



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE PESCA

MANUELLA FERREIRA VIDAL

**APLICAÇÃO DA TÉCNICA DE *BLOWSPINNING* NA FIBRILAÇÃO DE GELATINA
DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) COM ÁCIDO FERÚLICO PARA PRODUÇÃO
DE BIOPRODUTO ANTIOXIDANTE**

FORTALEZA

2021

MANUELLA FERREIRA VIDAL

APLICAÇÃO DA TÉCNICA DE *BLOWSPINNING* NA FIBRILAÇÃO DE GELATINA DE
TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) COM ÁCIDO FERÚLICO PARA PRODUÇÃO DE
BIOPRODUTO ANTIOXIDANTE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito à obtenção do título de Mestre em Engenharia de Pesca. Área de concentração: Tecnologia e Microbiologia do Pescado.

Orientador: Prof. Dr. Bartolomeu Warlene Silva de Souza.

Coorientador: Prof. Dr. Men de Sá Moreira de Souza Filho.

FORTALEZA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

V692a Vidal, Manuella Ferreira.

Aplicação da técnica de blowspinning na fibrilação de gelatina de tilápia
(*Oreochromis niloticus*) com ácido ferúlico para produção de
bioproduto antioxidante / Manuella Ferreira Vidal. – 2021.

76 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências
Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2021.

Orientação: Prof. Dr. Bartolomeu Warlene Silva de
Souza..Coorientação: Prof. Dr. Men de Sá Moreira de
Souza Filho.

1. Biopolímeros. 2. Reticulação. 3. Fiação por sopro. 4. Pescado. I. Título.

CDD 639.2

MANUELLA FERREIRA VIDAL

APLICAÇÃO DA TÉCNICA DE *BLOWSPINNING* NA FIBRILAÇÃO DE GELATINA DE
TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) COM ÁCIDO FERÚLICO PARA PRODUÇÃO DE
BIOPRODUTO ANTIOXIDANTE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito à obtenção do título de Mestre em Engenharia de Pesca. Área de concentração: Tecnologia e Microbiologia do Pescado.

Aprovada em: 20/12/2021.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Bartolomeu Warlene Silva de Souza (Orientador)
Departamento de Engenharia de Pesca (UFC)

Prof. Dr. Men de Sá Moreira de Souza Filho (Coorientador)
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)

Prof. Dr. André Luis Coelho da Silva (Externo Ao Programa)
Departamento de Bioquímica (UFC)

Dr. Adriano Lincoln Albuquerque Mattos
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)

Prof. Dra. Juliana Rabelo de Souza (Externo Ao Programa)
Universidade Federal Do Ceará (UFC)

Este trabalho é dedicado aos meus queridos avós.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por proporcionar força e coragem mesmo nos percalços dessa jornada.

À minha vó Ana Maria, por sempre estar ao meu lado, com sua paciência, sabedoria e amor mesmo nos momentos mãos difíceis.

Ao meu pai Manoel Ferreira, minha estrela guia, razão de tudo.

Aos colegas integrantes do Laboratório de Tecnologia do Pescado, Cinthia, Lyndervan, Jaqueline, e Diego, por toda a colaboração e amizade.

Ao Professor Dr. Bartolomeu Warlene Silva de Souza (Orientador), pela oportunidade proporcionada durante a graduação e pós-graduação, e pela paciência e orientação para realização deste trabalho.

Ao meu co-orientador Men de Sá Moreira, por todo o acolhimento e por todos os ensinamentos, não só acadêmicos como também de vida.

Ao Adriano Albuquerque, por toda sua dedicação e auxílio no laboratório.

Às Doutoradas Juliana Rabelo e Márcia Régia por todas dúvidas sanadas e por toda ajuda durante os experimentos.

Aos colegas e companheiros de jornada na Embrapa, em especial Vanessa Pereira, Lorena Leite, Rayanne Claudino, Fábio Souza, Vanessa Feitosa e Maíra Saldanha, pelas conversas e conselhos, pelas trocas de conhecimento, e prestatividade. Foi um prazer trabalhar com vocês.

Às amigas cultivadas durante a pós-graduação e que pretendo levar sempre comigo Iracilda Lima, Marianny Kellen e Jéssica Duarte, verdadeiros presentes que ganhei durante o mestrado, gratidão pelas palavras de apoio e incentivo de sempre.

Ao meu amigo e companheiro, Jarlley Santiago, por sempre acreditar e torcer por mim, pelas palavras de carinho e amor, e por toda sua compreensão.

A todos os professores da pós-graduação que contribuíram de maneira significativa para o meu crescimento não apenas como futura profissional, mas também como pessoa.

À Capes pelo apoio financeiro.

Ao Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (BNDES), ao Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento do Brasil (MAPA), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Empresa Brasileira de Pesquisa

Agropecuária (EMBRAPA) pelo apoio financeiro ao projeto “Estruturação de ações e inovação para o fortalecimento de cadeias produtivas da aquicultura no Brasil” (BRS-Aqua).

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

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

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas graças a Deus, não sou o que era antes”. (Martin Luther King)

RESUMO

Alternativas que visem o aproveitamento de resíduos tem sido cada vez mais procuradas, com vistas a mitigar os impactos ambientais indesejáveis. Nesse contexto sabe-se que a produção de pescado é uma atividade que gera grande quantidade de resíduos e assim, se faz necessário o reaproveitamento dessa matéria-prima que é fonte de diversos biopolímeros com múltiplas aplicações e propriedades funcionais. Nesse contexto, a nanotecnologia vem despontando como uma forma de explorar os potenciais dos biomateriais em virtude de sua versatilidade e ampla gama de utilizações, incluindo a produção de nanofibras. Recentemente, a reticulação também vem sendo bastante empregada a fim de aprimorar as características desses materiais, especialmente com uso de agentes de reticulação naturais. Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi elaborar nanofibras de gelatina de tilápia (*Oreochromis niloticus*) com incorporação de ácido ferúlico através da técnica de fiação de sopro e caracterizá-las em termos de FTIR, DSC, solubilidade, viscosidade, grau de reticulação, liberação *in vitro*, atividade antioxidante e microscopia eletrônica de varredura (MEV). As nanofibras contendo ácido ferúlico apresentaram excelente atividade antioxidante, variando entre 71,47 e 90,49%. Os espectros vibracionais (FTIR) mostraram um deslocamento dos picos, principalmente na Amida III, indicando uma possível interação entre o A.F. e as moléculas da gelatina, o que foi confirmado pela análise do grau de reticulação. Os diâmetros encontrados foram de 882,18, 1060,66, 984,23 e 1660,99 nm para as nanofibras controle e com 5, 7,5 e 10% de A.F. respectivamente e observou-se que a morfologia foi influenciada pela adição do reticulante, com formação de gotas e agregados nanofibrosos e aumentos no diâmetro. Os termogramas de DSC mostraram deslocamento dos picos referentes a T_g e T_m em relação ao controle e apresentaram bom indicativo de melhorias na resistência térmica após adição do ácido ferúlico. As nanofibras também apresentaram bom perfil de liberação do A.F., e sua adição também tornou a viscosidade das soluções de fiação mais adequada ao sistema utilizado. Em virtude das suas boas propriedades, as nanofibras obtidas neste estudo são candidatas adequadas à elaboração de bioembalagens na área de alimentos.

Palavras-chave: biopolímeros; pescado; fiação de sopro; reticulação.

ABSTRACT

Alternatives aimed at the use of waste have been increasingly sought after, with a view to mitigating undesirable environmental impacts. In this context, it is known that the production of fish is an activity that generates a large amount of waste and thus, it is necessary to reuse this raw material, which is a source of various biopolymers with multiple applications and functional properties. In this context, nanotechnology has emerged as a way to explore the potential of biomaterials due to their versatility and wide range of uses, including the production of nanofibers. Recently, crosslinking has also been widely used in order to improve the characteristics of these materials, especially with the use of natural crosslinking agents. Given the above, the aim of this study was to prepare gelatin nanofibers from tilapia (*Oreochromis niloticus*) with incorporation of ferulic acid through the blow spinning technique and characterize them in terms of FTIR, DSC, solubility, viscosity, degree of crosslinking, in vitro release, antioxidant activity and scanning electron microscopy (SEM). The nanofibers containing ferulic acid showed excellent antioxidant activity, ranging between 71.47 and 90.49%. The vibrational spectra (FTIR) showed a displacement of the peaks, mainly in Amide III, indicating a possible interaction between the A.F. and gelatin molecules, which was confirmed by analyzing the degree of crosslinking. The diameters found were 882.18, 1060.66, 984.23 and 1660.99 nm for the control nanofibers and with 5, 7.5 and 10% of A.F. respectively, and it was observed that the morphology was influenced by the addition of the crosslinker, with the formation of droplets and nanofibrous aggregates and increases in diameter. The DSC thermograms showed displacement of the peaks referring to T_g and T_m in relation to the control and showed a good indication of improvements in thermal resistance after addition of ferulic acid. The nanofibers also presented a good A.F. release profile, and their addition also made the viscosity of the spinning solutions more suitable for the system used. Due to their good properties, the nanofibers obtained in this study are suitable candidates for the preparation of biopackaging in the food sector.

Keywords: biopolymers; fish; blow spinning; crosslink.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	— Representação molecular do ácido ferúlico.....	29
Figura 2	— Fluxograma de elaboração das nanofibras.....	33
Figura 3	— Sistema de fiação por sopro: 1) sistema de orifícios concêntricos (interno e externo), 2) fornecimento de ar comprimido, 3) bomba de seringa, 4) chapa de aquecimento, 5) sistema de vácuo, 6) coletor rotativo e agitador mecânico.....	35
....		
Figura 4	— Desenho esquemático de um sistema blowspinning em que 1) reservatório de gás, (2) bomba de injeção, (3) matriz de fiação, (4) distância de trabalho e (5) coletor.....	35
Figura 5	— Perfil de liberação das nanofibras de gelatina e ácido ferúlico nas concentrações de 5, 7,5 e 10%.....	44
Figura 6	— Espectros vibracionais na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) das nanofibras de gelatina e ácido ferúlico: o controle representa as nanofibras de gelatina e os demais representam as nanofibras de gelatina e ácido ferúlico nas concentrações de 5, 7,5 e 10%. Na letra a estão os picos referentes às Amidas A e B, e na letra b os picos das Amidas I, II e III.....	46
Figura 7	— Calorimetria exploratória diferencial das nanofibras de gelatina e ácido ferúlico: a) nanofibras de gelatina; b) nanofibras de gelatina com 5% de ácido ferúlico; c) nanofibras de gelatina com 7,5% de ácido ferúlico; d) nanofibras de gelatina com 10% de ácido ferúlico.....	47

- Figura 8 — Microscopia eletrônica de varredura (MEV) das nanofibras de gelatina e ácido ferúlico: a) nanofibras de gelatina; b) nanofibras de gelatina com 5% de ácido ferúlico; c) nanofibras de gelatina com 7,5% de ácido ferúlico; d) nanofibras de gelatina com 10% de ácido ferúlico..... 50
- Figura 9 — Distribuição dos diâmetros das nanofibras de gelatina e ácido ferúlico. O controle representa as nanofibras de gelatina e os demais representam as nanofibras de gelatina e ácido ferúlico nas concentrações de 5, 7,5 e 10%. 51
- Figura 10 — Grau de reticulação (%) das nanofibras de gelatina e ácido ferúlico nas concentrações de 5, 7,5 e 10%..... 59
- Figura 11 — Viscosidade aparente das nanofibras de gelatina e ácido ferúlico: O controle representa as nanofibras de gelatina e os demais representam as nanofibras de gelatina e ácido ferúlico nas concentrações de 5, 7,5 e 10%. 61

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1 — Comparativo de diâmetros de nanofibras encontrados na literatura..... 52
- Quadro 2 — Parâmetros do sistema e sua influência no diâmetro e formação de fibras.... 55

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 — Atividade antioxidante (método DPPH) das nanofibras de gelatina e ácido ferúlico: o controle representa as nanofibras de gelatina e os demais representam as nanofibras de gelatina e ácido ferúlico nas concentrações de 5, 7,5 e 10%..... 39
- Tabela 2 — Atividade antioxidante (método ABTS+) das nanofibras de gelatina e ácido ferúlico: o controle representa as nanofibras de gelatina e os demais representam as nanofibras de gelatina e ácido ferúlico nas concentrações de 5, 7,5 e 10%..... 43
- Tabela 3 — Propriedades térmicas das nanofibras: Tg (temperatura de transição vítrea), Tm (temperatura de fusão) e ΔH (entalpia de fusão). O controle representa as nanofibras de gelatina e os demais representam as nanofibras de gelatina e ácido ferúlico nas concentrações de 5, 7,5 e 10% 48
- Tabela 4 — Solubilidade (%) das anofibras de gelatina e ácido ferúlico em diferentes valores de pH. O controle representa as nanofibras de gelatina e os demais representam as nanofibras de gelatina e ácido ferúlico nas concentrações de 5, 7,5 e 10%..... 57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS	2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
A.F.	Ácido ferúlico
ANOVA	Análise de Variância
APHA	American Public Health Association
ATR	Reflexão Total Atenuada
CH ₃ COOH	Ácido Acético
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DPPH	2,2- difenil-1-picril-hidrazil
DSC	Análise de Calorimetria Diferencial de Varredura
ERO	Espécies reativas ao Oxigênio
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
FTIR	Análise de Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
KV	Kilo-volts
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
NaCl	Cloreto de sódio
NaOH	Hidróxido de sódio
OH	Hidroxila
ph	Potencial Hidrogeniônico
PVA	Permeabilidade ao Vapor de Água
ZnSe	Seleneto de zinco

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	18
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	22
2.1	Gelatina de Peixe.....	22
2.2	Nanofibras.....	24
2.2.1	<i>Fiação por sopro (blow spinning).....</i>	25
2.3	Antioxidantes.....	26
2.3.1	<i>Ácido ferúlico.....</i>	28
3	OBJETIVOS.....	31
3.1	Objetivo geral.....	31
3.2	Objetivos específicos.....	31
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	32
4.1	Materiais.....	32
4.1.1	<i>Extração de gelatina.....</i>	32
4.2	Preparo da solução de fiação.....	33
4.2.1	<i>Oxidação do ácido ferúlico.....</i>	33
4.3	Sistema de fiação por sopro.....	34
4.4	Caracterização das nanofibras.....	35
4.4.1	<i>Atividade Antioxidante.....</i>	35
4.4.2	<i>Estudo de liberação in vitro.....</i>	37
4.4.3	<i>Espectroscopia de absorção na região infravermelha com transformada de Fourier (FTIR).....</i>	37
4.4.4	<i>Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....</i>	37
4.4.5	<i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....</i>	37
4.4.6	<i>Solubilidade.....</i>	37
4.4.7	<i>Grau de reticulação.....</i>	38
4.4.8	<i>Viscosidade.....</i>	38
4.5	Análises estatísticas.....	38
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
5.1	Caracterização das nanofibras de gelatina com incorporação de ácido Ferúlico.....	39
5.1.1	<i>Atividade Antioxidante.....</i>	39
5.1.2	<i>Estudo de liberação in vitro.....</i>	43

5.1.3	<i>Espectroscopia de absorção na região infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)</i>	45
5.1.4	<i>Calorimetria exploratória diferencial (DSC)</i>	47
5.1.5	<i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</i>	50
5.1.6	<i>Solubilidade</i>	56
5.1.7	<i>Grau de reticulação</i>	58
5.1.8	<i>Viscosidade</i>	61
6	CONCLUSÃO	64
	REFERÊNCIAS	65

1 INTRODUÇÃO

O pescado é um produto alimentício de grande importância em virtude de seu alto valor nutricional com alto teor de proteínas, vitaminas, minerais e ácidos graxos. Vem sendo observado cada vez mais um aumento em seu consumo devido a uma maior preocupação da população em geral com uma alimentação mais saudável, e aos estudos que associam o pescado às melhorias nutricionais. Estima-se que esse consumo atinja 21,5 kg/*per capita*/ano em 2030, um crescimento de 26,4% em pouco mais de duas décadas (FAO, 2018).

A tilápia do Nilo (*O. niloticus*) é uma das espécies mais cultivadas pois possui diversas características que a tornam atrativa para a aquicultura, como crescimento rápido, rusticidade, alta taxa de fertilidade, fácil reprodução em cativeiro, tolerância a amplas faixas de salinidade (eurialina) além de uma boa aceitação da sua carne pelo mercado consumidor (SÁ, 2012; SILVA, 2015). O rendimento do filé da tilápia do Nilo gira em torno de aproximadamente 35%, e o restante são considerados resíduos, como cabeça, vísceras, nadadeiras, escamas, pele, cauda, coluna vertebral, barbatanas e restos de carne (BOSCOLO *et al.*, 2001; FELTES *et al.*, 2010).

Assim, grandes quantidades de resíduos de pescado são geradas, o que causa um impacto ambiental indesejável. Diante disso, novas alternativas que visem o reaproveitamento dessa matéria-prima e conseqüentemente, redução dos desperdícios através da elaboração de produtos com alto valor agregado são necessárias (BOUTINGUIZA *et al.*, 2012; FELTES *et al.*, 2010; SARANYA; JAYAPRIYA; TAMIL SELVI, 2018).

Além do grande potencial como alimento o pescado também é fonte de diversos biopolímeros como quitosana, colágeno, carragenana e gelatina que têm diversas aplicações farmacêuticas, biomédicas e nas indústrias de alimentos e cosméticos, graças às suas propriedades funcionais únicas (CHAI, *et al.* 2010).

A gelatina de peixe é uma classe de biopolímeros obtidos a partir da hidrólise do colágeno. O colágeno é o componente protéico mais abundante da pele, tendões, tecido conjuntivo, cartilagem e ossos e é o constituinte principal de macromoléculas do organismo animal. Quando o colágeno é aquecido acima de sua temperatura de transição, a reação de aquecimento gera uma mistura de frações de proteínas e peptídeos de diferentes tamanhos, o que resulta em um estado de transição entre colágeno e gelatina. Portanto, a gelatina também

pode ser definida como colágeno parcialmente hidrolisado (ALEMÁN & MARTÍNEZ-ALVAREZ, 2013; GOMÉZ-GUILLÉN, *et al.*, 2011).

As gelatinas contêm diferentes tipos de aminoácidos e têm excelente valor nutracêutico na área de produção de alimentos, apresentando várias funções como por exemplo antioxidante, anti-hipertensiva, antimicrobiana, na regeneração de tecidos e cicatrização de feridas, aprimoramento da formação óssea e anticâncer. Destaque-se também seu potencial como biomaterial, que vem ganhando grande interesse em virtude de suas atividades biológicas e propriedades de biocompatibilidade e biodegradabilidade, o que é bastante importante do ponto de vista econômico e sustentável (WASUPALLI; VERMA, 2018).

Nesse contexto, a nanotecnologia vem despontando como uma das aplicações potenciais dos biomateriais em virtude de sua versatilidade e ampla gama de utilizações, inclusive na cadeia de suprimentos, o que pode trazer melhorias nos sistemas agrícola e alimentar. Essa tecnologia aplicada pode ajudar a criar materiais de alto desempenho com propriedades biofuncionais o que é tema de diversas pesquisas (FAKHREDDIN & GÓMEZ-GUILLÉN, 2018).

Entre esses materiais destacam-se as micro/nanofibras. As nanofibras têm diâmetros variando de 100 a 100000 nm, e apresentam diversas características desejáveis como alta porosidade com pequeno tamanho de poro, alta relação área/volume de superfície, alta permeabilidade ao gás e excelentes propriedades mecânicas. Devido a essas excelentes propriedades, esses materiais são preferidos por muitos pesquisadores e empresas em diversas aplicações e funções, como em sistemas de liberação controlada de fármacos, engenharia de tecidos, *scaffolds*, cicatrização de feridas, biossensores, tecnologia de membranas, roupas de proteção, alimentos e embalagens (AMNA *et al.*, 2014; LUO *et al.*, 2010; OKUTAN *et al.*, 2014; SUBBIAH *et al.*, 2005).

As soluções poliméricas apresentam características únicas, e suas condições de processamento podem ser ajustadas para otimização das morfologias, aplicações e propriedades das nanofibras (BHARDWAJAND KUNDU, 2010). Muitos estudos sobre a produção de nanomateriais funcionais a partir de proteínas, carboidratos e lipídios estão disponíveis na literatura (BARNES *et al.*, 2006; STIJNMAN *et al.*, 2011; YU *et al.*, 2015). Dentre estes, as proteínas e peptídeos possuem algumas vantagens, tais como serem biodegradáveis, nutritivos e absorvíveis (KHADKA & HAYNIE, 2012; NIEUWLAND *et al.*, 2013).

Um dos principais métodos para a produção de nanofibras é a eletrofiação que é uma das técnicas mais versáteis e simples para gerar fibras ultrafinas contínuas que utiliza um

campo elétrico para superar a tensão superficial da solução de polímero (AGARWAL *et al.*, 2008; GHORANI & TUCKER, 2015). Contudo, novas técnicas vêm ganhando destaque como por exemplo a fiação de sopro que foi proposta por Medeiros *et al.* (2009), e se caracteriza pela utilização de uma corrente de gás sob alta pressão e velocidade controlada para converter soluções poliméricas em micro/nanofibras. Utiliza-se de um design composto de orifícios concêntricos com um orifício externo soprando gás de alta velocidade e um interno extrudando a solução de polímero. O gás ao passar pelo orifício interno induz a formação de fios a partir da solução que secam rapidamente à medida em que são direcionados ao coletor.

As fibras obtidas por essa técnica são semelhantes em tamanho e morfologia às fibras eletrofiadas, mas podem ser produzidas a uma taxa mais rápida a partir de um único orifício concêntrico. Além disso, esse método não requer campo elétrico para produção das fibras, possibilitando a utilização de uma variedade muito maior de solventes simplificando a escala produtiva já que pode ser usado um bico com vários orifícios e com vários bocais concêntricos. Ademais, a fiação de sopro permite a aplicação direta das fibras a uma superfície através de fabricação *in situ* (DARISTOTLE *et al.*, 2016; KOLBASOV *et al.*, 2016). Comparado a outros métodos tem as vantagens de baixo consumo de energia, alta segurança, não requer equipamentos com alta tensão ou alta temperatura, fácil de expandir, etc, sendo, portanto, uma metodologia bastante promissora (TUTAK *et al.*, 2013).

É sabido que a gelatina de peixe é uma proteína com alta biodegradabilidade e processabilidade e tem potencial notável como bioembalagem. No entanto algumas limitações no uso da gelatina como material de embalagem devem ser consideradas incluindo sua baixa resistência mecânica, baixa estabilidade à umidade e propriedades de barreira à água. No que concerne a isso, a nanotecnologia tem apresentado boas alternativas com a utilização de nanofibras, nanocompósitos e nanopartículas para complementar e melhorar as propriedades da gelatina, especialmente em relação às suas características mecânicas. Também vale lembrar que os nanomateriais apresentam maiores superfícies de contato quando comparados a filmes convencionais por exemplo, o que amplia a sua gama de aplicações (FAKHREDDIN & GÓMEZ-GUILLÉN, 2018).

A reticulação também é uma técnica promissora para aperfeiçoar o desempenho e a aplicabilidade dos biomateriais obtidos a partir da gelatina de peixe, particularmente em relação a sua sensibilidade à água que dificulta muitos de seus usos como materiais de contato com alimentos. Os agentes de reticulação podem induzir fortes ligações entre os segmentos das proteínas melhorando suas propriedades mecânicas e de resistência à água (ROZBESKÝ *et al.*,

2018). Alguns reticulantes químicos, como glutaraldeído e carbodiimidás, têm sido amplamente utilizados devido à alta eficiência de reticulação (GOODARZI *et al.*, 2019; LU *et al.*, 2015). No entanto, durante a biodegradação, esses agentes produzem subprodutos tóxicos (YANG *et al.*, 2018) e agentes de reticulação naturais vêm sendo introduzidos como uma alternativa quanto a toxicidade dos reticulantes químicos.

O ácido ferúlico (A.F.) é um derivado do ácido hidroxicinâmico com excelente potencial antioxidante. É um dos compostos fenólicos mais abundantes encontrados nas plantas e em muitos alimentos básicos, como frutas, legumes, cereais, mel e pólen de abelha. Ele não apenas captura os radicais livres, mas também tem capacidade de aumentar a atividade de enzimas na eliminação de radicais e inibir a produção de radicais livres catalisados por enzimas (KAWABATA *et al.*, 2000). Em produtos naturais, o ácido ferúlico é rico em grupos químicos éster, presentes também em seus derivados, em que se pode observar atividade antioxidante. Além disso, possui uma ampla gama de atividades biológicas, incluindo atividades antibacterianas, anticarcinogênicas e antiinflamatórias (LIN, MIN & LUO, 2010; SHANMUGAM & DOBLE, 2010), que têm fortes efeitos positivos na saúde humana.

Recentemente este composto também vem sendo utilizado como agente reticulante em filmes graças à presença do radical hidroxila (OH), característica presente nos compostos fenólicos, que pode induzir as reações de reticulação (CAO, FU & HE, 2010; DULONG *et al.*, 2018; WORANUCH, YOKSAN & AKASHI, 2015; SINDHU & TEMILIA, 2008), e tem demonstrado maior atividade de eliminação de radicais livres, melhorias na estrutura da rede de polímeros e nas propriedades mecânicas dos filmes, com maior resistência à tração. Embora o A.F. tenha sido amplamente relatado como um agente de reticulação em filmes compósitos biodegradáveis, poucos estudos foram realizados sobre este mecanismo especialmente quando aplicado às nanofibras.

Nesse contexto, considerando as diversas aplicações e atividades biológicas associadas às propriedades de biocompatibilidade e sustentabilidade da gelatina e do ácido ferúlico, estes vêm se tornando insumos cada vez mais valorizados e requeridos pelo mercado. Aliando essas características à inovação oferecida pelos métodos de elaboração das nanofibras, como a fiação de sopro, uma ampla gama de biomateriais pode ser produzida e com as mais diversas utilizações, incluindo as bioembalagens para alimentos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Gelatina de Pescado

A gelatina é um polipeptídeo de alto peso molecular (MARIOD & ADAM, 2013), proveniente da hidrólise parcial (via ácida ou alcalina) do colágeno, por meio de aquecimento, em que ocorre a quebra das ligações de hidrogênio que estabilizam a tripla hélice, ocorrendo assim uma mudança na configuração da cadeia. O produto hidrolisado depende das ligações cruzadas entre as cadeias peptídicas e os grupos reativos livres amino ou carboxílicos terminais que são formados (PRESTES, 2013).

A gelatina é considerada um importante hidrocolóide que vem ganhando destaque nas indústrias alimentícia, fotográfica, cosmética e farmacêutica, atuando como estabilizantes, emulsificantes e gelificantes (DUCONSEILLE *et al.*, 2015; MARIOD & ADAM, 2013). Seu conteúdo de aminoácidos permite aplicação na formulação de produtos nutracêuticos. As características naturais da gelatina de peixe tornam os produtos que a têm como base relativamente inofensivos ao organismo humano podendo trazer excelentes benefícios para pessoas com doenças crônicas, como hipertensão, osteoporose e diabetes. Além disso, sua capacidade de formar géis e as propriedades viscoelásticas, associadas a seu baixo custo, biocompatibilidade e biodegradabilidade, propiciam um número crescente de novas aplicações, como em biomateriais e bioembalagens (LV & HUANG, 2019).

Outra característica que merece destaque é a habilidade de formação de filme, que fornece múltiplas funcionalidades (ALEMÁN & MARTÍNEZ-ALVAREZ, 2013). Geralmente, os filmes de gelatina de peixe são feitos a partir de espécies de peixes de água quente devido às boas propriedades mecânicas obtidas, como tração, alongamento na quebra e permeabilidade ao vapor de água (PVA). Espécies de peixes de água quente em geral sintetizam gelatina com maior teor de prolina e hidroxiprolina, o que aumenta sua estabilidade devido à maior quantidade de triplas hélices na cadeia polimérica (SHAKILA *et al.*, 2012). Assim, materiais à base de gelatina têm alto potencial para embalagens em virtude de suas propriedades preservantes, permeabilidade ao oxigênio e de barreira, propriedades essas que também podem ser alteradas e modificadas pela adição de várias substâncias, incluindo produtos químicos e naturais (GÓMEZ-GUILLÉN *et al.*, 2009).

Os parâmetros determinantes para a gelatina de peixe são as sequências de aminoácidos, que variam entre as espécies de peixes, e o comprimento da sequência que é dependente principalmente do processo de extração (HANANI, ROOS & KERRY, 2012).

A gelatina proveniente do pescado apresenta, portanto, importantes vantagens, já que representa uma forma de aproveitamento dos resíduos que são ricos em colágeno e também é uma alternativa ao uso de colágeno de origem bovina e suína, frequentemente relacionados a problemas como a febre aftosa (CHANDIKA, KO & JUNG, 2015; MATSUMOTO *et al.*, 2015).

O rendimento do filé da tilápia do Nilo (*O. niloticus*), um dos principais peixes cultivados atualmente, gira em torno de aproximadamente 35%, enquanto que o restante (65%) é considerado resíduo, incluindo cabeça, vísceras, nadadeiras, escamas, pele, cauda, coluna vertebral, barbatanas e restos de carne (BOSCOLO *et al.*, 2001; FELTES *et al.*, 2010). Estes têm baixo custo no mercado e por isso podem ser utilizados para obtenção de colágeno e gelatina, que do ponto de vista químico, são bastante semelhantes ao colágeno e gelatina bovinos/suínos (BHAGWAT & DANDGE, 2016).

Assim, em virtude de suas características, a gelatina tem sido cada vez mais requerida. Na área da produção de alimentos são bastante empregadas pois possuem diferentes tipos de aminoácidos, e podem ser aplicadas em diversas funções como por exemplo antioxidante, anti-hipertensiva, antimicrobiana e anticâncer (ALEMÁN & MARTÍNEZ-ALVAREZ, 2013). Destaque-se também seu potencial como matéria-prima para diversos tipos de biomateriais, que vem ganhando grande interesse em vista de suas atividades biológicas e capacidade de promover fixação e proliferação celular, regeneração de tecidos, cicatrização de feridas e aprimoramento da formação óssea, entre outras (WASUPALLI; VERMA, 2018).

2.2 Nanofibras

As nanofibras se destacam bastante dentre os nanomateriais devido às propriedades únicas que lhe permitem oportunidades e estratégias inovadoras em suas aplicações, que vão desde sua produção sustentável até soluções viáveis para problemas biomédicos, de saúde e ambientais (BARHOUM *et al.*, 2019).

As nanofibras possuem diversas características interessantes e exclusivas, como diâmetro 1000 vezes menor que o do cabelo humano, alta área superficial com porosidade ajustável, topografia 3D, funcionalidades flexíveis da superfície e melhores propriedades mecânicas (ou seja, rigidez e resistência à tração) que qualquer outro material de base comumente usado (HUANG, *et al.*, 2003). O impacto significativo dessa tecnologia se deve à disponibilidade de uma ampla gama de materiais que podem ser utilizados para a produção de nanofibras, incluindo polímeros naturais e sintéticos, metais e óxidos metálicos, nanomateriais baseados em carbono e compostos. Além disso, permitem modificações em sua estrutura o que

as tornam materiais altamente versáteis e de múltiplas funcionalidades (YO, KIM & PARK, 2009; LI, MCCANN & XIA, 2005).

As diferentes técnicas de fabricação de nanofibras podem ser classificadas em dois tipos principais: abordagens *bottom up* e *top down*. Na técnica *top down* um determinado material é decomposto em nanofibras. Um exemplo dessa técnica é a preparação de nanofibras de celulose (NAYAK, *et al.*, 2012). As técnicas *bottom-up* são comumente usadas para a fabricação de nanofibras a partir de moléculas constituintes e incluem eletrofiação, *drawing*, síntese de modelos, e separação de fases. A eletrofiação é o método mais amplamente utilizado devido à sua simplicidade, configuração de baixo custo, potencial de produção em massa e a possibilidade de controlar a composição, diâmetro e orientação das nanofibras (LEE, *et al.*, 2017). As primeiras nanofibras foram produzidas por eletrofiação há mais de quatro séculos. O trabalho de William Gilbert (em 1600) foi considerado um exemplo inicial do que se tornaria a moderna tecnologia da eletrofiação (TUCKER, *et al.*, 2012).

A eletrofiação consiste na produção de fibras contínuas ultrafinas sob um campo elétrico a partir de sistemas poliméricos e não poliméricos acionados por forças eletrostáticas produzindo um jato contínuo de fibras com diâmetros na escala nanométrica a micrométrica (SUNDARAY *et al.*, 2004), em escala de laboratório a industrial. A textura e as propriedades estruturais das fibras podem ser adaptadas, desde formas porosas (KATSOGIANNIS, VLADISAVLJEVIĆ & GEORGIADOU, 2015) a ocas (ANKA & BALKUS, 2013). Essa tecnologia já foi explorada em diversos campos, incluindo engenharia de tecidos (UYAR & KNY, 2017), tratamento de água (CELEBIOGLU *et al.*, 2019), entrega de medicamentos (TOPUZ & UYAR, 2018), indústria de alimentos (NORUZI, 2016) e embalagens para alimentos (AYTAC *et al.*, 2017). Na área de alimentos esses materiais também podem ser empregados no transporte de agentes bioativos através de várias técnicas como o *crosslinking* e a nanoencapsulação (TOPUZ & UYAR, 2020).

Nesse contexto, tem-se observado nas últimas décadas grandes avanços na área da engenharia de alimentos com a nanotecnologia ganhando cada vez mais espaço (MOREIRA, *et al.*, 2018). Dado o significativo interesse na manutenção do frescor e qualidade dos alimentos e de suas respectivas matérias-primas, bem como a crescente demanda pela extensão do prazo de validade em virtude de fatores como oxidação lipídica e deterioração microbiana, a elaboração de embalagens ativas para prolongar a vida útil torna-se primordial.

A utilização das nanofibras permite a produção de materiais de embalagem com grande relação superfície-volume por meio de nanoestruturação e portanto, funcionalização da superfície, além do transporte de agentes ativos (SENTHIL MUTHU KUMAR *et al.*, 2019). Esses aspectos são essenciais em uma embalagem visto que o prazo de validade está diretamente atrelado às características inerentes aos alimentos embalados, às condições ambientais expostas durante seu transporte e armazenamento e, mais importante, à qualidade do sistema de embalagem empregado (ROBERTSON, 2014).

2.2.1 Fiação por sopro (*Blow spinning*)

Os materiais nanofibrosos são comumente fabricados utilizando-se a eletrofiação, um método conhecido e amplamente utilizado para a preparação de nanofibras. Entretanto, algumas características dessa técnica não permitem sua utilização para produção em larga escala (WOJASIŃSKI, PILAREK, & CIACH, 2014). A fiação por sopro foi proposta pela primeira vez por Medeiros e colaboradores (MEDEIROS *et al.*, 2009) em 2009 e tornou-se uma tecnologia alternativa econômica para a preparação de membranas e micro/nanofibras. Essa técnica consiste na utilização de uma corrente de gás de alta pressão com alta velocidade para converter soluções poliméricas dissolvidas em nanofibras. Em comparação aos métodos mais tradicionais, apresenta as vantagens de baixo consumo de energia, maior segurança, não requer equipamentos com alta tensão ou alta temperatura como no caso da eletrofiação por exemplo, fácil expansão, possibilidade de utilização de polímeros naturais e sintéticos, maior variedade de materiais que podem ser usados como coletores entre outras (TUTAK *et al.*, 2013), que tornam o *blow spinning* bastante promissor.

Além disso, essa tecnologia vem se mostrando apropriada no preparo de nanofibras compostas, que são aquelas formadas por dois ou mais polímeros com diferentes propriedades físicas e químicas e expressam características diferentes dos polímeros que as compõem (OLIVEIRA *et al.*, 2013). A fiação por sopro possibilita fabricar nanofibras com faixa de diâmetro semelhante à eletrofiação e em virtude do menor custo e maior taxa de produção de fibra, permite ampliar o processo de fabricação de nanofibras em escala comercial (WOJASIŃSKI, PILAREK, & CIACH, 2014; OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Um sistema tipo *blow spinning* é composto por orifícios concêntricos através dos quais uma solução de polímero e um gás pressurizado (ar, nitrogênio, argônio etc.) são ejetados simultaneamente (MEDEIROS *et al.*, 2009; BONAN *et al.*, 2015; BILBAO-SAINZA *et al.*,

2014). A solução de polímero dosada para o bico interno é esticada pelo gás comprimido fornecido através do bico externo que exerce uma força de cisalhamento sobre a solução. O gás de alta pressão é a força motriz para converter a solução polimérica em fibras finas. Quando o solvente evapora da solução, as fibras recém-formadas são depositadas em um coletor. Uma vez que a fiação de sopro tem como base a aplicação de gás de alta pressão, materiais termodegradáveis também podem ser usados para gerar nanofibras, o que é uma grande limitação da eletrofiação, onde alta tensão é aplicada (TUTAK *et al.*, 2013).

Além da maior segurança propiciada, as nanofibras produzidas pela fiação por sopro caracterizam-se por um maior tamanho de poro além de uma porosidade mais alta do que as nanofibras eletrofiadas. Essas propriedades são fundamentais em algumas aplicações. A comparação detalhada entre esses dois métodos vem sendo vastamente descrita na literatura (WOJASIŃSKI, PILAREK, & CIACH, 2014; OLIVEIRA *et al.*, 2013; TUTAK *et al.*, 2013; BOLBASOV *et al.*, 2016).

2.3 Antioxidantes

Os antioxidantes alimentares desempenham um papel crítico na indústria de alimentos e se tornaram um dos métodos mais comuns de conservação de alimentos. Seu baixo custo e facilidade de uso os tornaram parte de praticamente todos os gêneros alimentícios. Embora diferentes, todos os grupos de antioxidantes alimentares têm o mesmo objetivo comum: conservar os alimentos pelo maior tempo possível sem alterá-los, conferindo sabor ou cor, conservando suas propriedades organolépticas, de textura e de segurança de consumo.

Nos alimentos os processos de auto-oxidação, peroxidação lipídica e outros tipos de oxidação são extremamente comuns. Os antioxidantes alimentares têm a mesma missão que os antioxidantes endógenos do corpo humano, que é proteger contra a ação dos radicais livres. O termo antioxidante deriva da prevenção do consumo de oxigênio. No final do século XIX, os antioxidantes eram geralmente usados em processos industriais, como corrosão de metais e vulcanização de borracha. Posteriormente, prevaleceu o uso de antioxidantes para impedir a rancificação provocada pela oxidação de gorduras insaturadas (FRENCH *et al.*, 1935; SMITH *et al.*, 1945; STIRTON *et al.*, 1945). São considerados aditivos alimentares que conservam o valor nutritivo dos alimentos, impedindo carotenos, várias vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos essenciais de serem oxidados.

Desde então um grande número de substâncias antioxidantes foi descoberto e isolado de fontes naturais, como ervas, especiarias, vegetais e frutas e também foi observado que os mesmos eram capazes de inibir processos oxidativos bem como doenças relacionadas ao estresse oxidativo como, aterosclerose, certos tipos de câncer, diabetes tipo 2, doenças cardiovasculares, inflamação crônica, acidente vascular cerebral e choque séptico, envelhecimento. E assim, ganharam destaque desempenhando papéis cruciais, não apenas nos alimentos, mas também no corpo humano (DOGAN & GÖKMEN, 2018).

A quantificação e a determinação da atividade de antioxidantes também têm sido uma área de interesse há décadas. Muitos métodos analíticos diferentes foram desenvolvidos até o momento (OROIAN & ESCRICHE, 2015).

Sabe-se que os tecidos vegetais são fontes naturais que contêm diferentes tipos de compostos antioxidantes (tocoferóis, ácido ascórbico, carotenóides e compostos fenólicos). Como classificação geral, os antioxidantes foram agrupados em vitaminas (ácido ascórbico, tocoferóis), carotenóides (taninos condensados, xantofilas e carotenos), flavonóides (flavonas, isoflavinas, flavonóis, flavononas), ácidos fenólicos (ácido hidroxil-benzóico e ácido hidroxil-cinâmico), álcoois fenólicos, estilbenos, lignanas, taninos, antioxidantes contendo enxofre e compostos neoformados (melanoidinas) (DOGAN & GÖKMEN, 2018).

A química dos radicais livres e antioxidantes é baseada em um equilíbrio entre ambos. Os radicais livres são compostos reativos que tendem a capturar elétrons de moléculas biológicas estáveis para se estabilizar. Este processo oxidativo possui três etapas bem definidas; a primeira, iniciação, na qual os radicais são formados, a segunda, propagação, onde reagem com outras moléculas e, finalmente, na terceira fase, terminação, quando se transformam em outros produtos. Um antioxidante pode ser definido como "uma substância que, quando presente em baixas concentrações em comparação com as de um substrato oxidável, atrasa ou impede significativamente a oxidação desse substrato" (HALLIWELL, 1990).

Todos os antioxidantes seguem um dos sete mecanismos de ação, que variam com o tipo de oxidante: a) sequestro de radicais livres do meio; b) quelação de íons metálicos; c) inibição de enzimas produtoras de radicais livres; d) ativação de enzimas antioxidantes endógenas; e) prevenção de peroxidação lipídica; f) prevenção de danos ao DNA; g) prevenção de modificação de proteínas e destruição de açúcar. Em termos de sequestro radical, os antioxidantes atuam principalmente nos íons OH e O_2^- fornecendo-lhes um átomo de elétron

ou hidrogênio a partir de seu grupo hidroxila e estabilizando o radical (CAROCHO, MORALES, & FERREIRA, 2018).

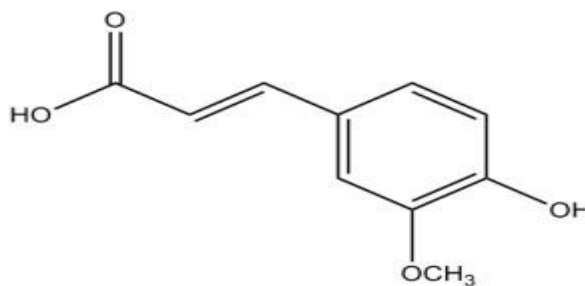
Nos últimos anos tem-se observado novas tendências de consumo em que é demandado da indústria a utilização de antioxidantes naturais, pois apesar de os aditivos sintéticos terem sido amplamente disseminados, os aditivos de origem natural têm ganhado considerável interesse.

2.3.1 Ácido Ferúlico

Os polifenóis são compostos que derivam do metabolismo secundário da maioria das plantas e podem ser divididos nas seguintes classes: ácidos hidroxibenzóicos, ácidos hidroxicinâmicos, cumarinas, lignanas, chalconas, flavonóides, ligninas e xantonas. A maioria dos compostos polifenólicos possui algum tipo de atividade biológica seja como antimicrobianos, antioxidantes ou antitumorais (CAROCHO & FERREIRA, 2013). Esses compostos são conhecidos por possuírem grande potencial na estabilização de processos de oxidação em alimentos. Ocorrem naturalmente em frutas, vegetais, vinho, chá, azeite extra virgem, chocolate e outros produtos à base de cacau, e foram extensivamente estudados em diversas funções biologicamente ativas, como na proteção contra o estresse oxidativo e doenças degenerativas (ASSADPOUR, JAFARI & ESFANJANI, 2017) o que pode ser atribuído principalmente às suas capacidades antioxidantes intrínsecas por meio de eliminação ou desintoxicação de espécies reativas de oxigênio (ERO), bloqueio da produção de ERO, sequestro de metais de transição, e pela modulação de antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos produzidos pelo corpo como forma de defesa (DAS & MANDAL, 2018).

O ácido ferúlico (ácido 4-hidroxi-3-metoxi-cinâmico) (Figura 1) é um dos fenólicos mais abundantes decorrentes do metabolismo da fenilalanina e tirosina, onipresente nos tecidos das plantas constituindo-se assim um ingrediente bioativo de muitos alimentos, especialmente cereais, frutas e vegetais, com grande semelhança ao ácido cinâmico. Especificamente, pertence à classe geral de substâncias conhecidas como hidroxicinamatos monoméricos a qual também inclui os ácidos coumárico, caféico e o ácido sinápico. Muitos alimentos básicos, como farelo de grãos, alimentos integrais, frutas cítricas, banana, café, suco de laranja, berinjela, brotos de bambu, beterraba, couve, espinafre e brócolis estão entre as fontes ricas de ácido ferúlico (A.F.) (KHOSHNOUDI-NIA, SHARIF, & MAHDI, 2020).

Figura 1- Representação molecular do ácido ferúlico.

**Ferulic Acid**Fonte: Ghosh *et al.*, 2017.

Uma das atividades biológicas mais bem documentadas do A.F. relaciona-se às suas propriedades antioxidantes. Devido ao seu núcleo fenólico e a cadeia lateral estendida esse composto rapidamente produz um radical fenóxi estabilizado por ressonância, o qual é responsável pela eliminação de radicais livres. Isso permite que o A.F. proteja o DNA e os lipídios contra a oxidação por espécies reativas de oxigênio (KUMAR & PRUTHI, 2014). Sendo assim, trata-se de um composto extremamente benéfico na prevenção e/ou tratamento de distúrbios ligados ao estresse oxidativo, incluindo a doença de Alzheimer, diabetes, cânceres, hipertensão e aterosclerose (FAIRLIE-JONES, *et al.*, 2017; LEE *et al.*, 2017; LEONG, *et al.*, 2018; PAVLIDOU, *et al.*, 2018; RÓŽAŇSKA & REGULSKA-ILOW, 2018; SINGH, BISHAYEE, & PANDEY, 2018; LAN *et al.*, 2020). Ademais sua estrutura especial confere forte capacidade de absorção de UV, tornando-o um importante agente protetor da pele (ALMEIDA, *et al.*, 2018).

Há que se considerar que a eficácia preventiva/terapêutica do A.F. depende de suas concentrações fisiológicas, as quais são determinadas pelas propriedades farmacocinéticas (absorção, metabolismo, distribuição e eliminação) (KUMAR & PRUTHI, 2014; LINA *et al.*, 2010).

Sua capacidade antimicrobiana também é bastante relatada na literatura, apresentando atividade contra bactérias Gram positivas e Gram negativas como *Staphylococcus*

aureus, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, e contra fungos, como *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*. Supõe-se que os ácidos fenólicos atuam como compostos antimicrobianos tanto pela membrana como pelos mecanismos citoplasmáticos. Suas propriedades antimicrobianas dependem da concentração das moléculas não dissociadas. Sugere-se que formas não dissociadas de ácidos fenólicos penetram na membrana celular por difusão passiva, se dissociam na célula e perturbam o equilíbrio do pH. A diminuição do pH celular causa desnaturação da proteína e a célula morre. O segundo mecanismo de atuação consiste na difusão através da membrana citoplasmática aumentando sua permeabilidade, o que causa perda de constituintes celulares bacterianos: proteínas, ácidos nucleicos e íons inorgânicos, como potássio ou fosfato (KALINOWSKA *et al.*, 2014).

O ácido ferúlico pode ser encontrado nos tecidos vegetais de duas formas: livre e conjugado. Encontra-se geralmente concentrado no farelo de grãos, casca de frutas e raízes e casca de vegetais como componentes da parede celular de plantas principalmente na forma trans-isomérica e esterificada com polissacarídeos específicos. Juntamente ao ácido di-hidroferúlico, é o componente das lignoceluloses, e confere rigidez à parede celular por meio de ligações cruzadas entre polissacarídeos e lignina. Observou-se que o A.F. está ligado a uma variedade de carboidratos como conjugados glicosídicos, diferentes ésteres e amidas. Forma ésteres através da ligação com diversas moléculas, como polissacarídeos, álcoois de cadeia longa, vários esteróis de plantas, glucosídeo de tetra-hidroisoquinolina-monoterpeno, flavonóides e diferentes tipos de ácidos hidroxicarboxílicos, incluindo glicônico, ácidos graxos tartáricos, málicos, hidroxicítricos, tartrônicos e quinílicos (KUMAR & PRUTHI, 2014).

Por se tratar de um composto natural e atóxico o ácido ferúlico é reconhecido como seguro. Sua capacidade reticulante tem sido amplamente investigada e sabe-se que esse mecanismo é dependente das condições ambientais. Em meios oxidados, as interações covalentes são formadas pela oxidação de fenólicos em ortoquinona, um intermediário eletrofílico reativo. Outra possibilidade envolve a formação de radicais livres intermediários estabilizados por ressonância que podem reagir com tirosina, lisina e cisteína para reticular moléculas de proteína. Sua interação com proteínas pode ser reversível ou irreversível, a primeira envolve principalmente ligações não covalentes, como ligação de hidrogênio, interações hidrofóbicas e forças de van der Waals (TAVASSOLI-KAFRANI, AMIR, GOLI, & FATHI, 2017).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Elaborar nanofibras de gelatina de tilápia (*Oreochromis niloticus*) com incorporação de ácido ferúlico.

3.2 Objetivos específicos

- Elaborar um sistema de fiação de sopro e otimizar seus parâmetros (fluxo, temperatura, pressão, distância de trabalho) para produção das nanofibras;
- Definir a formulação da solução de polímero que melhor se adequa ao sistema e posterior aplicação;
- Produção das nanofibras;
- Caracterizar física, química, morfológica e termicamente as nanofibras obtidas (FTIR, DSC, MEV);
- Determinar a atividade antioxidante e o padrão de liberação do material;
- Determinar a viscosidade da solução de fiação;
- Aplicar análise estatística nos dados encontrados.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Materiais

Os resíduos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), que incluíam pele e escamas, foram obtidos de uma empresa de beneficiamento de pescado, localizada na cidade de Fortaleza-CE. Os resíduos utilizados neste estudo estão cadastrados na plataforma do Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob o número de cadastro A3B1887. Esses resíduos foram utilizados para extração da gelatina, que foi utilizada no presente estudo. Durante todo o processo foram utilizados os seguintes reagentes: Ácido acético 100% (Sigma Aldrich), Trans-ácido ferúlico 99% (Sigma Aldrich), Etanol (Sigma Aldrich), DPPH (Sigma Aldrich), Hidróxido de sódio (Sigma Aldrich), Ácido clorídrico 37% (Sigma Aldrich), Bicarbonato de sódio 99,5% (Sigma Aldrich), Ácido sulfúrico 99,99% (Sigma Aldrich), ABTS + 98% (Sigma Aldrich).

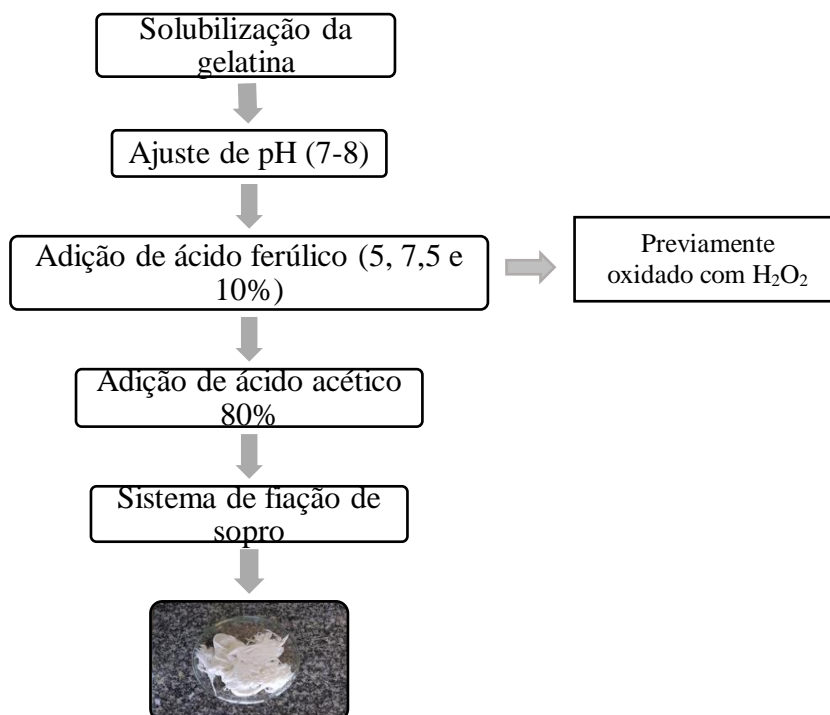
4.1.1 Extração de gelatina

Para a extração da gelatina foi seguida a metodologia de Souza *et al.* 2012. Inicialmente foi feita a limpeza das peles de tilápia para retirada de escamas e sujidades. Em seguida estas peles foram lavadas e imersas em solução de ácido acético 0,2N por 45 min. Depois, foram neutralizadas em solução 1M de NaOH e trituradas. A seguir, foram realizados dois tratamentos, um ácido e um alcalino. Primeiramente, realizou-se o tratamento alcalino, utilizando-se uma solução 0,2 N de NaOH na proporção de 1:3 de solução. O sistema foi mantido sob agitação por 45 minutos em temperatura ambiente. Decorrido esse período, a solução foi neutralizada com H₂SO₄ 1 M, e a mistura, centrifugada por 5 minutos a 5.000 rpm. O precipitado foi submetido ao tratamento ácido nas mesmas condições do alcalino com uma solução 0,2 N de H₂SO₄. Após esse tratamento, a mistura foi novamente neutralizada. O precipitado foi utilizado para realizar a extração da gelatina. À massa obtida a partir dos pré-tratamentos foi adicionada água destilada pré-aquecida à temperatura de 45 °C na proporção de 1:5 de água. Realizou-se a extração por 2 horas, e, em seguida, a mistura foi filtrada a vácuo com papel de filtro qualitativo. O líquido obtido foi evaporado em rotaevaporador para, então, ser liofilizado e moído.

4.2 Preparo da solução de fiação

Inicialmente 30 g de gelatina de tilápia previamente triturada foi solubilizada em 65 mL de água com pH ~ 5 (ajustado com ácido acético CH_3COOH) durante 12 h à temperatura de 40°C. Após esse período foi feito o ajuste de pH para ~ 7 – 8, visto que o A.F. reage melhor em pHs alcalinos, com hidróxido de sódio 60% (NaOH) e foram adicionadas 10 mL de solução de ácido ferúlico oxidado (TAVASSOLI-KAFRANI, AMIR GOLI, & FATHI, 2017), a diferentes concentrações (5, 7,5 e 10%). Deixou-se reagir por 1 h sob agitação à temperatura de 45 °C. Finalmente foram adicionadas 25 mL de ácido acético 80%, perfazendo um volume total de 100 mL de solução. Todo o processo encontra-se resumido no fluxograma da Figura 2.

Figura 2- Fluxograma de elaboração das nanofibras



Fonte: Elaborado pela Autora

4.2.1 Oxidação do ácido ferúlico

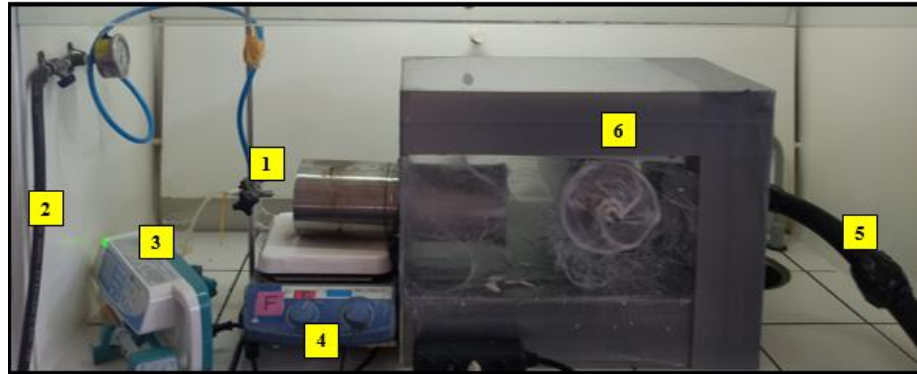
A oxidação do ácido ferúlico foi feita de acordo com a metodologia descrita por Tavassoli-Kafrani, Amir Goli, & Fathi (2017), com algumas modificações. Foram testadas três diferentes concentrações de ácido ferúlico: 5, 7,5 e 10% em relação ao peso de gelatina. Assim,

pesou-se a respectiva quantidade do ácido ferúlico e este foi dissolvido em peróxido de hidrogênio 0,1% (H₂O₂) pelo período de 1 h sob agitação. Em seguida foi feito o ajuste de pH dessa solução com NaOH 60% para pH ~ 8 - 9 a fim de eliminar o peróxido residual (OU, *et al.*, 2005).

4.3 Sistema de fiação por sopro

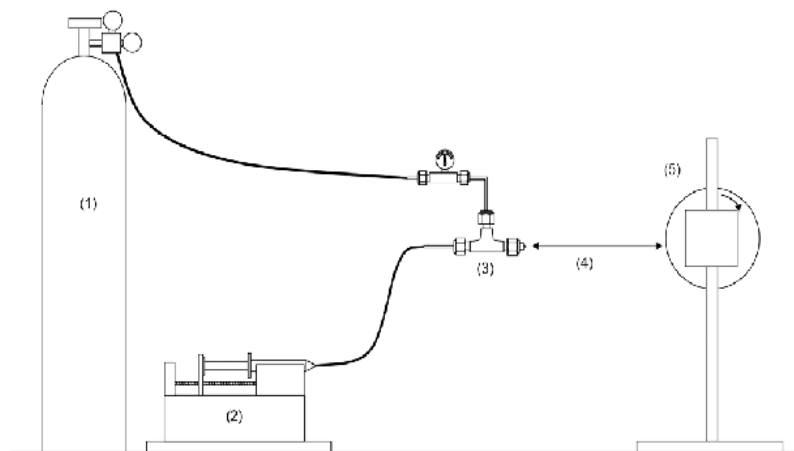
O sistema de fiação por sopro (Figura 3) consistia em: 1) sistema de orifícios concêntricos (interno e externo), 2) fornecimento de ar comprimido, 3) bomba de seringa, 4) chapa de aquecimento 5) sistema de vácuo e 6) coletor rotativo e agitador mecânico. A solução de gelatina foi colocada em uma seringa de 20 mL e submetida uma vazão de 20 mL/h através do orifício interno utilizando a bomba de seringa (SDAMed, modelo SDA401). O ar comprimido foi fornecido com uma pressão de entrada no orifício externo de 4,5 kgf/cm² (compressor alternativo Schulz, modelo MCSV-20AP). Com base no princípio de Bernoulli, a descompressão do ar ocorreu na saída do sistema, resultando no fluxo de ar em alta velocidade. Devido a forças viscosas internas e interfaciais, a gota de solução de polímero sofreu um cisalhamento e foi esticada, formando assim as fibras. A distância de trabalho (dos orifícios até o coletor) foi de 50 cm de modo a permitir a evaporação do solvente e nesse quesito também foi utilizada uma chapa de aquecimento (IKA C-MAG, modelo HS 10) com temperaturas variando entre 250 e 300 °C, próxima à saída da solução para auxiliar na evaporação do ácido acético. As nanofibras obtidas foram coletadas em um cilindro rotativo acoplado a um agitador mecânico (Fisotom, 713D) com rotação de 1000 rpm aproximadamente. Para manter as fibras secas foi utilizado um sistema de vácuo (aspirador Electrolux, modelo GT 3000 pro). Na figura 4 temos um desenho esquemático de um sistema tipo *blowspinning*.

Figura 3- Sistema de fiação de sopro: 1) sistema de orifícios concêntricos (interno e externo), 2) fornecimento de ar comprimido, 3) bomba de seringa, 4) chapa de aquecimento 5) sistema de vácuo e 6) coletor rotativo e agitador mecânico



Fonte: Autora

Figura 4 – Desenho esquemático de um sistema *blowspinning*, em que 1) reservatório de gás, (2) bomba de injeção, (3) matriz de fiação, (4) distância de trabalho e (5) coletor.



Fonte: Silva, Oliveira & Medeiros, 2015

4.4 Caracterização das nanofibras

4.4.1 Atividade Antioxidante

A fim de mensurar a atividade antioxidante das nanofibras, 5 mg de cada amostra de nanofibra foram dissolvidas em 10 mL de água destilada a 45 °C. A mistura foi centrifugada (Hitachi, CR 22GIII) a 10.000 x g por 10 min e o sobrenadante foi separado. Uma porção de 1,5 ml de sobrenadante foi homogeneizada com 1,5 mL de DPPH 6 mM (2, 2-difenil-1-picril-

hidrazil) em etanol e após a mistura, a solução foi deixada repousar no escuro à temperatura ambiente por 30 min. A absorbância foi registrada em espectrofotômetro (Varian, Cary 50 Conc), contra o branco, a 517 nm. O branco continha os agentes de reação acima mencionados (água destilada + reagente DPPH), com exceção das nanofibras. A fórmula a seguir foi utilizada para calcular a atividade de eliminação de radicais DPPH:

Eliminação de radicais DPPH (%): $100 \times [(Abs_{S_{branco}} - Abs_{S_{amostra}}) / Abs_{S_{branco}}]$ (Equação 1)

O método ABTS+ também foi empregado para fins de comparação. O radical ABTS+ (7 mM) é formado por uma reação química com persulfato de potássio (140 mM). Uma vez formado o radical, este foi diluído em etanol até obter-se uma medida de absorbância de 0,70 ($\pm 0,05$) no comprimento de onda de 734 nm. Foram preparados extratos aquosos das nanofibras na concentração de 2 mg/ml. A partir deles foram feitas diluições seriadas (660 a 2000 ppm) e adicionou-se 30 μ L dos extratos e 3 ml do radical ABTS+, em triplicata. Após um repouso de 6 min procedeu-se à leitura em espectrofotômetro a 734 nm. Preparou-se uma curva padrão com soluções de Trolox (antioxidante sintético similar a vitamina E). Os resultados foram expressos em μ M de Trolox/g de amostra. Essa metodologia foi adaptada a partir de Shalaby e Shanab (2013).

4.4.2 Estudo de Liberação *in vitro*

A liberação *in vitro* do ácido ferúlico a partir das nanofibras foi realizada em tampão PBS (pH ~7,4) a 37 °C. Uma amostra de 15 mg das nanofibras contendo A.F. foi suspensa em 100 mL de PBS em frascos fechados submetidos a agitação constante em uma incubadora (Tecnal TE 420) com temperatura controlada. Em intervalos de tempo predeterminados, alíquotas de 3 mL foram retiradas para leitura em espectrofotômetro (Varian, Cary 50 Conc) a 320 nm, e uma quantidade igual de solvente foi repostada imediatamente para manter o volume constante do meio de liberação. Previamente a este ensaio foi elaborada uma curva padrão do ácido ferúlico em PBS (concentração x absorbância) com $R^2 = 0,999$. O ensaio foi feito em triplicata (YAKUB, *et al.*, 2018).

Equação da curva de calibração: $Abs = 73,208C + 0,0078$, em que Abs é a absorbância e C é a concentração de ácido ferúlico.

4.4.3 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Foi utilizado um espectrômetro FTIR (Varian 660) equipado com acessório ATR com prisma de selenito de zinco (ZnSe). A faixa do comprimento de onda em que os espectros foram coletados foi de 600 a 4000 cm^{-1} para todas as amostras de nanofibras e também para o ácido ferúlico.

4.4.4 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

O equipamento utilizado nesta análise foi o DSC Q20 (TAInstruments). Foi utilizada uma faixa de temperatura entre 10 °C e 250 °C, sob atmosfera de nitrogênio, com fluxo constante de 50 $\text{mL}/\text{min}^{-1}$, com taxa de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}^{-1}$.

4.4.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As amostras foram montadas nos *stubs* e banhadas a ouro em uma metalizadora (Emitech). Posteriormente, foram encaminhadas ao MEV (TESCAN, LUM – VEGA 3) sob voltagem de aceleração de 20 KV, para obtenção das imagens.

4.4.6 Solubilidade

A solubilidade das nanofibras foi determinada de acordo com o método de Vondran *et al.* (2008) com algumas alterações. Amostras de cerca de 4 mg de nanofibras foram imersas em 2 mL de água destilada em diferentes valores de pH (3,8, 5, 7 e 9). Após 2 min, o residual das fibras presente foi filtrado através de papéis de filtro (Quanty, 8 μm) e em seguida foram colocados em estufa a 60 °C até atingir peso constante. A porcentagem de solubilidade foi calculada de acordo com a equação:

$S\% = (P_i - P_f) / P_i \times 100$ (Equação 2), onde P_i refere-se ao peso inicial do material e P_f ao peso final do material seco não solubilizado.

4.4.7 Grau de reticulação

O grau de reticulação foi avaliado de acordo com o procedimento descrito por Tavassoli-Kafrani, Amir Goli, & Fathi, 2017, com algumas mudanças. Pesou-se aproximadamente 5 mg das nanofibras, e foi adicionado 1 ml de solução de bicarbonato de sódio a 4% e 1 mL de solução TNBS a 0,5%. Essa mistura foi aquecida em um banho de água a 40 °C durante 3 h. Após esse período, 3 mL de HCl 6N foram adicionados e a temperatura foi ajustada para 60 °C, por 1 h. A solução resultante foi diluída em 10 mL de água destilada e a absorbância medida espectrofotometricamente a 346 nm (Varian, Cary 50 Conc). Por meio deste ensaio são determinadas as funções remanescentes de amina primária que não reagiram com o reticulante, sendo possível assim, quantificar a ocorrência de reações de reticulação. A seguinte equação foi usada para calcular a porcentagem de reticulação, em que abs_r e abs_c se referem às absorbâncias dos tratamentos reticulados com ácido ferúlico e o controle, respectivamente, e m_r e m_c , se referem às massas das nanofibras do grupo controle e reticuladas, respectivamente:

$$\text{G.R. \%} = [1 - (abs_r/m_r) \times (abs_c/m_c)^{-1}] \times 100 \quad (\text{Equação 3})$$

4.4.8 Viscosidade

Para esta análise foi utilizado um reômetro (MARSIII, Thermo Scientific) para medição da viscosidade de cisalhamento, usando-se um cone e geometria de placa, com taxa de cisalhamento de 1,0 - 100 s⁻¹ a 25 °C, na tensão de 30 Pa. Foi mensurada a viscosidade das soluções de fiação, sejam elas : solução de gelatina a 30%, solução de gelatina 30% e ácido ferúlico 5%, solução de gelatina 30% e ácido ferúlico 7,5% e solução de gelatina 30% e ácido ferúlico 10%.

4.5 Análises Estatísticas

Os resultados foram avaliados usando a análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%. A análise estatística foi realizada utilizando o software STATISTICA (versão 10, STATISTICA Statsoft Inc., US). As imagens foram analisadas pelo software ImageJ 1.51w.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização das nanofibras de gelatina com incorporação de ácido ferúlico

5.1.1 Atividade Antioxidante

O poder antioxidante das nanofibras de gelatina foi investigado utilizando-se o ensaio de eliminação de radicais DPPH cujos resultados encontram-se na Tabela 1. DPPH é um radical livre estável que se dissolve em etanol ou metanol, resultando em uma cor púrpura. Quando um antioxidante elimina o radical livre doando átomos de hidrogênio, a cor da solução muda de roxo para amarelo.

Tabela 1- Atividade antioxidante (método DPPH) das nanofibras de gelatina e ácido ferúlico: o controle representa as nanofibras de gelatina e os demais representam as nanofibras de gelatina e ácido ferúlico nas concentrações de 5, 7,5 e 10%.

Tratamento	Atividade Antioxidante (%)
Controle	18,9±1,96d
Ácido ferúlico 5%	90,49±0,22a
Ácido ferúlico 7,5%	85,9±0,46b
Ácido ferúlico 10%	71,47±0,25c

Letras diferentes representam diferença significativa para $p < 0,05$.

Fonte: Elaborado pela autora.

Também foi calculado o EC_{50} , que corresponde à concentração para a qual tem-se 50% do efeito do bioativo, dos grupos de nanofibras contendo ácido ferúlico e foram obtidos os seguintes valores 0,301, 0,303 e 0,305 mg/ml, respectivamente, para os tratamentos com 5, 7,5 e 10% de A.F, valores estes que não foram estatisticamente diferentes entre si. Estes valores, contudo, quando comparados ao encontrado na literatura por Zhu *et al.* (2017), Dou *et al.* (2015) e Hua *et al.* (2014) na análise de compostos fenólicos presentes em frutas, em que obtiveram 0,68mg / mL, 10,8mg / mL e 2,64mg / mL de EC_{50} para jaca, goiaba e maçã, respectivamente,

são consideravelmente inferiores indicando um maior poder de eliminação de radicais livres pelas nanofibras.

Os resultados obtidos estão de acordo com dados encontrados na literatura que relatam que materiais nanofibrosos contendo A.F. exibem boa atividade antioxidante (ACEITUNO-MEDINA *et al.*, 2015; POORNIMA & KORRAPATI, 2017) bem como a gelatina de peixe que também possui capacidade antioxidante (KCHAOU *et al.*, 2020; TKACZEWSKA *et al.*, 2020). Tavassoli-Kafrani, Amir Goli, & Fathi (2017) obtiveram valores consideravelmente inferiores para nanofibras eletrofiadas de gelatina (0,12%) e nanofibras de gelatina e ácido ferúlico na concentração de 15% (40,05%) assim como Vashisth e colaboradores (2015) que observaram 59% de atividade antioxidante em nanofibras de poli (D, L-lactido-co-glicólido)/óxido de polietileno com ácido ferúlico. Por outro lado, Yakub e outros autores (2018) e Dubey, Sharma, e Verma (2020) apresentaram atividades antioxidantes mais próximas ao obtido neste estudo, variando entre 80 e 90% para materiais eletrofiados de poli (ϵ -caprolactona) revestidos com quitosana/ácido ferúlico, e de 77,44 a 85% em nanocompósitos de polímeros de sílica modificados com A.F., respectivamente.

A característica antioxidante do ácido ferúlico está relacionada com o seu núcleo fenólico e a cadeia lateral estendida de modo que esse composto rapidamente produz um radical fenóxi estabilizado por ressonância que é responsável pela eliminação dos radicais livres, e quando o AF é oxidado à quinona, a capacidade de eliminação de radicais livres é ampliada (KUMAR & PRUTHI, 2014). A gelatina por sua vez também tem a habilidade de prevenir a oxidação lipídica devido a sua composição química, e além disso bloqueia a passagem do oxigênio (LE *et al.*, 2020), o que pôde ser verificado no presente trabalho uma vez que as nanofibras de gelatina apresentaram atividade antioxidante significativa (18,9%) e que, embora seja inferior à atividade antioxidante das nanofibras contendo A.F., podemos afirmar que a presença da gelatina contribuiu para o maior poder antioxidante observado.

Contrariamente ao esperado, foi possível verificar uma tendência decrescente nos valores da atividade antioxidante, à medida em que se aumentou a concentração de AF. Tendência semelhante foi relatada por Mathew e Abraham (2007) e Ou *et al.* (2005), os quais identificaram que aumentos na concentração do ácido ferúlico não resultavam em diminuição do valor de peróxido em filmes, indicando haver uma concentração ótima do composto fenólico.

O comportamento observado pode estar relacionado com o processo de fiação de sopro, pois em se tratando do ácido ferúlico este apresenta excelentes propriedades antioxidantes, mas possui instabilidade química, baixa solubilidade em água e é suscetível à luz e ao oxigênio e, por essa razão, sua adição direta é um desafio (KUMAR & GOEL, 2019; MANCUSO & SANTANGELO, 2014). Assim, é possível que a fiação de sopro tenha afetado a capacidade antioxidante do ácido ferúlico. Outro ponto é que a estrutura da gelatina, que sendo uma proteína possui composição bem mais variada que um polissacarídeo, por exemplo, permitindo diferentes formas de interação. Também deve-se considerar a aplicação direta, e não encapsulada, do composto fenólico na solução de gelatina, já que a encapsulação é frequentemente empregada a fim de proteger a bioatividade e melhorar a estabilidade do composto (FERNANDEZ, TORRES-GINER & LAGARON, 2009; SHARIF, FABRA & LOPEZ-RUBIO, 2019).

Existe uma correlação entre padrão de liberação e grau de reticulação, que muitas vezes atua servindo como uma barreira adicional através da qual o composto precisa se difundir, tornando sua liberação mais lenta (DENG, *et al.*, 2017; YAKUB *et al.*, 2018). No presente estudo foram identificadas interações associadas à reticulação entre o ácido ferúlico oxidado e as moléculas de gelatina, o que também se refletiu na liberação do composto fenólico das nanofibras (Figuras 4 e 9).

É de conhecimento geral que à proporção que o A.F. aumenta, o número de grupos hidroxila é ampliado, tal como a facilidade de liberação de radicais de hidrogênio e assim os grupos hidroxila podem reagir com a rede protéica. Os radicais peróxido formados após a radiólise da água podem converter grupos fenólicos de antioxidantes em grupos quinona que por sua vez podem interagir com o grupo amino nucleofílico da gelatina, reticulando a rede final (KIKUZAKI *et al.*, 2002). Analisando-se o grau de reticulação apresentado pelas nanofibras (tópico 5.1.7) podemos observar que o tratamento contendo 10% de A.F. mostrou o maior grau de reticulação dentre os grupos, e como visto, a menor atividade antioxidante dentre as nanofibras em que foi adicionado ácido ferúlico. Fazendo-se um paralelo entre esses resultados, uma inferência que pode ser feita é que à medida que A.F. interage com as moléculas de gelatina, via interações covalentes, pode ser que ocorra uma menor liberação de átomos de hidrogênio, uma vez que estes se tornam menos disponíveis devido ao próprio processo de reticulação.

É importante mencionar que a oxidação do ácido ferúlico feita com peróxido de hidrogênio é uma etapa empregada com a finalidade de permitir sua decomposição para espécies mais reativas que iniciam a abstração do hidrogênio formando o substrato fenólico que por sua vez gera um radical fenóxi produzindo assim a quinona, que tem maior capacidade de reticulação (MATHEW & ABRAHAM, 2007; OU *et al.*, 2005). Por se tratar de um processo relativamente complexo que envolve a formação de diversos intermediários, a oxidação do A.F. e a extensão dessa reação também podem ter exercido algum efeito na atividade antioxidante das nanofibras.

No entanto, para uma avaliação mais acurada da atividade antioxidante geralmente são aplicados mais de um método de ensaio já que os antioxidantes podem exibir sua atividade através de uma variedade de mecanismos diferentes, e o método de ensaio único pode não fornecer uma representação completa da atividade. Além disso, a atividade antioxidante é altamente dependente da estrutura química, solvente e mecanismos de atuação que podem incluir eliminação de radicais livres, quelação de metais e ligação a proteínas (AMORATI *et al.*, 2006; PRIOR, WU & SCHACH, 2005).

A atividade de eliminação de radicais de compostos fenólicos depende principalmente de suas porções específicas e características estruturais, especialmente a posição e o número de grupos hidroxila fenólicos. De modo geral essa eliminação pode acontecer por duas vias principais: transferência única de elétron ou transferência de átomo de hidrogênio, que podem ocorrer simultaneamente na natureza a depender do equilíbrio determinado pela estrutura do antioxidante e pH (JIA, HE, & LU, 2018). O radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico) (ABTS +) é um radical indicador que pode ser neutralizado tanto por redução direta via transferência de elétron quanto por extinção do radical por meio de doação de átomo de hidrogênio, o que é monitorado a partir da inibição do radical com redução da absorbância a 734 nm (GÓMEZ-ESTACA, *et al.*, 2014).

Na tabela 2 estão apresentados os resultados obtidos para atividade antioxidante segundo o método ABTS+. Podemos observar que nesta análise o grupo controle já não apresentou atividade e note-se que este ensaio também apresentou um comportamento decrescente da atividade com o aumento da concentração de ácido ferúlico de 7,5 para 10%, demonstrando que em ambos os métodos foi possível identificar uma atividade antioxidante considerável e com um padrão semelhante. De 5 para 7,5% de A.F. houve um aumento considerável na atividade das nanofibras e isso pode estar relacionado com o método utilizado

já que diferentemente do radical DPPH que é neutralizado por doação de átomo de hidrogênio, o radical ABTS⁺ pode ser neutralizado via doação de átomo de hidrogênio e transferência de elétron o que explica a diferença de valores entre os métodos uma vez pode ocorrer uma competição entre esses dois mecanismos em função da forma molecular do ácido ferúlico.

Tabela 2 - Atividade antioxidante (método ABTS⁺) das nanofibras de gelatina e ácido ferúlico: o controle representa as nanofibras de gelatina e os demais representam as nanofibras de gelatina e ácido ferúlico nas concentrações de 5, 7,5 e 10%.

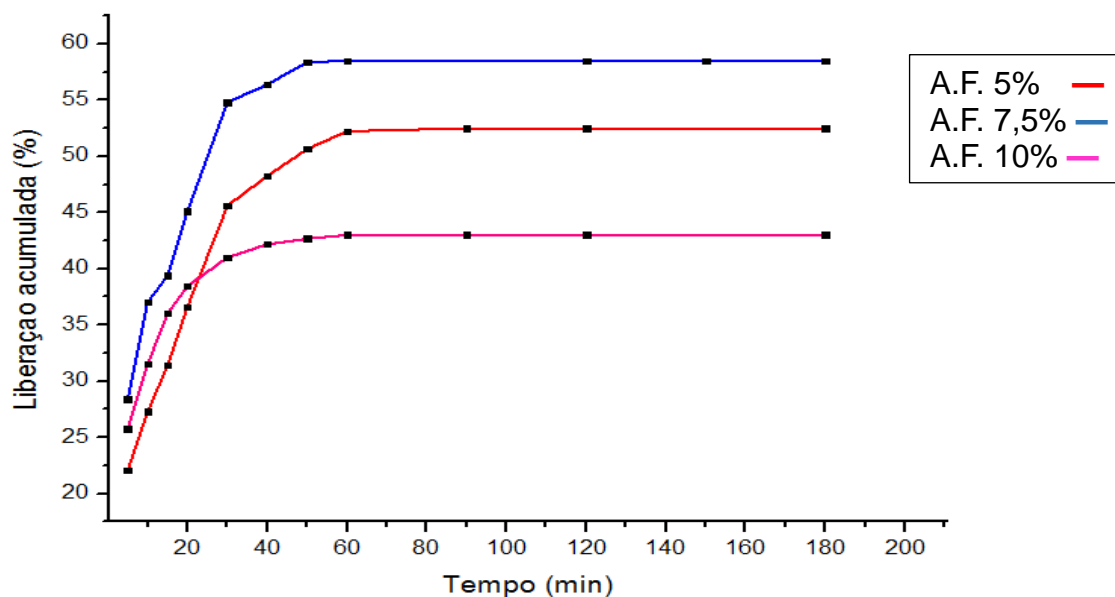
Tratamento	Atividade Antioxidante (μM de Trolox/g)
Controle	--
Ácido ferúlico 5%	714,76 \pm 2,1 a
Ácido ferúlico 7,5%	1278,77 \pm 3,4 c
Ácido ferúlico 10%	1206,27 \pm 5,2 b

Fonte: Elaborado pela autora. Letras diferentes representam diferença significativa para $p < 0,05$.

5.1.2 Estudo de liberação *in vitro*

A figura 5 apresenta o perfil de liberação das nanofibras contendo ácido ferúlico em meio fisiológico. Nela, é possível observar que todas as nanofibras apresentaram um padrão de liberação crescente inicialmente, seguido por uma fase de estabilização em que a liberação se dá de forma mais gradual e constante. Aos 50 minutos, momento em que atingiram o equilíbrio, as nanofibras contendo 5, 7,5 e 10% de A.F. tinham liberado, respectivamente, 50,64, 58,37 e 42,67%, nos indicando uma liberação mais prolongada nas nanofibras com 10% de ácido ferúlico. Padrão semelhante também foi encontrado por Poornima e Korrapati (2017), Yang *et al.* (2013) e Li *et al.* (2021).

Figura 5 – Perfil de liberação do ácido ferúlico nas concentrações de 5, 7,5 e 10% a partir das nanofibras de gelatina.



Fonte: Elaborado pela autora.

A menor porcentagem liberada pelo grupo com 10% de ácido ferúlico pode estar relacionada ao maior grau de reticulação atribuído ao mesmo (tópico 5.1.7). A formação de uma estrutura reticulada atua como uma barreira adicional pela qual o bioativo precisa se difundir, tornando assim, sua liberação mais lenta (YAKUB, *et al.*, 2018). Reações de reticulação podem ocorrer entre o A.F. e as cadeias poliméricas, devido a sua habilidade em estabelecer interações com a rede de polímeros. Desse modo a densidade de reticulação é aumentada, e inversamente, a mobilidade ou difusividade do ácido ferúlico das nanofibras para o meio aquoso é diminuída (BENBETTAÏEB, *et al.*, 2016). Um outro aspecto é que essa liberação mais lenta também pode se dar em razão da menor disponibilidade do ácido ferúlico devido à reticulação.

O efeito de liberação rápida inicial (*burst*) é um fenômeno comum para nanofibras incorporadas de compostos bioativos, em virtude da área de superfície e porosidade altas, e por essa razão métodos como a reticulação são empregados de modo a reter os compostos mais próximos à matriz polimérica e assim, suavizar essa tendência melhorando o perfil de liberação sustentada (NIRMALA, *et al.*, 2011).

Normalmente, o processo de difusão é dividido em dois pontos principais: 1º) as moléculas de água penetram na parte interna gradualmente, dissolvendo as moléculas de ácido

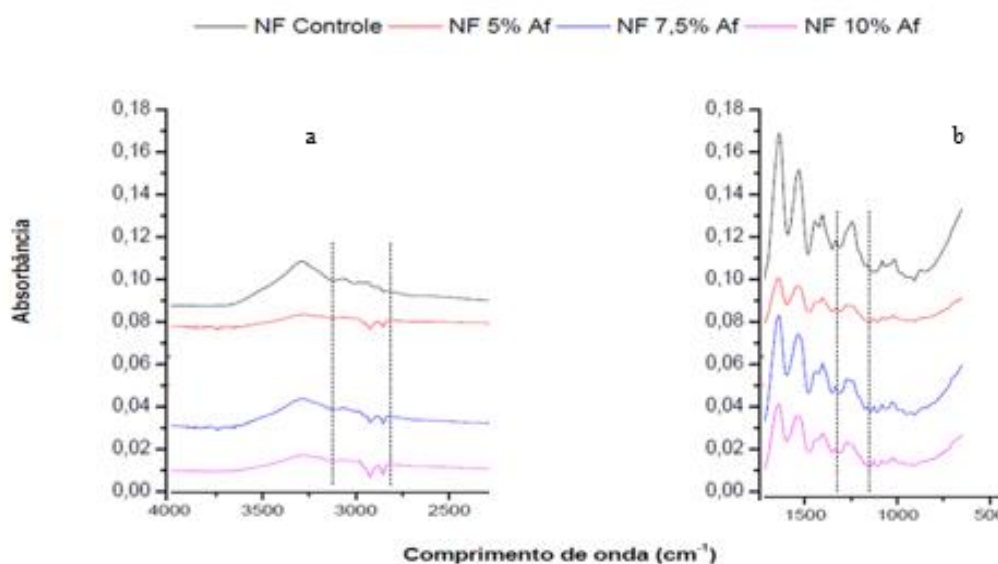
ferúlico nas moléculas de gelatina e 2º) as moléculas de A.F. remanescentes são passivamente difundidas das fibras para o meio de dissolução (YANG, *et al.*, 2013). Como mencionado anteriormente, o primeiro estágio de liberação caracterizou-se por uma rápida liberação do composto fenólico, em que grandes quantidades são liberadas, seguido pelo segundo estágio em que a liberação atinge um equilíbrio. Essa diferenciação entre os estágios pode ser associada a uma difusão inicial do ácido ferúlico presente na superfície das nanofibras, que acontece de forma mais rápida, até mesmo pela própria estrutura porosa das nanofibras. Já na segunda fase, supõe-se que ocorra a difusão do A.F. restante o qual está presente nas camadas mais internas da matriz de gelatina, e por isso sua liberação é mais lenta (YAKUB, *et al.*, 2018). No caso a liberação ocorre via difusão cuja força motriz é a diferença de concentração. À proporção que esse diferencial diminui em decorrência da liberação há uma desaceleração do processo de difusão até a estabilização.

Partindo-se do pressuposto de que é esperado que um material proteja os agentes bioativos incorporados neste, bem como que libere-os de uma forma desejada e sustentada, podemos afirmar que as nanofibras cumpriram com esta função, indicando uma incorporação do composto fenólico eficiente e adequada à posteriores aplicações, especialmente na indústria de alimentos, através da utilização de embalagens ativas com liberação controlada, que têm como finalidade principal a extensão da vida-útil.

5.1.3 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Na figura 6 estão representados os principais espectros vibracionais (FTIR) das nanofibras. O pico correspondente a 3286 cm^{-1} nas nanofibras do grupo controle as quais continham 30% de gelatina, referente à Amida A. Observou-se uma redução na intensidade desse pico nos demais grupos que continham concentrações crescentes de ácido ferúlico, principalmente na concentração de 5% onde houve um grande alargamento de banda, fato este que também foi observado na região da Amida B (Figura 6a) envolvida no estiramento CH_2 , e que está relacionado à ocorrência de interações (BENBETTAÏEB, *et al.*, 2015).

Figura 6- Espectros vibracionais na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) das nanofibras de gelatina e ácido ferúlico: o controle representa as nanofibras de gelatina e os demais representam as nanofibras de gelatina e ácido ferúlico nas concentrações de 5, 7,5 e 10%. Na letra a estão os picos referentes às Amidas A e B, e na letra b os picos das Amidas I, II e III.



Fonte: Elaborado pela autora.

No pico relativo à Amida I em 1635 cm^{-1} (estiramento da ligação C=O) observou-se uma redução da intensidade das bandas. O mesmo ocorreu no pico da Amida II associada a vibrações dos grupamentos C-N e N-H em 1535 cm^{-1} . Contudo na Amida III (região que se encontra destacada pelas linhas pontilhadas no gráfico), detectada a 1247 cm^{-1} nas nanofibras controle, foram vistas algumas mudanças em comparação aos demais grupos. Nas nanofibras com 5, 7,5 e 10% de ácido ferúlico esse pico foi observado a 1258 , 1264 e 1267 cm^{-1} respectivamente (Figura 6b). Tendo em vista que essa região espectral está relacionada às combinações entre as vibrações de estiramento C-N e N-H das ligações amídicas, bem como às absorções decorrentes das vibrações oscilantes dos grupos CH_2 da glicina e das cadeias laterais da prolina (BENBETTAÏEB, *et al.*, 2015), pode-se inferir que o ácido ferúlico interagiu com as moléculas de gelatina resultando em modificações na tripla hélice.

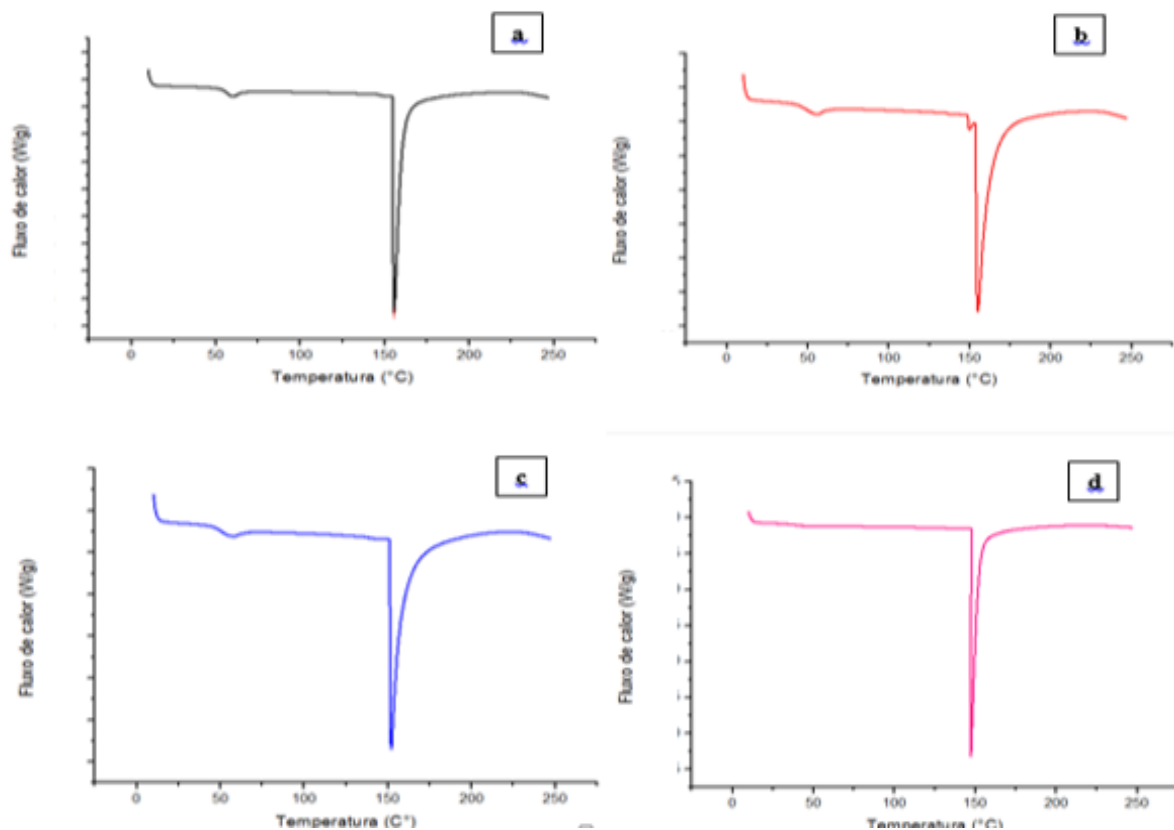
Tavassoli-Kafrani, Amir Goli, & Fathi (2017) relataram picos semelhantes para nanofibras de gelatina obtidas por *eletrospinning*. Entretanto, no presente trabalho a alteração das moléculas da gelatina em virtude da interação com o ácido ferúlico ficou um pouco mais evidente, com maiores reduções da intensidade das banda, maiores alargamentos e maiores

deslocamentos dos números de ondas. Benbettaïeb *et al.* (2015) também observaram alterações no pico referente à Amida III quando da adição do ácido ferúlico em filmes de quitosana e gelatina. As diferenças podem ser devidas às variações de concentração do ácido ferúlico utilizado, pH da solução polimérica bem como da oxidação ou não do ácido ferúlico, e em que condições é realizado esse processo oxidativo, e principalmente pelo tipo, fonte e condições de processo de extração da gelatina.

5.1.4 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

O comportamento térmico das nanofibras de gelatina e ácido ferúlico foi investigado por meio da análise de DSC, e os resultados estão apresentados na figura 7:

Figura 7- Calorimetria exploratória diferencial das nanofibras de gelatina e ácido ferúlico: a) nanofibras de gelatina; b) nanofibras de gelatina com 5% de ácido ferúlico; c) nanofibras de gelatina com 7,5% de ácido ferúlico; d) nanofibras de gelatina com 10% de ácido ferúlico.



Fonte: Elaborado pela autora.

Na tabela 3 estão descritas as temperaturas e a entalpia dos principais eventos térmicos observados:

Tabela 3 – Propriedades térmicas das nanofibras: T_g (temperatura de transição vítrea), T_m (temperatura de fusão) e ΔH (entalpia de fusão). O controle representa as nanofibras de gelatina e os demais representam as nanofibras de gelatina e ácido ferúlico nas concentrações de 5, 7,5 e 10%.

	$T_g(^{\circ}\text{C})$	$T_m(^{\circ}\text{C})$	$\Delta H (\text{J/g})$
Controle	60,13	155,45	57,37
A.F. 5%	55,51	155,26	61,31
A.F. 7,5%	57,05	152,05	62,51
A.F. 10%	56,67	147,05	144,15

Fonte: Elaborado pela autora.

O primeiro evento endotérmico observado nas nanofibras provavelmente representa a temperatura de transição vítrea, a qual ocorreu como uma discreta mudança na linha de base. A temperatura de transição vítrea (T_g) é uma reação de segunda ordem, que é causada pela mobilidade das regiões amorfas sob o calor. Quando o material é aquecido as cadeias adquirem certo grau de mobilidade e movimento, provocando mudanças na capacidade calorífica. Em geral, a T_g tem sido usada para confirmar que o polímero passa pelo estado de transição do estado vítreo para o elástico (AHMAD, *et al.*, 2012). No presente trabalho, as nanofibras do grupo controle, composto apenas pela gelatina, apresentou uma T_g de 60,13°C, enquanto que as demais tiveram T_g ligeiramente menor. Deve ser pontuado que os valores relativamente baixos encontrados para a temperatura de transição vítrea podem ter relação com a variação de umidade nas amostras, fato que também foi observado por Hani *et al.* (2017) em nanofibras de gelatina obtidas por eletrofiação e por Theerawitayaart *et al.* (2021) em estudo de estabilidade de filmes de gelatina.

O segundo evento pode ser associado à temperatura de fusão de estruturas organizadas. A temperatura de fusão (T_m) está correlacionada com a fusão de cristalitos da hélice de colágeno parcialmente degradada em gelatina, e é considerada como uma transição

de primeira ordem (GRAZIOLA, 2013). Analisando-se a tabela 3, vemos que como na T_g , a T_m nos grupos em que foi incorporado A.F., foi um pouco inferior quando comparada ao controle, sugerindo um deslocamento da temperatura de fusão das estruturas organizadas.

Essa redução nos valores de T_g e T_m das nanofibras pode se dar em virtude de uma maior mobilidade das cadeias moleculares e maior volume livre, isto é, há a formação de uma estrutura molecular mais compacta. Além disso, quanto às mudanças na temperatura de fusão, também deve ser considerado o próprio processo de fiação que pode promover transições na estrutura molecular da gelatina de um estado semicristalino para um estado mais amorfo por uma mudança na estrutura terciária (HANI, *et al.*, 2017).

Contudo, este deslocamento de picos não foi tão expressivo, o que é um bom indício de que o composto fenólico foi bem combinado ao polímero, estando bem inserido na matriz gelatinosa, especialmente nos tratamentos com 5 e 7,5% de A.F., o que demonstra boa compatibilidade termodinâmica entre os componentes, a qual é essencial para a estabilidade de materiais fibrosos (REZAEI, *et al.*, 2019).

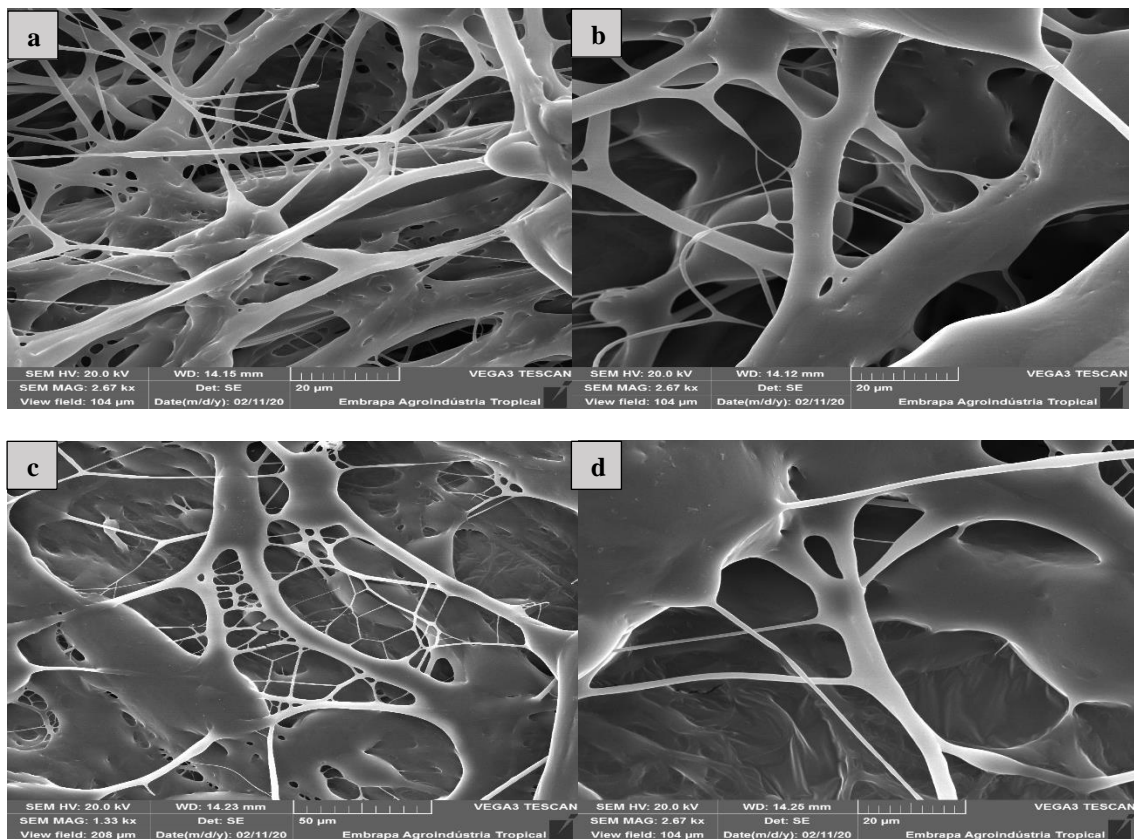
O ácido ferúlico em seu estado puro, é caracterizado pelo aparecimento de um pico endotérmico correspondente ao seu ponto de fusão na faixa de 174 a 178°C (YAKUB, *et al.*, 2018), pico este que não apareceu nos termogramas da figura 6, nos indicando a ausência do bioativo em seu estado cristalino, sugerindo assim, um estado mais amorfo nas nanofibras, o que também foi encontrado por Poornima e Korrapati (2017) e Yakub *et al.* (2018) em nanofibras contendo ácido ferúlico. Essa inibição da formação de cristais em bioativos tem relação com interações intermoleculares ocorridas entre o polímero e o composto bioativo (YAKUB, *et al.*, 2014).

No tocante às entalpias de fusão, note-se que houveram aumentos em relação ao grupo controle, e este aumento foi mais considerável no grupo com 10% de ácido ferúlico, indicando que possivelmente as ligações químicas resultantes do processo de reticulação melhoraram a resistência térmica das nanofibras, hipótese que também é sustentada pela análise do grau de reticulação na qual as nanofibras com 10% de A.F. apresentaram a maior porcentagem de reticulação dentre os grupos (tópico 5.1.7). O mesmo foi observado por Zhang *et al.* (2021), que, inclusive, obteve valores de entalpia semelhantes para nanofibras de gelatina reticuladas com genipina.

5.1.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A figura 8 mostra a análise de MEV das nanofibras. A análise das imagens permitiu observar que a adição do composto fenólico teve influência na morfologia das nanofibras visualizando-se um comportamento de transição entre nanofibras-filme bem como aumento dos diâmetros. A formação de gotas e de alguns agregados fibrosos foi comum em todos os grupos sendo a intensidade desse processo maior com o aumento da concentração de ácido ferúlico.

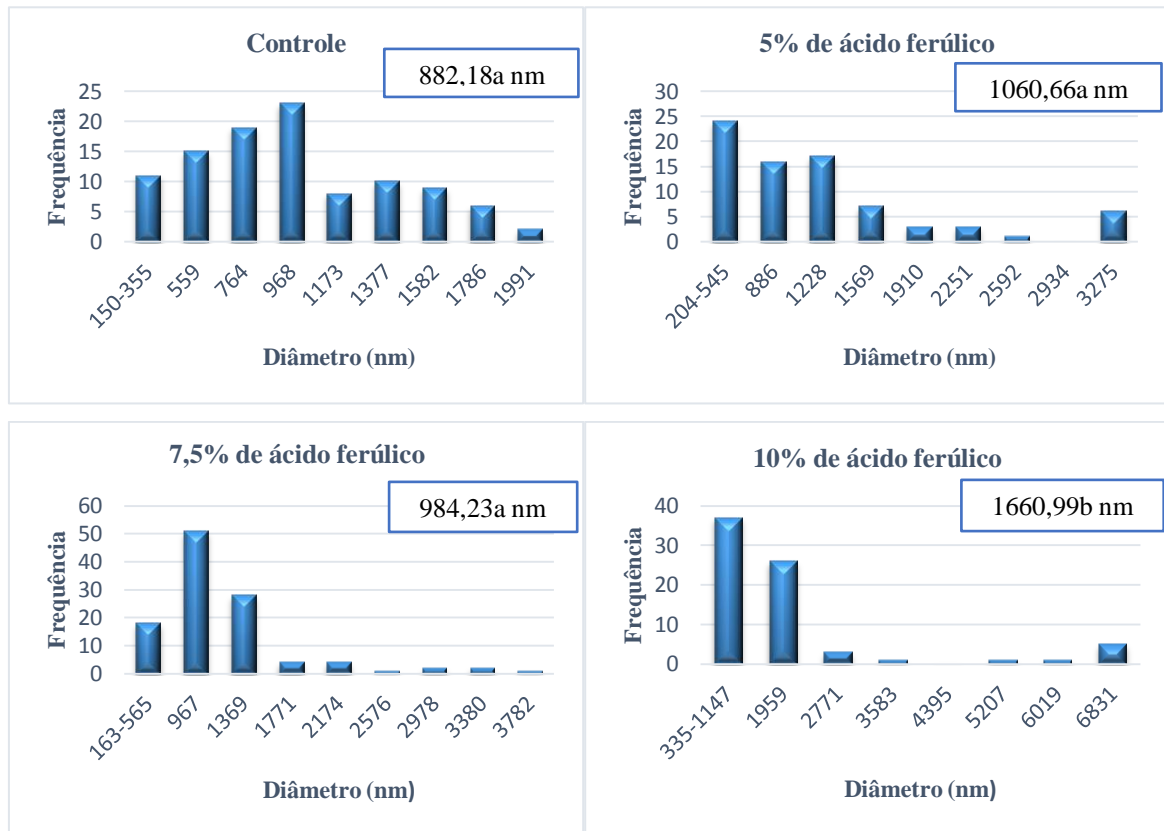
Figura 8 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV) das nanofibras de gelatina e ácido ferúlico: a) nanofibras de gelatina; b) nanofibras de gelatina com 5% de ácido ferúlico; c) nanofibras de gelatina com 7,5% de ácido ferúlico; d) nanofibras de gelatina com 10% de ácido ferúlico.



Fonte: Muniz, C. R., 2020.

Na figura 9 temos a distribuição de frequências dos diâmetros das nanofibras acompanhadas do diâmetro médio de cada tratamento.

Figura 9 - Distribuição dos diâmetros e diâmetro médio das nanofibras de gelatina e ácido ferúlico. O controle representa as nanofibras de gelatina e os demais representam as nanofibras de gelatina e ácido ferúlico nas concentrações de 5, 7,5 e 10%.



Letras diferentes representam diferença significativa para $p < 0,05$.

Fonte: Elaborado pela autora.

Os diâmetros encontrados neste estudo foram equiparáveis ao observado por outros autores por meio da técnica de eletrofiação e fiação por sopro, como mostra o quadro 1:

Quadro 1 - Comparativo de diâmetros de nanofibras encontrados na literatura.

Autor	Título do artigo	Diâmetro encontrado (nm)
Chuysinuan <i>et al.</i> (2009)	Gallic acid-loaded electrospun poly(L-Lactic acid) fiber mats and their release characteristic.	843-965
Sharif <i>et al.</i> (2019)	Food-grade gliadin microstructures obtained by electrohydrodynamic processing.	1248-1276
Li <i>et al.</i> (2020)	Polycaprolactone/poly(L-lactic acid) composite micro/nanofibrous membrane prepared through solution blow spinning for oil adsorption.	570-1380
Ignatova <i>et al.</i> (2016)	Poly(3-hydroxybutyrate)/caffeic acid electrospun fibrous materials coated with polyelectrolyte complex and their antibacterial activity and <i>in vitro</i> antitumor effect against HeLa cells.	840

Fonte: Elaborado pela autora.

Esses aumentos no diâmetro após adição de reticulantes também foram obtidos por Shi *et al.* (2020) em que nanofibras de gelatina reticuladas com pectina atingiram diâmetros de 900 a 1350 nm. O mesmo foi observado por Tavassoli-Kafrani, Goli e Fathi (2017) com nanofibras de gelatina produzidas por eletrofiação, reticuladas com diversos compostos fenólicos, incluindo o ácido ferúlico, e por Yakub *et al.* (2018) em nanofibras de poli (ϵ -caprolactona) revestidas de quitosana/ácido ferúlico. Esta observação pode ser explicada pelo aumento na viscosidade da solução de fiação em decorrência das ligações de hidrogênio entre os polímeros e os compostos fenólicos. Entretanto nestes trabalhos foram encontrados diâmetros inferiores em comparação ao presente estudo o que em uma primeira análise pode ser devido ao diferente método de obtenção aplicado neste trabalho, a fiação por sopro. No presente estudo, podemos observar frações de nanofibras com diâmetros nas escalas nanométrica e micrométrica principalmente nos tratamentos contendo ácido ferúlico (Figuras 9b, 9c e 9d).

Uma das diferenças entre esses dois métodos (fiação por sopro x eletrofiação) refere-se à vazão da solução polimérica, parâmetro que determina a quantidade de transferência de fluido e a velocidade do jato, afetando a capacidade de fiação do sistema. Na fiação de sopro essa vazão é pelo menos 10 vezes maior, o que está associado a um maior diâmetro das fibras e conseqüentemente à formação de gotas e junções (HENRIQUES *et al.*, 2009; RAMAKRISHNA, 2005; TONG & WANG, 2007) (Figura 7d). Isso pode ocorrer em virtude do tempo insuficiente para permitir a completa evaporação do solvente antes de chegar ao coletor, levando algumas fibras a se fundirem (KRIEGEL *et al.*, 2008). Além disso, altas taxas de fluxo reduzem o tempo disponível para as fibras secarem antes de chegarem ao coletor, o que também contribui com a formação de gotas e agregados (YUAN, *et al.*, 2004; ZONG *et al.*, 2002).

Além do aumento do diâmetro, o aumento da velocidade do fluxo da solução possivelmente também está relacionado à descontinuidade das fibras e a um aumento nos desvios padrão dos diâmetros (OSPINA, 2011; HUANG, *et al.*, 2001; ZHANG, *et al.*, 2005), isto é, uma menor homogeneidade, o que foi observado em nosso estudo à medida em que se aumentou a concentração do ácido ferúlico, como também mostra a figura 6. Na maior concentração de ácido ferúlico pode-se verificar a presença de nanofibras variando de 335 nm a mais de 6 μm , o que faz com que o diâmetro médio se eleve consideravelmente. As nanofibras com 5 e 7,5% de ácido ferúlico apresentaram variações semelhantes nos diâmetros, indo de 204 nm a 3 μm e de 163 nm a 4 μm , respectivamente.

A concentração do polímero é um dos parâmetros mais importantes para a morfologia da nanofibra, pois afeta diretamente a viscosidade da solução de fiação que por sua vez está ligada ao grau de emaranhamento da cadeia molecular (KRIEGEL *et al.*, 2008). À medida em que se aumenta a concentração da solução polimérica tem-se uma maior intensidade das interações polímero-solvente e polímero-polímero que favorecem o enovelamento das cadeias e o alongamento das fibras o que também reflete no aumento do diâmetro das nanofibras (LI, *et al.*, 2009). Em nosso estudo os valores de diâmetro encontrados podem estar associados à alta concentração de gelatina utilizada, 30%. Ademais o peso molecular do polímero é determinante pois relaciona-se às propriedades reológicas da solução, como a viscosidade, que é um fator-chave em todo o processo (CHAKRABORTY, *et al.*, 2009).

A formação das fibras requer um emaranhamento máximo de cadeias poliméricas. Para tanto, se faz necessário a aplicação de polímeros com peso molecular e concentrações

suficientes para possibilitar a fiação (MERCANTE, *et al.*, 2017; REZAEI *et al.*, 2015) o que torna a dinâmica do processo bastante complexa quando se trata da utilização de biopolímeros, uma vez que muitos deles tendem a formar géis através da ligação de hidrogênio, por isso o ajuste de uma concentração ótima é fundamental, pois irá determinar a morfologia do produto final. Abaixo de um valor crítico, supõe-se que é gerada uma rede insuficientemente emaranhada de cadeias de biopoliméricas mas à medida que a concentração de polímero é aumentada, é possível a formação de fibras. Um aumento adicional na concentração resulta em fibras contínuas e em concentrações ainda maiores, fibras mais heterogêneas são observadas em virtude da alta viscosidade da solução (SHENOY *et al.*, 2005; KHOSHNOUDI-NIAA, SHARIFB & JAFARI, 2020).

Neste estudo foi escolhida a concentração de 30% de gelatina pois em experimentos anteriores a mesma se mostrou como a menor concentração capaz de formar fibras. Entretanto, por se tratar de uma concentração alta deve-se investigar seu efeito sobre a viscosidade e tensão superficial da solução final a fim de explicar as heterogeneidades morfológicas observadas.

Uma distância ideal entre o orifício inicial por onde a solução é extrudada e o coletor, conhecida como distância de trabalho, também se faz necessária para que se tenha um processo de fiação adequado. Isso fornece tempo suficiente para as estruturas finais secarem como resultado da evaporação total do solvente antes de chegar ao coletor (MERCANTE, *et al.*, 2017). Se essa distância for muito curta ou muito longa, tem-se a formação de gotas nas nanofibras e estas tendem a ser descontínuas (GENG, KWON & JANG, 2005; KI *et al.*, 2005). No presente trabalho, a fim de comportar todas as estruturas que compunham o sistema, foi empregada a distância de 50 cm, que pode ter contribuído para presença das gotas. As distâncias de trabalho frequentemente encontradas na literatura variam entre 7 e 20 cm (MILLÁN, BENITO, & CARRILLO, 2018); OSPINA, 2011; TAVASSOLI-KAFRANI, GOLI & FATHI, 2017; SHI *et al.*, 2020; LI *et al.*, 2020).

Condições ambientais, incluindo temperatura e umidade, também têm relevância, pois podem afetar a dinâmica do processo. Sabe-se que há uma relação entre temperatura e algumas propriedades da solução, como a viscosidade do polímero, tensão superficial, condutividade e evaporação do solvente (BHARDWAJ & KUNDU, 2010; CHEN & YU, 2010). Quanto a este último fator, é primordial que se aplique uma temperatura alta o bastante para que o solvente evapore em sua totalidade. Entretanto mesmo com as altas temperaturas

empregadas neste experimento, observou-se a formação de gotas e de fibras heterogêneas em todos os tratamentos, logo, pode-se inferir que essa heterogeneidade se deveu a outros fatores e não somente à não evaporação completa do solvente.

Quanto às superfícies das nanofibras visualizou-se no grupo controle que estas possuíam contornos mais suaves e com a adição do reticulante essa superfície passou a ter contornos menos bem-definidos. Essa observação aliada ao aumento dos diâmetros ocorrido pode sugerir que haja uma determinada quantidade de ácido ferúlico atrelada à superfície das fibras. Situação semelhante foi relatada por Shi *et al.* (2020) em nanofibras de pectina reticuladas com gelatina.

No quadro 2 estão resumidos os principais parâmetros envolvidos na formação de nanofibras e seus efeitos sobre o diâmetro:

Quadro 2 – Parâmetros do sistema e sua influência no diâmetro e formação de nanofibras.

Parâmetros	Efeitos
Concentração	Relaciona-se ao grau de emaranhamento da cadeia molecular, e o conseqüente alongamento das fibras.
Viscosidade	Quanto maior, maior a intensidade das interações e maior diâmetro.
Distância de trabalho	Se for muito curta ou muito longa, as nanofibras tendem a ser descontínuas.
Peso molecular	Influencia nas propriedades reológicas da solução.
Condições ambientais	Podem influenciar na solução final, como viscosidade e evaporação do solvente.
Vazão	Quanto maior, maior a tendência à formação de gotas.

Fonte: Elaborado pela autora.

5.1.6 Solubilidade

A solubilidade é um importante parâmetro que rege o desempenho de polímeros nos mais diversos sistemas em virtude de sua influência em outras propriedades funcionais. Dentre esses polímeros sabe-se que a gelatina tem grande destaque na indústria alimentícia como na distribuição de compostos alimentares bioativos, embalagens de alimentos ativos, revestimentos comestíveis, clarificação de bebidas, etc. Para muitas dessas aplicações, a estabilidade em água das nanofibras é um pré-requisito, e muito esforço vem sendo investido no desenvolvimento de estratégias de reticulação para garantir a estabilidade morfológica desses materiais, além de melhorar suas propriedades físico-químicas e biológicas (ALPIZAR-REYES, *et al.*, 2017; JALAJA, *et al.*, 2014).

A tabela 4 apresenta os valores de solubilidade das nanofibras obtidos em diferentes valores de pH. Podemos observar que o tratamento contendo 5% de ácido ferúlico apresentou as maiores reduções na solubilidade quando comparado ao grupo controle. Contudo o tratamento com a maior concentração de A.F. não apresentou essa mesma tendência, com valores estatisticamente semelhantes ao controle, exceto em pH 7. Note-se também que a solubilidade das nanofibras mostrou um comportamento mais independente ao pH, à exceção do pH 3,8 em que foram encontrados valores significativamente menores, o que também foi observado por Tavassoli-Kafrani, Amir Goli, & Fathi (2017).

Tabela 4 - Solubilidade (%) das nanofibras de gelatina e ácido ferúlico em diferentes valores de pH. O controle representa as nanofibras de gelatina e os demais representam as nanofibras de gelatina e ácido ferúlico nas concentrações de 5, 7,5 e 10%.

Tratamentos	pH			
	3,8	5	7	9
Controle	2,41 ± 0,12 aA	2,05 ± 0,12 aB	1,77 ± 0,22 aB	2,07 ± 0,15 aB
A.F. 5%	0,23 ± 0,008 bA	0,16 ± 0,005 bA	0,73 ± 0,04 bB	0,46 ± 0,18 bAB
A.F. 7,5%	0,67 ± 0,29 cA	1,26 ± 0,11 cB	1,22 ± 0,1 cB	1,1 ± 0,15 cB
A.F. 10%	2,7 ± 0,18 aA	2,29 ± 0,54 aB	2,7 ± 0,1 dA	2,25 ± 0,11 aB

Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa entre os tratamentos, e maiúsculas representam diferença significativa entre os valores de pH, para $p < 0,05$.

Fonte: Elaborado pela autora

Podem-se atribuir as maiores solubilidades do grupo com 10% de A.F., à maior presença de grupos hidróxi no mesmo, que podem se combinar à água, e se solubilizar. Além disso o arranjo dos polímeros dentro da matriz das nanofibras pode afetar consideravelmente as propriedades de solubilidade e transferência de vapor d'água (CAO, FU & HE, 2007). Ou *et al.* (2005), analisando o papel do ácido ferúlico em filmes à base de proteína, também observaram que em maiores concentrações de A.F., a solubilidade bem como a permeabilidade ao vapor d'água eram semelhantes aos filmes controle, não havendo reduções significativas, o que nos remete à existência de uma concentração ideal de ácido ferúlico. Neste trabalho, no que concerne à solubilidade, essa concentração seria a de 5%.

Esses aumentos nos valores de solubilidade acompanhando o aumento da concentração do composto fenólico também podem estar associados à ocorrência de ligações de hidrogênio mais fortes entre o ácido ferúlico e a gelatina (HUANG, *et al.*, 2005; BITENCOURT, CABRAL, & MEIRELLES, 2016).

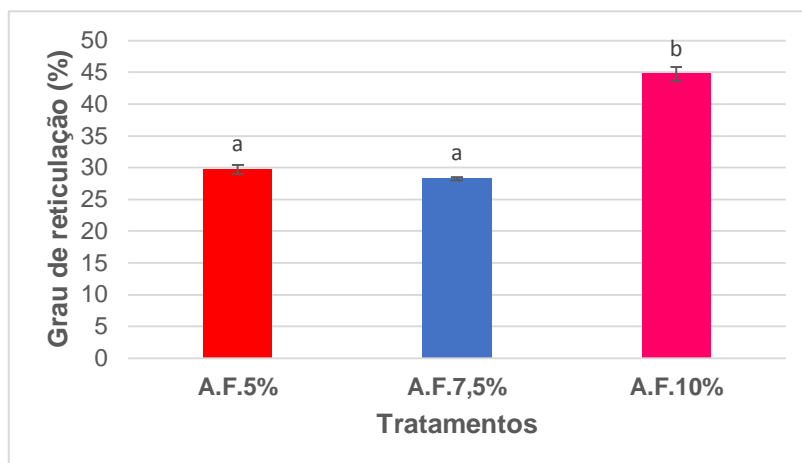
Apesar de esperarmos encontrar uma menor solubilidade na maior concentração de ácido ferúlico, uma vez que a mesma apresentou o maior grau de reticulação entre os tratamentos (ver tópico 5.1.7), deve-se ressaltar a natureza complexa da gelatina como polímero, especialmente sua diversidade de grupos funcionais presentes com grande variedade de cadeias laterais e sequências únicas de aminoácidos, portanto controlar a etapa de reticulação é um desafio (GOMÉZ-GUILLÉN, *et al.*, 2011). Também devem ser consideradas as diferentes formas pelas quais podem ocorrer as interações provenientes da reticulação como já foi mencionado, o que não obrigatoriamente resulta em menor solubilidade.

Um fator que também deve ser levado em consideração é a alta área de superfície e porosidade das teias de nanofibras, que permitem que o meio de dissolução se difunda rapidamente no material por causa da superfície livre, isto é, uma grande área de contato fibra-líquido (ZHANG, *et al.*, 2015). Entretanto ressalte-se que de uma forma geral todos os tratamentos apresentaram solubilidades bem menores quando comparado ao encontrado por outros autores como Karim, Fathi e Soleimanian-Zad (2020) em nanofibras de gelatina e zeína, e Liu *et al.* (2021) no estudo de nanofibras de gelatina/quitosana/PLA.

5.1.7 Grau de reticulação

Devido à natureza hidrofílica da gelatina de peixe, a reticulação é uma técnica muitas vezes utilizada com o objetivo de alcançar maior estabilidade hidrolítica além de melhores propriedades mecânicas. Ademais, em se tratando do processo de fiação (elétrica ou de sopro) da gelatina, frequentemente se faz necessário o uso de reticulantes para funcionalizar a capacidade de fiação do sistema em termos de viscosidade, que por ser naturalmente alta, pode afetar diretamente a produção das nanofibras bem como a aplicabilidade destas (LI, *et al.*, 2016; ETXABIDE, *et al.*, 2017). A fim de obtermos um indicativo ou quantificação da extensão da ocorrência das reações de reticulação foi feita a análise do grau de reticulação por meio do ensaio de TNBS, e os resultados estão na figura 10:

Figura 10- Grau de reticulação (%) das nanofibras de gelatina e ácido ferúlico nas concentrações de 5, 7,5 e 10%.



Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$).

Fonte: Elaborado pela autora.

Podemos observar que não houveram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos com 5 e 7,5% de ácido ferúlico em que estes apresentaram um grau de reticulação de respectivamente 29,7 e 28,27%, enquanto que o tratamento contendo 10% de A.F., teve 44,76%, sendo notadamente superior aos demais.

Estes resultados convergem com a análise de FTIR em que observamos reduções na intensidade das bandas, alargamentos de algumas bandas e deslocamentos dos picos, principalmente para as amidas A e III, que sinalizam para a ocorrência de interações entre o ácido ferúlico e as moléculas de gelatina que resultam em alterações na tripa hélice. Resultados semelhantes foram encontrados por Kwak *et al.* (2021) no estudo de nanofibras de gelatina de peixe com A.F. e 10% de glucose, que obteve 40% de grau de reticulação; por Dias *et al.* (2017); e por Biscarat *et al.* (2015), analisando o efeito da reticulação química em membranas de gelatina. Destaque-se também que Tavassoli-Kafrani, Goli e Fathi (2017) obtiveram um valor consideravelmente menor, de 3,45%, para nanofibras de gelatina reticuladas com ácido ferúlico.

Em relação à oxidação, o ácido ferúlico reage com o peróxido de hidrogênio e essa reação é acompanhada de sua decomposição para espécies mais reativas como radical hidroxila e radical superóxido que iniciam a abstração de hidrogênio do ácido ferúlico. O substrato fenólico forma um radical fenóxi que pode se reorganizar originando a quinona (MATHEW &

ABRAHAM, 2008). Graf (1992) postulou que qualquer radical reativo que colide com o ácido ferúlico pode facilmente retirar um átomo de hidrogênio para formar um radical fenóxi. Esse radical é altamente estabilizado por ressonância, pois o elétron não emparelhado pode estar presente não apenas no oxigênio, mas pode ser deslocalizado em toda a molécula (OUDGENOEG *et al.*, 2001).

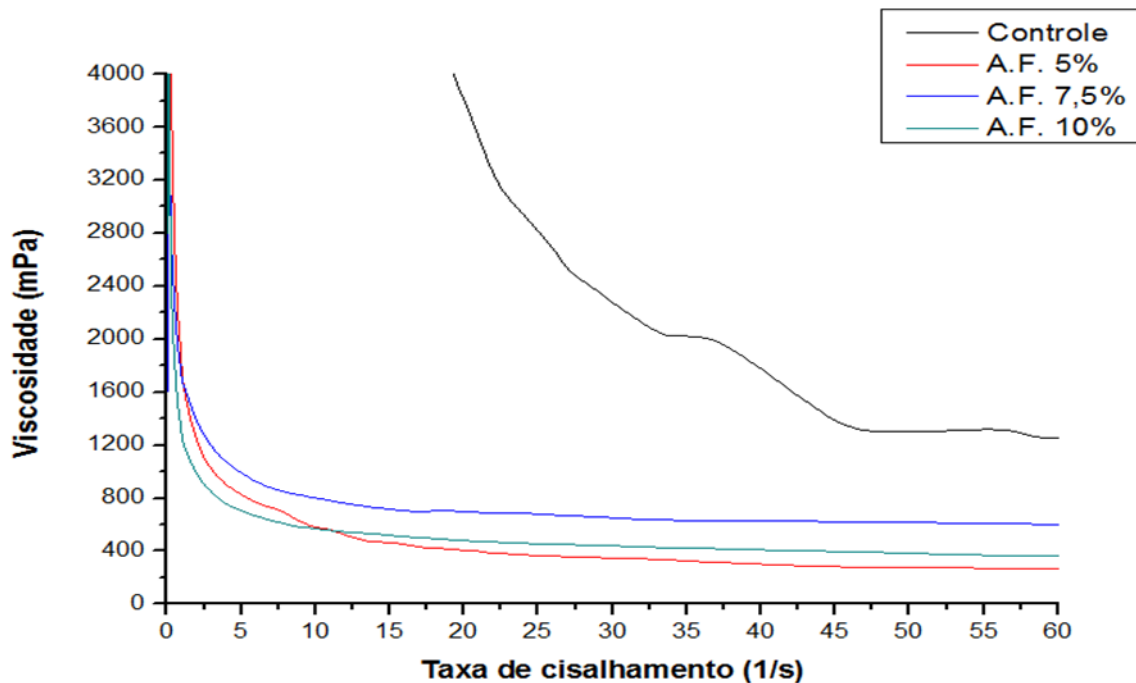
As interações entre proteína e compostos fenólicos de modo geral podem ocorrer por meio de ligações de hidrogênio, ligações covalentes, ligações iônicas e hidrofóbicas (ZHANG, XU & WANG, 2010). Esses autores afirmam que o mecanismo de reação envolve uma oxidação inicial de estruturas fenólicas em quinonas, que prontamente reagem com nucleófilos de grupos de aminoácidos reativos na proteína, sendo eles: grupo sulfidril na cisteína, grupo amino da lisina e arginina, grupo amida da asparagina e glutamina, anel indol do triptofano e anel imidazol da histidina. Ligações cruzadas entre tirosina e ácido ferúlico também têm sido postuladas (OUDGENOEG, *et al.*, 2001). A formação de quinonas geralmente é associada à formação de uma coloração amarelada típica (BENBETTAÏEB, *et al.*, 2015), fato este que foi observado nas nanofibras, principalmente as que continham 10% de A.F.

Finalmente, vale ressaltar que o ensaio de TNBS caracteriza-se por quantificar funções remanescentes de amina primária que não reagiram com o reticulante. Uma vez que este teste não qualifica a própria reação, não se pode inferir se o A.F. reagiu com uma ou mais aminas sem o respaldo da análise de FTIR (BISCARAT, *et al.*, 2015).

5.1.8 Viscosidade

A viscosidade de uma solução de fiação é um fator preponderante no que concerne à produção de nanofibras, já que tem influência direta na extensibilidade e alongamento das cadeias poliméricas durante os processos de fiação, bem como nos diâmetros das fibras (DEMIR, *et al.*, 2002). A figura 11 mostra a viscosidade aparente obtida para as nanofibras de gelatina e ácido ferúlico.

Figura 11 - Viscosidade aparente das nanofibras de gelatina e ácido ferúlico: o controle representa as nanofibras de gelatina e os demais representam as nanofibras de gelatina e ácido ferúlico nas concentrações de 5, 7,5 e 10%.



Fonte: Elaborado pela autora

Todo o processo de fiação é acompanhado por mudanças na viscosidade da solução. Inicialmente o jato de polímero sofre instabilidades, o que pode ser acompanhado de uma redução no diâmetro das fibras recém-formadas, devido principalmente ao arrasto e forças de fricção causadas pelo gás. Nesse sentido, o cisalhamento tem grande relevância porque a formação do jato depende desse alongamento da solução de polímero. Assim, a viscosidade da solução equilibra a extensão transmitida por essas forças (KOLBASOV, *et al.*, 2016).

A viscosidade da solução muito baixa causa a formação de gotículas que se desprenderam do bico devido as forças de cisalhamento do jato de ar em aceleração excedendo a força reológica do polímero. Isso torna mais complexo o processo de formação das fibras, pois cada gota que não seca completamente dissolve as fibras existentes logo que entra em contato (Figura 8d, tópico 5.1.5). Por outro lado, uma viscosidade muito alta pode resultar no entupimento do orifício em que é extrudado o polímero, uma vez que essas soluções são mais resistentes ao fluxo. Isso pode aumentar o tempo de permanência da solução no sistema e causa interrupção da formação do jato de polímero e flutuação do processo. Em resumo, uma

viscosidade da solução muito baixa ou muito alta pode resultar em instabilidades (SCHUCHARD, *et al.*, 2020).

Observamos que o grupo controle, o qual correspondia às nanofibras de gelatina na concentração de 30%, apresentou maior viscosidade em comparação aos demais tratamentos, e este fato pode estar associado à alta concentração polimérica utilizada. Vale reforçar que concentrações de polímeros mais elevadas muitas vezes são requeridas em um sistema de fiação, o que se confirmou nos testes preliminares realizados no sistema de fiação de sopro utilizado no presente estudo. Contudo, como visto, existe um limite de viscosidade para que o sistema funcione corretamente e produza fibras contínuas e homogêneas, e assim, acima de tal limite a funcionalidade do sistema é prejudicada devido, principalmente, à instabilidade do jato que ocorre em função de uma combinação de fatores, como tensão superficial, forças eletrostáticas e viscoelásticas, arrasto viscoso e efeitos da gravidade. Além disso, a estabilidade da gelatina geralmente é reduzida quando em maiores concentrações (GHORANI & TUCKER, 2015; LI, *et al.*, 2016).

O que podemos constatar é que a adição do A.F. tornou a viscosidade das soluções mais adequada ao sistema de fiação de sopro, inclusive diminuindo a ocorrência de oclusões nos orifícios concêntricos que compunham o sistema, propiciando, portanto, uma melhor continuidade das fibras formadas.

Analisando os grupos contendo ácido ferúlico percebe-se que o grupo com 10% de A.F. mostrou um comportamento de viscosidade aparente intermediário entre os grupos com 5 e 7,5% de ácido ferúlico, o que pode estar relacionado à reticulação das nanofibras. É provável que um aumento da concentração do reticulante aumente a razão de reticulação até certo ponto no qual a saturação do sistema proteína/composto fenólico é atingida, levando ao surgimento de um patamar. Nesse ponto de saturação as interações moleculares atrativas são flutuadas e enfraquecidas o que pode acontecer em razão de forças moleculares mistas responsáveis pela reticulação do ácido ferúlico, o que não indica necessariamente que todos os sítios reativos na proteína foram fixados, mas que obstáculos estéricos podem impedir que os grupos reativos do ácido ferúlico alcancem todos os grupos de aminoácidos disponíveis nas cadeias protéicas (KIKUSAKI, *et al.*, 2002; BISCARAT, *et al.*, 2015).

Como mostrado na figura 11, as soluções de fiação das nanofibras apresentaram um perfil de emulsões tipicamente não newtonianas, isto é, fluidos que não possuem uma

viscosidade bem definida a qual varia com a força aplicada. Uma evidência disso pode ser observada pela diminuição da taxa de cisalhamento, que pode ser relacionada à ruptura da rede de polímero emaranhada, causando um aumento das forças de cisalhamento e menor resistência intermolecular das soluções para fluir a taxas de cisalhamento mais altas (LIU, *et al.*, 2018). Essas características também foram encontradas por Zhang *et al.* (2021) em estudo de nanofibras eletrofiadas de gelatina reticuladas com genipina e por Binsi *et al.* (2009) que relataram comportamento não newtoniano de redução de cisalhamento para gelatina extraída de peixes.

Conforme já mencionado, a viscosidade tem grandes efeitos sobre o diâmetro das nanofibras, em que um aumento da viscosidade geralmente é associado a maiores diâmetros. Neste trabalho pudemos observar que houveram aumentos nos diâmetros quando da adição de A.F. (tópico 5.1.5), porém esse aumento só foi significativo no tratamento com 10% de ácido ferúlico que por sua vez apresentou uma viscosidade intermediária. Aceituno-Medina *et al.* (2015) também obtiveram resultados semelhantes em que a adição de quercetina às nanofibras não necessariamente resultou em aumentos na viscosidade e consequentemente nos diâmetros.

Portanto, é possível deduzir que não só a viscosidade teve influência sobre o diâmetro das fibras, como também outros fatores, como por exemplo a quantidade de bioativo adicionada às soluções de fiação. Neste caso, o maior diâmetro encontrado nas nanofibras com 10% de A.F. pode estar atrelado à maior quantidade do composto fenólico adicionada.

CONCLUSÃO

No presente trabalho foi possível produzir nanofibras de gelatina de tilápia (*Oreochromis niloticus*) incorporadas de ácido ferúlico a diferentes concentrações utilizando-se a técnica de fiação de sopro. As nanofibras apresentaram atividade antioxidante, o que lhes tornam um material com potencial para aplicações futuras. Os espectros vibracionais mostraram alterações consideráveis nos picos referentes às Amidas, o que é um indicativo da ocorrência de reações de reticulação entre as moléculas de gelatina e A.F., fato este que também foi comprovado pela análise do grau de reticulação. As nanofibras apresentaram baixa solubilidade em meio aquoso, especialmente o tratamento com 5% de A.F. Também foi observado que a adição do composto fenólico influenciou na morfologia das nanofibras. Quanto à liberação, as nanofibras apresentaram um perfil de liberação sustentada e condizente com o esperado. Por meios dos termogramas de DSC, observamos que o ácido ferúlico foi complexado e inserido na matriz de gelatina, e estava em um estado mais amorfo e o aumento das entalpias de fusão nos indica uma provável melhora da resistência térmica das nanofibras. A viscosidade das soluções de fiação também foi influenciada pela adição do composto fenólico. Assim, podemos concluir que as nanofibras produzidas neste estudo apresentaram propriedades requeridas para bioembalagens adequadas à proteção de alimentos, e são, portanto, aptas a estudos posteriores referentes à sua aplicação.

REFERÊNCIAS

- ACEITUNO-MEDINA, M., MENDOZA, S., RODRÍGUEZ, B.A., LAGARON, J.M., LÓPEZ-RUBIO, A, Improved antioxidant capacity of quercetin and ferulic acid during in-vitro digestion through encapsulation within food-grade electrospun fibers. **J. Funct. Foods**, v. 12, p. 332–341, 2015.
- ADEBAJO, M. O., & FROST, R. L. **Acetylation of raw cotton for oil spill cleanup application : an FTIR and 13 C MAS NMR spectroscopic investigation**. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 60, n. 10, p. 2315–2321, 2004.
- AGARWAL, S., WENDORFF, J.H., GREINER, A. Use of electrospinning technique for biomedical applications. **Polymer**, v. 49, n. 26, 2008.
- AHMAD, M., BENJAKUL, S., PRODPRAN, T., AGUSTINI, T.W. **Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils**. *Food Hydrocolloids*, v. 28, p. 189-199, 2012.
- ALEMÁN, A., MARTÍNEZ-ALVAREZ, O. **Marine collagen as a source of bioactive molecules: A review**. *The Natural Products Journal*, v. 3, n. 2, p. 105–114, 2013.
- ALMEIDA, D. D., DAUD, F., AREIAS, C., & OLIVEIRA, D. Ferulic acid photoprotective properties in association with UV filters: multifunctional sunscreen with improved SPF and UVA-PF. **Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology**, v. 185, p. 46–49, 2018.
- ALPIZAR-REYES, E., CARRILLO-NAVAS, H., GALLARDO-RIVERA, R., VARELA-GUERRERO, V., ALVAREZ-RAMIREZ, J., PÉREZ-ALONSO, C. **Functional properties and physicochemical characteristics of tamarind (*Tamarindus indica* L.) seed mucilage powder as a novel hydrocolloid**. *Journal of Food Engineering*, v.209, p. 68-75, 2017.
- AMNA, T., YANG, J., RYU, K.S., HWANG, I.H. Electrospun antimicrobial hybrid mats: innovative packaging material for meat and meat-products. **J. Food Sci. Technol.**, v. 52, n. 7, p. 4600-4606, 2014.
- AMORATI, R., PEDULLI, G. F., CABRINI, L., ZAMBONIN, L., LANDI, L. **Solvent and pH effects on the antioxidant activity of caffeic and other phenolic acids**. *J. Agric. Food Chem.*, v. 54, n. 8, p. 2932-2937, 2006.
- ANKA, F. H., & BALKUS, K. J. **Novel nanofiltration hollow fiber membrane produced via electrospinning**. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, v. 52, n. 9, p. 3473–3480, 2013.
- ASSADPOUR, E., JAFARI, S., ESFANJANI, A. **Protection of phenolic compounds within nanocarriers**. *CAB Reviews*, v.12, n. 57, p. 1-8, 2017.
- AYTAC, Z., KESKIN, N. O. S., TEKINAY, T., & UYAR, T. Antioxidant α -tocopherol/ γ -cyclodextrin – inclusion complex encapsulated poly(lactic acid) electrospun nanofibrous web for food packaging. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 134, n. 21, 2017.

BARHOUM, A., PAL, K., RAHIER, H., ULUDAG, H., SOO, I., & BECHELANY, M. **Nanofibers as new-generation materials: From spinning and nano-spinning fabrication techniques to emerging applications.** *Applied Materials Today*, v. 17, p. 1–35, 2019.

BENBETTAÏEB, N., ASSIFAOU, A., KARBOWIAK, T., & DEBEAUFORT, F. **Controlled release of tyrosol and ferulic acid encapsulated in chitosan – gelatin films after electron beam irradiation.** *Radiation Physics and Chemistry*, v. 118, p. 81–86, 2016.

BENBETTAÏEB, N., KARBOWIAK, T., BRACHAIS, C., & DEBEAUFORT, F. **Coupling tyrosol, quercetin or ferulic acid and electron beam irradiation to cross-link chitosan – gelatin films: A structure – function approach.** *European Polymer Journal*, v. 67, p. 113–127, 2015.

BHAGWAT, P. K.; DANDGE, P. B. **Isolation, characterization and valorizable applications of fish scale collagen in food and agriculture industries.** *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, v. 7, p. 234–240, 2016.

BHARDWAJ, N., & KUNDU, S. C. **Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique.** *Biotechnology Advances*, v. 28, n. 3, p. 325–347, 2010.

BILBAO-SAINZA, C., CHIOUA, B., VALENZUELA-MEDINA, D., DU, W., GREGORSKIA, K., WILLIAMS, T., WOOD, D., GLENN, G., ORTS, W. **Solution blow spun poly(lactic acid)/hydroxypropyl methylcellulose nano, fibers with antimicrobial properties.** *Eur. Polym. J.*, v. 54, p. 1–10, 2014.

BISCARAT, J., GALEA, B., SANCHEZ, J., & POCHAT-BOHATIER, C. Effect of chemical cross-linking on gelatin membrane solubility with a non-toxic and non-volatile agent: Terephthalaldehyde. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 74, p. 5–11, 2015.

BITENCOURT, J. C., CABRAL, R. G., MEIRELLES, A. J. A. Ferulic acid solubility in supercritical carbon dioxide, ethanol and water mixtures. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 103, p. 285–291, 2016.

BOLBASOV, E., STANKEVICH, K., SUDAREV, E., BOUZNIK, V., KUDRYAVTSEVA, V., ANTONOVA, L., MATVEEVA, V., ANISSIMOV, Y., TVERDOKHLEBOV, S. The investigation of the production method influence on the structure and properties of the ferroelectric nonwoven materials based on vinylidene fluoride – tetrafluoroethylene copolymer. **Mater. Chem. Phys.**, v. 182, p. 338–346, 2016.

BONAN, R., BONAN, P., BATISTA, A., SAMPAIO, F., ALBUQUERQUE, A., MORAES, M., MATTOSO, L., GLENN, G., MEDEIROS, E., OLIVEIRA, J. **In vitro antimicrobial activity of solution blow spun poly(lactic acid)/polyvinylpyrrolidone nanofibers loaded with Copaiba (Copaifera sp.) oil.** *Mater. Sci. Eng. C*, v. 48, p. 372–377, 2015.

BOSCOLO, W. R.; HAYASHI, C.; SOARES, C. M.; FURUYA, W. M.; MEURER, F. Desempenho e características de carcaça de machos revertidos de tilápias do Nilo

(*Oreochromis niloticus*), linhagens tailandesa e comum, nas fases inicial e de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 5, p. 1391-1396, 2001.

BOUTINGUIZA, M.; POU, J.; COMESAÑA, R.; LUSQUIÑOS, F.; DE CARLOS, A.; LEÓN, B. **Biological hydroxyapatite obtained from fish bones**. *Materials Science and Engineering C*, v. 32, p. 478-486, 2012.

CAO, N., FU, Y. H., HE, J. H. Mechanical properties of gelatinfilms cross-linked, respectively, by ferulic acid and tannin acid. **Food Hydrocoll**, v. 21, n. 4, p. 575–584, 2007.

CAROCHO, M., & FERREIRA, I. C. The role of phenolic compounds in the fight against câncer - a review. *Anti-cancer Agents in Medicinal Chemistry*, v. 13, p. 1236-1258, 2013.

CAROCHO, M., MORALES, P., & FERREIRA, I. C. Antioxidants : Reviewing the chemistry, food applications, legislation and role as preservatives. **Trends in Food Science & Technology**, v. 71, p. 107–120, 2018.

CELEBIOGLU, A., TOPUZ, F., YILDIZ, Z. I., & UYAR, T. Efficient removal of polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals from water by electrospun nanofibrous. **Food Research International**, v. 116, p. 1366–1373, 2019.

CHAI, H. J., LI, J. H., HUANG, H. N., LI, T. L., CHAN, Y. L., SHIAU, C. Y., WU, C. J. Effects of sizes and conformations of fish scale collagen peptides on facial skin qualities and transdermal penetration efficiency, **J. Biomed**, 2010.

CHAKRABORTY, S., LIAO, I. C., ADLER, A., & LEONG, K. W. **Electrohydrodynamics: a facile technique to fabricate drug delivery systems**. *Advanced drug delivery reviews*, v. 61, n. 12, p. 1043–1054, 2009.

CHANDIKA, P.; KO, S-C.; JUNG, W. K. Marine-derived biological macromolecule-based biomaterials for wound healing and skin tissue regeneration. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 77, p. 24-35, 2015.

CHEN, H. M., & YU, D. G. **An elevated temperature electrospinning process for preparing acyclovir-loaded PAN ultrafine fibers**. *Journal of Materials Processing Technology*, v. 210, n. 12, p. 1551-1555, 2010.

CHUYSINUAN, P., CHIMNOI, N., TECHASAKUL, S., & SUPAPHOL, P. Gallic acid-loaded electrospun poly (L-Lactic acid) fiber mats and their release characteristic. **Macromolecular Chemistry and Physics**, v. 210, n. 10, p. 814–822, 2009.

DARISTOTLE, J.L., BEHRENS, A.M., SANDLER, A.D., KOFINAS, P. **A review of the fundamental principles and applications of solution blow spinning**. *ACS Appl. Mater*, 2016.

DEMIR, M., YILGOR, I., YILGOR, E. & ERMAN, B. **Electrospinning of polyurethane fibers**. *Polymer*, v. 43, n. 11, p. 3303-3309, 2002.

- DENG, L., KANG, X., LIU, Y., FENG, F., & ZHANG, H. J. Effects of surfactants on the formation of gelatin nanofibres for controlled release of curcumin. **Food Chemistry**, v. 231, p. 70–77, 2017.
- DIAS, J. R., BAPTISTA-SILVA, S., OLIVEIRA, C. M. T. DE, SOUSA, A., & OLIVEIRA, A. L. **In situ crosslinked electrospun gelatin nano fibers for skin regeneration**. *European Polymer Journal*, v. 95(July), p.161-173, 2017.
- DO, E., & GÖKMEN, V. Evolution of food antioxidants as a core topic of food science for a century. **Food Research International**, v. 105, p. 76–93, 2018.
- DOU, J., MENG, Y., LIU, L., LI, J., REN, D., GUO, Y. **Purification, characterization and antioxidant activities of polysaccharides from thinned-young apple**. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 72, p. 31-40, 2015.
- DUBEY, A., SHARMA, A., & VERMA, S. **Ferulic acid surface modified silica polymer nanocomposites (SMS/FA) for antioxidant and antifungal activities**. *Materials Today: Proceedings*, 2020.
- DUCONSEILLE, A.; ASTRUC, T.; QUINTANA, N.; MEERSMAN, F.; SANTE-LHOUELIER, V. Gelatin structure and composition linked to hard capsule dissolution: a review. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 360-376, 2015.
- DULONG, V., KOUASSI, M. C., LABAT, B., LE, D. C., PICTON, L. Antioxidant properties and bioactivity of carboxymethyl pullulan grafted with ferulic acid and of their hydrogels obtained by enzymatic reaction, **Food Chem**, v. 262, p. 21–29, 2018.
- ETXABIDE, A., VAIRO, C., SANTOS-VIZCAINO, E., GUERRERO, P., PEDRAZ, J. L., IGARTUA, M. **Ultra thin hydro-films based on lactose-crosslinked fish gelatin for wound healing applications**. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 530, p. 455-467, 2017.
- FAIRLIE-JONES, L., DAVISON, K., FROMENTIN, E., HILL, A. M. The effect of anthocyanin-rich foods or extracts on vascular function in adults: A systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. **Nutrients**, v. 9, n. 8, p. 908, 2017.
- FAKHREDDIN, S., & GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. A state-of-the-art review on the elaboration of fish gelatin as bioactive packaging: Special emphasis on nanotechnology-based approaches. **Trends in Food Science & Technology**, v. 79, p. 125–135, 2018.
- FELTES, M. M. C.; CORREIA, J. F. G.; BEIRÃO, L. H.; BLOCK, J. M.; NINOW, J. L.; SPILLER, V. R. Alternativas para a agregação de valor aos resíduos da industrialização de peixe. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 14, n. 6, p. 669-677, 2010.
- FERNANDEZ, A., TORRES-GINER, S., & LAGARON, J. M. Novel route to stabilization of bioactive antioxidants by encapsulation in electrospun fibers of zein prolamine. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 5, p. 1427–1432, 2009.
- FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION - FAO. *The State of world fisheries and aquaculture 2016*. Roma: **FAO**, 2018.

FRENCH, R. B., OLCOTT, H. S., & MATTILL, H. A. **Antioxidants and the autoxidation of fats**. III. Industrial and Engineering Chemistry, v. 27, n. 6, p. 724-728, 1935.

GENG, X., KWON, O.-H., & JANG, J. J. B. Electrospinning of chitosan dissolved in

GHORANI, B. & TUCKER, N. Fundamentals of electrospinning as a novel delivery vehicle for bioactive compounds in food nanotechnology. **Food Hydrocolloids**, v. 51, p. 227-24, 2015.

GÓMEZ-ESTACA, J., LÓPEZ-DE-DICASTILLO, C., HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P., CATALÁ, R., GAVARA, R. **Advances in antioxidant active food packaging**. Trends Food Sci. Technol., v. 35, n. 1, p. 42-51, 2014.

GÓMEZ-GUILLÉN, M.C., GIMÉNEZ, B., LÓPEZ-CABALLERO M., E., MONTERO, M.P. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: a review. **Food Hydrocolloids**, v. 80, 2011.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C., PÉREZ-MATEOS, M., GÓMEZ-ESTACA, J., LÓPEZ-CABALLERO, E., GIMÉNEZ, B., & MONTERO, P. Fish gelatin: A renewable material for developing active biodegradable films. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, n. 1, p. 3–16, 2009.

GOODARZI, H., JADIDI, K., POURMOTABED, S., SHARIFI, E., AGHAMOLLAEI, H. Preparation and in vitro characterization of cross-linked collagen–gelatin hydrogel using EDC/NHS for corneal tissue engineering applications, **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 126, p. 620-632, 2019.

GRAZIOLA, F. **Obtenção e caracterização de microesferas de gelatina reticuladas com flavonóide para aplicação em fotoprotetores**. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2013.

HALLIWELL, B. **How to characterize a biological antioxidant**. Free Radical Research Communications, v. 9, p. 1-32, 1990.

HANANI, Z. N., ROOS, Y., KERRY, J. P. Use of beef, pork and fish gelatin sources in the manufacture of films and assessment of their composition and mechanical properties. **Food Hydrocolloids**, v. 29, n. 1, p. 144–151, 2012.

HANI, N.M., TORKAMANI, A.E., AZARIAN, M.H., MAHMOOD, K.W., NGALIM, S.H. **Characterisation of electrospun gelatine nanofibres encapsulated with *Moringa oleifera* bioactive extract**. Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 97, n.10, p. 3348-3358, 2017.

HENRIQUES, C., VIDINHA, R., BOTEQUIM, D., BORGES, J., SILVA, J. A systematic study of solution and processing parameters on nanofiber morphology using a new electrospinning apparatus. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 9, n. 6, p. 3535–3545, 2009.

- HUA, D. ZHANG, D., HUANG, B., YI, P., YAN, C. **Structural characterization and DPPH• radical scavenging activity of a polysaccharide from Guara fruits**. *Carbohydrate Polymers*, v. 103, pp. 143-147, 2014.
- HUANG, L.; NAGAPUDI, K.; APKARIAN, R.P.; CHAIKOF, E.L. Engineered collagen-PEO nanofibers and fabrics. *J. Biomater. Sci. Polym.*, v. 12, p. 979-993, 2001.
- HUANG, Z., CHIEW, Y. C., LU, W., & KAWI, S. **Solubility of aspirin in supercritical carbon dioxide/alcohol mixtures**. *Fluid Phase Equilibria*, v. 237, p. 9-15, 2005.
- HUANG, Z. M., et al. A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Compos. Sci. Technol*, v. 63, n. 15, p. 2223-2253, 2003.
- IGNATOVA, M. G., MANOLOVA, N. E., RASHKOV, I. B., MARKOVA, N. D., TOSHKOVA, R. A., GEORGIEVA, A. K. Poly (3-hydroxybutyrate)/caffeic acid electrospun fibrous materials coated with polyelectrolyte complex and their antibacterial activity and in vitro antitumor effect against HeLa cells. *Materials Science and Engineering: C*, v. 65, p. 379-392, 2016.
- JALAJA, K., KUMAR, P. R. A., DEY, T., KUNDU, S. C., JAMES, N. R. **Modified dextran cross-linked electrospun gelatin nanofibres for biomedical applications**. *Carbohydrate Polymers*, v. 114, p. 467-475, 2014.
- JIA, Y., HE, Y., LU, F. **The structure-antioxidant activity relationship of dehydrodiferulates**. *Food Chemistry*, v. 269, p. 480-485, 2018.
- KALINOWSKA, M., PIEKUT, J., BRUSS, A., FOLLET, C., SIENKIEWICZ-GROMIUK, J., SWISLOCKA, R., RZACZYNSKA, Z., LEWANDOWSKI, W. **Spectroscopic (FT-IR, FT-Raman, 1H, 13C NMR, UV/VIS), thermogravimetric and antimicrobial studies of Ca(II), Mn(II), Cu(II), Zn(II) and Cd(II) complexes of ferulic acid**. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 122, n. 25, p. 631-638, 2014.
- KARIM, M., FATHI, M., & SOLEIMANIAN-ZAD, S. **Incorporation of zein nanofibers produced by needle-less electrospinning within the casted gelatin film for improvement of its physical properties**. *Food and Bioproducts Processing*, v. 122, p. 193-204, 2020.
- KATSOGIANNIS, K. A. G., VLADISAVLJEVIĆ, G. T., & GEORGIADOU, S. **Porous electrospun polycaprolactone (PCL) fibres by phase separation**. *European Polymer Journal*, v. 69, p. 284-295, 2015.
- KAWABATA, K., et al. **Modifying effects of ferulic acid on azoxy methane-induced colon carcinogenesis in F344 rats**. *Cancer Letters*, v. 157, p. 15-21, 2000.
- KCHAOU, H., JRIDI, M., BENBETTAIEB, N., & DEBEAUFORT, F. Bioactive films based on cuttle fish (*Sepia officinalis*) skin gelatin incorporated with cuttle fish protein hydrolysates: Physicochemical characterization and antioxidant properties. *Food Packaging and Shelf Life*, v. 24, (December 2019).

- KHOSHNOUDI-NIA, S., SHARIF, N., & MAHDI, S. Loading of phenolic compounds into electrospun nanofibers and electrospayed nanoparticles. **Trends in Food Science & Technology**, v. 95, p. 59–74, (September 2019).
- KI, C., BAEK, D., GANG, K., LEE, K., UM, I., PARK, Y. Characterization of gelatin nanofiber prepared from gelatin–formic acid solution. **Polymer**, v. 46, n. 14, p. 5094–5102, 2005.
- KIKUZAKI, H., HISAMOTO, M., HIROSE, K., AKIYAMA, K., TANIGUCHI, H. **Antioxidant properties of ferulic acid and its related compounds**. J. Agric. Food Chem., v. 50, p. 2161-2168, 2002.
- KOLBASOV, A., SINHA-RAY, S., JOIJODE, A., HASSAN, M.A., BROWN, D., MAZE, B., POURDEYHIMI, B., YARIN, A.L. **Industrial scale solution blowing of soy protein nanofibers**. Ind. Eng. Chem. Res. 55, p. 323–333, 2016.
- KRIEGEL, C., ARRECHI, A., KIT, K., MCCLEMENTS, D. J., WEISS, J. Fabrication, functionalization, and application of electrospun biopolymer nanofibers, Crit.Rev. **Food Sci. Nutr**, v. 48, p. 775–797, 2008.
- KUMAR, N. & GOEL, N. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. **Biotechnol. Reports**, 2019.
- KUMAR, N., & PRUTHI, V. Potential applications of ferulic acid from natural sources. **Biotechnology Reports**, v. 4, p. 86–93, 2014.
- KWAK, H., PARK, J., YUN, H., JEON, K., & KANG, D. Effect of crosslinkable sugar molecules on the physico-chemical and antioxidant properties of fish gelatin nanofibers. **Food Hydrocolloids**, v. 111, 2021.
- LAN, J., ZENG, R., JIANG, X., HOU, J., LIU, Y., & HU, Z. Design, synthesis and evaluation of novel ferulic acid derivatives as multi-target-directed ligands for the treatment of Alzheimer’s disease. **Bioorganic Chemistry**, v. 94, (August 2019).
- LE, T., TAKAHASHI, K., OKASAKI, E., OSAKO, K. Mitigation of lipid oxidation in Tuna oil using gelatin pouches derived from horse mackerel (*Trachurus japonicus*) scales and incorporating phenolic compounds. **LWT- Food Science ant Technology**, v. 128, 2020.
- LEE, Y. M., YOON, Y., YOON, H., PARK, H. M., SONG, S., YEUM, K. Dietary anthocyanins against obesity and inflammation. **Nutrients**, v. 9, n. 10, p. 1089, 2017.
- LEONG, H., SHOW, P., LIM, M., OOI, C., LING, T. Natural red pigments from plants and their health benefits: A review. **Food Reviews International**, v. 34, n. 5, p. 463-482, 2018.
- LI, C., FANG, K., HE, W., LI, K., JIANG, Y., & LI, J. **Evaluation of chitosan-ferulic acid microcapsules for sustained drug delivery: Synthesis, characterizations, and release kinetics *in vitro***. Journal of Molecular Structure, v. 1227, 2021.
- LI, D., MCCANN, J. T., XIA, Y. **Use of electrospinning to directly fabricate hollow nanofibers with functionalized inner and outer surfaces**, Small 1, v. 1, p. 83–86, 2005.

- LI, D., YE, Y., LI, D., LI, X., UM, C. **Biological properties of dialdehyde carboxymethyl cellulose crosslinked gelatin–PEG composite hydrogel fibers for wound dressings** *Carbohydrate Polymers*, v. 137, p. 508-514, 2016.
- LI, R., LI, Z., YANG, R., YIN, X., LV, J., ZHU, L., & YANG, R. Polycaprolactone/poly (L-lactic acid) composite micro/nanofibrous membrane prepared through solution blow spinning for oil adsorption. **Materials Chemistry and Physics**, v. 241, p. 1-9, (October 2019).
- LI, Y., LIM, L. T., & KAKUDA, Y. Electrospun zein fibers as carriers to stabilize (-)-epigallocatechin gallate. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 3, p. 233–240, 2009.
- LIN, X. F., MIN, W., LUO, D. Anticarcinogenic effect of ferulic acid on ultraviolet-B irradiated human keratinocyte HaCaT cells. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 4, n. 16, p. 1686–1694, 2010.
- LIU, W., LI, Y., CHEN, M., XU, F., ZHONG, F. **Stabilizing oil-in-water emulsion with amorphous and granular octenyl succinic anhydride modified starches**. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 66, p. 9301-9308, 2018
- LIU, Y., WANG, D., SUN, Z., LIU, F., DU, L., & WANG, D. Preparation and characterization of gelatin/chitosan/3-phenylacetic acid food-packaging nanofiber antibacterial films by electrospinning. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 169, p. 161-170, 2021.
- LINA, C., CHIUC, J., WU, I., WANG, B., PAN, C., CHENG, Y. Ferulic acid augments angiogenesis via VEGF, PDGF and HIF-1 α . *J. Nutr. Biochem.*, v. 21, p. 627-633, 2010.
- LU, W., MA, M., XU, H., ZHANG, B., CAO, X., GUO, Y. Gelatin nanofibers prepared by spiral-electrospinning and cross-linked by vapor and liquid-phase glutaraldehyde. **Materials Letters**, v. 140, p. 1-4, 2015.
- LUO, C.J., NANGREJO, M., EDIRISINGHE, M. A novel method of selecting solvents for polymer electrospinning. **Polymer**, v. 51, n. 7, p. 1654-1662, 2010.
- LV, L., DING, W., XIAO, X., ZHANG, H., XIONG, L. & HUANG, Q. Fish gelatin: The novel potential applications. **Journal of Functional Foods**, v. 63, 2019.
- MANCUSO, C. & SANTANGELO, R. Ferulic acid: pharmacological and toxicological aspects. **Food Chem. Toxicol.**, v. 65, p. 185-195, 2014.
- MARIOD, A. A.; ADAM, H. F. **Review: gelatin, source, extraction and industrial applications**. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, v. 12, n. 2, p. 135-147, 2013.
- MATHEW, S., & ABRAHAM, T. E. Characterisation of ferulic acid incorporated starch – chitosan blend films. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p. 826–835, 2008.
- MATSUMOTO, R.; UEMURA, T.; XU, Z.; YAMAGUSHI, I.; IKOMA, T.; TANAKA, J. Rapid oriented fibril formation of fish scale collagen facilitates early osteoblastic

differentiation of human mesenchymal stem cells. **Society For Biomaterials**, v. 103, n. 8, p. 2531-2539, 2015.

MEDEIROS, E. S., GLENN, G. M., KLAMCZYNSKI, A. P., ORTS, W. J., MATTOSO, L. H. C. Solution blow spinning: a new method to produce micro and nanofibers from polymer solutions, **J. Appl. Polym. Sci.**, v. 113, p. 2322–2330, 2009.

MERCANTE, L. A., SCAGION, V. P., MIGLIORINI, F. L., MATTOSO, L. H., & CORREA, D. S. Electrospinning-based (bio) sensors for food and agricultural applications: A review. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 91, p. 91–103, 2017.

MILLÁN, M. E., BENITO, J. M. DE, & CARRILLO, F. **Preparación de soportes biomateriales de naturaleza proteica mediante electrohilatura**. *Affinidad*, v. 75, n. 582, p. 83–90, 2018.

MOREIRA, J. B., MORAIS, M. G., MORAIS, E. G., VAZ, B. D. S., & COSTA, J. A. V. Chapter 14 – **Electrospun polymeric nanofibers in food packaging**. In A. M. Grumezescu & A. M. Holban (Eds.), *Impact of Nanoscience in the Food Industry*, p. 387–417, 2018.

NIRMALA, R. NAVAMATHAVAN, R., KANG, H.S., EL-NEWEHY, M.H., KIM, H.Y. **Preparation of polyamide-6/chitosan composite nanofibers by a single solvent system via electrospinning for biomedical applications**. *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, v. 83, p. 173-178, 2011.

NORUZI, M. Electrospun nanofibres in agriculture and the food industry: A review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 14, p. 4663–4678, 2016.

OKUTAN, N., TERZI, P., ALTAY, F. Affecting parameters on electrospinning process and characterization of electrospun gelatin nanofibers. **Food Hydrocoll.** v. 39, p. 19-26, 2014.

OLIVEIRA, J., MATTOSO, L., ORTS, W., MEDEIROS, E. **Structural and morphological characterization of micro and nanofibers produced by electrospinning and solution blow spinning: a comparative study**. *Adv. Mater. Sci. Eng.*, 2013.

OLIVEIRA, J., MORAES, E., COSTA, R., AFONSO, A., MATTOSO, L., ORTS, W., MEDEIROS, E. Nano and submicrometric fibers of poly (d,l-Lactide) obtained by solution blow spinning: process and solution variables. **J. Appl. Polym. Sci.**, v. 122, p. 3396-3405, 2011.

OLIVEIRA, J., MORAES, E., MARCONCINI, J., MATTOSO, L., GLENN, G., MEDEIROS, E. Properties of poly(lactic acid) and poly(ethylene oxide) solvent polymer mixtures and nanofibers made by solution blow spinning. **J. Appl. Polym. Sci.**, v. 129, p. 3672-3681, 2013.

OROIAN, M., & ESCRICHE, I. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. **Food Research International**, v. 74, p. 10-36, 2015.

OSPINA, I., Q., A., O. **Obtención y caracterización de nanofibras de poli (ácido láctico) modificado con colágeno mediante la técnica de electrohilado**. Tesis (Maestro en Ciencia e Ingeniería de Materiales). Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F., 2011.

- OU, S., WANG, Y., TANG, S., HUANG, C., & JACKSON, M. G. Role of ferulic acid in preparing edible films from soy protein isolate. **Journal of Food Engineering**, v. 70, p. 205–210, 2005.
- OUDGENOEG, G., HILHORST, R., PIERSMA, S. R., BOERIU, C. G., GRUPPEN, H., HESSING, M., VORAGEN, A. G., & LAANE, C. Peroxidase mediated cross-linking of a tyrosine-containing peptide with ferulic acid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 2503–2510, 2001.
- PAVLIDOU, E., GIAGINIS, C., FASOULAS, A., PETRIDIS, D. Clinical evaluation of the effect of blueberries consumption on chronic diseases, illness prevention and health promotion. **The Natural Products Journal**, v. 8, n. 1, p. 45-53, 2018.
- PINTO, F., FONSECA, L.P., SOUZA, S., OLIVA, A., DE BARROS, D.P.C. **Topical distribution and efficiency of nanostructured lipid carriers on a 3D reconstructed human epidermis model**. J. Drug Deliv. Sci. Technol., v. 57, 2020.
- POORNIMA, B., KORRAPATI, P.S. Fabrication of chitosan-polycaprolactone composite nanofibrous scaffold for simultaneous delivery of ferulic acid and resveratrol. **Carbohydr. Polym.**, v. 157, p. 1741–1749, 2017.
- PRESTES, R. C. **Colágeno e seus derivados: características e aplicações em produtos cárneos**. UNOPAR Científica. Ciências Biológicas e da Saúde, v. 15, n. 1, p. 65-74, 2013.
- PRIOR, R. L., WU, X., SCHAICH, K. **Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements**. J. Agric. Food. Chem., v. 53, n. 10, p. 4290-4302, 2005.
- RAMAKRISHNA, S. **An introduction to electrospinning and nanofibers**. World Scientific, 2005.
- REZAEI, A., NASIRPOUR, A., & FATHI, M. Application of cellulosic nanofibers in food science using electrospinning and its potential risk. **Comprehensive Reviews in Food**, v. 14, n. 3, p. 269-284, 2015.
- REZAEI, A., VARSHOSAZ, J., FESHARAKI, M., FARHANG, A., JAFARI, S.M. **Improving the solubility and in vitro cytotoxicity (anticancer activity) of ferulic acid by loading it into cyclodextrin nanosponges**. Int. J. Nanomedicine, v. 14, p. 4589, 2019.
- ROBERTSON, G. L. **Food Packaging**. In N. K. Van Alfen (Ed.). Encyclopedia of Agriculture and Food Systems, Academic Press, Oxford, p. 232-249, 2014.
- ROZBESKÝ, D., ROSULEK, M., KUKACKA, Z., CHMELÍK, J., MAN, P., NOVÁK, P. Impact of Chemical Cross-Linking on Protein Structure and Function, **Analytical Chemistry**, v. 90, n. 2, p.1104-1113, 2018.
- RÓŽAŇSKA, D., REGULSKA-ILOW, B. **The significance of anthocyanins in the prevention and treatment of type 2 diabetes**. Advances in Clinical and Experimental Medicine: Official Organ Wroclaw Medical University, v.27, n. 1, p. 135-142, 2018.

- SÁ, M. V. Limnocultura: limnologia para aquicultura. Fortaleza: **Edições UFC**, 2012. 218 p.
- SARANYA, R.; JAYAPRIYA, J.; TAMIL SELVI, A. Purification, characterization, molecular modeling and docking study of fish waste protease. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 118, p. 569-583, 2018.
- SCHUCHARD, K., JOIJODE, A., WILLARD, V. P., ANDERSON, B., POURDEYHEMI, B., SHIRWAIKER, R., GRONDIN, P. F. **Fabrication of drug-loaded ultrafine polymer fibers via solution blowing and their drug release kinetics**. *Procedia Manufacturing*, v. 53, p. 128–135, 2020.
- SENTHIL MUTHU KUMAR, T., SENTHIL KUMAR, K., RAJINI, N., SIENGCHIN, S., AYRILMIS, N., & VARADA RAJULU, A. **A comprehensive review of electrospun nanofibers: Food and packaging perspective**. *Composites Part B: Engineering*, v. 175, 2019.
- SHAKILA, R. J., JEEVITHAN, E., VARATHARAJAKUMAR, A., JEYASEKARAN, G., & SUKUMAR, D. Comparison of the properties of multi-composite fish gelatin films with that of mammalian gelatin films. **Food Chemistry**, v. 135, n. 4, p. 2260–2267, 2012.
- SHALABY, E. A., & SHANAB, S. M. M. **Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of *Spirulina platensis***. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*, v. 42, p. 556-564, (September) 2013.
- SHANMUGAM, H., DOBLE, M. Combination of ferulic acid and antibiotics as effective antibacterial agents. **Planta Medica**, v. 76, n. 12, 2010.
- SHARIF, N., FABRA, M. J., & LOPEZ-RUBIO, A. **Nanostructures of zein for encapsulation of food ingredients**. *Biopolymer nanostructures for food encapsulation purposes*, p. 217–245, 2019.
- SHARIF, N., GOLMAKANI, M.-T., NIAKOUSARI, M., GHORANI, B., & LOPEZ-RUBIO, A. Food-grade gliadin microstructures obtained by electrohydrodynamic processing. **Food Research International**, v. 116, p. 1366-1373, 2019.
- SHENOY, S. L., BATES, W. D., FRISCH, H. L., & WNEK, G. E. Role of chain entanglements on fiber formation during electrospinning of polymer solutions: Good solvent, non-specific polymer–polymer interaction limit. **Polymer**, v.46, n. 10, p. 3372-3384, 2005.
- SHI, X., CUI, S., SONG, X., RICKEL, A. P., SANYOUR, H. J., ZHENG, J., & HU, J. Gelatin-crosslinked pectin nanofiber mats allowing cell infiltration. **Materials Science & Engineering C**, v. 112, (December 2019).
- SILVA, T. F.; PENNA, A. L. B. Colágeno: características químicas e propriedades funcionais. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 3, p. 530-539, 2012.

- SILVA, T. H., OLIVEIRA, J. E., MEDEIROS, E. S. Obtenção de micro e nanofibras de PVC pela técnica de fiação por sopro em solução. **Polímeros**, v. 25, n. 2, p. 229-235, 2015.
- SINDHU, M., TEMILIA, A. Characterisation of ferulic acid incorporated starch-chitosan blend films, **Food Hydrocoll.**, v.22, n. 5, p. 826–835, 2008.
- SINGH, A., BISHAYEE, A., PANDEY, A. Targeting histone deacetylases with natural and synthetic agents: An emerging anticancer strategy. **Nutrients**, v. 10, 2018.
- SMITH, F. H., BRADY, D. E., & COMSTOCK, R. E. Rancidity of bacon. **Industrial and Engineering Chemistry**, v. 37, n. 12, p. 1206-1209, 1945.
- SOUZA FILHO, M. S. M., NUNES, Y. L., CLAUDINO, R. L., ROSA, M. F., ITO, E. N., FURTADO, A. A. L., RODRIGUES, M. L. L., MELO, E. F. **Obtenção e caracterização de gelatina de pele de tilápia**. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, 2012.
- STIRTON, A. J., TURER, J., & RIEMENSCHNEIDER, R. W. **Oxygen absorption of methylesters of fat acids, and the effect of antioxidants**. Oil Amp: Soap, v. 22, n. 4, p. 81-83, 1945.
- SUBBIAH, T., BHAT, G.S., TOCK, R.W., PARAMESWARAN, S., RAMKUMAR, S.S. Electrospinning of nanofibers. **J. Appl. Polym. Sci.** v. 96, n. 2, p. 557-569, 2005.
- SUNDARAY, B., SUBRAMANIAN, V., NATARAJAN, T. S., XIANG, R.-Z., CHANG, C.-C., & FANN, W.S. Electrospinning of continuous aligned polymer fibers. **Applied Physics Letters**, v. 84, n. 7, p. 1222–1224, 2004.
- SWANSON, K. M. J.; PETRAN, R. L.; HANLIN, J. H. **Culture Methods for Enumeration of Microorganisms**. In Compendium of methods for Microbiological Examination of foods. 4 th ed. APHA: Washington-DC, cap. 6. p. 53-67, 2001.
- TAVASSOLI-KAFRANI, E., AMIR, S., GOLI, H., & FATHI, M. Fabrication and characterization of electrospun gelatin nanofibers crosslinked with oxidized phenolic compounds. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 103, p. 1062–1068, 2017.
- THEERAWITAYAART, W., PRODPRAN, T., BENJAKUL, S, NILSUWAN, K. & CABA, K. Storage stability of fish gelatin films by molecular modification or direct incorporation of oxidized linoleic acid: Comparative studies. **Food Hydrocolloids**, v. 113, 2021.
- TKACZEWSKA, J., BORAWSKA-DZIADKIEWICZ, J., KULAWIK, P., DUDA, I., & MICKOWSKA, B. The effects of hydrolysis condition on the antioxidant activity of protein hydrolysate from *Cyprinus carpio* skin gelatin. **LWT- Food Science and Technology**, v. 117, (July 2019).
- TONG, H. W., & WANG, M. **Effects of processing parameters on the morphology and size of electrospun PHBV micro-and nano-fibers**. Key Engineering Materials. Trans Tech Publ, 2007.

TOPUZ, F., & UYAR, T. Antioxidant , antibacterial and antifungal electrospun nano fibers for food packaging applications. **Food Research International**, v. 130, (December 2019).

TOPUZ, F., & UYAR, T. Electrospinning of cyclodextrin functional nanofibers for drug delivery applications. **Pharmaceutics**, v. 11, n. 1, 2018.

TUCKER, N., et al. The history of the science and technology of electrospinning from 1600 to 1995, **J. Eng. Fibers Fabrics**, v. 7, p. 63–73, 2012.

TUTAK, W., SARKAR, S., LIN-GIBSON, S., FAROOQUE, T., JYOTSNENDU, G., WANG, D., KOHN, J., BOLIKAL, D., SIMON JR, C. The support of bone marrow stromal cell differentiation by airbrushed nanofiber scaffolds. **Biomaterials**, v. 34, p. 2389-2398, 2013.

UYAR, T. & KNY, E. **Electrospun Materials for Tissue Engineering and Biomedical Applications: Research, Design and Commercialization**. 1st ed. Woodhead Publishing (Elsevier), 2017.

VANSTEENKISTE, E., BABOT, C., ROUAU, X., & MICARD, V. Oxidative Gelation of feruloylated arabinoxylans as affected by protein. Influence on protein enzymatic hydrolysis. **Food Hydrocolloids**, v. 8, p. 557–564, 2004.

VASHISTH, P., KUMAR, N., SHARMA, M., & PRUTHI, V. Biomedical applications of ferulic acid encapsulated electrospun nano fibers. **Biotechnology Reports**, v. 8, p. 36–44, 2015.

VONDRAN, W., SUN, C.L. Crosslinked, electrospun chitosan poly (ethylene oxide) nanofiber mats. **J. Appl. Polym. Sci.**, v. 109, p. 968–975, 2008.

WASUPALLI, G. K.; VERMA, D. **Fundamental Biomaterials: Polymers**. 1. ed. Elsevier Ltd, 2018. 352 p.

WOJASIŃSKI, M., PILAREK, M., CIACH, T. Comparative studies of electrospinning and solution blow spinning processes for the production of nanofibrous poly(l-lactic acid) materials for biomedical engineering. **Pol. J. Chem. Technol.**, v. 16, p. 43-50, 2014.

WORANUCH, S., YOKSAN, R., AKASHI, M. Ferulic acid-coupled chitosan: thermal stability and utilization as an antioxidant for biodegradable active packaging film, **Carbohydr.Polym**, v.115, n. 22, p. 744–751, 2015.

YAKUB, G., IGNATOVA, M., MANOLOVA, N., RASHKOV, I., TOSHKOVA, R., GEORGIEVA, A., & MARKOVA, N. Chitosan/ferulic acid-coated poly (ϵ -caprolactone) electrospun materials with antioxidant, antibacterial and antitumor properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 107, p. 689–702, 2018.

YAKUB, G., TONCHEVA, A., MANOLOVA, N., RASHKOV, I., KUSSOVSKI, V., DANCHEV, D. **Curcumin-loaded poly(L-lactide-co-D,L-lactide) electrospun fibers: preparation and antioxidant, anticoagulant, and antibacterial properties**. **J.Bioact. Compat. Polym.**, v. 29, p. 607-627, 2014.

YANG, G., XIAO, Z., LONG, H., MA, K., ZHANG, J., REN, X., ZHANG, J. Assessment of the characteristics and biocompatibility of gelatin sponge scaffolds prepared by various crosslinking methods, **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, 2018.

YANG, J., ZHA, L., YU, D., & LIU, J. **Biointerfaces Coaxial electrospinning with acetic acid for preparing ferulic acid / zein composite fibers with improved drug release profiles**. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 102, p. 737-743, 2013.

YOO, H. S., KIM, T. G., PARK, T. G. **Surface-functionalized electrospun nanofibers for tissue engineering and drug delivery**. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, v. 61, n. 12, p. 1033–1042, 2009.

YUAN, X., ZHANG, Y., DONG, C., & SHENG, J. J. Morphology of ultrafine polysulfone fibers prepared by electrospinning. **Polymer International**, v. 53, n. 11, p. 1704–1710, 2004.
ZHANG, C., WANG, P., LI, J., ZHANG, H., & WEISS, J. Characterization of core-shell nanofibers electrospun from bilayer gelatin/gum Arabic O/W emulsions crosslinked by genipin. **Food Hydrocolloids**, v. 119, 2021.

ZHANG, C.; YUAN, X.; WU, L.; HAN, Y.; SHENG, J. **Study on morphology of electrospun poly(vinyl alcohol) mats**. *Eur. Polym. J.*, v. 41, p. 423–432, 2005.

ZHANG, F., XU, S., & WANG, Z. **Pre-treatment optimization and properties of gelatin from freshwater fish scales**. *Food Bioprod Process*, v. 89, n. 3, p. 185-193, 2010.

ZHANG, X. LV, J., YIN, X., LI, Z., LIN, Q., ZHU, L. **Nanofibrous polystyrene membranes prepared through solution blow spinning with an airbrush and the facile application in oil recover**. *Appl. Phys. A*, v. 124, p. 362, 2018.

ZHANG, Y., CHEN, Z., BIAN, W., FENG, L., WU, Z., WANG, P. **Stabilizing oil-in-water emulsions with regenerated chitin nanofibers**. *Food Chemistry*, v. 183, p. 115-121, 2015.

ZHU, K., ZHANG, Y., NIE, S., XU, F., HE, S., GONG, D., TAN, L. **Physicochemical properties and in vitro antioxidant activities of polysaccharide from *Artocarpus heterophyllus* Lam. Pulp**. *Carbohydrate Polymers*, v. 155, p. 354-361, 2017.