramento das ligações C=C, referentes ao anel aromático, aparecem em 1622 , 1535 e 1450 cm^{-1} [111, 112]. As bandas localizadas em 1350 e 1032 cm^{-1} são atribuídas à deformação angular da ligação CH e deformação axial do grupo fenólico C-OH [109].

Figura 27 – Espectroscopia de FT-IR para as amostras GTE50C, GTE20%AT e AT puro.



Fonte: Próprio autor.

O espectro de FT-IR das membranas de gelatina apresentou quatro picos mais intensos em: 3477 cm^{-1} referente à amida A, 1650 cm^{-1} referente às vibrações de estiramento de C=O (amida I) [110], 1548 cm^{-1} atribuído à deformação angular da ligação N-H, referente à amida II, e em 1243 cm^{-1} (amida III) atribuído à vibração de estiramento de C-N, acoplado com a deformação angular de N-H [113]. A banda de baixa intensidade em $\sim 2930\text{ cm}^{-1}$ é atribuída às vibrações de deformação do C-H alifáticas [114].

Comparando o espectro de absorção da membrana GTE20%AT com a GTE50C, verifica-se que o pico associado à amida I (1650 cm^{-1}) deslocou-se para menor valor do número de onda (1642 cm^{-1}). Este resultado indica a existência de interações interespecíficas entre o AT e a gelatina; provavelmente ligações de hidrogênio (N-H....O=C). Para a amida II e III, não houve alteração na posição do pico.

6. Conclusão

Membranas microfibrosas de gelatina de tilápia obtida de resíduo de tilápia (GT), foram produzidas utilizando a técnica de fiação por sopro em solução (FSS), a partir de soluções de gelatina dissolvida em ácido acético:água deionizada (80/20 v/v). Ficou evidente que um aumento na viscosidade da solução conduz a um aumento no diâmetro das microfibras, que variou de 280 ± 73 nm para a viscosidade de $\sim 0,086$ Pa.s, para 1195 ± 365 nm para a viscosidade de $\sim 1,88$ Pa.s. Além da concentração, parâmetros como o calibre da agulha e temperatura de tratamento em banho de ultrassom influenciam na morfologia das membranas e no diâmetro das microfibras. Acoplado uma diferença de potencial de 3,5 kV entre a agulha e o coletor durante a fiação por sopro, foi possível captar fibras com menor diâmetro. Submersas em água, as membranas incorporadas com ácido tânico (AT) apresentaram-se mais estáveis do que as membranas de GT pura, confirmando assim sua reticulação. Essa estabilidade se tornou mais evidente para as amostras GTE15%AT e GTE20%AT, apresentando massa remanescente de 18,2 e 40,7 %, respectivamente. As análises termogravimétricas (TG) demonstraram comportamento térmico similar para todas as membranas fibrosas de GT obtidas a partir de diferentes concentrações, mas com diferentes quantidades de água adsorvida, sendo maior para fibras com menores diâmetros. As curvas de DSC mostraram dois eventos endotérmicos, sendo o primeiro no intervalo de $50,5$ °C à $53,5$ °C e o segundo numa faixa de 100 - 130 °C. O primeiro evento é uma superposição de processos reversíveis e irreversíveis. O segundo evento é fortemente influenciado pela presença de água nas microfibras, deslocando significativamente para maior temperatura com o aumento do diâmetro das microfibras. Esse comportamento foi atribuído a maior dificuldade de difusão da água em fibras mais grossas. As análises de difração de raio-X revelaram que não houveram mudanças significativas na estrutura das microfibras de GT, mesmo após a adição de AT. As análises com FT-IR mostraram que a adição de AT resultaram em um deslocamento para menor valor do número de onda para a amida I, evidenciando a existência de reticulação causada pelo AT. Após as análises realizadas com as membranas fibrosas, verificou-se que as membranas reticuladas com AT apresentam maiores possibilidades de aplicação tecnológica, como na área

biomédica ou relacionadas, tendo em vista sua melhor manuseabilidade e maior estabilidade em meios aquosos.

Referências

- 1 KARIM, A. A.; BHAT, Rajeiv. Gelatin alternatives for the food industry: recent developments, challenges and prospects. **Trends in food science & technology**, v. 19, n. 12, p. 644-656, 2008.
- 2 MORRISON, N. A. et al. Gelatin alternatives for the food industry. In: **Physical chemistry and industrial application of gellan gum**. Springer, Berlin, Heidelberg, 1999. p. 127-131.
- 3 GROSSMAN, Shlomo; BERGMAN, Margalit. **Process for the production of gelatin from fish skins**. U.S. Patent n. 5,093,474, 3 mar. 1992.
- 4 GÓMEZ-GUILLÉN, M^a C. et al. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. **Food Hydrocolloids**, v. 16, n. 1, p. 25-34, 2002.
- 5 GUDMUNDSSON, Magnus; HAFSTEINSSON, Hannes. Gelatin from cod skins as affected by chemical treatments. **Journal of Food Science**, v. 62, n. 1, p. 37-39, 1997.
- 6 NORZIAH, M. H. et al. Characterization of fish gelatin from surimi processing wastes: Thermal analysis and effect of transglutaminase on gel properties. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 6, p. 1610-1616, 2009.
- 7 JONGJAREONRAK, Akkasit et al. Characterization of edible films from skin gelatin of brownstripe red snapper and bigeye snapper. **Food Hydrocolloids**, v. 20, n. 4, p. 492-501, 2006.
- 8 GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. et al. Fish gelatin: a renewable material for developing active biodegradable films. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, n. 1, p. 3-16, 2009.
- 9 MUYONGA, J. H.; COLE, C. G. B.; DUODU, K. G. Extraction and physico-chemical characterisation of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin. **Food hydrocolloids**, v. 18, n. 4, p. 581-592, 2004.
- 10 KWAK, Hyo Won; KIM, Jung Eun; LEE, Ki Hoon. Green fabrication of antibacterial gelatin fiber for biomedical application. **Reactive and Functional Polymers**, v. 136, p. 86-94, 2019.
- 11 ALP-ERBAY, Esen; YEŞİLSU, Ahmet Faruk; TÜRE, Mustafa. Fish gelatin antimicrobial electrospun nanofibers for active food-packaging applications. In: **Journal of Nano Research**. Trans Tech Publications, 2019. p. 80-97.

-
- 12 FAO. FAN – FAO Aquaculture Newsletter. 2018. <<http://www.fao.org/3/I9200EN/i9200en.pdf>>. Acesso em: 27 de maio de 2019.
 - 13 ANUÁRIO PeixeBR da Piscicultura 2019. Brazilian fish farming production grows 4.5% and reaches 722.560 tons. 2019. <<https://www.peixebr.com.br/Anuario2019/AnuarioPeixeBR2019.pdf?>>. Acesso em: 27 de maio de 2019.
 - 14 LI, Mengyan et al. Electrospinning polyaniline-contained gelatin nanofibers for tissue engineering applications. **Biomaterials**, v. 27, n. 13, p. 2705-2715, 2006.
 - 15 ZHANG, Yanzhong et al. Electrospinning of gelatin fibers and gelatin/PCL composite fibrous scaffolds. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials**, v. 72, n. 1, p. 156-165, 2005.
 - 16 YANG, Dongzhi; LI, Yanning; NIE, Jun. Preparation of gelatin/PVA nanofibers and their potential application in controlled release of drugs. **Carbohydrate Polymers**, v. 69, n. 3, p. 538-543, 2007.
 - 17 LIU, Fei et al. Solution Blow Spinning of Food-Grade Gelatin Nanofibers. **Journal of food science**, v. 82, n. 6, p. 1402-1411, 2017.
 - 18 MEDEIROS, Eliton S. et al. Solution blow spinning: A new method to produce micro-and nanofibers from polymer solutions. **Journal of applied polymer science**, v. 113, n. 4, p. 2322-2330, 2009.
 - 19 SILVA, Cícero Rafael Cena da. Obtenção e caracterização de fibras poliméricas e cerâmicas pela técnica de “blow-spinning”. 2013.
 - 20 MENEZES, Maria do Livramento Linhares Rodrigues et al. Effect of tannic acid as crosslinking agent on fish skin gelatin-silver nanocomposite film. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 19, p. 7-15, 2019.
 - 21 LAI, Jui-Yang et al. Effect of charge and molecular weight on the functionality of gelatin carriers for corneal endothelial cell therapy. **Biomacromolecules**, v. 7, n. 6, p. 1836-1844, 2006.
 - 22 SHOULDERS, Matthew D.; RAINES, Ronald T. Collagen structure and stability. **Annual review of biochemistry**, v. 78, p. 929-958, 2009.
 - 23 FINLEY, John W. et al. **Principles of Food Chemistry**. Springer, 2018.

-
- 24 VANDERVOORT, J.; LUDWIG, A. Preparation and evaluation of drug-loaded gelatin nanoparticles for topical ophthalmic use. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 57, n. 2, p. 251-261, 2004.
- 25 GELITA. **Improving Quality of Life**, 2019. Interface Properties. Disponível em: <<https://bit.ly/2yGHfJT>>. Acesso em: 17 de julho de 2019.
- 26 ELZOGHBY, Ahmed O. Gelatin-based nanoparticles as drug and gene delivery systems: reviewing three decades of research. **Journal of Controlled Release**, v. 172, n. 3, p. 1075-1091, 2013.
- 27 ETXABIDE, A. et al. Development of active gelatin films by means of valorisation of food processing waste: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 68, p. 192-198, 2017.
- 28 AN, Kejing et al. Preparation of fish gelatin and fish gelatin/poly (L-lactide) nanofibers by electrospinning. **International journal of biological macromolecules**, v. 47, n. 3, p. 380-388, 2010.
- 29 ANVARI, Mohammad; CHUNG, Donghwa. Dynamic rheological and structural characterization of fish gelatin–gum Arabic coacervate gels cross-linked by tannic acid. **Food Hydrocolloids**, v. 60, p. 516-524, 2016.
- 30 BAHMANZADEH, Safiyeh; RUZGAS, Tautgirdas; SOTRES, Javier. Proteolytic degradation of gelatin-tannic acid multilayers. **Journal of colloid and interface science**, v. 526, p. 244-252, 2018.
- 31 ESTEGHLAL, Sara et al. Gelatin-hydroxypropyl methylcellulose water-in-water emulsions as a new bio-based packaging material. **International journal of biological macromolecules**, v. 86, p. 242-249, 2016.
- 32 HANANI, ZA Nur; ROOS, Y. H.; KERRY, J. P. Use and application of gelatin as potential biodegradable packaging materials for food products. **International journal of biological macromolecules**, v. 71, p. 94-102, 2014.
- 33 FENG, Qian et al. Mechanically resilient, injectable, and bioadhesive supramolecular gelatin hydrogels crosslinked by weak host-guest interactions assist cell infiltration and in situ tissue regeneration. **Biomaterials**, v. 101, p. 217-228, 2016.
- 34 SAHOO, Nityananda et al. Recent advancement of gelatin nanoparticles in drug and vaccine delivery. **International journal of biological macromolecules**, v. 81, p. 317-331, 2015.

-
- 35 SHALUMON, K. T. et al. Fabrication of poly (l-lactic acid)/gelatin composite tubular scaffolds for vascular tissue engineering. **International journal of biological macromolecules**, v. 72, p. 1048-1055, 2015.
- 36 PENG, Xianghong et al. Electrochemical fabrication of functional gelatin-based bioelectronic interface. **Biomacromolecules**, v. 17, n. 2, p. 558-563, 2016.
- 37 BADII, Farah; HOWELL, Nazlin K. Fish gelatin: structure, gelling properties and interaction with egg albumen proteins. **Food hydrocolloids**, v. 20, n. 5, p. 630-640, 2006.
- 38 HAUG, Ingvild J.; DRAGET, Kurt I.; SMIDSRØD, Olav. Physical and rheological properties of fish gelatin compared to mammalian gelatin. **Food hydrocolloids**, v. 18, n. 2, p. 203-213, 2004.
- 39 BUWALDA, Sytze J. et al. Hydrogels in a historical perspective: From simple networks to smart materials. **Journal of controlled release**, v. 190, p. 254-273, 2014.
- 40 MAITRA, Jaya; SHUKLA, Vivek Kumar. Cross-linking in hydrogels-a review. **Am. J. Polym. Sci**, v. 4, n. 2, p. 25-31, 2014.
- 41 DIGENIS, George A.; GOLD, Thomas B.; SHAH, Vinod P. Cross-Linking of Gelatin Capsules and Its Relevance to Their in Vitro-in Vivo Performance. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 83, n. 7, p. 915-921, 1994.
- 42 KAMARI, Azlan et al. Chitosan, gelatin and methylcellulose films incorporated with tannic acid for food packaging. **International journal of biological macromolecules**, v. 120, p. 1119-1126, 2018.
- 43 VIGNAULT, Adeline et al. Chemical characterization, antioxidant properties and oxygen consumption rate of 36 commercial oenological tannins in a model wine solution. **Food chemistry**, v. 268, p. 210-219, 2018.
- 44 PEÑA, Cristina et al. Enhancing water repellence and mechanical properties of gelatin films by tannin addition. **Bioresource technology**, v. 101, n. 17, p. 6836-6842, 2010.
- 45 TAYLOR, Janet et al. Preferential binding of sorghum tannins with γ -kafirin and the influence of tannin binding on kafirin digestibility and biodegradation. **Journal of Cereal Science**, v. 46, n. 1, p. 22-31, 2007.

-
- 46 ABDEL-SHAFY, H. I.; MANSOUR, M. S. M. Polyphenols: properties, occurrence, content in food, potential effects. **Environmental Science and Engineering: Toxicology**, v. 6, p. 232-61, 2017.
- 47 HUANG, Zheng-Ming et al. A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. **Composites science and technology**, v. 63, n. 15, p. 2223-2253, 2003.
- 48 KIM, Minju et al. Efficient visible light-induced H₂ production by Au@ CdS/TiO₂ nanofibers: Synergistic effect of core-shell structured Au@ CdS and densely packed TiO₂ nanoparticles. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 166, p. 423-431, 2015.
- 49 PEREZ, Roman A.; KIM, Hae-Won. Core-shell designed scaffolds for drug delivery and tissue engineering. **Acta biomaterialia**, v. 21, p. 2-19, 2015.
- 50 LI, Jiao-Jiao et al. Fast dissolving drug delivery membrane based on the ultra-thin shell of electrospun core-shell nanofibers. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 122, p. 195-204, 2018.
- 51 BAE, Sooneon et al. Heparin-Eluting Electrospun Nanofiber Yarns for Antithrombotic Vascular Sutures. **ACS applied materials & interfaces**, v. 10, n. 10, p. 8426-8435, 2018.
- 52 BAUTISTA-QUIJANO, José Roberto et al. Strain sensing, electrical and mechanical properties of polycarbonate/multiwall carbon nanotube monofilament fibers fabricated by melt spinning. **Polymer**, v. 82, p. 181-189, 2016.
- 53 PARK, Jong-Chul. **Multi-layered nanofiber medium using electro-blowing, melt-blowing or electrospinning, and method for manufacturing same**. U.S. Patent Application n. 14/909,395, 7 jul. 2016.
- 54 AHMED, Farah Ejaz; LALIA, Boor Singh; HASHAIKEH, Raed. A review on electrospinning for membrane fabrication: challenges and applications. **Desalination**, v. 356, p. 15-30, 2015.
- 55 BAJI, Avinash et al. Electrospinning of polymer nanofibers: effects on oriented morphology, structures and tensile properties. **Composites science and technology**, v. 70, n. 5, p. 703-718, 2010.
- 56 OLIVEIRA, Juliano E. et al. Structural and morphological characterization of micro and nanofibers produced by electrospinning and solution blow spinning: a comparative study. **Advances in Materials Science and Engineering**, v. 2013, 2013.

-
- 57 FORMHALS, A. US patent 1975504. 1934.
- 58 FORMHALS A. US patent 2,160,962, 1939.
- 59 FORMHALS A. US patent, 2,187,306, 1940.
- 60 FORMHALS A. US patent, 2,323,025, 1943.
- 61 FORMHALS A. US patent, 2,349,950, 1944.
- 62 LI, Dan; XIA, Younan. Electrospinning of nanofibers: reinventing the wheel?. **Advanced materials**, v. 16, n. 14, p. 1151-1170, 2004.
- 63 RENEKER, Darrell H.; CHUN, Iksoo. Nanometre diameter fibres of polymer, produced by electrospinning. **Nanotechnology**, v. 7, n. 3, p. 216, 1996.
- 64 KESSICK, Royal; FENN, John; TEPPER, Gary. The use of AC potentials in electrospraying and electrospinning processes. **Polymer**, v. 45, n. 9, p. 2981-2984, 2004.
- 65 ALVES, Annelise Kopp. Obtenção de micro e nanofibras de TiO₂ por electrospinning: caracterização de propriedades e atividade fotocatalítica. 2008.
- 66 BHARDWAJ, Nandana; KUNDU, Subhas C. Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique. **Biotechnology advances**, v. 28, n. 3, p. 325-347, 2010.
- 67 DOSHI, Jayesh; RENEKER, Darrell H. Electrospinning process and applications of electrospun fibers. **Journal of electrostatics**, v. 35, n. 2-3, p. 151-160, 1995.
- 68 ANGAMMANA, Chitral J.; JAYARAM, Shesha H. A theoretical understanding of the physical mechanisms of electrospinning. In: **Proc. ESA Annual Meeting on Electrostatics**. 2011. p. 14-16.
- 69 COLBY, Ralph H. et al. Effects of concentration and thermodynamic interaction on the viscoelastic properties of polymer solutions. **Macromolecules**, v. 24, n. 13, p. 3873-3882, 1991.
- 70 MCKEE, Matthew G. et al. Correlations of solution rheology with electrospun fiber formation of linear and branched polyesters. **Macromolecules**, v. 37, n. 5, p. 1760-1767, 2004.
- 71 OLIVEIRA, Juliano E. et al. Nano and submicrometric fibers of poly (D, L-lactide) obtained by solution blow spinning: Process and solution variables. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 122, n. 5, p. 3396-3405, 2011.
- 72 INSTRUMENTAÇÃO, Embrapa. Eletrofiação de polímeros em solução. Parte I: fundamentação teórica. **Polímeros**, v. 22, n. 2, p. 170-177, 2012.

-
- 73 FONG, H.; CHUN, I.; RENEKER, D. H. Beaded nanofibers formed during electrospinning. **Polymer**, v. 40, n. 16, p. 4585-4592, 1999.
- 74 CHUANGCHOTE, Surawut; SAGAWA, Takashi; YOSHIKAWA, Susumu. Electrospinning of poly (vinyl pyrrolidone): Effects of solvents on electrospinnability for the fabrication of poly (p-phenylene vinylene) and TiO₂ nanofibers. **Journal of applied polymer science**, v. 114, n. 5, p. 2777-2791, 2009.
- 75 WANNATONG, Ladawan; SIRIVAT, Anuvat; SUPAPHOL, Pitt. Effects of solvents on electrospun polymeric fibers: preliminary study on polystyrene. **Polymer International**, v. 53, n. 11, p. 1851-1859, 2004.
- 76 UYAR, Tamer; BESENBACHER, Flemming. Electrospinning of uniform polystyrene fibers: The effect of solvent conductivity. **Polymer**, v. 49, n. 24, p. 5336-5343, 2008.
- 77 CUI, Wenguo et al. Investigation on process parameters of electrospinning system through orthogonal experimental design. **Journal of applied polymer science**, v. 103, n. 5, p. 3105-3112, 2007.
- 78 SANTOS, Talita M. et al. Fish gelatin films as affected by cellulose whiskers and sonication. **Food Hydrocolloids**, v. 41, p. 113-118, 2014.
- 79 ROTTA, M. et al. YBCO ceramic nanofibers obtained by the new technique of solution blow spinning. **Ceramics International**, v. 42, n. 14, p. 16230-16234, 2016.
- 80 GONTARD, N. **Films et enrobages comestibles: étude et amélioration des propriétés filmogènes du gluten**. Montpellier, 1991. Tese (Doutor em "Biochimie, biologie cellulaire et moléculaire – Science des Aliments"). Université Montpellier II. *
- 81 GONTARD, Nathalie. Films et enrobages comestibles: étude et amélioration des propriétés filmogènes du gluten. 1991.
- 82 WHITE, Frank M. **Mecânica dos fluidos**. McGraw Hill Brasil, 1962.
- 83 YAN, Mingyan et al. Physicochemical properties of gelatin gels from walleye pollock (*Theragra chalcogramma*) skin cross-linked by gallic acid and rutin. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 5, p. 907-914, 2011.
- 84 AEWSIRI, Tanong et al. Antioxidative activity and emulsifying properties of cuttlefish skin gelatin modified by oxidised phenolic compounds. **Food Chemistry**, v. 117, n. 1, p. 160-168, 2009.

-
- 85 KOSARAJU, Shantha Lakshmi; PUVANENTHIRAN, Amirtha; LILLFORD, Peter. Naturally crosslinked gelatin gels with modified material properties. **Food Research International**, v. 43, n. 10, p. 2385-2389, 2010.
- 86 AEWSIRI, Tanong et al. Antioxidative activity and emulsifying properties of cuttlefish skin gelatin–tannic acid complex as influenced by types of interaction. **Innovative food science & emerging technologies**, v. 11, n. 4, p. 712-720, 2010.
- 87 KAEWDANG, Onouma; BENJAKUL, Soottawat. Effect of ethanolic extract of coconut husk on gel properties of gelatin from swim bladder of yellowfin tuna. **LWT-Food Science and Technology**, v. 62, n. 2, p. 955-961, 2015.
- 88 CANEVAROLO JR, Sebastião V. Ciência dos polímeros. **Artiber editora, São Paulo**, p. 110-115, 2002.
- 89 CORREIA, Daniela M. et al. Thermal and hydrolytic degradation of electrospun fish gelatin membranes. **Polymer Testing**, v. 32, n. 5, p. 995-1000, 2013.
- 90 MARTINS, Maria Emanuella O. et al. Thermal and Chemical Properties of Gelatin from Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Scale. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 27, n. 10, p. 1120-1133, 2018.
- 91 SADEGHI, Mohammad; HEIDARI, Behrouz. Crosslinked graft copolymer of methacrylic acid and gelatin as a novel hydrogel with pH-responsiveness properties. **Materials**, v. 4, n. 3, p. 543-552, 2011.
- 92 KOZLOV, P. V.; BURDYGINA, G. I. The structure and properties of solid gelatin and the principles of their modification. **Polymer**, v. 24, n. 6, p. 651-666, 1983.
- 93 BARRETO, P. L. M.; PIRES, A. T. N.; SOLDI, V. Thermal degradation of edible films based on milk proteins and gelatin in inert atmosphere. **Polymer Degradation and Stability**, v. 79, n. 1, p. 147-152, 2003.
- 94 AHMAD, Mehraj et al. Optical and thermo-mechanical properties of composite films based on fish gelatin/rice flour fabricated by casting technique. **Progress in Organic Coatings**, v. 84, p. 115-127, 2015.
- 95 XIA, Zhiyu et al. Unraveling the mechanism of thermal and thermo-oxidative degradation of tannic acid. **Thermochimica acta**, v. 605, p. 77-85, 2015.
- 96 PANTOJA-CASTRO, Mayra A.; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, Horacio. Study by infrared spectroscopy and thermogravimetric analysis of tannins and tannic acid. **Revista latinoamericana de química**, v. 39, n. 3, p. 107-112, 2011.

-
- 97 MARTUCCI, J.; VÁZQUEZ, A.; RUSECKAITE, R. Nanocomposites based on gelatin and montmorillonite: Morphological and thermal studies. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 89, n. 1, p. 117-122, 2007.
- 98 CHIOU, Bor-Sen et al. Cold water fish gelatin films: Effects of cross-linking on thermal, mechanical, barrier, and biodegradation properties. **European Polymer Journal**, v. 44, n. 11, p. 3748-3753, 2008.
- 99 DAI, Chi-An; CHEN, Yi-Fan; LIU, Ming-Wei. Thermal properties measurements of renatured gelatin using conventional and temperature modulated differential scanning calorimetry. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 99, n. 4, p. 1795-1801, 2006.
- 100 YAKIMETS, Iryna et al. Mechanical properties with respect to water content of gelatin films in glassy state. **Polymer**, v. 46, n. 26, p. 12577-12585, 2005.
- 101 FAKIROV, S. et al. Mechanical properties and transition temperatures of crosslinked-oriented gelatin. **Colloid and Polymer Science**, v. 275, n. 4, p. 307-314, 1997.
- 102 PATIL, R. D. et al. Crystallization of water in some crosslinked gelatins. **European Polymer Journal**, v. 36, n. 5, p. 1055-1061, 2000.
- 103 RIVERO, S.; GARCÍA, M. A.; PINOTTI, A. Correlations between structural, barrier, thermal and mechanical properties of plasticized gelatin films. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 11, n. 2, p. 369-375, 2010.
- 104 KARIM, A. A.; BHAT, Rajeev. Gelatin alternatives for the food industry: recent developments, challenges and prospects. **Trends in food science & technology**, v. 19, n. 12, p. 644-656, 2008
- 105 BIGI, A.; PANZAVOLTA, S.; RUBINI, K. Relationship between triple-helix content and mechanical properties of gelatin films. **Biomaterials**, v. 25, n. 25, p. 5675-5680, 2004.
- 106 TANIOKA, Akikiko; MIYASAKA, Keizo; ISHIKAWA, Kinzo. Reconstitution of collagen-fold structure with stretching of gelatin film. **Biopolymers: Original Research on Biomolecules**, v. 15, n. 8, p. 1505-1511, 1976.
- 107 DÍAZ-CALDERÓN, P. et al. Influence of extraction variables on the structure and physical properties of salmon gelatin. **Food hydrocolloids**, v. 71, p. 118-128, 2017.
- 108 COSTA, Eunice et al. Tannic acid mediated suppression of PNIPAAm microgels thermoresponsive behavior. **Macromolecules**, v. 44, n. 3, p. 612-621, 2011.

-
- 109 MENEZES, Maria do Livramento Linhares Rodrigues et al. Effect of tannic acid as crosslinking agent on fish skin gelatin-silver nanocomposite film. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 19, p. 7-15, 2019.
- 110 WU, Shao-Jung et al. Effect of tannic acid–fish scale gelatin hydrolysate hybrid nanoparticles on intestinal barrier function and α -amylase activity. **Food & function**, v. 6, n. 7, p. 2283-2292, 2015.
- 111 ÇAKAR, Soner; ÖZACAR, Mahmut. Fe–tannic acid complex dye as photo sensitizer for different morphological ZnO based DSSCs. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 163, p. 79-88, 2016.
- 112 MENEZES, Maria do Livramento Linhares Rodrigues et al. Effect of tannic acid as crosslinking agent on fish skin gelatin-silver nanocomposite film. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 19, p. 7-15, 2019.
- 113 CEBI, Nur et al. An evaluation of Fourier transforms infrared spectroscopy method for the classification and discrimination of bovine, porcine and fish gelatins. **Food Chemistry**, v. 190, p. 1109-1115, 2016.
- 114 MAHMOOD, Kaiser et al. Study of electrospun fish gelatin nanofilms from benign organic acids as solvents. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 19, p. 66-75, 2019.