



ALINE MOREIRA DE ALCÂNTARA

**PERFIL DE LIBERAÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS
ENCAPSULADOS EM NANOFIBRAS DE POLI(ÁCIDO
LÁTICO) PARA APLICAÇÃO NA PISCICULTURA**

LAVRAS-MG

2021

ALINE MOREIRA DE ALCÂNTARA

**PERFIL DE LIBERAÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS ENCAPSULADOS EM
NANOFIBRAS DE POLI(ÁCIDO LÁTICO) PARA APLICAÇÃO NA
PISCICULTURA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de pós-graduação em Agroquímica, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Juliano Elvis de Oliveira

Orientador

Prof. Dr. Júlio César Ugucioni

Coorientador

LAVRAS-MG

2021

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Alcântara, Aline Moreira de.

Perfil de liberação de óleos vegetais encapsulados em
nanofibras de poli(ácido lático) para aplicação na piscicultura /

Aline Moreira de Alcântara. - 2021.

82 p. : il.

Orientador(a): Juliano Elvis de Oliveira.

Coorientador(a): Júlio César Ugucioni.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. Liberação controlada de nutrientes. 2. Fiação por sopro em
solução. 3. Caracterização de nanofibras. I. Oliveira, Juliano Elvis
de. II. Ugucioni, Júlio César. III. Título.

ALINE MOREIRA DE ALCÂNTARA

**PERFIL DE LIBERAÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS ENCAPSULADOS EM
NANOFIBRAS DE POLI(ÁCIDO LÁCTICO) PARA APLICAÇÃO NA
PISCICULTURA**

**RELEASE PROFILE OF VEGETABLE OILS ENCAPSULATED IN POLY(LACTIC
ACID) NANOFIBERS FOR APPLICATION IN PISCICULTURE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de pós-graduação em Agroquímica, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 13 de agosto de 2021.

Dra. Luciana de Matos Alves Pinto - UFLA

Dra. Márcia Regina de Moura Aouada - UNESP

Prof. Dr. Juliano Elvis de Oliveira
Orientador

Prof. Dr. Júlio César Ugucioni
Coorientador

LAVRAS-MG

2021

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meu pais por sempre apoiarem todas as minhas decisões e acreditarem nos meus sonhos, me dando os meios para realizá-los.

À minha irmã por fazer eu me sentir acolhida em todos os momentos, por me dar força quando eu achava que não aguentaria e por ouvir todas as minhas histórias, sempre me ajudando a encontrar um lado positivo.

Aos meus amigos, que tantas vezes foram meu porto-seguro e meus parceiros de luta (e de glória).

Ao meu amor, que mesmo longe sempre encontrou uma forma de fazer eu me sentir a mulher mais especial e inteligente do mundo. Obrigada por ser tão paciente e compreensivo, e por me mostrar que o amor é bom e leve.

Ao meu orientador por ser sempre tão solícito, me auxiliar em todo esse processo e me ensinar tanto. Você me inspira a ser uma profissional cada dia melhor.

Ao meu coorientador por toda sua disponibilidade e dedicação em me ajudar nessa jornada.

À todos os colegas de trabalho que compartilharam comigo seus conhecimentos e suas histórias, contribuindo para minha formação.

Ao programa de pós-graduação em Agroquímica por me proporcionar essa experiência tão enriquecedora.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

Muito obrigada!

RESUMO

Nanofibras são estruturas poliméricas que apresentam a forma de fios e espessura na ordem de nanômetros. Sua principal característica é a elevada área superficial por volume. Diversas técnicas podem ser utilizadas para sua obtenção, sendo a fiação por sopro em solução um exemplo de técnica simples e barata. A encapsulação agentes ativos ou nutrientes nas nanofibras pode ser útil na resolução de problemas ambientais, como a nutrição de peixes criados em viveiros. Uma das principais dificuldades enfrentadas na piscicultura é o alto custo de rações fortificadas com farinha e óleo de peixe. Esses produtos são usados na formulação como fonte de ácidos graxos das séries n-3 e n-6, o que contribui para o desenvolvimento saudável dos peixes. Entretanto, tal prática é insustentável econômica e ambientalmente, visto que as fontes marinhas de onde tais produtos são obtidos são finitas. Sendo assim, o projeto visa a produção de nanofibras de poli(ácido láctico) contendo óleo de milho e óleo de linhaça em diferentes proporções. Posteriormente, as nanofibras foram caracterizadas por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier, Calorimetria Exploratória Diferencial e Microscopia Eletrônica de Varredura. O ângulo de contato e a eficiência de encapsulação também foram analisados. Além disso, uma ração comum foi formulada e o perfil de liberação dos nutrientes encapsulados nas nanofibras e livres nas rações foi estudado e comparado. Os ensaios de liberação foram realizados *in vitro* em meio de simulação aquoso e gastrointestinal. Os resultados mostraram que a encapsulação dos óleos vegetais nas nanofibras de poli(ácido láctico) foi bem-sucedida, já que o espectro infravermelho comprovou a interação entre os materiais de partida (bandas características dos óleos vegetais em 2925 e 2853 cm^{-1} foram observadas nas nanofibras). A análise dos eventos térmicos mostrou o efeito plastificante dos óleos vegetais, por meio de uma breve diminuição da temperatura de transição vítrea do poli(ácido láctico) (de 63°C para 61°C); também houve diminuição da temperatura de cristalização a frio (93°C para apx. 86°C), indicando que a adição dos óleos facilitaria o processo de cristalização. Além disso, os resultados de ângulo de contato permitem afirmar que as nanofibras são hidrofóbicas (todas apresentaram ângulo de contato maior que 90°C), o que é de grande importância para que os nutrientes não sejam liberados nos tanques de criação antes da ingestão pelos peixes. As análises de microscopia eletrônica de varredura mostraram que todas as nanofibras produzidas apresentaram superfície lisa e homogênea, com diâmetros médios variando entre 157±49 nm e 385±133 nm. Ao comparar a liberação dos óleos vegetais encapsulados com a liberação dos óleos livres na ração, foi possível comprovar a importância das nanofibras para esta aplicação, visto que a matriz polimérica aumenta a biodisponibilidade dos nutrientes.

Palavras-chave: Fiação por sopro em solução. Óleo de milho. Óleo de linhaça. Liberação controlada. Fluido de simulação gastrointestinal.

ABSTRACT

Nanofibers are polymeric structures that have the shape of threads and nanometric diameters. These materials has a high surface-to-volume ratio as their main feature. Many techniques can be used to its production, with solution blow spinning being an example of a simple technique with low cost. The encapsulation of active agents or nutrients in nanofibers can be useful to solve environmental problems, like the nutrition of farmed fish. One of the main difficulties faced in pisciculture is the high cost of the feed fortified with fish meal and fish oil. The use of these compounds enhances the content of fatty acids of the n-3 and n-6 series on the fishes, which contributes to their healthy development. However, this practice is economically and environmentally unsustainable, since these products are obtained from finite marine sources. Therefore, the aim of this project was the production of poly(lactic acid) nanofibers containing corn oil and linseed oil in different proportions. Posteriorly, nanofibers were characterized by Differential Scanning Calorimetry, Scanning Electron Microscopy, and Fourier-Transform Infrared spectroscopy. The contact angle and encapsulation efficiency were also determined. A general feed formulation was produced and the release profile of the nutrients encapsulated in the nanofibers and free in the feed was studied and compared. The release tests were performed *in vitro* in environment simulating the tank water and the gastrointestinal conditions. The results showed that the encapsulation of the vegetable oils in the polylactic acid matrix was successful, since the infrared spectrum proved the interaction between the substances (characteristic vegetable oils peaks at 2925 and 2853 cm^{-1} were seen in the nanofibers spectra), and the encapsulation efficiency results were between $81.54 \pm 10.36\%$ and $99.14 \pm 4.55\%$. The analysis of the thermal events showed the plasticizer effect of the vegetable oils because a small decrease in the glass transition of the polylactic acid was observed (from 63°C to 61°C); there was also a decrease in the cold crystallization temperature (from 93°C to nearly 86°C), indicating that the addition of oils would facilitate the crystallization process. Beyond that, the results of the contact angle allowed to affirm that all nanofibers are hydrophobic (all presented contact angles higher than 90°), which is important to protect the nutrients against release when in contact with the aqueous medium. The Scanning Electron Microscopy analysis showed that all nanofibers presented uniform morphology and smooth surface, with an average diameter between 157 ± 49 nm and 385 ± 133 nm. Through the comparison of the vegetable oils release from the nanofibers (encapsulated) and from the feed (free), it was possible to verify the importance of the nanofibers for this application since the polymeric matrix enhances the bioavailability of the nutrients.

Keywords: Solution Blow Spinning. Corn Oil. Linseed Oil. Controlled release. Simulated gastrointestinal fluid.

SUMÁRIO

1	Introdução.....	1
2	Objetivos	3
2.1	Objetivos Específicos	3
3	Referencial Teórico	4
3.1	Poli(ácido láctico)	4
3.1.2	O monômero	5
3.1.3	Propriedades	5
3.1.4	Modificações	7
3.1.5	Degradação	7
3.1.6	Aplicações	9
3.2	Fiação por sopro em solução	9
3.3	Sistemas de liberação controlada.....	12
3.4	Ácidos graxos essenciais e Piscicultura.....	15
3.5	Degradação enzimática de polímeros	18
3.5.1	Degradação enzimática do poli(ácido láctico)	19
3.5.2	Atuação enzimática em ácidos graxos.....	20
4	Materiais e métodos.....	22
4.1	Materiais	22
4.2	Aparato de fiação.....	22
4.3	Metodologia.....	23
4.3.1	Preparo da solução de poli(ácido láctico).....	23
4.3.2	Preparo da solução contendo óleo vegetal.....	23
4.3.3	Produção das nanofibras	24
4.3.4	Eficiência do processo de encapsulamento	24
4.3.5	Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	25
4.3.6	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	25
4.3.7	Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	25
4.3.8	Ângulo de contato.....	26
4.3.9	Produção das rações	27
4.3.10	Ensaio de liberação controlada	27
4.3.10.1	Construção da curva analítica.....	27
4.3.10.2	Liberação em meio aquoso	28
4.3.10.3	Liberação em fluido de simulação gástrico	28
4.3.10.4	Liberação em fluido de simulação intestinal	29

4.3.11 Avaliação da cinética de liberação	29
5 Resultados e Discussão.....	32
5.1 Obtenção das nanofibras.....	32
5.2 Eficiência do processo de encapsulação	32
5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	33
5.4 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	35
5.5 Calorimetria Exploratória Diferencial	38
5.6 Ângulo de contato.....	40
5.7 Ensaio de liberação controlada	43
5.7.1 Perfil de liberação dos nutrientes em meio aquoso simulado (<i>in vitro</i>)	43
5.7.2 Perfil de liberação dos nutrientes em meio de simulação gastrointestinal (<i>in vitro</i>).....	48
6 Conclusão	52
ANEXO A	53
REFERÊNCIAS	55

1 Introdução

A nanotecnologia é entendida como o design, a caracterização, a produção e a aplicação de estruturas, dispositivos e sistemas controlando forma e tamanho na escala nanométrica. (Dowling, 2004; Kubitzka, 2006)

As nanofibras são estruturas poliméricas que apresentam a forma de fios, sendo um exemplo de nanomateriais. Suas propriedades físicas e químicas são muito interessantes, sendo a elevada área superficial por volume considerada a principal delas. Isso significa que, se compararmos um mesmo volume de fibras macroscópicas e nanométricas, as nanofibras terão maior área superficial. Sabe-se que quanto maior a área da fibra, maior é sua porosidade e, portanto, esta também é uma característica importante das nanofibras. São essas propriedades que as tornam atraentes para diversas aplicações ligadas à fenômenos de superfície, como filtração de poluentes, liberação controlada de fármacos e recuperação de tecidos biológicos. (Ramakrishna, 2005; Piscopo *et al.*, 2015)

Uma grande vantagem de se usar nanofibras ao invés de filmes ou emulsões, por exemplo, é que é de interesse das indústrias que as matrizes poliméricas sejam macias, flexíveis e tenham uma dureza moderada. As nanofibras apresentam essas características naturalmente, enquanto que as propriedades dos filmes precisam ser otimizadas pela adição de plastificantes, que além de aumentarem o custo do produto, geram impactos ambientais devido à sua toxicidade. Isso foi observado por Ghosal *et al.*, 2018 ao comparar as propriedades mecânicas de filmes produzidos por casting com as de nanofibras produzidas por eletrofiação, utilizando o mesmo polímero e o mesmo solvente para a produção dos dois materiais.

As nanofibras podem ser produzidas por meio de diversas técnicas, sendo a fiação por sopro em solução uma alternativa barata, rápida e prática para se obter estes materiais. Após a obtenção, as nanofibras podem ser aplicadas na resolução de problemas, como na nutrição de peixes, por exemplo. (Medeiros *et al.*, 2009)

A pesca é uma atividade comercial praticada ao longo de todo o território nacional e apresenta, portanto, elevada importância social e econômica.

De acordo com a FAO, o Brasil é um dos 15 maiores produtores de peixe do mundo, sendo esta a atividade zootécnica que mais cresce no país nos últimos anos. Essa prática movimentada cerca de R\$ 5 bilhões/ano e gera 1 milhão de empregos diretos e indiretos, de acordo com a PEIXE BR. (Peixe BR, 2019)

Os peixes têm algumas necessidades nutricionais para que seu crescimento, reprodução e funções fisiológicas sejam desempenhadas normalmente. Sendo assim, a ração deve conter proteína/aminoácidos, ácidos graxos essenciais, minerais, vitaminas e fontes energéticas em

teores otimizados. Portanto, a ração representa a principal despesa na piscicultura, pois sua formulação está diretamente relacionada à qualidade dos peixes que serão comercializados. No trabalho de Freitas *et al.*, 2020 foi demonstrado que o preço da ração, considerando o valor dos insumos no período de 2017 a 2018, foi de cerca de R\$3,12/kg de peixe. Assim, existe um grande interesse na produção de rações que tenham baixo custo, baixo impacto ambiental e alta qualidade nutricional. (Roubach *et al.*, 2002)

Um dos problemas encontrados na nutrição de peixes de cativeiro é que, por conterem um teor mais baixo de ácidos graxos da série n-3, as rações são comumente fortificadas com farinha de peixe e óleo de peixe. O uso desses produtos, apesar de cumprir o objetivo, é visto como uma prática ambientalmente e economicamente insustentável, pois utiliza fontes marinhas finitas como alimento para os animais produzidos na piscicultura. (Cyrino *et al.*, 2010)

Sendo assim, é de extrema importância encontrar uma fonte alternativa de nutrientes que possa substituir o óleo de peixe nas rações, mantendo o valor nutricional e ao mesmo tempo tornando a fortificação mais barata e ecologicamente correta.

No estudo desenvolvido por Lopes *et al.*, 2015 foi observado que tilápias do Nilo alimentadas com rações contendo óleo de soja durante 30 dias apresentaram alto teor de ácidos graxos da série n-3. Nesse contexto, os óleos vegetais se mostram alternativas sustentáveis e promissoras para a produção de rações fortificadas. (Miller *et al.*, 2008)

O óleo de milho e o óleo de linhaça, por exemplo, são ricos em ácido linoleico (ômega-6) e ácido α -linolênico (ômega-3), respectivamente. Esses ácidos graxos essenciais são metabolizados no organismo dos peixes, levando à formação dos ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa, que serão posteriormente ingeridos pelo consumidor humano.

A importância do consumo de peixe na dieta humana e seus efeitos benéficos foram comprovados em termos de segurança alimentar e de combate à desnutrição e deficiência de micronutrientes em países em desenvolvimento. (Mohanty *et al.*, 2019) Assim, substituir o óleo/farinha de peixe por óleos vegetais na formulação das rações seria uma forma de manter o peixe como uma fonte econômica de proteínas e óleos saudáveis, que além de prover uma alimentação balanceada, ajuda na manutenção da saúde física e mental.

Desse modo, o foco do projeto foi produzir nanofibras de poli(ácido láctico) por fiação por sopro em solução, contendo óleo de milho e óleo de linhaça encapsulados, já que estes óleos são ricos em ácidos graxos essenciais para a nutrição de peixes. Serão empregadas técnicas de caracterização para avaliar diversos parâmetros das nanofibras, incluindo o perfil de liberação dos agentes ativos *in vitro*. Assim, espera-se ter informação suficiente para definir se este será um produto viável para aplicação na fortificação de rações para a piscicultura.

2 Objetivos

Este projeto tem como objetivo a encapsulação de óleo de milho e óleo de linhaça em nanofibras biocompatíveis que serão produzidas por meio da técnica de fiação por sopro em solução. Espera-se obter um produto que possa ser aplicado na piscicultura para a fortificação de rações por meio da liberação controlada de ácidos graxos essenciais.

2.1 Objetivos Específicos

- Utilizar a técnica de fiação por sopro em solução para produzir nanofibras de poli(ácido láctico) contendo diferentes concentrações de óleo de milho e óleo de linhaça;
- Caracterizar a morfologia das nanofibras por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV);
- Caracterizar o comportamento térmico das nanofibras por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC);
- Estudar as interações entre o poli(ácido láctico) e os óleos vegetais por meio da Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR);
- Avaliar a hidrofobicidade das nanofibras por meio da técnica de ângulo de contato;
- Avaliar a liberação controlada dos ácidos graxos de interesse em fluidos que simulem o trato gastrointestinal de peixes e o ambiente aquático.

3 Referencial Teórico

3.1 Poli(ácido láctico)

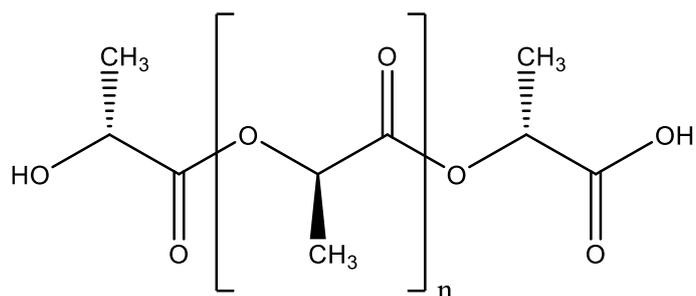
Em 2016, a produção mundial de polímeros obtidos a partir de fontes não-renováveis, como petróleo, atingiu cerca de 396 milhões de toneladas. (Geyer *et al.*, 2017) Grande parte dessa produção é introduzida no ecossistema na forma de lixo industrial. O que encoraja o uso desses polímeros pelas indústrias é o baixo custo e alta velocidade de produção, aliados a uma ampla faixa de comportamentos que podem atender as mais diversas aplicações. Por outro lado, também existem várias desvantagens, incluindo: uso de fontes não-renováveis, aumento do preço do petróleo nas últimas décadas, preocupação ambiental devido à sua degradação e incineração contribuírem para o aquecimento global, e risco de que seus monômeros e oligômeros tóxicos migrem para os materiais comestíveis, infectando o consumidor. (Jamshidian *et al.*, 2010; Nampoothiri *et al.*, 2010)

O poli(ácido láctico) (PLA) é um poliéster (Figura 1) biodegradável que pode ser usado como uma alternativa sustentável aos produtos derivados de petróleo. Esse polímero pode ser produzido em larga escala por meio da fermentação de açúcares de fontes renováveis como cana-de-açúcar e amido de milho.

O poli(ácido láctico) foi descoberto em 1700 pelo químico suíço Scheele, mas só foi sintetizado pela primeira vez por Carothers em 1932, na DuPont. A síntese de PLA exige um controle rigoroso das condições de temperatura, pressão e pH, uso de catalisadores e longo tempo de polimerização. Pode ser preparado por meio de diferentes processos de polimerização do ácido láctico, incluindo: policondensação, polimerização por abertura do anel, polimerização enzimática e desidratação azeotrópica. (Jamshidian *et al.*, 2010; Farah *et al.*, 2016; Herrero-Herrero *et al.*, 2018; Singhvi *et al.*, 2019)

Por ser classificado como Geralmente Reconhecido Como Seguro (GRAS) pela United State Food and Drug Administration (FDA), é seguro para ser aplicado em diversas áreas. (Nampoothiri *et al.*, 2010; Herrero-Herrero *et al.*, 2018)

Figura 1 - Estrutura química do poli(ácido láctico).

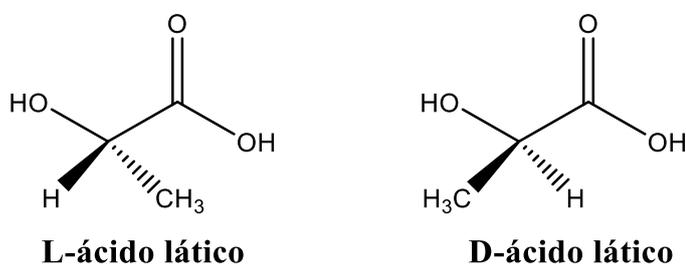


Fonte: Do autor

3.1.2 O monômero

O ácido láctico (ácido 2-hidroxiopropiônico) é o ácido carboxílico mais abundante na natureza. Pode ser produzido a partir de produtos ou resíduos da indústria de alimentos (milho, amido, sementes de algodão) por meio de síntese química ou fermentação. A obtenção por meio da fermentação causa menos impactos ao meio ambiente, além de ser mais barata e altamente específica, produzindo apenas o L-(+)-ácido láctico ou o D-(-)-ácido láctico (Figura 2) opticamente puros. Também pode ser obtido a partir de fontes microbianas como bactérias e fungos, na presença de uma fonte de carbono. (Gupta *et al.*, 2007; Nampoothiri *et al.*, 2010; Singhvi *et al.*, 2019)

Figura 2 - Isômeros ópticos do ácido láctico.

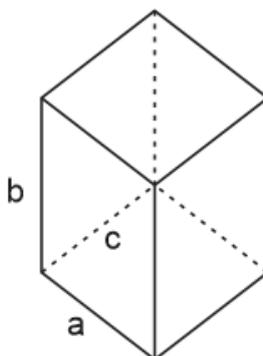


Fonte: Do autor

3.1.3 Propriedades

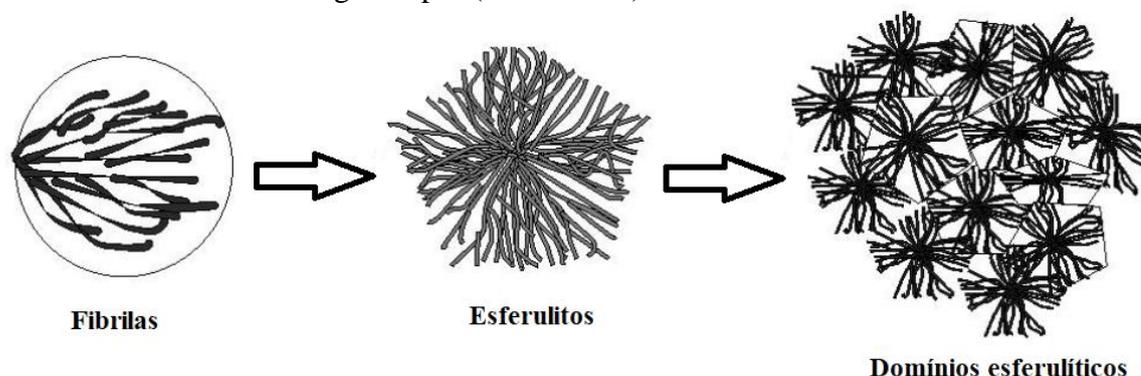
O poli(ácido láctico) apresenta célula unitária ortorrômbica, em que os três eixos cristalográficos são mutuamente perpendiculares ($\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$) e cada um apresenta um comprimento diferente ($a \neq b \neq c$) como mostra a Figura 3. (Mina *et al.*, 2014) O PLA apresenta morfologia esferulítica, caracterizada pelo crescimento radial das fibrilas cristalinas a partir de um núcleo, levando à formação de agregados cristalinos, também conhecidos como esferulitos. A união de uma série de esferulitos forma os domínios esferulíticos, como mostra a Figura 4. (Silva, 2009)

Figura 3 – Célula unitária ortorrômbica.



Fonte: Do autor

Figura 4 – As fibrilas do polímero crescem a partir de um núcleo individual, formando agregados conhecidos como esferulitos. A união de vários esferulitos gera domínios esferulíticos ao longo de toda a estrutura cristalina, caracterizando a morfologia do poli(ácido lático).



Fonte: Adaptado de Silva, 2009.

O PLA apresenta resistência a tração acima de 20 MPa, módulo de elasticidade acima de 3 GPa e atoxicidade. (Silva *et al.*, 2014) Suas propriedades de barreira incluem: permeabilidade a oxigênio ($1,21 \times 10^{-18} \text{ kg} \cdot \text{mm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$); permeabilidade a água ($1,75 \times 10^{-14} \text{ kg} \cdot \text{mm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$); e permeabilidade a dióxido de carbono ($2,77 \times 10^{-17} \text{ kg} \cdot \text{mm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$). (Castro-Aguirre *et al.*, 2016) Além disso, o PLA é moldável, permitindo sua aplicação em diferentes formatos, incluindo scaffolds, nanofibras, filmes e nanopartículas. (Jamshidian *et al.*, 2010; Nampoothiri *et al.*, 2010; Tyler *et al.*, 2016)

O poli(L-ácido lático) e o poli(D-ácido lático) são estruturas semicristalinas. PLLA, PDLA, PDLLA diferem em relação à taxa de degradação, propriedades físicas e mecânicas. O polímero puro de um dos estereoisômeros tende a ser cristalino, enquanto que PDLLA apresenta regiões amorfas. (Nampoothiri *et al.*, 2010; John *et al.*, 2019; Singhvi *et al.*, 2019)

Os cristais de poli(ácido lático) podem crescer em 3 posições estruturais denominadas formas α , β e γ . Elas são caracterizadas por apresentarem diferentes conformações de hélice e simetria, que se desenvolvem dependendo do tipo de tratamentos térmico e/ou mecânico que receberam. (Jamshidian *et al.*, 2010; Nampoothiri *et al.*, 2010)

Características físicas como densidade, capacidade de aquecimento e propriedades mecânicas, térmicas e reológicas do PLA sofrem influência da temperatura de aplicação. Acima da temperatura de transição vítrea (T_g), o PLA amorfo sofre transição do estado vítreo para um estado maleável, se comportando como um fluido viscoso se o aquecimento continuar. Abaixo da T_g , o PLA se comporta como um sólido rígido. Abaixo de -45°C (temperatura de β -transição), o PLA se comporta apenas como um polímero frágil. Assim, podemos dizer que a variação da temperatura pode afetar as propriedades mecânicas do material, podendo

caracterizar um plástico elástico e flexível ou um material duro e forte. (Shetty and Shetty, 2019; Singhvi *et al.*, 2019)

3.1.4 Modificações

Algumas propriedades do PLA, como baixa temperatura de transição vítrea, baixa estabilidade térmica e baixa ductilidade podem ser otimizadas por meio da polimerização com outros monômeros ou da formação de blendas com outros polímeros. Tais processos também podem contribuir para a redução do custo de produção. (Jamshidian *et al.*, 2010; Nampoothiri *et al.*, 2010; John *et al.*, 2019)

O PLA geralmente é misturado com amido para formar blendas que aumentam sua biodegradabilidade e reduzem seu custo. Recentemente, plastificantes como polietilenoglicol e monoésteres de glicose foram usados para aumentar a flexibilidade e a resistência ao impacto do PLA. (Jamshidian *et al.*, 2010; Nampoothiri *et al.*, 2010; Nofar *et al.*, 2019)

O polímero também pode ser aprimorado pela adição de nanocompósitos, melhorando propriedades de tensão e flexibilidade, diminuindo a permeabilidade a gás, aumentando a temperatura de deformação e aumentando a taxa de biodegradabilidade do PLA puro. (Jamshidian *et al.*, 2010; Somord *et al.*, 2016)

Uma outra possibilidade é o uso de aditivos, que influenciam a morfologia cristalina do polímero, podendo ser usados para controlar propriedades físicas e mecânicas específicas, fornecendo sítios de nucleação para que a cristalização se inicie. (Farah *et al.*, 2016; Scaffaro *et al.*, 2018)

3.1.5 Degradação

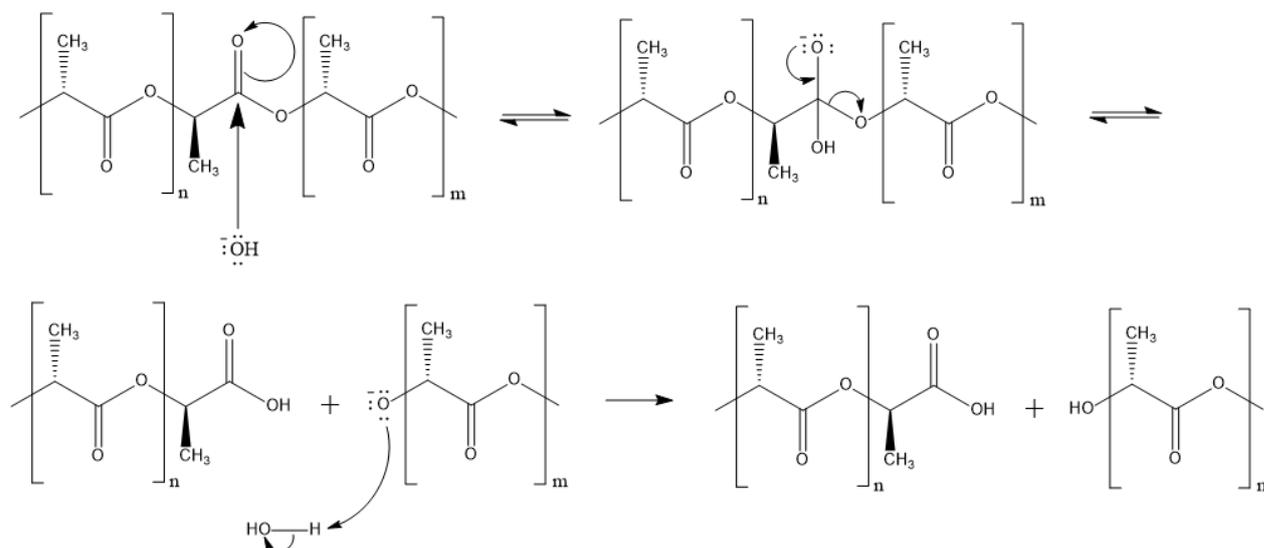
A degradação de polímeros ocorre principalmente por meio da cisão de ligações químicas nas cadeias principais ou nas cadeias laterais das macromoléculas. Na natureza, a degradação polimérica é induzida por ativação térmica, hidrólise, atividade enzimática, oxidação, fotólise ou radiólise.

Parâmetros como umidade, temperatura, pH, salinidade, presença ou ausência de oxigênio e o fornecimento de diferentes nutrientes tem efeitos importantes na degradação de polímeros por microrganismos. Por isso, essas condições devem ser consideradas quando a biodegradabilidade do material é testada. O processo também depende das características físicas e químicas do polímero, incluindo morfologia, força mecânica, tolerância térmica, porosidade, ligações reticuladas, pureza, reatividade química e resistência a radiação eletromagnética. (Nampoothiri *et al.*, 2010; Castro-Aguirre *et al.*, 2016; Elsaywy *et al.*, 2017)

A pirólise, decomposição química de uma substância condensada por meio de aquecimento, é um método que pode ser usado para tratar o poli(ácido lático) e converter os resíduos em combustível. (Nampoothiri *et al.*, 2010; Castro-Aguirre *et al.*, 2016)

A degradação intramolecular ocorre por meio do ataque de uma base ao carbono do grupo éster, seguido pela hidrólise da ligação éster (Figura 5). Assim, novas moléculas de baixa massa molar são produzidas, levando à redução do grau de polimerização do PLA. (Nampoothiri *et al.*, 2010; Elsaywy *et al.*, 2017)

Figura 5 – Hidrólise do poli(ácido lático) em meio básico.



Fonte: Do autor

Quanto à biodegradabilidade, é comprovado que o PLA é naturalmente degradado em solos e adubo. Segundo a ASTM D6400-04, um plástico biodegradável é “um plástico que degrada devido à ação de microrganismos de ocorrência natural como bactérias, fungos e algas”. A degradação do PLA ocorre em duas etapas: primeiramente, a hidrólise leva a cisão aleatória e não-enzimática das cadeias contendo grupos éster, reduzindo a massa molar; na segunda etapa, a massa molar é reduzida até que o ácido lático e oligômeros de baixa massa molar sejam naturalmente metabolizados por microrganismos, gerando dióxido de carbono e água. A biodegradação desse polímero e seus derivados é geralmente realizada por esterases, proteases e lipases secretadas pelos microrganismos. Em humanos e animais, o PLA é inicialmente degradado por hidrólise e os oligômeros solúveis formados são metabolizados pelas células. (Jamshidian *et al.*, 2010; Nampoothiri *et al.*, 2010; Farah *et al.*, 2016; Elsaywy *et al.*, 2017)

A degradação térmica do PLA se inicia em temperaturas mais baixas que sua temperatura de fusão (130-180°C), o que o configura como um polímero termicamente instável.

Ao atingir a temperatura de fusão, a taxa de degradação aumenta rapidamente, facilitando o processo de cisão aleatória das cadeias principais. (Farah *et al.*, 2016; Sonchaeng *et al.*, 2018)

Sob condições típicas de uso, o PLA é muito estável e mantém sua massa molar e propriedades físicas por anos, podendo ser usado em produtos duráveis como roupas. (Farah *et al.*, 2016)

3.1.6 Aplicações

O poli(ácido láctico) preenche vários requisitos necessários para que seja usado como embalagem, como: firmeza, claridade, propriedades de barreira a sabor e aroma, baixa temperatura de vedação. Além disso, podem ser utilizados antioxidantes ou agentes antimicrobianos que podem migrar da matriz do PLA para o alimento para prolongar seu tempo de prateleira. (Jamshidian *et al.*, 2010; Nampoothiri *et al.*, 2010; Farah *et al.*, 2016; Scaffaro *et al.*, 2018)

Por ser biodegradável também pode ser empregado na produção de bolsas de compostagem, embalagem de alimentos e talheres descartáveis. Na forma de fibras pode ser usado como estofado, toldos, produtos de higiene feminina e fraldas. Desafios para a aplicação do PLA em áreas não-medicinais envolvem a necessidade de diminuir o custo de sua fabricação para 1 dólar por quilo ou menos, e a dificuldade de obter propriedades de barreira e propriedades mecânicas tão boas quanto as de polímeros sintéticos, mantendo a biodegradabilidade. (Nampoothiri *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2016; Sonchaeng *et al.*, 2018)

O PLA é um material com grande potencial para ser aplicado na medicina devido ao fato de ser biodegradável, biocompatível, biorreabsorvível e por poder ter suas propriedades mecânicas, estruturais, químicas e de degradação alteradas especificamente para o uso desejado. Alguns exemplos de aplicações são: parafuso de interferência no joelho e no tornozelo, pinos para junção de ligamentos, parafuso para fixação do osso crânio-maxilo-facial, suturas cirúrgicas, implantes e sistemas de liberação controlada de agentes ativos. (Jamshidian *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2017; Sonchaeng *et al.*, 2018; John *et al.*, 2019)

3.2 Fiação por sopro em solução

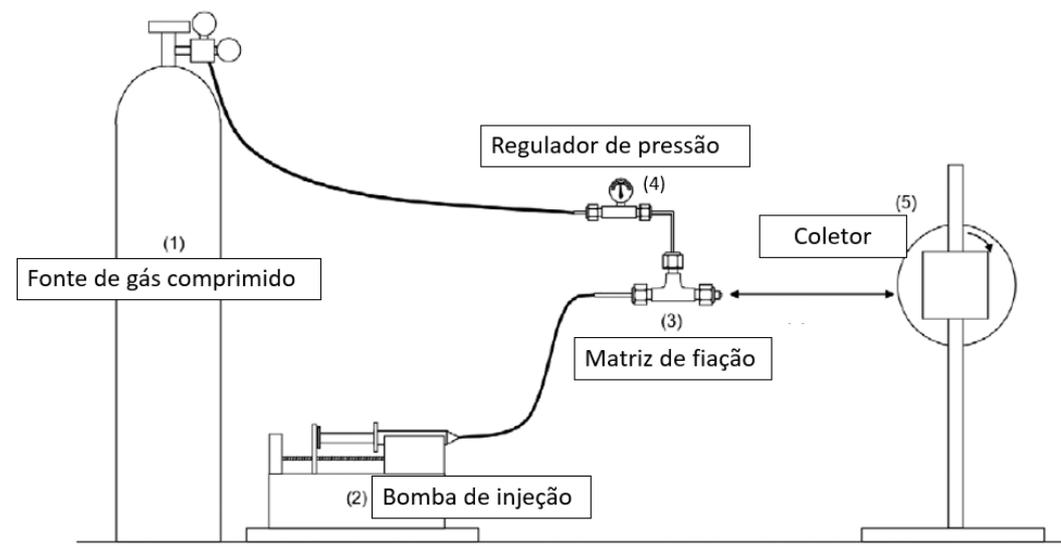
As nanofibras são estruturas em escala nanométrica, caracterizadas por terem diâmetros muito pequenos, comprimentos longos, alta área superficial por volume e poros pequenos. São estruturas contínuas e possuem alta resistência e flexibilidade, propriedades que são aperfeiçoadas pela redução a nanoescala. As nanofibras podem ser preparadas a partir de uma série de materiais, como: polímeros sintéticos, polímeros naturais, nanomateriais semicondutores e nanocompósitos. Além disso, podem ser sintetizadas pelas mais variadas técnicas, como auto-montagem, síntese via rota sonoquímica, sopro por fusão, eletrofiação e

fiação por sopro em solução. Tendo tantas variáveis, as nanofibras produzidas possuem características diferentes, permitindo sua aplicação nas mais diversas áreas. (Silva *et al.*, 2015; Da Silva Parize *et al.*, 2016; Kenry and Lim, 2017)

A eletrofiação é uma das técnicas mais usadas na produção de fibras. O sistema é formado por três partes principais: uma região de alimentação, um coletor e uma fonte de alta tensão. As fibras são geradas quando a solução polímero-solvente é submetida a um alto campo elétrico e, nesse processo, geralmente são utilizados solventes clorados ou fluorados altamente tóxicos. Além disso, a deposição é geralmente lenta, com taxas em torno de 1 mL por hora. Diante dessas informações, a fiação por sopro em solução, desenvolvida por (Medeiros *et al.*, 2009), surgiu como uma técnica alternativa, com vantagens como: taxa de deposição aproximadamente 10 vezes mais rápida, não precisa de um campo elétrico, pode ser implementada com materiais baratos e portáteis, possibilidade de aplicação *in situ*. (Daristotle *et al.*, 2016; Xu *et al.*, 2016; Vilches *et al.*, 2019; Saleem *et al.*, 2020)

Na fiação por sopro em solução, o aparelho utilizado consiste de uma fonte de gás comprimido, um regulador de pressão, uma bomba de injeção, uma matriz de fiação de bicos concêntricos e um coletor (Figura 6). (Daristotle *et al.*, 2016; Rempel *et al.*, 2019)

Figura 6 - Aparato utilizado na fiação por sopro em solução.



Fonte: Rempel *et al.*, 2019

A técnica consiste em bombear a solução polimérica através do bico interno em uma corrente de gás pressurizado que passa através do bico externo. Quando a tensão superficial gerada pela solução polimérica é superada pelas forças aerodinâmicas provenientes do gás pressurizado, fluxos da solução polimérica são lançados ao coletor. Durante o trajeto, o solvente

evapora formando fibras que, dependendo das condições de processamento, podem ser de micro ou nanoescala. (Silva *et al.*, 2015; Xu *et al.*, 2016)

O sistema de fiação pode ser otimizado de duas formas: trocando a bomba de injeção por um aerógrafo comercial, e utilizando um sistema portátil de gás de alta pressão, composto por uma garrafa de gás comprimido que pesa apenas 284 gramas e atinge pressões de aproximadamente 0,6 MPa. (Dias *et al.*, 2019; Gao *et al.*, 2020)

O processo ocorre em apenas uma etapa, pois o gás comprimido é responsável tanto por acionar a extrusão da solução polimérica quanto por evaporar o solvente de acordo com a distância de trabalho. Assim, a deposição ocorre sem a necessidade de processos secundários como secagem, resfriamento ou limpeza. (Li *et al.*, 2020)

É um processo biocompatível. Isso foi comprovado pelo estudo de Behrens *et al.*, 2014, que fiou uma solução de PLGA em acetona diretamente sobre células sem alterar sua viabilidade. Isso ocorre porque, mesmo que o solvente seja tóxico em altas proporções, ele evaporará antes da deposição da fibra, mantendo-a aplicável em humanos e animais.

A geração das fibras depende da massa molar do polímero, concentração e viscosidade da solução e de parâmetros do processo como pressão de arraste do gás, distância de trabalho, volatilidade do solvente e vazão da solução. Essas variáveis influenciam diretamente na formação do jato produtor de fibras, na morfologia e no diâmetro das mesmas. (Da Silva Parize *et al.*, 2016; Daristotle *et al.*, 2016; Vilches *et al.*, 2019)

A viscosidade da solução é dependente da concentração do polímero e, portanto, soluções mais viscosas tendem a gerar fibras com diâmetros maiores. Considerando a viscosidade, existem 3 estados em que a solução pode se encontrar, e estes afetam diretamente a formação das fibras. No regime diluído, a concentração de polímero é muito baixa e, por isso, a probabilidade de existir interação entre as macromoléculas é muito pequena. Quando a concentração de polímero na solução aumenta, a distância média entre as cadeias poliméricas diminui e, portanto, estas passam a interagir. Esse estado é denominado regime semi-diluído, no qual a sobreposição das moléculas leva à concentração crítica (c^*), condição ideal para a fiação. No regime concentrado, há uma alta concentração de polímero em solução e a alta interação entre as cadeias leva à formação de emaranhados durante a fiação. (Silva *et al.*, 2015; Daristotle *et al.*, 2016; Rempel *et al.*, 2019)

O valor da concentração crítica pode ser estimado por meio da Equação 1:

$$c^* = \frac{6^{3/2}M_w}{(8N_a\langle R^2 \rangle)^{3/2}} \quad (1)$$

Onde: M_w = massa molar média, N_a = Número de Avogadro, R = Distância de ponta a ponta para o sistema solvente-polímero

Assim, o solvente escolhido deve dissolver o polímero acima da c^* . A concentração da solução polimérica deve ser maior que c^* para permitir a formação das fibras e eliminar completamente a formação de defeitos, visto que o comportamento viscoelástico da solução melhora a estabilidade do jato durante o processo. (Silva *et al.*, 2015; Daristotle *et al.*, 2016)

Essa técnica, portanto, permite o desenvolvimento de materiais que podem ser produzidos em larga escala e comercializados para aplicação em liberação controlada de agentes ativos (Sharifi *et al.*, 2016), engenharia de tecidos (Tomecka *et al.*, 2017) e curativo para regeneração de tecidos (Gao *et al.*, 2020), por exemplo.

A contribuição das nanofibras em diferentes áreas depende exatamente dos avanços em inovações, que cada vez mais satisfazem a demanda de vários setores. Sendo assim, é preciso dar a devida atenção aos métodos que têm sido desenvolvidos com foco em uma produção em maior escala e com maior grau de eficiência. A fiação por sopro em solução se mostra como uma estratégia emergente para este fim, à medida que o mercado de nanofibras se expande. (Saleem *et al.*, 2020)

3.3 Sistemas de liberação controlada

Antes de 1950, todos os fármacos eram comercializados na forma de pílulas ou cápsulas que liberavam o agente ativo imediatamente após contato com água, sem nenhum controle da cinética de liberação. Em 1952, Smith Klein Beecham introduziu a primeira formulação de liberação controlada, capaz de manter o controle da concentração do composto de interesse durante 12 horas. (Yun *et al.*, 2015)

Assim, pode-se dizer que os sistemas de liberação controlada foram desenvolvidos para prolongar o tempo de liberação do agente ativo, aumentar sua biodisponibilidade, melhorar sua absorção, reduzir a probabilidade de degradação prematura, manter a concentração do composto no organismo e controlar a localização temporal e espacial das moléculas *in vivo*. (Swarbrick, 2013; Jiang *et al.*, 2018)

A liberação do analito pela matriz polimérica pode ocorrer de três maneiras: difusão, erosão e dilatação. No mecanismo de liberação por difusão, o agente ativo está envolvido por uma membrana polimérica ou disperso uniformemente em um sistema matricial. Quando o sistema entra em contato com o meio, suas cavidades são preenchidas pelo líquido de dissolução. Assim, o analito é dissolvido e, posteriormente, ocorre sua difusão do interior do sistema para o meio circundante. Esse processo pode estar relacionado à gradiente de

concentração, aplicação de campos elétricos ou estresse da matriz polimérica. (Siepmann *et al.*, 1999; Siepmann and Siepmann, 2012)

No processo de erosão, a liberação ocorre devido à degradação da matriz, sendo assim, a taxa de liberação depende da cristalinidade do polímero. (Bizerra and Silva, 2016)

No processo de ativação por solvente, a liberação pode envolver o processo de dilatação do polímero. Neste mecanismo, o agente ativo está dissolvido ou disperso em uma matriz polimérica hidrofílica. Quando em contato com o meio de dissolução, ocorre a absorção de água através dos poros do sistema, levando ao intumescimento das cadeias poliméricas. À medida em que a concentração de água na matriz aumenta, ocorre uma diminuição das interações poliméricas intermoleculares, aumentando o espaço entre as cadeias e, conseqüentemente, aumentando a difusão do analito. Por fim, ocorre a desintegração total do sistema e completa liberação do agente ativo. (Lopes *et al.*, 2005) Também pode haver a liberação específica por meio da ação de enzimas caso o composto de interesse esteja covalentemente ligado ao polímero.

A liberação controlada de moléculas ativas é um processo que pode ser aplicado em diversas áreas, como: farmacêutica (Frizzell *et al.*, 2017), agrícola (Chen *et al.*, 2018), cosmética (Dai *et al.*, 2012) e química (Ji *et al.*, 2019). E diferentes estímulos podem ser aplicados para induzir a liberação, como variação de pH (Roozbahani *et al.*, 2017), temperatura (Shao *et al.*, 2018) e estímulos biológicos (Jiang *et al.*, 2018).

O uso de polímeros biodegradáveis é excelente para esse tipo de aplicação, pois é desejável que o material introduzido no organismo seja degradado após a liberação completa do agente ativo. Assim, os resíduos formados serão metabolizados por meio do ciclo de Krebs ou excretados na urina, tornando desnecessária a retirada do material por meio de intervenções cirúrgicas. (Barbanti *et al.*, 2005) Outra vantagem do uso de polímeros é que sua morfologia pode ser alterada, permitindo que a liberação seja controlada de acordo com o grau de cristalinidade e estabilidade mecânica do mesmo. (Liu *et al.*, 2016)

Essa tecnologia tem sido melhorada progressivamente nas últimas décadas. O desenvolvimento de sistemas baseados em nanotecnologia representa uma alternativa eficaz para aumentar a biodisponibilidade dos agentes ativos. (Jiang *et al.*, 2018; Bruneau *et al.*, 2019)

Como exemplo de sistema de liberação controlada que empregou nanomateriais produzidos a partir de polímeros biodegradáveis e biocompatíveis, pode-se citar o desenvolvido por John *et al.*, 2019, no qual o tamoxifeno foi encapsulado. Este composto é um modulador do receptor de estrogênio que, apesar de apresentar boa biodisponibilidade oral, está associado a

toxicidade a longo prazo. Para aumentar a concentração do fármaco no local do tumor e evitar efeitos colaterais devido à sua toxicidade, o composto pode ser encapsulado e absorvido de forma controlada. No trabalho citado, nanopartículas de poli(ácido lático-co-ácido glicólico) – PLGA - foram usadas para encapsular o tamoxifeno e os resultados mostraram que a liberação ocorreu de forma controlada durante um longo período e o fármaco foi bem absorvido pela célula do câncer de mama *in vitro*. O uso de tamoxifeno encapsulado em nanopartículas de PLGA resultou em diminuição da hepatotoxicidade e nefrotoxicidade, além de reduzir significativamente o tamanho do tumor de câncer de mama em ratos. (Herrero-Herrero *et al.*, 2018)

Tendo em vista os avanços significativos na ciência de alimentos, sistemas de liberação controlada têm sido desenvolvidos para aumentar a biodisponibilidade e a estabilidade de nutrientes. (Feng *et al.*, 2016) Os benefícios à saúde promovidos por nutracêuticos hidrofóbicos não são tão disseminados devido à sua baixa estabilidade química, baixa solubilidade em água e baixa biodisponibilidade. O desenvolvimento de matrizes alimentares pode suprir esses desafios, pois impede a degradação das moléculas ativas, aprimorando sua biodisponibilidade e, conseqüentemente, sua absorção. (Chen, X. *et al.*, 2018) Na administração oral, a matriz polimérica é responsável por aumentar o tempo de retenção do composto biologicamente ativo e protegê-lo contra o meio ácido do estômago, para que a liberação ocorra apenas no intestino (estimulada por variação de pH). (Taheri and Jafari, 2019)

A encapsulação de óleo de peixe é um bom exemplo da aplicação de sistemas de liberação controlada na indústria alimentícia. Este composto traz vários benefícios para o organismo, pois apresenta uma gama de propriedades interessantes que auxiliam na prevenção de doenças autoimunes, no controle da glicemia e no funcionamento neurológico, por exemplo. (Nichols *et al.*, 2014) Entretanto, não é um composto muito utilizado em alimentos devido a seu forte odor e rápida deterioração. No trabalho desenvolvido por Ghorbanzade *et al.*, 2017 foi realizada a encapsulação de óleo de peixe em nanolipossomas, posteriormente utilizados para fortificar a formulação de iogurtes. Os resultados mostraram que, após 21 dias, o iogurte fortificado com os nanolipossomas ainda apresentava 12% de ácido eicosapentaenoico (EPA) e 57% de ácido docosaenoico (DHA) em sua composição. Já o iogurte que continha o óleo de peixe livre (não-encapsulado), após o mesmo período, apresentava apenas 6% de ácido eicosapentaenoico (EPA) e 27% de ácido docosaenoico (DHA) em sua composição. Além disso, o iogurte contendo os nanolipossomas apresentou características sensoriais bem parecidas com as da amostra controle, provando que a nanoencapsulação evita alterações no sabor e odor do alimento.

Apesar de tantas vantagens, o caminho para a comercialização de produtos baseados em sistemas de liberação controlada constituídos por polímeros biodegradáveis ainda é longo. É preciso que o polímero escolhido já tenha sido amplamente caracterizado e que seu perfil de degradação seja bem conhecido. Além disso, a presença de contaminantes como antioxidantes, estabilizantes e monômeros residuais pode comprometer a aplicabilidade do material. Por isso, antes da introdução no mercado, o produto precisa passar por inúmeros testes para que sua aprovação seja regulada pelos órgãos oficiais. Sendo assim, para chegar às prateleiras, o sistema deve atender tanto os requisitos da engenharia de materiais quanto os requisitos biológicos, medicinais e das agências de fiscalização. (Valério *et al.*, 2019)

3.4 Ácidos graxos essenciais e Piscicultura

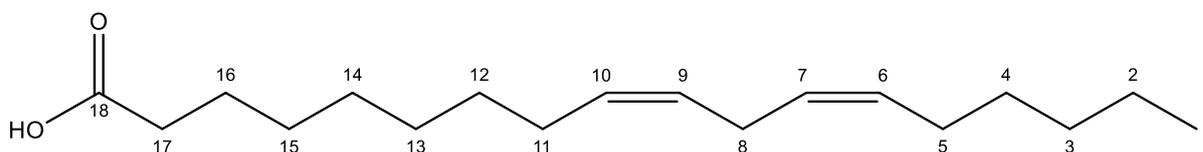
Peixes são uma importante fonte de minerais, incluindo iodo e selênio, e vitaminas como A, D e E. Além disso, são ricos em ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa, principalmente ácidos eicosapentanoico (EPA, 20:5 n-3) e docosaexanoico (DHA, 22:6 n-3) que tem benefícios bem conhecidos em uma variedade de patologias humanas, incluindo doenças cardiovasculares e inflamatórias, e um importante papel no desenvolvimento neurológico. (Costa and Fattori; Galuch *et al.*, 2018; Mohanty *et al.*, 2019)

Esses compostos não são sintetizados por vertebrados, devido à ausência das enzimas α -12 e α -15 dessaturase. Sendo assim, precisam ser supridos por meio da ingestão de ácidos graxos poli-insaturados como o ácido α -linolênico e o ácido linoleico, que são convertidos nos ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa biologicamente ativos. Estes desempenham papel estrutural como componentes de membranas celulares, podem atuar como reservatório energético e reguladores do metabolismo. (Tocher, 2015; Chen, Cuiying *et al.*, 2018; De Carvalho and Caramujo, 2018)

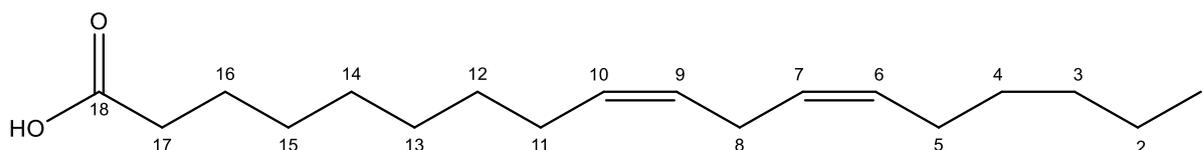
Devido à sua importância para manter o funcionamento normal do organismo, os ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa das famílias n-3 (ômega-3) e n-6 (ômega-6) têm sido alvo de vários estudos que buscam esclarecer suas funções e as reações envolvidas em sua formação e metabolização. O ácido α -linolênico, inserido na família n-3, apresenta uma estrutura com 18 carbonos e 3 insaturações separadas por grupo metil, com a primeira insaturação no terceiro carbono. Já o ácido linoleico, inserido na família n-6, apresenta uma cadeia de 18 carbonos, com 2 insaturações separadas por grupo metil, sendo a primeira no sexto carbono. A enumeração dos carbonos da cadeia, nesses casos, é feita a partir do grupo metil terminal, como mostra a Figura 7, pois os ácidos graxos com características comuns são agrupados em famílias. O nome de cada família se refere ao número do primeiro carbono da

estrutura que contém insaturação (família n-6 e n-3, por exemplo). (Martin *et al.*, 2006; De Carvalho and Caramujo, 2018)

Figura 7 - Representação da estrutura química dos ácidos linoleico e α -linolênico.



Ácido linoleico (n-6)



Ácido α -linolênico (n-3)

Fonte: Do autor

Os ácidos graxos das famílias n-6 e n-3 competem pelas enzimas envolvidas nas reações de dessaturação e alongamento da cadeia. Embora essas enzimas tenham maior afinidade pelos ácidos da família n-3, a conversão do ácido α -linolênico em ácido graxo poli-insaturado de cadeia longa é fortemente influenciada pelos níveis de ácido linoleico na dieta. (Emken *et al.*, 1994; Chen, Cuiying *et al.*, 2018) Assim, a razão entre a ingestão diária de alimentos fontes de ácidos graxos n-6 e n-3 assume grande importância na nutrição humana. (Martin *et al.*, 2006)

Evidências sugerem que os seres humanos evoluíram em uma dieta com uma proporção n-6/n-3 de 1:1, enquanto que as dietas modernas tem uma proporção de 20-25:1. Considerando os papéis fundamentais desses compostos em controlar e regular o metabolismo lipídico e, especialmente, a resposta imune/inflamatória, o desequilíbrio de ácidos graxos poli-insaturados das séries n-6 e n-3 na dieta é crítico. (Simopoulos, 2002; Tocher, 2015)

Nesse contexto, o peixe, como uma fonte econômica e rica em nutrientes, poderia ser usado para prover uma alimentação balanceada e ajudar na manutenção da saúde física e mental. (Mohanty *et al.*, 2019; Ramalho Ribeiro *et al.*, 2019)

A indústria de pesca contribui para o desequilíbrio ambiental (algumas espécies estão ameaçadas de extinção, enquanto há superpoluição de outras) e, por isso, a prática tem sido cada vez mais fiscalizada. Além disso, a maioria das espécies não se reproduz durante todo o ano, e nem todas as regiões têm acesso a áreas de pesca que garantam um bom retorno. Para superar tais obstáculos, uma maior quantidade de peixes tem sido criada por meio da aquicultura e piscicultura. (Tocher, 2015; Ramalho Ribeiro *et al.*, 2019; Oddsson, 2020) De acordo com a

Associação Brasileira de Piscicultura, o Brasil produziu 722.560 toneladas de peixes de cultivo em 2018, com crescimento de 4,5% em relação às 691.700 toneladas do ano anterior. (Peixe BR, 2019)

A Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) define a piscicultura como “criação de peixes sob controle humano”, o que envolve cuidados como alimentação regular e proteção contra predadores. Também implica em propriedade particular, pública, governamental ou corporativa do produto cultivado. (Boison and Turnipseed, 2015)

Um problema a ser contornado é o baixo teor de ácidos graxos de ômega-3 em peixes de cativeiro, quando comparados aos peixes que crescem naturalmente em oceanos, rios e lagos. (Simopoulos, 2002) Os animais marinhos acumulam esses componentes por meio da cadeia trófica, com algas e fitoplânctons sendo os produtores primários; enquanto que os animais cultivados precisam obter os nutrientes a partir de outras fontes. (Gualda *et al.*, 2018)

Tradicionalmente, as rações são fortificadas com farinha de peixe e óleo de peixe. Apesar de serem uma boa fonte de ácidos graxos poli-insaturados de ômega-3, o uso desse tipo de produto é ambientalmente insustentável, visto que é dependente de fontes marinhas finitas obtidas por meio de pesca. Como os recursos são limitados, o preço do óleo de peixe aumenta significativamente de acordo com a Lei da Oferta e Procura, tornando a prática inviável economicamente. (Tocher, 2015; Chen, Cuiying *et al.*, 2018)

Sendo assim, estudos têm sido feitos com o objetivo de aumentar o teor de ácidos graxos essenciais nos tecidos musculares de peixes cultivados, utilizando rações com ingredientes alternativos e mais sustentáveis. Esse objetivo pode ser alcançado por meio do uso de sementes e óleos ricos em ácidos graxos poli-insaturados. (Lopes *et al.*, 2015)

Óleos vegetais são alternativas viáveis, pois, além de sua produção ser mais sustentável e barata, não contêm dioxinas e poluentes. Em geral, a substituição total ou parcial do óleo de peixe por óleo vegetal não tem efeitos prejudiciais no desenvolvimento de uma variedade de peixes, podendo até levar a uma melhora em seu crescimento. (Teoh and Ng, 2016; Chen, Cuiying *et al.*, 2018)

No trabalho de Teoh and Ng, 2016, foi mostrado um ganho de peso de mais de 1000% em tilápias alimentadas com óleo de canola por 75 dias (peso inicial: 8,93 g, peso final: 107,04 g), tendo pouca diferença de crescimento em relação aos animais alimentados com óleo de peixe (peso inicial: 8,93 g, peso final: 125,21 g). Apesar da perda de massa em torno de 18,17 g, o uso de uma matéria-prima mais barata (óleo de canola – R\$9,00/L; óleo de peixe – R\$190,90/L) equilibra os gastos e os lucros, evitando prejuízos na produção. Assim, este estudo comprova

que a dieta alternativa reduz os custos e é eficaz para o crescimento e desenvolvimento dos peixes.

Em relação aos consumidores, há interesse em comprar produtos da piscicultura melhorados com compostos que promovem a saúde, mesmo que os preços sejam mais altos. Resultados de Ramalho Ribeiro *et al.*, 2019 mostraram que 52% dos consumidores concordaram com a fortificação, 27% discordaram e 21% se mantiveram neutros. Além disso, de acordo com o estudo, ácidos graxos de ômega-3 e antioxidantes foram os nutrientes de maior interesse por parte dos consumidores. Portanto, o investimento em alimentos funcionais se mostra uma oportunidade promissora, com um mercado receptivo e em crescimento.

3.5 Degradação enzimática de polímeros

Biopolímeros são materiais que sofrem mudanças em sua estrutura química em condições ambientais específicas, causando perda significativa de suas propriedades físicas e mecânicas. (Gross and Kalra, 2002) Durante o processo de biodegradação, a quebra da cadeia polimérica é mediada por uma atividade biológica, gerando produtos que são facilmente eliminados pelo metabolismo. (Chandra and Rustgi, 1998; Shima, 2001)

Quando expostos a fluidos corporais, as alterações nas propriedades dos materiais são resultado das interações químicas, físicas, mecânicas e biológicas entre o polímero e o ambiente circundante. Sendo assim, entender os mecanismos de degradação do polímero (cinética, identificação dos produtos de degradação, mudanças nas propriedades) é de grande importância para selecionar e produzir material para aplicações específicas, visto que o processo de degradação afeta vários eventos como crescimento celular, regeneração de tecidos, liberação de compostos ativos e resposta inflamatória. (Azevedo and Reis, 2005)

No caso de sistemas de liberação controlada, por exemplo, o polímero deve sofrer degradação sob condições fisiológicas e liberar lentamente o composto encapsulado. Sendo assim, o polímero escolhido deve apresentar um perfil contínuo de perda de massa para garantir que o tratamento seja eficaz. (Birnbaum and Brannon-Peppas, 2003)

O mecanismo mais comum de degradação de biopolímeros é a hidrólise, em que ocorre a quebra das ligações químicas na cadeia polimérica por meio do ataque de moléculas de água, formando oligômeros e, posteriormente, monômeros. (Williams and Zhong, 1994) Essas reações podem ser catalisadas por enzimas conhecidas como hidrolases, uma classe que inclui proteases, esterases, glicosidases e fosfatases. (Santerre *et al.*, 1994; Shalaby and Park, 1994)

A degradação catalisada por enzimas geralmente segue um mecanismo de erosão da superfície, principalmente quando o polímero é altamente cristalino e hidrofóbico. Devido à grande massa molar da molécula, a enzima não consegue penetrar a estrutura altamente

empacotada de certos polímeros, fazendo com que a catálise enzimática ocorra somente na interface polímero-solução. À medida em que ocorre a fragmentação da superfície, a ação enzimática aumenta, visto que há aumento da área superficial. Entretanto, o mecanismo de degradação enzimática depende de vários fatores como composição química, grau de homogeneidade e técnica de processamento. (Göpferich, 1997; Domenek and Ducruet, 2016)

Para prever o desempenho dos polímeros biodegradáveis em situações clínicas, geralmente são realizados testes *in vitro*. De fato, o uso de soluções de degradação compostas por água-tampão-enzima pode ajudar na compreensão de alguns aspectos envolvidos no processo de degradação dos biomateriais, visto que as enzimas e outras espécies reativas estarão presentes no ambiente *in vivo*. (Khandare *et al.*, 2012) Entretanto, considerando a complexidade dos fluidos biológicos, é comum encontrar diferenças nos resultados quando o mesmo material é estudado *in vitro* e *in vivo*. Tais diferenças são relacionadas às propriedades intrínsecas de cada biomaterial e aos sistemas *in vitro* usados para simular as condições *in vivo*. Ainda assim, esses resultados são de grande importância para prever a taxa de degradação do polímero e planejar uma abordagem para os estudos clínicos. (Agrawal and Athanasiou, 1997; Mainil-Varlet *et al.*, 1997)

3.5.1 Degradação enzimática do poli(ácido lático)

Em 1981, David Franklin Williams descobriu a possibilidade de degradar o PLA em ácido lático por meio de ação enzimática. (Williams, 1981) Nesse estudo, ele mostrou que a proteinase K, obtida a partir de *Tritirachium album*, e a pronase, obtida a partir de *Streptomyces griseus*, eram capazes de quebrar a matriz polimérica do poli(ácido lático) a 37°C. Posteriormente, descobriu-se que a PLA-depolimerase, uma enzima bacteriana, também era capaz de degradar o PLA. (Tsuji and Muramatsu, 2001)

A proteinase K, uma endopeptidase, é a enzima mais estudada na hidrólise enzimática do poli(ácido lático). (Liu *et al.*, 2000) Watanabe *et al.*, 2007 estudou a degradação enzimática do PLA de alta massa molar por meio da ação da proteinase K comercial, tratando uma emulsão do polímero com a enzima durante 5h. Após esse período de incubação foi possível observar que 60% do material havia sido degradado. Entretanto, Tsuji and Ikarashi, 2004, não observaram degradação do PLA cristalino catalisada por essa mesma enzima, indicando que as regiões cristalinas são altamente resistentes à degradação quando comparadas às regiões amorfas.

Apesar da proteinase K ser a enzima mais utilizada para catalisar a degradação do PLA, uma enzima com maior eficácia já foi descoberta. Esta enzima, purificada a partir da levedura

de *Cryptococcus sp.*, é similar a uma cutinase e degradou completamente o PLA de alta massa molar. (Cairns *et al.*, 2011)

É importante salientar que a degradação enzimática do PLA leva à formação de novas moléculas de baixa massa molar, reduzindo gradativamente o grau de polimerização. Esses resíduos de degradação, por serem menores, são metabolizados pelo organismo e excretados na urina. (Kulkarni *et al.*, 1966)

3.5.2 Atuação enzimática em ácidos graxos

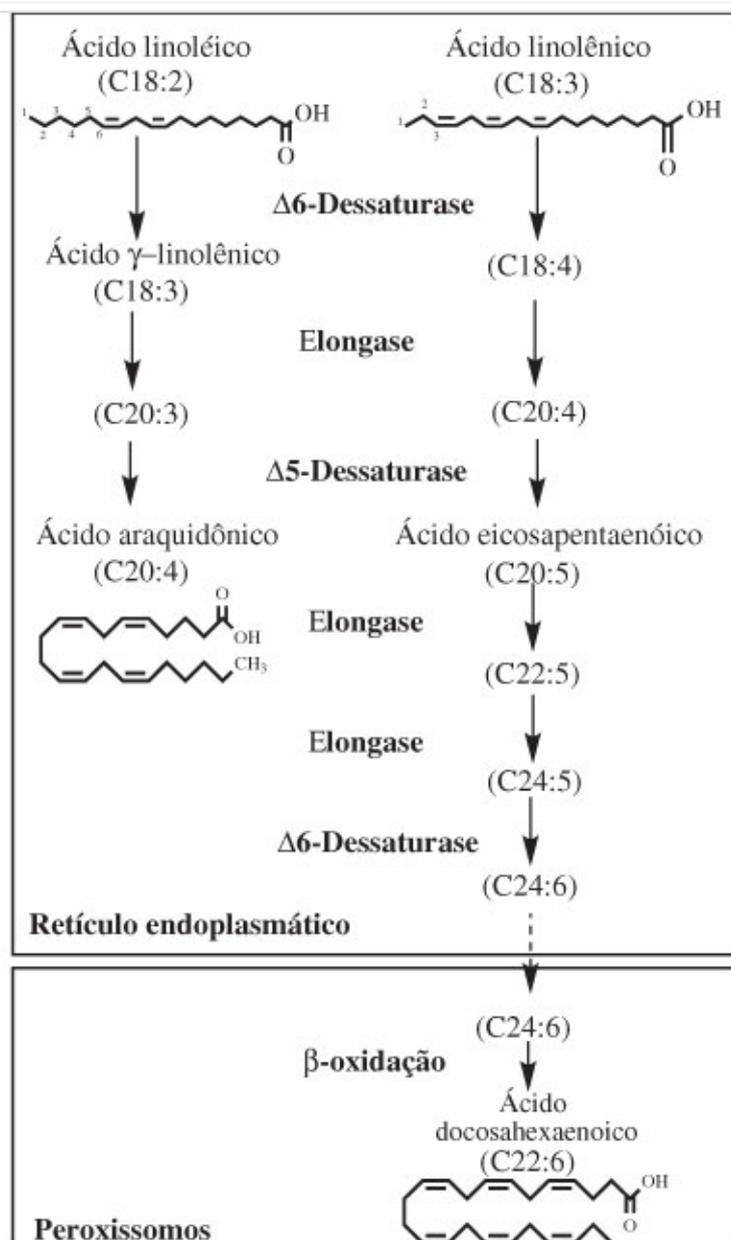
Os ácidos graxos das famílias n-6 e n-3 são obtidos por meio da dieta ou produzidos pelo organismo a partir dos ácidos linoleico e α -linolênico, pela ação de enzimas elongase e dessaturase. As elongases atuam adicionando dois átomos de carbono à parte inicial da cadeia, e as dessaturases agem oxidando dois carbonos, dando origem a uma dupla ligação com a configuração *cis*.(Chen, Cuiying *et al.*, 2018)

Por meio de uma série de etapas enzimáticas envolvendo principalmente as acil dessaturases Δ -5 e Δ -6, as elongases Elovl5 e Elovl2 e uma β -oxidação, o ácido linoleico e o ácido α -linolênico podem ser bioconvertidos em ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa da família n-6 (ácido araquidônico) e da família n-3 (ácido eicosapentaenoico e ácido docosahexaenoico), respectivamente (Figura 8). (Sprecher, 2000)

De acordo com a literatura, em alguns peixes como tilápia e salmão, a eficiência e a afinidade da Δ -6-dessaturase é dependente da disponibilidade e da competição entre os substratos. Sendo assim, em peixes em que a afinidade pelo ácido α -linolênico (ALN) é maior do que pelo ácido linoleico (AL), uma dieta com alta proporção ALN/AL poderia bloquear ou diminuir a atividade da enzima no AL, levando a fornecimento excessivo de ácido α -linolênico. O contrário ocorreria no metabolismo de peixes em que a afinidade da enzima pelo ácido linoleico é maior, alimentados com uma dieta rica nesse ácido graxo. (Teoh and Ng, 2016)

Por outro lado, Emery *et al.*, 2013 sugeriu que a atividade da alfa-6-dessaturase em substratos n-3 e n-6 é independente e que há nenhuma ou mínima competição entre os substratos em truta arco-íris.

Figura 8 – Esquema da biossíntese de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa da série n-6 e n-3



Fonte: Appolinário *et al.*, 2011

Adicionalmente, a α -4-dessaturase foi recentemente isolada e funcionalmente determinada em tilápia do Nilo, por (Oboh *et al.*, 2017), sugerindo a existência de uma rota alternativa para biossíntese de DHA e EPA.

Sendo assim, estudos para avaliar e compreender melhor a regulação da biossíntese de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa em diferentes espécies são importantes para fornecer conhecimento sobre a atuação desses lipídios no metabolismo.

4 Materiais e métodos

As nanofibras de poli(ácido láctico) com e sem os óleos vegetais foram produzidas por fiação por sopro em solução. Posteriormente, foi realizada a caracterização por MEV, FTIR, DSC e Ângulo de Contato. As rações contendo os óleos vegetais livres foram produzidas com o auxílio de um moinho do tipo extrusora. O perfil de liberação dos óleos foi avaliado em água e em fluido de simulação gastrointestinal, permitindo o estudo da viabilidade do processo e da provável eficácia de sua implantação nas rações de peixes, para que estes recebam os nutrientes necessários de forma economicamente e ambientalmente sustentável.

4.1 Materiais

O poli(ácido láctico) (Nature Works, 3251 D, 66KDa, CAS number 9051-89-2) foi usado como matriz biopolimérica na produção das nanofibras. O óleo de milho (marca Lizza) e o óleo de linhaça (marca Pazze), adquiridos no comércio local, foram os encapsulados escolhidos para a realização do processo por serem ricos em ômega-6 e ômega-3, respectivamente. O clorofórmio (Synth, CAS number 67-66-3) foi o solvente utilizado no preparo das soluções. O corante lipofílico Sudam III (Êxodo Científica, CAS number 85-86-9) foi utilizado para acompanhar o perfil de liberação dos óleos vegetais. Os ingredientes necessários para produzir a ração foram adquiridos no comércio local.

4.2 Aparato de fiação

Para realizar a fiação das fibras, foi montado um sistema como o mostrado na Figura 9, contendo um aparelho de injeção da solução polimérica, um regulador de pressão e um coletor.

Foi utilizado o compressor da marca CHIAPERINI, modelo MC 12 BPV de 150 litros. Para a injeção da solução foi utilizada uma bomba de vazão da marca NEW ERA PUMP SYSTEMS, modelo Syringe Pump AL1000 e uma seringa de vidro com volume de 20 mL. Um cilindro horizontal rotativo, recoberto com folha de alumínio, foi utilizado para coletar as nanofibras. Tanto o sistema injetor quanto o coletor foram mantidos no interior de uma caixa de madeira fechada com vidro na parte frontal, possibilitando o controle da umidade (40-50%) e da temperatura (em torno de 30°C) com o auxílio de uma lâmpada incandescente refletora (TOVALIGHT E.27) ao longo de todo o processo.

Figura 9 - Sistema de fiação por sopro em solução para produção das nanofibras durante o projeto.



Fonte: Do autor

4.3 Metodologia

4.3.1 Preparo da solução de poli(ácido lático)

Em um béquer, foram adicionados 20 mL de clorofórmio e 12% (m/v) de poli(ácido lático). O béquer foi vedado com papel alumínio e fita crepe e a mistura foi mantida sob agitação a temperatura ambiente durante 40 minutos, para a completa solubilização do biopolímero.

4.3.2 Preparo da solução contendo óleo vegetal

As soluções contendo os óleos vegetais foram preparadas variando a proporção de óleo de milho e óleo de linhaça, como mostra a Tabela 1.

Tabela 1 - Proporção entre óleo de milho e óleo de linhaça usada na formulação das soluções de poli(ácido lático) que, posteriormente, passaram pelo processo de fiação por sopro em solução.

Cód. Amostra	Óleo de milho (%)	Óleo de linhaça (%)
OM:OL – 100:0	100	0
OM:OL – 75:25	75	25
OM:OL – 50:50	50	50
OM:OL – 25:75	25	75
OM:OL – 0:100	0	100
Nanofibras de PLA	0	0

Fonte: Do autor

Existem estudos que indicam que a proporção ideal de ômega-3 e ômega-6 na dieta seja de 1:1. (Tocher, 2015) Tendo isso em vista, as proporções exibidas na Tabela 1 foram escolhidas para que, posteriormente, seja possível definir se razões diferentes dos óleos influenciam na nutrição dos peixes.

Após a solubilização do poli(ácido láctico), ao mesmo béquer foi realizada a adição de 50% (m/m) da mistura de óleos desejada, sendo esta proporção escolhida por ser considerada como a maior quantidade de óleo passível de ser encapsulada sem prejudicar o processo de fiação (solução muito viscosa geraria fibras com defeitos). A solução foi mantida sob agitação e a temperatura ambiente por mais 15 minutos, mais uma vez vedando o béquer com papel alumínio e fita crepe. Também foram adicionados 0,125% (m/m) de Sudam III, um corante comumente utilizado para detecção de lipídios, o que facilitará o acompanhamento do processo de liberação dos compostos ativos mais adiante. A solução foi mantida sob agitação por mais 15 minutos e, posteriormente, transferida para uma seringa de vidro de 20 mL previamente higienizada com clorofórmio para que se desse início ao processo de fiação.

4.3.3 Produção das nanofibras

Inicialmente, os parâmetros de fiação ideais para produção das nanofibras foram definidos, sendo eles: diâmetro da seringa – 19,30 mm; vazão – 6,00 mL/h; distância de trabalho – 20 cm; distância entre o bocal e a seringa – 4 mm; pressão – 1,70 atm; umidade – entre 40 e 50%. Após definidas as condições experimentais, cada amostra será fiada a temperatura ambiente durante 3 horas e posteriormente caracterizada. (Bonan *et al.*, 2017; Nepomuceno *et al.*, 2018)

4.3.4 Eficiência do processo de encapsulamento

A eficiência do encapsulamento é definida como a porcentagem do composto ativo que foi aprisionada com sucesso no interior da nanopartícula. (Piacentini, 2016) No caso, refere-se à quantidade de óleo vegetal que foi encapsulada nas nanofibras. Para determinar esse valor, é preciso, inicialmente, construir uma curva de calibração. Para isso, 0,003 g de Sudam III foram solubilizados em 10 mL de clorofórmio. A partir desta solução foram preparadas 7 soluções diluídas, com a concentração do corante variando de $4,25 \times 10^{-6}$ mol/L até $4,25 \times 10^{-5}$ mol/L. As absorvâncias foram lidas com o auxílio de um espectrofotômetro ultravioleta-visível (UV-Vis) em comprimento de onda igual a 513 nm.

Para determinar a eficiência de encapsulação, 0,03 g de nanofibra foram solubilizadas em 10 mL de clorofórmio para análise no UV-Vis em comprimento de onda igual a 513 nm. Esse processo foi realizado em 5 regiões diferentes de cada nanofibra (extremidades e centro) e as leituras foram feitas em triplicata.

Assim, a eficiência do processo será calculada como mostrado na Equação 2.

$$EE (\%) = \frac{C_E}{C_I} \times 100\% \quad (2)$$

Onde: C_E = Concentração de Sudam III encapsulado na nanofibra (média das 5 regiões)

C_I = Concentração de Sudam III inicialmente adicionada às nanofibras

4.3.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

O MEV é um aparelho que pode fornecer informações sobre a morfologia e identificação de elementos químicos de uma amostra sólida, sendo um dos instrumentos mais versáteis utilizados na análise de características microestruturais. (Dedavid *et al.*, 2007) Inicialmente, as nanofibras foram fixadas no porta-amostra (*stubs*) com fita adesiva de carbono (dupla-face). Posteriormente, as amostras foram recobertas com uma camada de ouro e analisadas utilizando o Microscópio Eletrônico de Varredura LEO EVO 40 XVP (Carl Zeiss) com sistema de microanálise de raios X da Bruker (Quantax EDS) e *criosystem* (Gatan). Cerca de 100 pontos aleatórios foram analisados em diferentes regiões das nanofibras para se obter o diâmetro médio e a distribuição de diâmetro, com o auxílio do software IMAGEJ. (Severo *et al.*, 2016)

4.3.6 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

As técnicas de espectroscopia vibracional são relativamente simples, reprodutíveis, não destroem o material e exigem uma quantidade mínima de amostra, sendo, portanto, ferramentas importantes para o estudo da estrutura de polímeros. Por meio da FTIR é possível obter informações sobre os grupos funcionais, tipos de ligação e conformação molecular. (Talari *et al.*, 2017) Sendo assim, a técnica foi utilizada para detectar a presença de óleos vegetais nas matrizes de poli(ácido láctico), comparando os espectros das nanofibras com os dos óleos e do polímero puros.

Cerca de 10 mg de cada amostra foram destacados e transferidos para o porta-amostra. Os espectros no infravermelho foram avaliados realizando um total de 32 varreduras a uma resolução de 4 cm^{-1} , na faixa de comprimento de 4000 a 400 cm^{-1} , em atmosfera de nitrogênio, utilizando a técnica de ATR. (Carrasco *et al.*, 2010) Os dados foram obtidos com o auxílio de um espectrofotômetro Nicolet 470 Nexus e tratados no software Origin 8.5.

4.3.7 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A calorimetria exploratória diferencial é uma das técnicas mais usadas na ciência de polímeros para realização de análises térmicas. Por meio desta técnica é possível determinar quantitativamente a energia liberada ou absorvida na forma de calor por uma amostra quando

comparada a uma referência durante uma transição térmica específica, como transição vítrea ou a fusão. Essa técnica tem diversas aplicações para materiais poliméricos, como: determinação da pureza, controle de qualidade, grau de cristalinidade, capacidade térmica, condutividade térmica e estabilidade térmica e oxidativa. (Guo, 2016) Tendo isso em vista, as nanofibras, o óleo de milho e o óleo de linhaça serão avaliados por meio da DSC, permitindo estudar como a interação entre o biopolímero e os óleos afeta as propriedades físicas e/ou químicas dos materiais.

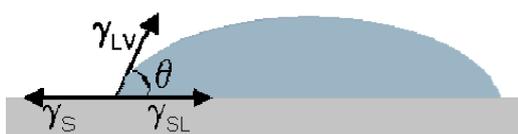
As análises foram realizadas utilizando entre 4 e 5 mg de amostra, seladas em cadinho de alumínio e aquecidas de 20°C a 180°C (nessa região os eventos térmicos referentes à transição vítrea, cristalização a frio e fusão do PLA poderiam ser visualizados), a uma taxa de aquecimento de 10° C/min, em atmosfera de nitrogênio (50 mL/min). (Běhálek *et al.*, 2014)

4.3.8 Ângulo de contato

Nesta técnica, a adição controlada de uma gota de água sobre o material de interesse permite a análise da hidrofobicidade ou hidrofiliabilidade da amostra por meio da medida dos ângulos da parte mais superficial da gota que interagem com a superfície do material. A técnica pode ser realizada com outros líquidos além da água, com o mesmo objetivo de avaliar a interação superficial. (Almeida D. and William, M., 2017)

A molhabilidade de uma superfície depende do equilíbrio termodinâmico entre um sistema de três fases: sólido, líquido e vapor (Figura 10). Assim, o ângulo de contato representa uma medida quantitativa do processo de molhabilidade. (Luz *et al.*, 2008)

Figura 10 - Ângulo de contato em um sistema de três fases.



Fonte: Luz *et al.*, 2008

O ângulo de contato entre uma gota de um líquido com uma tensão superficial conhecida e uma superfície sólida depende da relação entre as forças adesivas e as forças coesivas do líquido. Sendo assim, a energia de superfície é definida como a diferença entre as energias das espécies na superfície e no interior do material. (Silverstein, 1993)

Como a ração dos peixes é jogada na água, espera-se que as nanofibras mantenham sua integridade no meio aquático e, portanto, a medida do ângulo de contato é de extrema importância para o projeto.

Em uma placa de vidro foi adicionado um pedaço denso de nanofibra (sem destacar do papel alumínio) do mesmo tamanho da placa. O material foi colocado abaixo de uma agulha hipodérmica, realizando-se a injeção da gota séssil sobre o mesmo. O ângulo da gota de água sobre a nanofibra foi medido imediatamente, 5 segundos e 60 segundos após a aplicação. (Designation, A. D 724 89) Para cada amostra foram realizadas 4 repetições. As imagens e o valor dos ângulos foram obtidos com o auxílio do Goniômetro Kruss Drop Shape Analyzer – DSA25.

4.3.9 Produção das rações

Para analisar as diferenças entre o perfil de liberação das nanofibras e de uma ração convencional, e avaliar se a encapsulação dos óleos vegetais realmente traz benefícios à nutrição do peixes, foi produzida uma formulação simulando a ração comumente utilizada para alimentar peixes onívoros na fase de crescimento (grupo de peixes mais cultivado no mundo) composta por: 45% farelo de soja, 34,8% farinha de milho, 11,5% glúten de milho 60, 5% óleo de milho/óleo de linhaça, 1,5% fosfato bicálcico, 1,5% suplemento mineral e vitamínico, 0,5% cloreto de sódio, 0,19% DL-metionina e água até adquirir a consistência adequada. Além disso, 0,125% do marcador químico Sudam III foram adicionados à mistura para possibilitar a avaliação do perfil de liberação dos óleos vegetais nos meios de simulação. Todos os ingredientes foram pesados individualmente, misturados em uma bacia, pelletizados com o auxílio de um moinho tipo extrusora (Adamo) e o produto foi desidratado em estufa por 24 horas a 50°C. (Pontes *et al.*, 2010) Ao todo, 6 amostras de ração foram obtidas, sendo que cada uma continha as proporções de óleo de milho/óleo de linhaça propostas na Tabela 1.

4.3.10 Ensaios de liberação controlada

A encapsulação dos óleos vegetais tem como principal objetivo a proteção das substâncias de interesse, permitindo a liberação dos nutrientes apenas no trato gastrointestinal dos peixes. Assim, a absorção será mais efetiva e, conseqüentemente, os benefícios da ingestão dos óleos serão otimizados, pois não haverá perdas para o meio.

4.3.10.1 Construção da curva analítica

O primeiro passo para acompanhar a liberação dos compostos ativos é a construção de uma curva de calibração. Para isso, 0,003 g de Sudam III foram solubilizados em 10 mL de água contendo 100 µL de Tween 80 (usado para garantir a solubilização do Sudam III em meio aquoso). A partir desta solução foram preparadas 7 soluções diluídas, com a concentração do corante variando de $5,68 \times 10^{-6}$ mol/L até $8,52 \times 10^{-5}$ mol/L. As absorbâncias foram lidas com o auxílio de um espectrofotômetro ultravioleta-visível (UV-Vis) em comprimento de onda igual a 534 nm.

4.3.10.2 Liberação em meio aquoso

Cerca de 0,03 g de nanofibra foram colocados em um Erlenmeyer contendo 3 mL de água, 1% (v/v) de Tween 80 e NaHCO₃ (40 mg/L) para mimetizar a concentração de íons presentes nos tanques de criação. (Andrade *et al.*, 2015) O recipiente foi incubado a 25°C, pois entre 24-28°C é que os peixes apresentam apetite máximo e, portanto, é a temperatura na qual os viveiros são geralmente mantidos. (Lourenço *et al.*, 1999) O pH do meio foi mantido próximo a 7,0, visto que a faixa de pH desejável nos viveiros se dá entre 6,0-9,0, com valores maiores ou menores causando aumento do estresse dos peixes e até a morte. (Lourenço *et al.*, 1999) O ensaio foi realizado a 120 rpm. (Wang *et al.*, 2017) Esse processo representa o preparo de uma alíquota que será analisada no UV-Vis (534 nm). Para cada nanofibra foi preparada uma alíquota para ser retirada da incubadora após: 5, 10, 14, 30, 45, 60, 90, 120, 150 e 210 minutos. Por fim, uma curva do perfil cinético de liberação foi construída, na qual cada ponto representa a média de três ensaios.

O mesmo experimento foi realizado para as rações contendo os óleos vegetais livres em sua formulação. Foram utilizados 0,025 g de cada amostra de ração contendo as diferentes proporções de óleo de milho e óleo de linhaça e o restante do experimento se deu como descrito no parágrafo anterior.

Além da avaliação da liberação dos compostos ativos em água, é preciso analisá-los quanto a liberação no trato gastrointestinal. Para isso, as condições fisiológicas dos peixes foram mimetizadas em ensaios *in vitro* para que fosse possível obter mais informações sobre o comportamento das nanofibras quando em contato com fluidos de simulação gástrica e intestinal. Esse ensaio é essencial para que se entenda o mecanismo de liberação dos óleos vegetais, possibilitando um vislumbre sobre as reações de degradação que ocorrem no polímero e, principalmente, permitindo deduzir o que se deve esperar quando o produto for aplicado *in vivo*.

4.3.10.3 Liberação em fluido de simulação gástrico

Para avaliar o perfil de liberação dos ácidos graxos em fluido gástrico, um ensaio *in vitro* foi realizado. A solução de simulação gástrica foi preparada da seguinte forma: em um Erlenmeyer foram adicionados 7 mL de uma solução de NaCl (0,15 M) contendo 5% (m/v) de pepsina e 1% (v/v) de Tween 80; a solução foi posteriormente acidificada com HCl até atingir pH igual a 2,0. O Erlenmeyer estava envolto por papel alumínio durante o preparo para evitar a passagem de luz e, por fim, foram adicionados 0,2 g de nanofibra ao fluido de simulação gástrica. A solução foi mantida em incubadora por 1 hora, a 25°C e 100 rpm. (Wang *et al.*, 2010)

Esse processo foi feito em triplicata para as 5 amostras de nanofibras contendo os compostos ativos e a presença de lipídios em solução foi acompanhada no UV-Vis em comprimento de onda igual a 534 nm. Por fim, uma curva do perfil cinético de liberação foi construída.

O ensaio descrito nos parágrafos anteriores também foi realizado para as 6 amostras de rações contendo diferentes proporções dos óleos vegetais livres em sua formulação.

4.3.10.4 Liberação em fluido de simulação intestinal

Para avaliar o perfil de liberação dos ácidos graxos em fluido intestinal, um ensaio *in vitro* foi realizado. A solução de simulação intestinal foi preparada da seguinte forma: em um Erlenmeyer foram adicionados 7 mL de uma solução de NaCl (0,15 M) contendo 1,5% (m/v) de pancreatina, 0,5% (m/v) de amilase, 0,3% (m/v) de sais biliares e 1% (v/v) de Tween 80; o pH da solução foi posteriormente corrigido para 6,0. O Erlenmeyer estava envolto por papel alumínio durante o preparo para evitar a passagem de luz e, por fim, foram adicionados 0,2 g de nanofibra ao fluido de simulação intestinal. A solução foi mantida em incubadora por 5 horas, a 25°C e 40 rpm. (Wang *et al.*, 2010)

Esse processo foi feito em triplicata para as 5 amostras de nanofibras contendo os compostos ativos e a presença de lipídios em solução foi acompanhada no UV-Vis em comprimento de onda igual a 534 nm. Por fim, uma curva do perfil cinético de liberação foi construída.

O ensaio descrito nos parágrafos anteriores também foi realizado para as 6 amostras de rações contendo diferentes proporções dos óleos vegetais livres em sua formulação.

4.3.11 Avaliação da cinética de liberação

Sempre que se desenvolve um sistema de liberação controlada, é preciso garantir que o composto ativo seja liberado de modo adequado. Para isso, vários modelos cinéticos tem sido descritos, nos quais a quantidade de substância liberada (Q) é função do tempo decorrido de ensaio (t). A escolha do modelo que melhor explica o processo de liberação deve levar em consideração: a avaliação do coeficiente de determinação (R^2), que deve ter um valor o mais próximo de 1; a aleatoriedade da distribuição dos desvios resultantes do ajuste de cada modelo; o valor da soma dos quadrados dos desvios, que deve ser pequeno ou nulo. (Costa, 2002) Tendo isso em vista, o perfil de liberação dos nutrientes encapsulados nas nanofibras de poli(ácido láctico) será analisado por meio dos seguintes modelos cinéticos: cinética de ordem zero, cinética de ordem um, modelo de Higuchi, modelo de Korsmeyer-Peppas e o modelo Logistic 3.

O modelo cinético de ordem zero pode ser usado para descrever a liberação de compostos ativos encapsulados em vários tipos de sistemas, como comprimidos matriciais e

formas revestidas. Sistemas com esse perfil são caracterizados por liberarem a mesma quantidade do composto por unidade de tempo, sendo excelente para aplicações que exigem liberação prolongada. A equação 3 representa esse comportamento matematicamente:

$$Q_t = Q_0 + K_0 t \quad (3)$$

Onde: Q_t = Quantidade do composto ativo que foi liberada no tempo t ;

Q_0 = Quantidade inicial do composto na solução (geralmente, $Q_0 = 0$);

K_0 = Constante de liberação de ordem zero.

Assim, nas condições estabelecidas, o gráfico de liberação x tempo será linear. (Costa, 2002)

Nos sistemas que seguem o perfil cinético de ordem um, a liberação do composto é proporcional à quantidade de substância que ainda se mantém encapsulada. Ou seja, ao decorrer do tempo, a porcentagem liberada diminui, pois a fração de material no interior do sistema é cada vez menor. Matematicamente, o modelo é definido como mostrado na equação 4:

$$\ln Q_t = \ln Q_0 + K_1 t \quad (4)$$

Onde: Q_t = Quantidade do composto ativo que foi liberada no tempo t ;

Q_0 = Quantidade inicial do composto na solução;

K_1 = Constante de liberação de ordem um

Assim, espera-se obter um gráfico linear de \ln de liberação x tempo. (Gibaldi and Feldman, 1967; Wagner, 1969)

O modelo de Higuchi trata da liberação de compostos incorporados em matrizes semi-sólidas e/ou sólidas. A partir dele foram obtidas relações matemáticas para representar partículas homogeneamente dispersas em uma matriz uniforme, que se comporta como meio de difusão. O modelo engloba sistemas matriciais homogêneos planos, homogêneos esféricos, granulosos planos e granulosos esféricos, podendo ser representado de forma geral pela equação 5:

$$f_t = K_H t^{1/2} \quad (5)$$

Onde: K_H = Constante de liberação de Higuchi

Sendo assim, o gráfico de liberação x raiz quadrada do tempo será linear. (Higuchi, 1961; Higuchi, 1963)

O modelo Korsmeyer-Peppas é geralmente usado para formulações poliméricas, quando o mecanismo de liberação não é bem conhecido ou quando mais de um mecanismo pode estar

envolvido. É representado matematicamente pela equação 6: (Korsmeyer and Peppas, 1983; Korsmeyer *et al.*, 1983)

$$\frac{M_t}{M_\infty} = at^n \quad (6)$$

Onde: M_t/M_∞ = fração do composto ativo liberada ao longo do tempo t;

a = Constante cinética que incorpora características estruturais e geométricas do sistema;

n = Expoente de liberação;

Essa equação tem sido modificada para incluir o tempo de latência (Equação 7)(Ford *et al.*, 1987; Harland *et al.*, 1988) ou uma liberação inicial rápida (Equação 8)(Ford *et al.*, 1991).

$$\frac{M_{(t-l)}}{M_\infty} = a(t-l)^n \quad (7)$$

$$\frac{M_t}{M_\infty} = at^n + b \quad (8)$$

O modelo cinético Logistic 3 é geralmente usado para matrizes poliméricas constituídas por polímeros altamente degradáveis, que apresentam perfil de liberação sigmoidal. Neste caso, o mecanismo de liberação envolve a erosão do polímero e o sistema se caracteriza por uma dispersão heterogênea do analito na matriz. (Avramov and Šesták, 2015; Focke *et al.*, 2017) A Equação 9 representa o modelo cinético Logistic 3 que, quimicamente, descreve uma reação de autocatálise que ocorre em temperatura constante: (Zhang *et al.*, 2010)

$$y = y_{m\acute{a}x} * \frac{1}{1+e^{-k(x-\alpha)}} \quad (9)$$

Onde: y = fração liberada no tempo x

$y_{m\acute{a}x}$ = quantidade máxima liberada em um tempo infinito;

K = fator de formato

x = tempo (minutos)

α = tempo em que $y = \frac{1}{2} y_{m\acute{a}x}$

5 Resultados e Discussão

5.1 Obtenção das nanofibras

Todas as soluções foram fiadas nas condições ideais pré-definidas na metodologia (4.3.3) e, ao fim do processo, obteve-se uma manta de nanofibras sobre o papel alumínio, podendo esta ser facilmente destacada, como mostra a Figura 11.

Figura 11 - Nanofibra de PLA (2,4 g) contendo sudam III (0,003 g), 938 μ L da mistura óleo de milho e óleo de linhaça (75:25), produzida nas condições definidas no tópico 4.3.3.



Fonte: Do autor

É notável, pela análise da Figura 11, que diferentes regiões da nanofibra apresentam concentrações diferentes dos agentes ativos. Isso acontece porque o jato é direcionado diretamente para o meio do coletor, o que faz com que essa área apresente um acúmulo das substâncias que compõem a solução.

5.2 Eficiência do processo de encapsulação

Sabe-se que nem toda a quantidade de agentes ativos adicionada à solução é de fato aprisionada nas nanofibras. Sendo assim, para garantir resultados mais confiáveis é preciso considerar a quantidade real dos compostos de interesse que foi encapsulada. A Tabela 2 mostra a eficiência do processo de encapsulamento para cada uma das amostras fiadas.

Tabela 2 - Eficiência de encapsulação das nanofibras de poli(ácido lático) contendo diferentes proporções de óleos vegetais obtidas por fiação por sopro em solução.

Amostra	Eficiência de encapsulação (%)
OM:OL – 100:0	99,14±4,55 ^a
OM:OL – 75:25	94,06±9,47 ^{a,b,c}
OM:OL – 50:50	81,54±10,36 ^b
OM:OL – 25:75	85,97±4,72 ^{a,b,c}
OM:OL – 0:100	97,32±11,09 ^{a,c}

*Os dados seguidos pela mesma letra são estatisticamente iguais por meio da análise de variância (ANOVA) com nível de significância de 0,05.

Fonte: Do autor

Estatisticamente, as únicas diferenças encontradas foram entre a eficiência de encapsulação de OM:OL (50:50) quando comparada à de óleo de milho (OM) e à de óleo de linhaça (OL), o que pode indicar que a amostra com menor eficiência de encapsulação apresentará um *burst* inicial mais evidente do que o das outras formulações. Este comportamento foi observado no trabalho de Wang *et al.*, 2012, em que a baixa eficiência de encapsulação (9,76±0,57%) de amoxicilina em nanofibras de poli(ácido lático-co-ácido glicólico) dopadas com laponita levou a maior dispersão do agente ativo para o meio quando comparadas à encapsulação em nanofibras de poli(ácido lático-co-ácido glicólico).

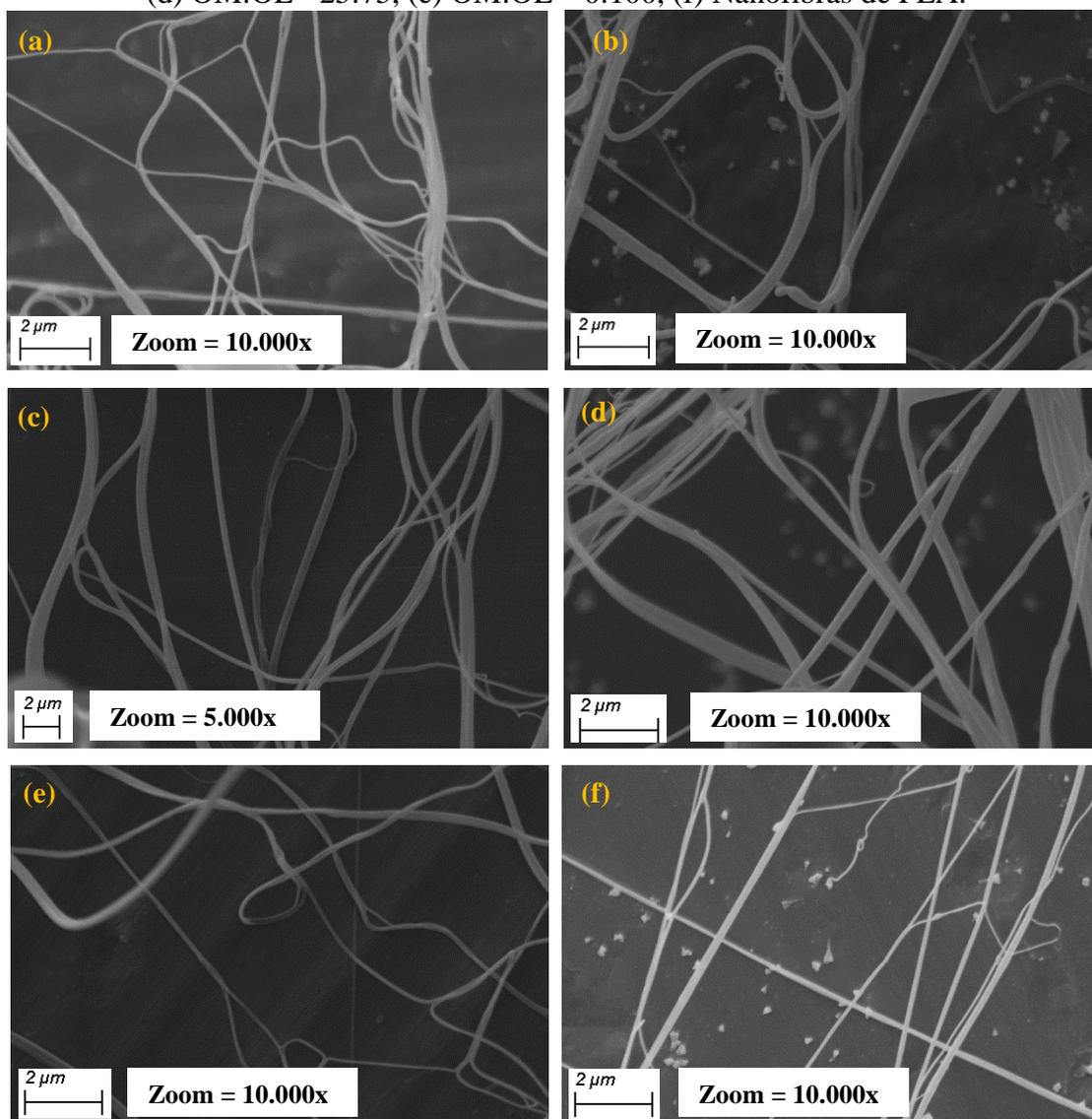
De maneira geral, estes resultados estão de acordo com os já observados na literatura para a encapsulação em nanofibras. No trabalho de Stramarkou *et al.*, 2020, a eficiência de encapsulação do óleo essencial de alecrim em nanofibras de poli(ácido lático) produzidas por eletrofiação foi de 90,18±1,77%, enquanto que a mesma encapsulação realizada por meio da técnica de extrusão gerou pellets com eficiência de encapsulação igual a 68,77±1,41%. O encapsulamento ser mais eficiente em nanofibras do que em outros tipos de matrizes se deve exatamente às suas propriedades diferenciadas, como elevada área superficial por volume, responsáveis por reduzir a quantidade dos compostos de interesse que podem estar presentes na superfície do material.

5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A Microscopia Eletrônica de Varredura fornece imagens de alta resolução da superfície de uma amostra, sendo de grande importância para o estudo da morfologia dos materiais. Na Figura 12 estão representadas as imagens de MEV obtidas para todas as nanofibras produzidas

neste trabalho, e é possível perceber que todas apresentaram morfologia uniforme e superfícies lisas.

Figura 12 - Microscopia Eletrônica de Varredura das nanofibras contendo:
(a) OM:OL – 100:0, (b) OM:OL - 75:25, (c) OM:OL - 50:50,
(d) OM:OL - 25:75, (e) OM:OL – 0:100, (f) Nanofibras de PLA.



Fonte: Do autor

As micrografias foram retiradas de várias regiões diferentes das amostras e, com o auxílio do software Image J, o diâmetro de cerca de 100 nanofibras foi medido em cada manta produzida, possibilitando o cálculo do diâmetro médio, como mostrado na Tabela 3.

Tabela 3 - Diâmetro médio e desvio padrão das nanofibras de PLA contendo óleos vegetais produzidas por fiação por sopro em solução.

Amostra	Diâmetro médio (nm)
OM:OL – 100:0	168±52 ^a
OM:OL – 75:25	209±56 ^b
OM:OL – 50:50	385±133 ^c
OM:OL – 25:75	257±83 ^d
OM:OL – 0:100	157±49 ^a
Nanofibras de PLA	167±46 ^a

*Os dados seguidos pela mesma letra são estatisticamente iguais por meio da análise de variância (ANOVA) com nível de significância de 0,05.

Fonte: Do autor

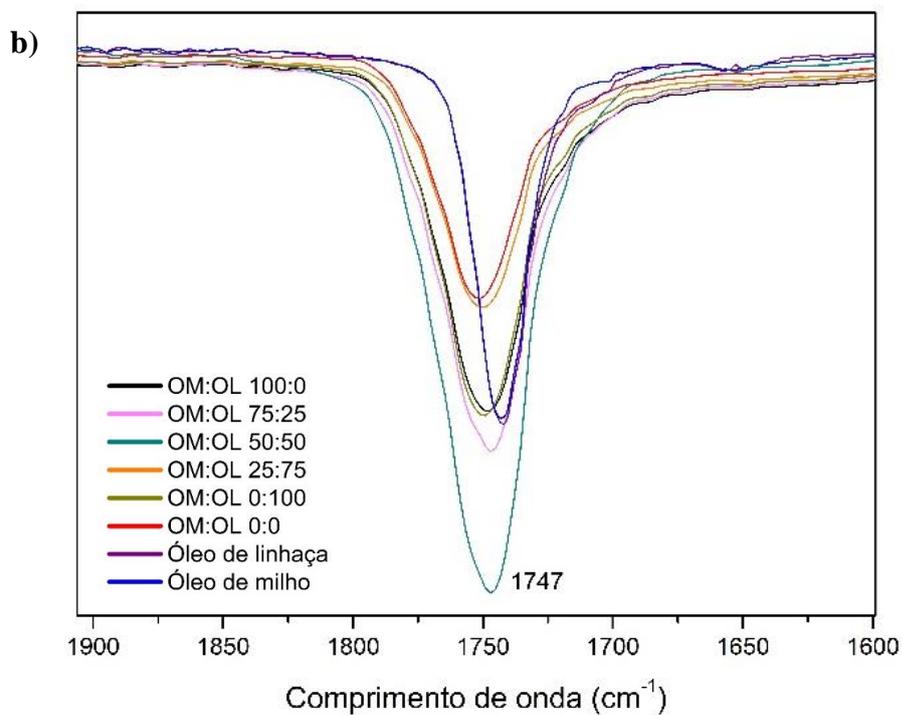
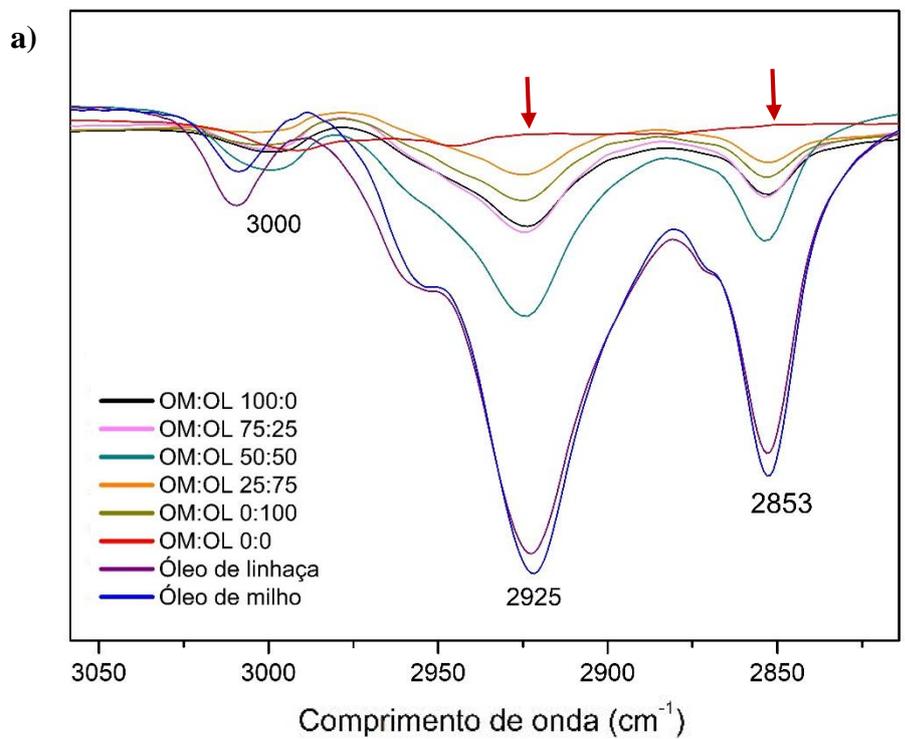
De acordo com a análise estatística, o diâmetro das nanofibras de poli(ácido lático) não foi afetado pela incorporação de óleo de milho e óleo de linhaça puros. Entretanto, a adição das misturas entre os óleos levou a um aumento do diâmetro médio, como é possível observar na Tabela 3. A relação entre a viscosidade da solução e o diâmetro nas fibras obtidas por fiação por sopro em solução já foi observada em diversos trabalhos, como no de Santos *et al.*, 2016 e no de Vilches *et al.*, 2019. Esse comportamento indica que as soluções contendo diferentes proporções dos óleos vegetais apresentaram maior viscosidade, gerando fibras com diâmetros maiores.

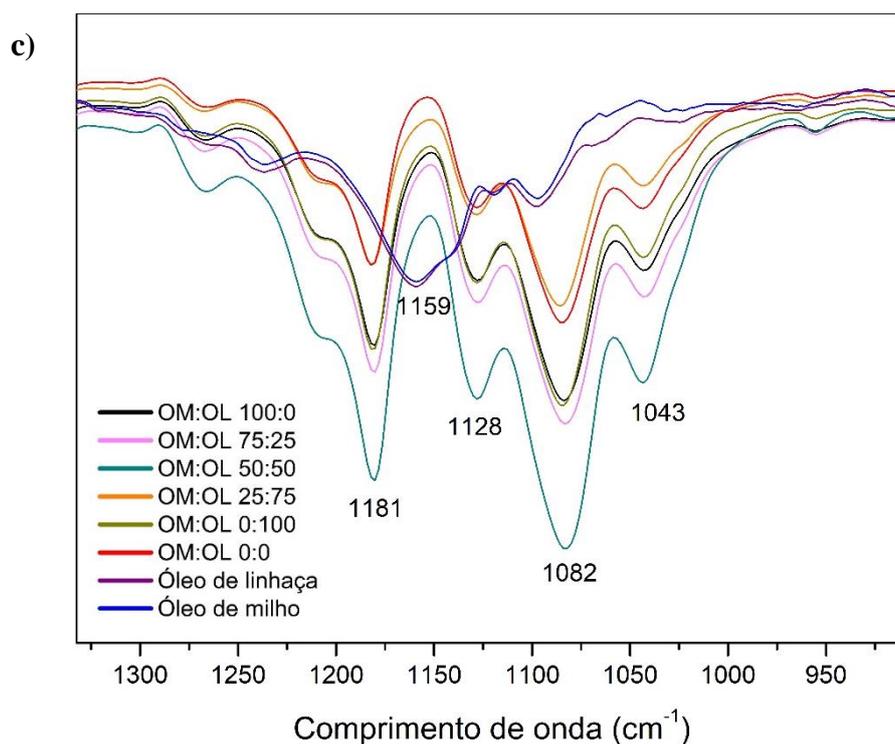
Por meio da comparação entre os valores da Tabela 2 e da Tabela 3 pode-se presumir que o diâmetro das nanofibras não interfere diretamente no processo de encapsulamento, visto que diâmetros maiores não estão necessariamente associados a maior eficiência de encapsulação.

5.4 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A caracterização por infravermelho possibilita a análise das interações intermoleculares e identificação de grupos químicos dos componentes formadores da amostra. Os espectros dos óleos vegetais e das nanofibras com e sem os óleos foram obtidos a uma resolução de 4 cm⁻¹, na faixa de comprimento de 4000 a 400 cm⁻¹. Os resultados principais estão mostrados na Figura 13, divididos por regiões.

Figura 13 - Espectro infravermelho das nanofibras de PLA contendo óleo de milho e óleo de linhaça em diferentes proporções e dos óleos vegetais puros. (a) Região de 3050 a 2800 cm^{-1} (b) Região de 1900 a 1600 cm^{-1} (c) Região de 1300 a 950 cm^{-1} .





Fonte: Do autor

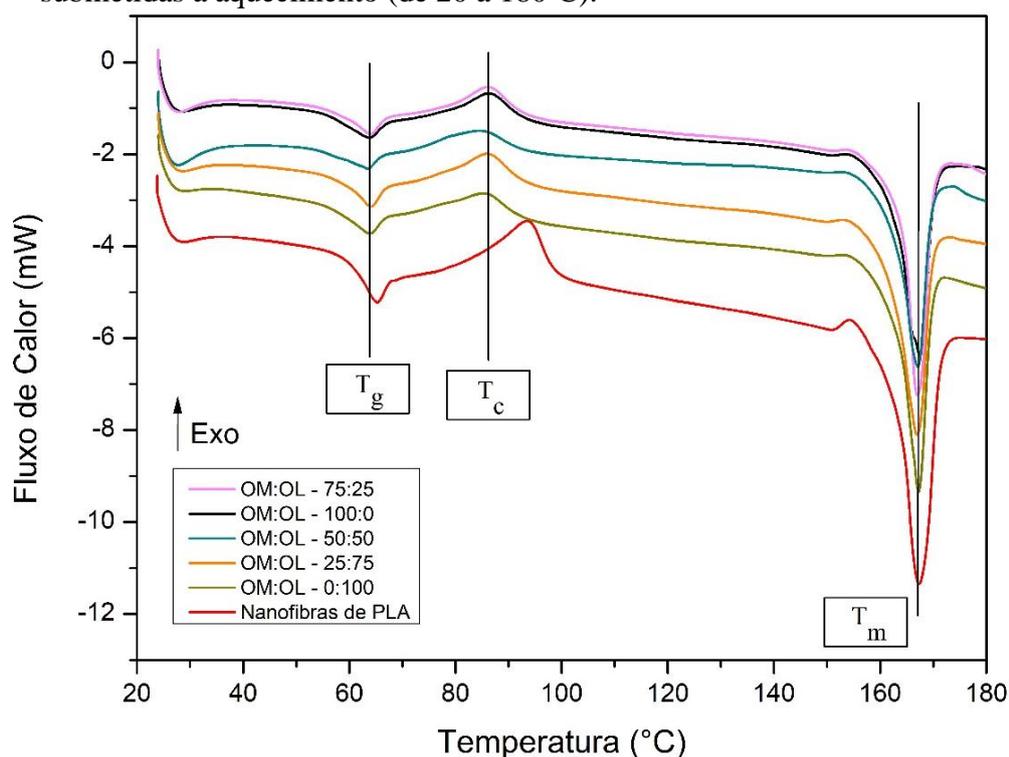
Próximo a 3000 cm^{-1} (Figura 13.a) pode-se observar a banda referente ao estiramento assimétrico de CH_3 para todas as nanofibras e para os óleos puros. Em 2925 cm^{-1} encontra-se a banda referente ao estiramento simétrico de CH_2 e em 2853 cm^{-1} a banda referente ao estiramento assimétrico de CH_2 (Figura 13.a), ambas características dos óleos de milho e linhaça. Estas duas bandas não são observadas nas nanofibras que não contêm os óleos vegetais, sendo, portanto, uma região que evidencia o encapsulamento dos óleos. Todas as amostras apresentaram uma banda próxima a 1747 cm^{-1} (Figura 13.b), referente ao estiramento $\text{C}=\text{O}$ do grupo éster do poli(ácido láctico) e do grupo carboxila dos óleos vegetais. Todas as nanofibras apresentaram uma banda em 1181 cm^{-1} (Figura 13.c) referente ao estiramento assimétrico COC e bandas em 1128 cm^{-1} , 1082 cm^{-1} e 1043 cm^{-1} (Figura 13.c) referentes ao estiramento simétrico COC , sendo essas quatro bandas características do poli(ácido láctico). Os óleos apresentaram uma banda em 1159 cm^{-1} (Figura 13.c) referente ao estiramento CO . (Kister *et al.*, 1998; Kang *et al.*, 2001; Drumond *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2008; Carrasco *et al.*, 2010; Abreu, 2013; Weng *et al.*, 2013)

A partir da análise destas regiões do espectro de infravermelho, é notável que as nanofibras produzidas apresentam tanto bandas características do poli(ácido láctico) quanto bandas características dos óleos vegetais, indicando que houve interação entre os materiais durante o processamento e, conseqüentemente, comprovando a encapsulação dos óleos. Algumas regiões foram omitidas da discussão, mas estão disponíveis no Anexo A.

5.5 Calorimetria Exploratória Diferencial

A Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) permite a análise dos eventos térmicos pelos quais o material passa quando submetido a um certo fluxo de calor, fornecendo importantes informações sobre transformações físicas e/ou químicas sofridas pela amostra. (Schick, 2009) A Figura 14 mostra o termograma obtido para cada amostra.

Figura 14 - Termograma dos eventos térmicos sofridos pelas nanofibras produzidas quando submetidas a aquecimento (de 20 a 180°C).



Fonte: Do autor

O processo de fusão (T_m) é caracterizado por um pico endotérmico (absorção de energia), enquanto que o de cristalização a frio (T_c) é caracterizado por um pico exotérmico (liberação de calor), sendo ambos considerados transições de primeira ordem. Já a transição vítrea (T_g) é caracterizada por um deslocamento da linha base, refletindo uma transição de segunda ordem. (Ionashiro *et al.*, 2005)

Por meio das curvas de DSC também são obtidos os valores das entalpias de fusão (ΔH_m) e de cristalização a frio (ΔH_c), sendo que estes foram utilizados para calcular o grau de cristalinidade (X_c) das nanofibras, como mostrado na equação 10:

$$X_c (\%) = \frac{\Delta H_m - \Delta H_c}{\Delta H_m^\infty} \cdot 100 \quad (10)$$

Onde ΔH_m^∞ representa a entalpia do PLA 100% cristalino (93 J/g). (Harris and Lee, 2008)

Todos esses resultados estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4 - Valores das transições térmicas para todas as amostras.

Nanofibra	T _g (°C)	T _c (°C)	ΔH _c (J/g)	T _m (°C)	ΔH _m (J/g)	X _c (%)
PLA	63	93	7,5	167	40,6	35,6
OM:OL – 100:0	61	86	2,8	167	29,1	28,3
OM:OL – 75:25	62	86	3,4	167	26,4	24,7
OM:OL – 50:50	61	84	2,6	167	23	21,9
OM:OL – 25:75	62	86	3,2	167	27,3	25,9
OM:OL – 0:100	62	85	2,0	167	28,4	28,4

Fonte: Do autor

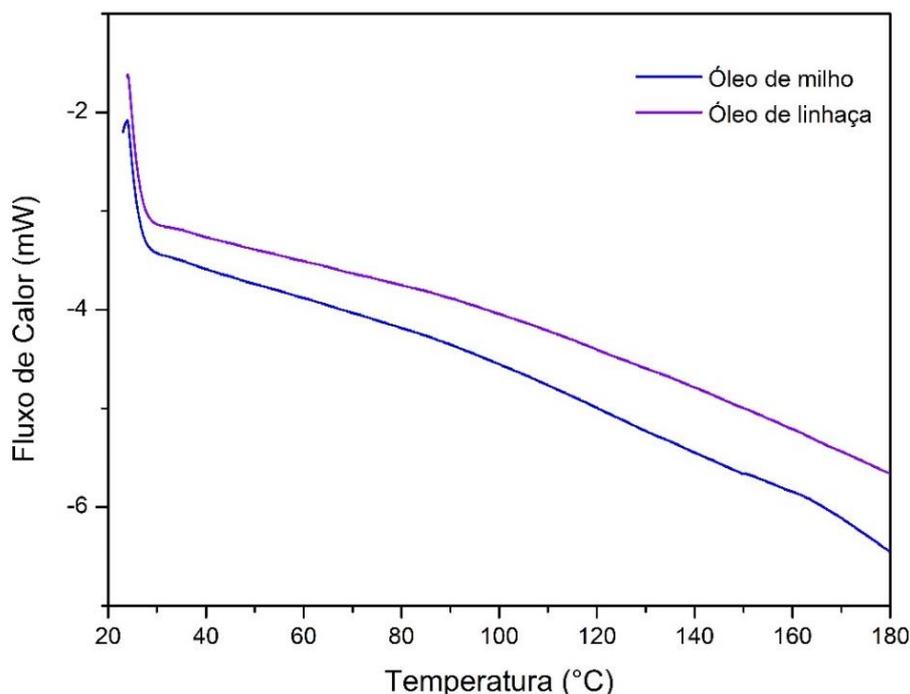
Segundo a literatura, a T_g do poli(ácido láctico) encontra-se entre 60 e 65°C. (Cuiffo *et al.*, 2017) Sendo assim, a T_g observada para as nanofibras está de acordo com a teoria. Nota-se que a adição dos óleos vegetais levou a uma pequena diminuição da T_g em todos os casos. Esse comportamento era esperado, visto que os óleos de milho e de linhaça atuam como plastificantes e, por isso, levam ao espaçamento das cadeias macromoleculares e aumento da mobilidade da fase amorfa; conseqüentemente, menor energia é requerida para que o polímero passe para o estado borrachoso. (Callister Jr, 2002; Solariski *et al.*, 2005) Essa alteração discreta no valor da T_g também foi observada por Orue *et al.*, 2018 ao estudar como a adição de óleo de linhaça afeta as propriedades térmicas do PLA. Em seu artigo, os autores mostram uma diferença de aproximadamente 4°C entre a amostra pura (55,5°C) e a blenda contendo 20% de óleo vegetal (51,26°C).

As nanofibras contendo óleos vegetais apresentaram uma T_c menor do que a nanofibra pura. Isso indicaria que a adição dos óleos facilitou o processo de cristalização a frio, devido ao aumento da mobilidade das cadeias e a um provável aumento no grau de orientação macromolecular das nanofibras durante o processo de fiação, permitindo que o PLA se cristalizasse a frio em temperaturas mais baixas. (Chieng *et al.*, 2014) Entretanto, o que se nota é uma diminuição na quantidade de cristais formados (ΔH_c) ao se adicionar os óleos vegetais, independente da proporção utilizada. Esse comportamento pode caracterizar uma certa imiscibilidade entre o PLA e os óleos de milho e de linhaça que, aliada à baixa cinética de cristalização do PLA, levou à formação de fibras menos cristalinas; como visto por Righetti *et al.*, 2019.

O valor da temperatura de fusão está de acordo com o observado por Zhou *et al.*, 2006 ao estudar nanofibras de PLA produzidas por eletrofiação (T_m = 167,1 °C). Essa região de temperatura corresponde à fusão dos cristais da forma α. (Furuhashi *et al.*, 2006) Não foram observadas alterações na temperatura de fusão das nanofibras produzidas, indicando que a adição de óleo vegetal não afeta o arranjo das cadeias de PLA na estrutura cristalina. (Kaavessina *et al.*, 2015)

As transições térmicas do óleo de milho e do óleo de linhaça puros não foram observadas, como mostra a Figura 15. Essas substâncias apresentam uma composição extremamente complexa e as transições relacionadas à cristalização e mudança de fase não podem ser visualizadas nessa faixa de temperatura, visto que ocorrem apenas em temperaturas abaixo de 0°C, como mostrado por Lopes, 2009. Em seu estudo sobre o óleo de linhaça, identificou um pico exotérmico em -74°C, que foi atribuído à cristalização dos ácidos graxos, e dois picos endotérmicos em -40 e -30°C, relacionados às transições de fases sofridas pelos ácidos graxos que constituem o óleo. Além disso, a degradação do material só foi observada a 400°C. O comportamento do óleo de milho foi analisado por Tan and Che Man, 2000, que observou valores negativos para as temperaturas de cristalização (-44,6°C) e de transição de fase (-26,7°C). Além disso, esse óleo vegetal sofre degradação apenas em temperaturas acima de 300 °C. (Dweck and Sampaio, 2004)

Figura 15 - Gráfico de DSC para o óleo de milho e óleo de linhaça puros durante tratamento térmico de 20 a 180°C.



Fonte: Do autor

5.6 Ângulo de contato

A determinação do ângulo de contato dos materiais é de grande importância para se obter informações sobre o comportamento da amostra quando em contato com um fluido, como água. Identificar a hidrofobicidade, por exemplo, é essencial nos casos em que espera-se manter a integridade do material mesmo após longos períodos em meio aquoso. (Almeida, D. and

William, M., 2017) A Tabela 5 mostra todas as maneiras nas quais o fluido pode se comportar quando injetado em uma superfície.

Tabela 5 – Comportamento do fluido quando em contato com o material de interesse.

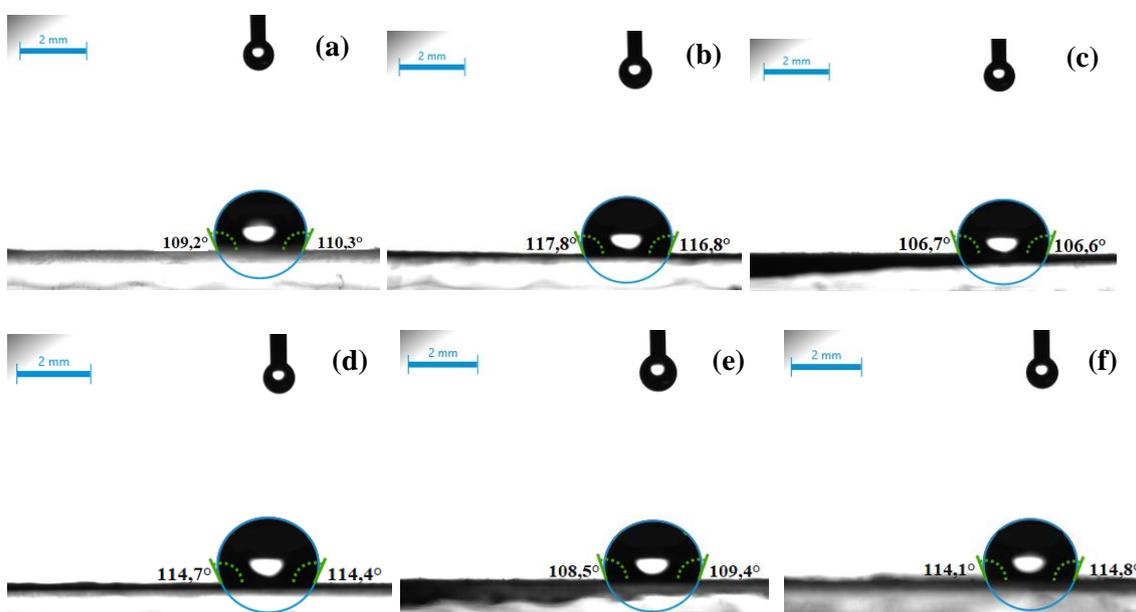
Ângulo de contato	$\theta < 10^\circ$	$\theta < 90^\circ$	$\theta > 90^\circ$	$\theta > 150^\circ$
Forma da gota				
Comportamento	Super-hidrofílico	Hidrofílico	Hidrofóbico	Super-hidrofóbico

Fonte: Ferreira, 2013

Tendo isso em vista, uma gota séssil foi injetada sobre cada nanofibra para se medir o ângulo de contato imediatamente, 5 segundos e 60 segundos após a aplicação, realizando 4 repetições. As imagens fornecidas pelo Goniômetro Kruss Drop Shape Analyzer após 1 segundo de contato estão mostradas na Figura 16.

Figura 16 - Representação do comportamento de uma gota de água ao entrar em contato com a superfície da nanofibra: (a) OM:OL – 100:0, $DP = \pm 3,0^\circ$; (b) OM:OL – 75:25, $DP = \pm 7,4^\circ$; (c) OM:OL – 50:50, $DP = \pm 1,9$; (d) OM:OL – 25:75, $DP = \pm 3,2^\circ$; (e) OM:OL – 0:100, $DP = \pm 3,5^\circ$; (f) Nanofibras de PLA, $DP = \pm 5,5^\circ$. Os ângulos mostrados equivalem ao valor médio das quatro repetições.

*DP = Desvio Padrão



Fonte: Do autor

É notável que todas as amostras são hidrofóbicas, visto que o ângulo de contato para todas as nanofibras foi superior a 90° . Esse comportamento era esperado, visto que a interação entre as cadeias poliméricas e os óleos vegetais (majoritariamente compostos por ácidos graxos – cadeias longas de carbono contendo um ácido carboxílico em sua extremidade)

provavelmente levou a um arranjo estrutural que impede a interação das hidroxilas com o meio externo, favorecendo a formação de ligações de hidrogênio no interior da própria cadeia. Assim, a ausência de hidroxilas livres na cadeia levaria a uma diminuição do contato entre o meio polar e a superfície das nanofibras (interação fraca), levando ao comportamento hidrofóbico. (Coutinho and Canuto, 1997)

Como os óleos apresentam composições diferentes, pode-se observar uma pequena variação de ângulo de uma amostra para outra. Isso se deve ao fato de que cada óleo interage de uma forma com as cadeias poliméricas, resultando em nanofibras com particularidades em sua superfície.

Para a aplicação pretendida, é importante que a interação entre a nanofibra e a água se mantenha fraca por certo período de tempo, garantindo que os óleos vegetais permanecerão encapsulados quando em meio aquoso. Assim, a Tabela 6 mostra uma comparação entre a média dos valores de ângulo de contato imediatamente e 60 segundos após a injeção da gota d'água sobre a superfície do material de interesse.

Tabela 6 - Ângulo observado após 60 segundos de contato entre o fluido e a nanofibra.

Amostra	Ângulo médio (°) imediatamente após a injeção	Ângulo médio (°) 60 segundos após a injeção
OM:OL – 100:0	109,7±3,0	109,9±2,7
OM:OL – 75:25	117,3±7,4	116,7±7,4
OM:OL – 50:50	106,7±1,9	106,3±1,8
OM:OL – 25:75	114,5±3,2	107,8±3,4
OM:OL – 0:100	108,3±3,5	114,5±2,7
Nanofibras de PLA	114,7±5,5	114,6±4,8

*Os dados seguidos pela mesma letra são estatisticamente iguais por meio da análise de variância (ANOVA) com nível de significância de 0,05.

Fonte: Do autor

A comparação entre os resultados da Tabela 6 mostra que não há variação significativa no ângulo após 60 segundos de contato entre a superfície e a gota de água. Isso significa que a estrutura das nanofibras será mantida mesmo em meio aquoso.

Edith and Six, 2006 encontrou um valor de ângulo de contato igual a 96° para filmes de PLA. Isso mostra que a produção de materiais em escala nano também possibilita a otimização de propriedades como a hidrofobicidade. (Baji *et al.*, 2014) Esse comportamento pode ser explicado pelo modelo de Cassie-Baxter, segundo o qual a alta porosidade da estrutura leva ao aumento da quantidade de bolsas de ar entre as fibras e, assim, o ângulo de contato da água com a superfície será maior, pois a gota terá mais facilidade para atingir o equilíbrio.

(Cassie and Baxter, 1944) Jiang *et al.*, 2004 observou esse comportamento ao estudar o poliestireno; em seu projeto, o ângulo de contato dos filmes foi igual a 95° , enquanto que o das nanofibras produzidas por eletrofiação foi igual a 140° .

Sendo assim, os resultados estão de acordo com a literatura e pode-se afirmar que todas as nanofibras produzidas apresentam grande potencial para a aplicação, pois não haverá interação significativa com a água e, conseqüentemente, o polímero não sofrerá hidrólise. Portanto, os óleos vegetais não serão liberados no meio aquático, mas sim no trato gastrointestinal dos peixes, como desejado.

5.7 Ensaios de liberação controlada

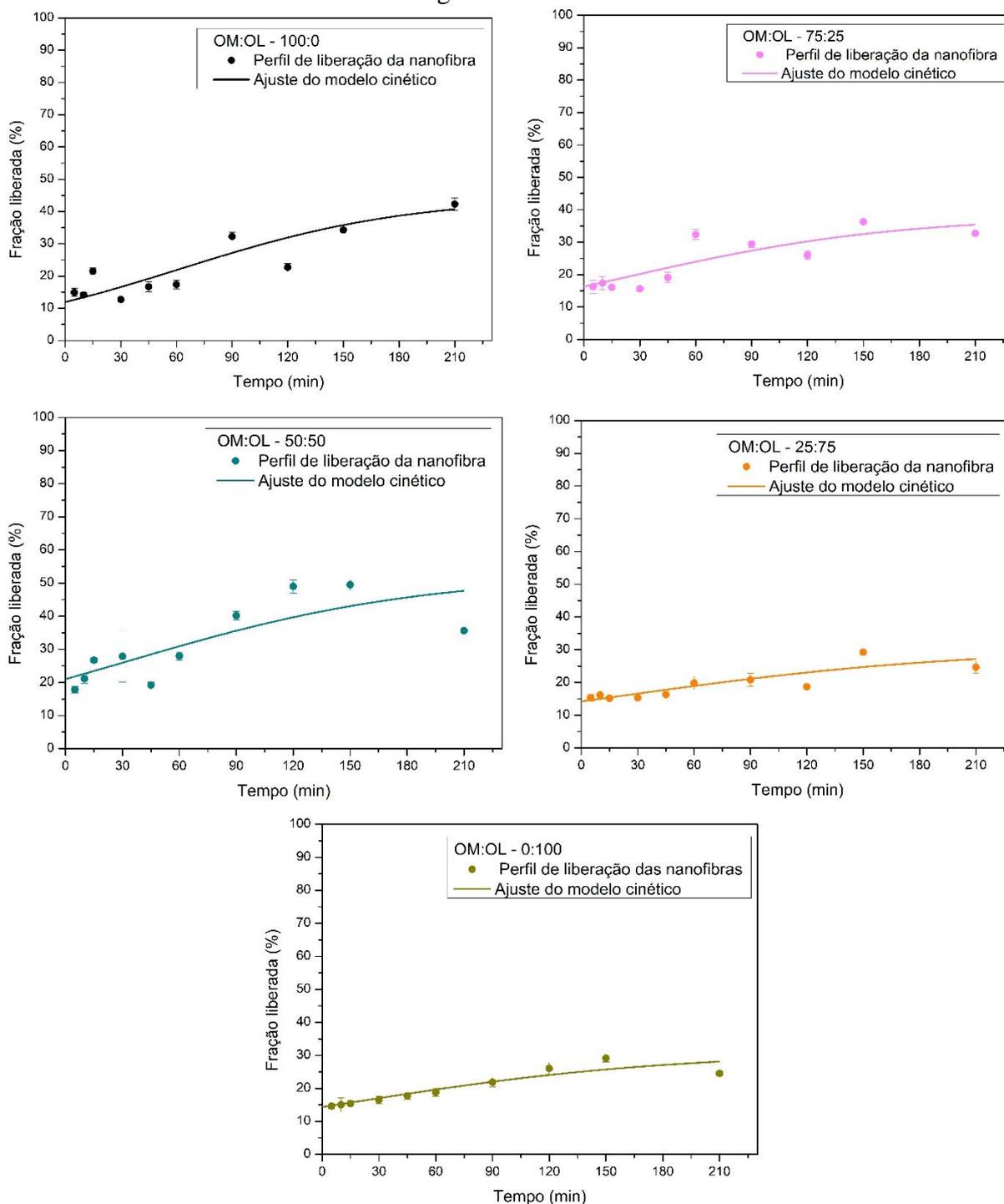
A liberação dos compostos ativos foi acompanhada em três soluções de simulação: meio aquoso, fluido gástrico e fluido intestinal.

5.7.1 Perfil de liberação dos nutrientes em meio aquoso simulado (*in vitro*)

As matrizes poliméricas foram colocadas em contato com um meio aquoso simulando as condições dos tanques de criação (*in vitro*) durante 210 minutos. Com o auxílio do complemento DDSolver (Zhang *et al.*, 2010) no Excel, vários modelos cinéticos foram testados para auxiliar na detecção de qual se adequaria melhor ao perfil de liberação observado em meio aquático. Entre os modelos cinéticos de ordem zero (R^2 negativo), ordem um (R^2 negativo), de Higuchi (R^2 negativo), de Korsmeyer-Peppas (R^2 igual a $0,664 \pm 0,083$) e Logistic 3 (R^2 igual a $0,729 \pm 0,076$), o último foi o que melhor correspondeu à cinética de liberação dos óleos vegetais.

A Figura 17 mostra a porcentagem das substâncias de interesse que foi liberada das nanofibras durante a imersão no meio aquoso e o ajuste não-linear desse perfil de liberação em relação ao modelo cinético escolhido.

Figura 17 - Liberação dos óleos vegetais encapsulados nas nanofibras durante 210 minutos em contato com o meio aquoso simulando as condições dos tanques de criação (25°C e pH 7,0). Dados ajustados de acordo com o modelo cinético Logistic 3.



Fonte: Do autor

Sistemas que seguem este modelo cinético são caracterizados por uma liberação exponencial no início e, como há uma dependência entre a quantidade liberada e a quantidade de analito já presente no meio, a liberação diminui gradativamente até parar completamente. (Focke *et al.*, 2017)

Este modelo é adequado para explicar a cinética de liberação de sistemas constituídos por polímeros altamente degradáveis, em que o analito não se dispersa na matriz de forma homogênea. (Delfour, 2012) Este é exatamente o caso das nanofibras produzidas, visto que o poli(ácido láctico) é um polímero que se degrada rapidamente por hidrólise e, como observado nos testes de eficiência de encapsulação, diferentes regiões da mesma nanofibra têm concentrações diferentes do composto de interesse, apresentando, portanto, um perfil heterogêneo.

Com estas informações, pode-se supor que a liberação dos óleos vegetais se dá por meio de um processo de erosão da matriz polimérica, que se inicia bem lentamente na superfície e aumenta gradativamente devido à autocatálise. (Focke *et al.*, 2017)

A Tabela 7 mostra os parâmetros ajustados do modelo cinético Logistic 3. Estatisticamente, o parâmetro α foi diferente apenas para a nanofibra contendo óleo de milho. Isso se deve ao fato desta ter sido a única amostra em que a liberação máxima ocorreu após 210 minutos em contato com o meio aquoso simulado, o que concorda com a maior eficiência de encapsulação desta amostra (Tabela 2). Todas as outras nanofibras produzidas tiveram liberação máxima após 150 minutos de incubação. Isso explica porque a nanofibra contendo óleo de milho tem maior valor de α .

Tabela 7 - Parâmetros do modelo cinético Logistic 3 para as nanofibras contendo diferentes proporções de óleos vegetais produzidas por fiação por sopro em solução.

Amostras	Parâmetros			
	$y_{m\acute{a}x}$	k	α	R^2
OM:OL – 100:0	44,40	0,016	61,67 ^a	0,750 ^c
OM:OL – 75:25	38,11	0,015	25,08 ^b	0,769 ^{d,e}
OM:OL – 50:50	52,64	0,013	32,01 ^b	0,619 ^{c,e}
OM:OL – 25:75	30,73	0,010	13,22 ^b	0,690 ^{c,e}
OM:OL – 0:100	30,97	0,012	12,75 ^b	0,816 ^d

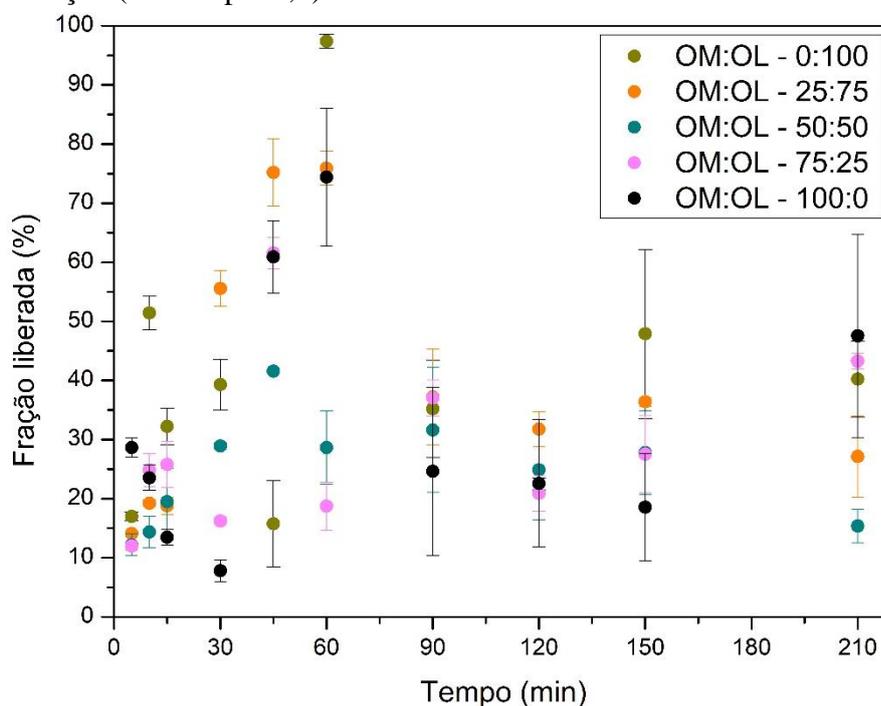
*Os dados seguidos pela mesma letra são estatisticamente iguais por meio da análise de variância (ANOVA) com nível de significância de 0,05.

Fonte: Do autor

O perfil de liberação das rações formuladas com óleo de milho e óleo de linhaça livres também foi avaliado (Figura 18). Neste caso, não foi possível encontrar um modelo cinético que se adequasse ao comportamento observado experimentalmente. Todos os modelos testados apresentaram uma variação muito grande nos valores dos parâmetros e R^2 extremamente baixos (abaixo de 0,441).

Isso pode estar associado ao fato de que para produzir uma ração que nutra adequadamente várias espécies de peixes, são necessários aproximadamente 40 nutrientes essenciais, incluindo: aminoácidos, ácidos graxos, vitaminas, minerais, proteínas, lipídeos e carboidratos; que são compostos que precisam estar presentes em quantidades específicas para garantir uma dieta bem equilibrada. (Lall, 1991; Hamre *et al.*, 2013) Como a formulação é muito complexa, essa gama de substâncias provavelmente impacta diretamente no comportamento de migração dos óleos vegetais.

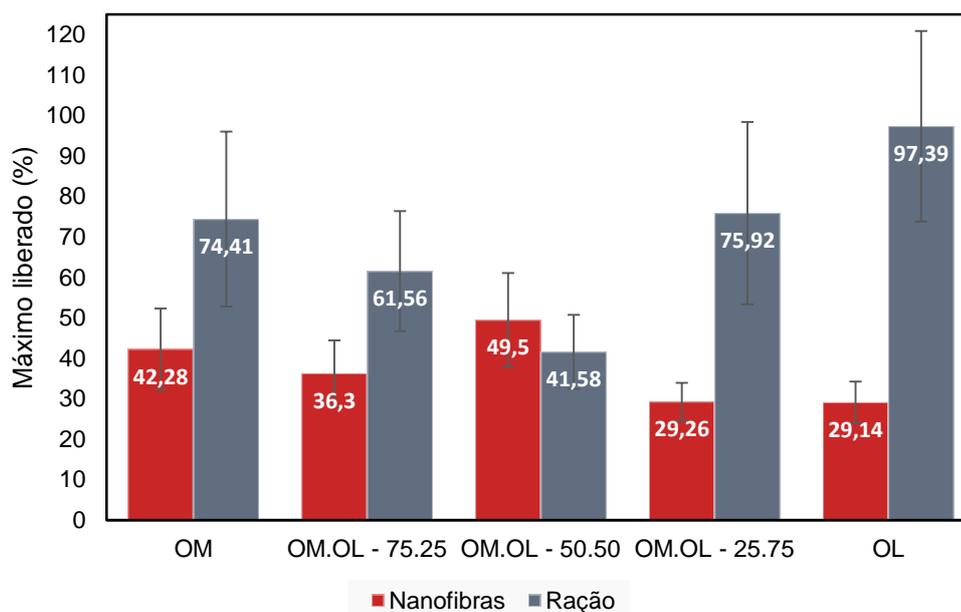
Figura 18 - Liberação dos óleos vegetais adicionados à formulação da ração durante 210 minutos em contato com o meio aquoso simulando as condições dos tanques de criação (25°C e pH 7,0).



Fonte: Do autor

Ainda assim, a comparação entre o perfil de liberação das nanofibras e da ração é muito importante. Na Figura 19, pode-se perceber que as nanofibras foram capazes de reter os compostos de interesse com muito mais eficiência do que as rações contendo os óleos livres. Este resultado comprova que a encapsulação dos agentes ativos foi bem-sucedida e, principalmente, confirma que a proposta de aplicar nanofibras na piscicultura para fortificação de rações é promissora, já que quanto menor for a liberação em água, maior será a quantidade de nutrientes disponível para ser absorvida no organismo dos peixes.

Figura 19 - Comparação entre a quantidade máxima de óleos vegetais liberada pelas nanofibras e pelas rações em meio aquoso simulando as condições dos tanques de criação.



Fonte: Do autor

É importante ressaltar que, nos tanques de criação, a ração não deve ficar em contato com a água por mais de 10 minutos. (Senar, 2019)

Como mostrado na Tabela 8, entre 14-21% do total encapsulado nas nanofibras foi liberado nos primeiros 10 minutos de experimento. Esse comportamento pode ser explicado ao se fazer um paralelo com o trabalho de Karuppuswamy *et al.*, 2015, no qual foi observado que quanto maior é a razão polímero/encapsulado, mais rápida é a liberação inicial. No caso do trabalho citado, uma proporção de apenas 5% (m/m) entre o polímero e o composto de interesse resultaram em uma liberação de cerca de 20% após 1 hora de experimento. No trabalho aqui desenvolvido, a proporção entre o PLA e os óleos vegetais é de 50% (m/m), o que potencializaria ainda mais esse efeito. Isso ocorre porque, como a quantidade de agente ativo é bem grande, parte dele pode estar na superfície da manta polimérica, sendo facilmente dispersada no meio. (Lopes *et al.*, 2005a) Por outro lado, a liberação das substâncias encapsuladas depende de fatores relacionados à degradação do polímero e, por isso, é caracterizada como mais lenta e estável. (Kim and Burgess, 2001) Nota-se que a amostra com menor eficiência de encapsulação (OM:OL – 50:50) foi a que liberou a maior quantidade de óleos vegetais na água (Figura 19), o que faz sentido se pensarmos que quanto menor for a quantidade de nutrientes encapsulada, maior será a fração livre na superfície da matriz polimérica.

Para todas as amostras de ração, entre 12-51% do total de nutrientes foi liberado nos primeiros 10 minutos de experimento. Isso possivelmente se deve ao fato da ração ser composta por várias substâncias higroscópicas e hidrofílicas e, por isso, uma rápida erosão dos pellets

ocorre quando estes entram em contato com a água. Essa rápida erosão leva à uma migração acelerada da fração apolar que compõe a formulação como, por exemplo, os óleos vegetais. Sendo assim, eles são dispersos no meio aquático antes da ingestão pelos peixes.

Tabela 8 - Comparação entre a quantidade de óleos vegetais liberada das nanofibras e das rações após 10 minutos em contato com o meio aquoso simulando as condições dos tanques de criação.

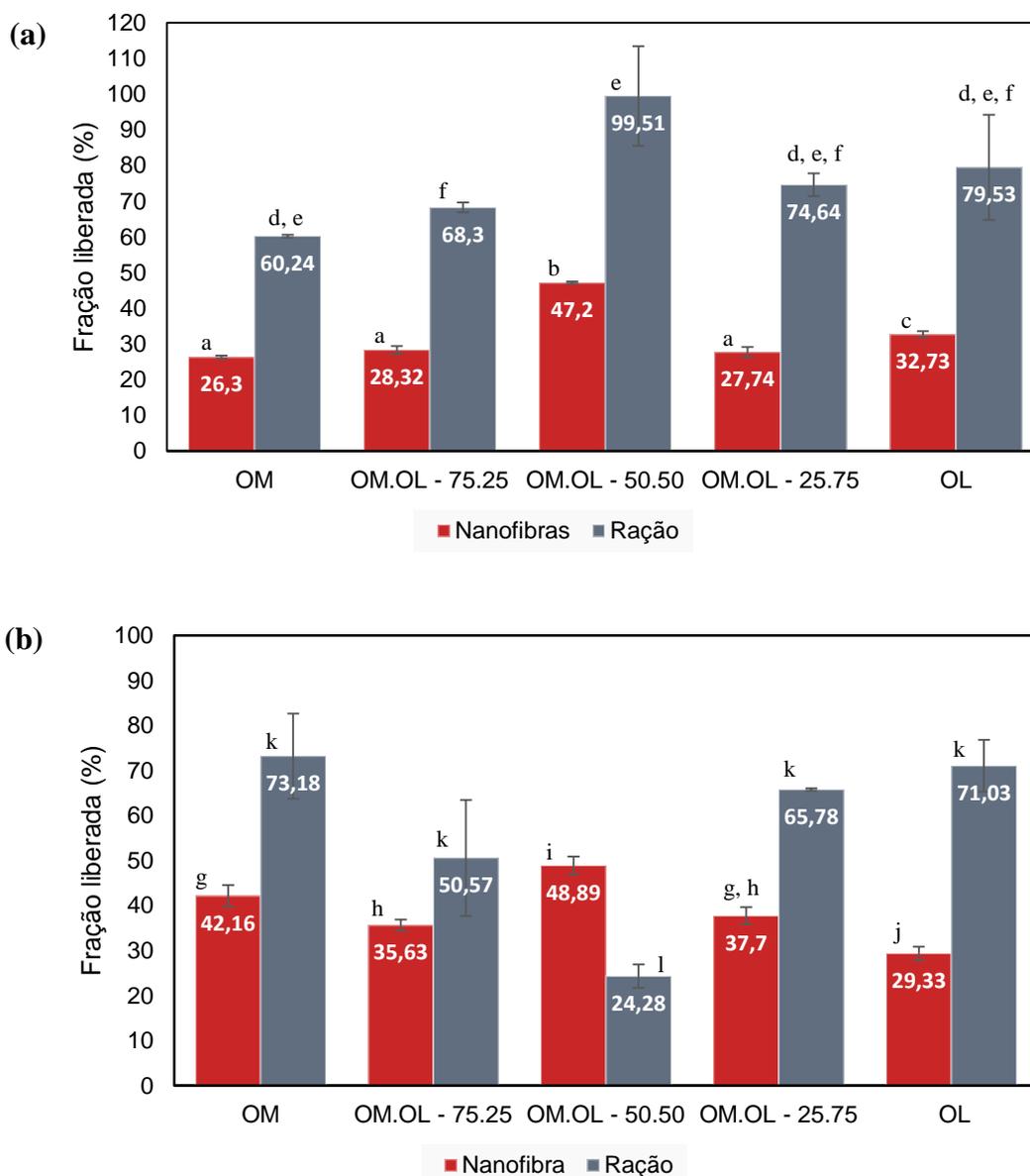
Amostra	Porcentagem de nutrientes liberada após 10 minutos em meio aquoso (<i>in vitro</i>)	
	Nanofibra	Ração
OM:OL – 100:0	14,13±0,69	23,54±2,12
OM:OL – 75:25	17,38±2,04	24,84±2,76
OM:OL – 50:50	21,11±1,44	14,37±2,68
OM:OL – 25:75	16,20±0,38	12,21±0,62
OM:OL – 0:100	15,02±2,14	51,44±2,81

Fonte: Do autor

5.7.2 Perfil de liberação dos nutrientes em meio de simulação gastrointestinal (*in vitro*)

Posteriormente, a liberação dos óleos vegetais encapsulados nas nanofibras e livres nas rações foi avaliada em fluidos de simulação gástrica e intestinal e os resultados estão mostrados na Figura 20.

Figura 20. Comparação da digestibilidade *in vitro* das nanofibras e das rações contendo óleos vegetais. (a) O experimento foi realizado mantendo as amostras em contato com fluido de simulação gástrica durante 1 hora. (b) O experimento foi realizado mantendo as amostras em contato com fluido de simulação intestinal durante 5 horas.



*Os dados seguidos pela mesma letra são estatisticamente iguais por meio da análise de variância (ANOVA) com nível de significância de 0,05.

Fonte: Do autor

Ao analisar os dados dos gráficos apresentados acima, é notável que a encapsulação foi eficiente e que os nutrientes serão devidamente liberados quando em contato com as enzimas presentes no trato gastrointestinal dos peixes. A liberação mais significativa no fluido de simulação intestinal é um resultado promissor, visto que a absorção da maioria dos nutrientes ocorre no intestino, sendo posteriormente passados para a corrente sanguínea e distribuídos por todo o organismo. (Pacha, 2000)

De acordo com a análise estatística realizada com o auxílio do software PAST (Hammer *et al.*, 2001), as nanofibras contendo óleo de milho, óleo de milho:óleo de linhaça (75:25) e óleo de milho:óleo de linhaça (25:75) apresentaram a mesma porcentagem de liberação no fluido gástrico. Já no fluido intestinal, a amostra contendo óleo de milho:óleo de linhaça (25:75) teve a mesma porcentagem de liberação que as amostras contendo óleo de milho:óleo de linhaça (75:25) e óleo de milho. Esses resultados mostram que, mesmo com diferentes eficiências de encapsulação e diferentes diâmetros, as nanofibras podem ter eficácias semelhantes.

A amostra com maior eficiência de encapsulação (OM:OL – 100:0) foi a que liberou a maior quantidade de óleos vegetais no fluido intestinal (Figura 20.b), indicando que a matriz polimérica protege os agentes ativos de forma eficaz, garantindo uma liberação induzida pela variação de pH.

É importante considerar os resultados obtidos nos ensaios de liberação em fluido de simulação gástrica e intestinal que foram realizados com a ração contendo os óleos vegetais livres. A análise da Figura 20 nos permite observar, mais uma vez, o sucesso da encapsulação; visto que as nanofibras liberaram menor quantidade dos compostos de interesse e houve menos variação da fração liberada de uma amostra para outra; enquanto que para as rações a liberação chegou a quase 100% em alguns casos (Figura 20.a – Amostra OM:OL – 50:50) e, mesmo a única variável da formulação sendo a proporção entre os óleos vegetais, não foi possível observar um padrão de liberação entre as rações.

Isso indica que a ração apresenta certa heterogeneidade (possivelmente maior que a das nanofibras), e que a composição química da fração oleosa das rações impacta diretamente na liberação dos nutrientes apolares. Essa suposição nos mostra uma grande desvantagem do uso das rações comuns: a ausência de uma camada protetora faz com que grande parte dos nutrientes seja liberada no meio aquoso; sendo assim, uma pequena quantidade chega ao trato gastrointestinal dos peixes, afetando não apenas seu crescimento e desenvolvimento, mas também seu valor nutricional.

No trabalho de Costa *et al.*, 2014, tilápias do Nilo foram alimentadas com rações contendo fontes de óleos variadas (óleo de linhaça, de peixe, de soja e de oliva) e, apesar das diferentes formulações terem resultado em padrões similares de desenvolvimento e crescimento dos peixes, é interessante avaliar que o peso final das cobaias teve um desvio padrão bem alto (para óleo de linhaça o peso final foi de $213,88 \pm 35,31$ g). Sendo assim, a encapsulação dos óleos vegetais nas nanofibras seria de grande valia, pois a proteção fornecida pela camada polimérica somada à liberação controlada garantiria que todos os peixes recebessem a mesma quantidade de nutrientes, diminuindo a variabilidade do peso da produção.

Tendo isso em vista, é notável que a encapsulação de nutrientes evita a perda dos compostos para o meio aquoso, o que reduz os custos da produção e a poluição dos recursos hídricos, além de otimizar a nutrição dos peixes.

6 Conclusão

A técnica de fiação por sopro em solução se mostrou simples e eficaz para produção de nanofibras de poli(ácido lático) contendo óleos vegetais. Os resultados de caracterização comprovaram que a encapsulação foi eficiente e que as fibras formadas apresentaram morfologia uniforme, diâmetro na faixa de nanômetros e comportamento hidrofóbico, como esperado. A liberação dos agentes ativos foi caracterizada pelo modelo cinético Logistic 3, indicando que a matriz polimérica sofre um processo de erosão que possibilita a migração controlada dos nutrientes no trato gastrointestinal dos peixes.

As rações contendo os óleos vegetais livres não apresentaram um perfil de liberação padronizado. Sua formulação complexa e a ausência de uma camada protetora facilitou a perda dos compostos de interesse para o meio aquoso, fazendo com que menos nutrientes chegassem ao trato gastrointestinal dos peixes. Tal comportamento de liberação prejudica o desenvolvimento e crescimento dos peixes, levando prejuízos aos piscicultores.

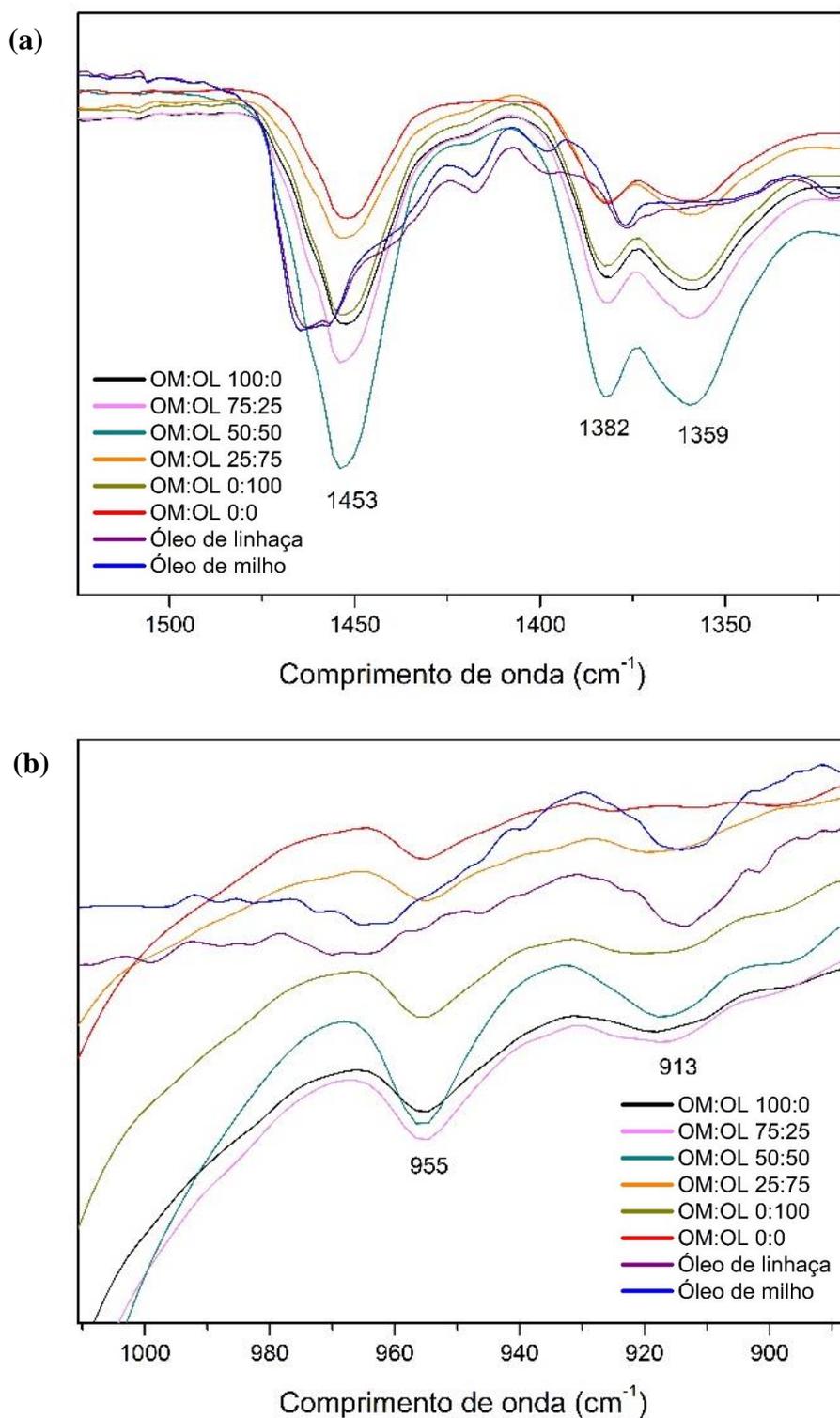
Sendo assim, a partir deste trabalho fica claro que a encapsulação de óleos vegetais em nanofibras é uma maneira promissora de se fortificar rações aplicadas na piscicultura, pois, ao reduzir perdas para o meio aquático e aumentar a biodisponibilidade dos agentes ativos, garante a manutenção da nutrição dos peixes de forma mais barata e ecológica.

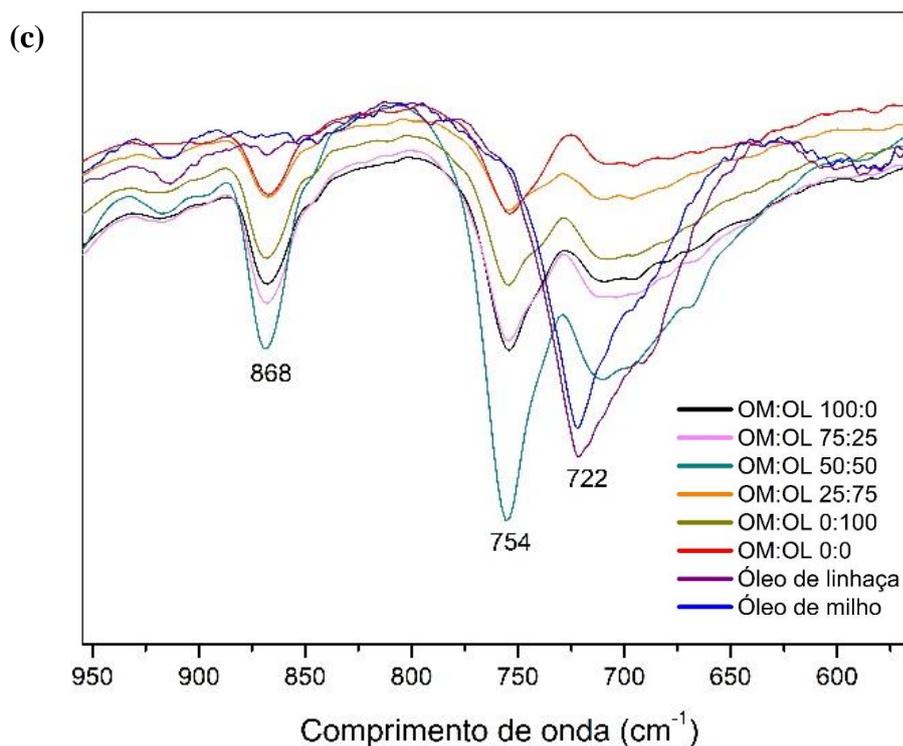
Além disso, é importante salientar que vários óleos vegetais são ricos em ácidos graxos essenciais das famílias n-3 e n-6 e, sendo assim, esse trabalho pode ser usado como referência para novos estudos com diferentes fontes nutricionais e matrizes poliméricas; possibilitando a otimização do sistema de liberação aqui proposto e avaliação de seu perfil *in vivo*.

ANEXO A

Apresentação e análise das regiões do espectro de infravermelho que foram omitidas no tópico 5.4 da seção de Resultados e Discussão.

Figura 21 - Demais regiões do espectro de infravermelho das nanofibras de PLA contendo diferentes proporções de óleo de milho e óleo de linhaça e dos óleos vegetais puros.





Todas as amostras apresentaram uma banda próxima a 1453 cm^{-1} (Figura 21.a), referente a deformação assimétrica de CH_3 . As nanofibras apresentaram bandas em 1382 e 1359 cm^{-1} (Figura 21.a), referentes a deformação simétrica e assimétrica de CH e CH_3 . Também observa-se uma banda próxima a 955 cm^{-1} (Figura 21.b) referente ao balanço de CH_3 em todas as nanofibras. As amostras de óleo vegetal puro e de nanofibras contendo os óleos vegetais apresentaram banda em 913 cm^{-1} (Figura 21.b) referente a presença de alcenos monossustituídos. Essa banda não foi observada na nanofibra de PLA sem os óleos vegetais. Com exceção dos óleos vegetais puros, todas as demais amostras apresentaram banda em 868 cm^{-1} (Figura 21.c), referente ao estiramento C-COO da fase amorfa e em 754 cm^{-1} (Figura 21.c) referente a deformação C=O que representa dobramento da fase cristalina do PLA. Os óleos vegetais puros apresentaram banda em 722 cm^{-1} (Figura 21.c) referente ao estiramento e rotação dos grupos alifáticos CH_2 . (Kister *et al.*, 1998; Kang *et al.*, 2001; Drumond *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2008; Carrasco *et al.*, 2010; Abreu, 2013; Weng *et al.*, 2013)

REFERÊNCIAS

ABREU, D. H. S. D. Craqueamento termocatalítico da borra de neutralização do óleo de palma (*Elaeis guineensis*) em escala piloto. 2013.

AGRAWAL, C. M.; ATHANASIOU, K. A. Technique to control pH in vicinity of biodegrading PLA-PGA implants. **Journal of biomedical materials research**, v. 38, n. 2, p. 105-114, 1997. ISSN 0021-9304.

ANDRADE, C. L. et al. Nutrição e alimentação de tilápias do Nilo. **Revista Eletrônica de Nutrição**, v. 12, n. 6, p. 4464-4469, 2015.

APPOLINÁRIO, P. P. et al. Metabolismo, oxidação e implicações biológicas do ácido docosahexaenoico em doenças neurodegenerativas. **Química Nova**, v. 34, n. 8, p. 1409-1416, 2011. ISSN 0100-4042.

AVRAMOV, I.; ŠESTÁK, J. Generalized kinetics of overall phase transition in terms of logistic equation. **arXiv preprint arXiv:1510.02250**, 2015.

AZEVEDO, H. S.; REIS, R. L. Understanding the enzymatic degradation of biodegradable polymers and strategies to control their degradation rate. **Biodegradable systems in tissue engineering and regenerative medicine**, p. 177-201, 2005. ISSN 0849319366.

BAJI, A.; ABTAHI, M.; RAMAKRISHNA, S. Bio-inspired electrospun micro/nanofibers with special wettability. **Journal of nanoscience and nanotechnology**, v. 14, n. 7, p. 4781-4798, 2014. ISSN 1533-4880.

BARBANTI, S. H.; ZAVAGLIA, C. A.; DUEK, E. A. Polímeros bioreabsorvíveis na engenharia de tecidos. **Polímeros**, v. 15, n. 1, p. 13-21, 2005. ISSN 0104-1428.

BEHRENS, A. M. et al. In Situ Deposition of PLGA Nanofibers via Solution Blow Spinning. **Acs Macro Letters**, v. 3, n. 3, p. 249-254, Mar 2014. Available at: <<Go to ISI>://WOS:000335720400008 >.

BIRNBAUM, D. T.; BRANNON-PEPPAS, L. Molecular weight distribution changes during degradation and release of PLGA nanoparticles containing epirubicin HCl. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 14, n. 1, p. 87-102, 2003. ISSN 0920-5063.

BIZERRA, A.; SILVA, V. Sistemas de liberação controlada: Mecanismos e aplicações. **Revista Saúde e Meio Ambiente**, v. 3, n. 2, p. 1-12, 2016. ISSN 2447-8822.

BOISON, J. O.; TURNIPSEED, S. B. A Review of Aquaculture Practices and Their Impacts on Chemical Food Safety from a Regulatory Perspective. **Journal of Aoac International**, v. 98, n. 3, p. 541-549, May-Jun 2015. ISSN 1060-3271. Available at: < <Go to ISI>://WOS:000356903400002 >.

BONAN, R. F. et al. Poly (lactic acid)/poly (vinyl pyrrolidone) membranes produced by solution blow spinning: Structure, thermal, spectroscopic, and microbial barrier properties. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 134, n. 19, 2017. ISSN 0021-8995.

BRUNEAU, M. et al. Systems for stimuli-controlled release: Materials and applications. **Journal of Controlled Release**, v. 294, p. 355-371, 2019/01/28/ 2019. ISSN 0168-3659. Available at: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168365918307417> >.

BĚHÁLEK, L. et al. Study of crystallization of polylactic acid composites and nanocomposites with natural fibres by DSC method. **Proceedings of NANOCON**, v. 6, 2014.

CAIRNS, M.-L. et al. Electron-beam treatment of poly (lactic acid) to control degradation profiles. **Polymer degradation and stability**, v. 96, n. 1, p. 76-83, 2011. ISSN 0141-3910.

CALLISTER JR, W. D. *Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução*, 5ª Edição. **Rio de Janeiro: LTC**, 2002.

CARRASCO, F. et al. Processing of poly(lactic acid): Characterization of chemical structure, thermal stability and mechanical properties. **Polymer Degradation and Stability**, v. 95, n. 2, p. 116-125, 2010. ISSN 0141-3910. Available at: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014139100900408X> >.

CASSIE, A.; BAXTER, S. Wettability of porous surfaces. **Transactions of the Faraday society**, v. 40, p. 546-551, 1944.

CASTRO-AGUIRRE, E. et al. Poly (lactic acid)—Mass production, processing, industrial applications, and end of life. **Advanced drug delivery reviews**, v. 107, p. 333-366, 2016. ISSN 0169-409X.

CASTRO-AGUIRRE, E. et al. Poly(lactic acid)—Mass production, processing, industrial applications, and end of life. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 107, p. 333-366, 2016/12/15/ 2016. ISSN 0169-409X. Available at: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X16300965> >.

CHANDRA, R.; RUSTGI, R. Biodegradable polymers. **Progress in polymer science**, v. 23, n. 7, p. 1273-1335, 1998. ISSN 0079-6700.

CHEN, C. et al. n-3 essential fatty acids in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*: Bioconverting LNA to DHA is relatively efficient and the LC-PUFA biosynthetic pathway is substrate limited in juvenile fish. **Aquaculture**, v. 495, p. 513-522, 2018/10/01/ 2018. ISSN 0044-8486. Available at: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848618304666> >.

CHEN, C. et al. Fabrication of light-responsively controlled-release herbicide using a nanocomposite. **Chemical Engineering Journal**, v. 349, p. 101-110, 2018. ISSN 1385-8947.

CHEN, X. et al. Gastrointestinal Fate of Fluid and Gelled Nutraceutical Emulsions: Impact on Proteolysis, Lipolysis, and Quercetin Bioaccessibility. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 34, p. 9087-9096, 2018/08/29 2018. ISSN 0021-8561. Available at: < <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b03003> >.

CHEN, Y. Y. et al. Review of Multifarious Applications of Poly (Lactic Acid). **Polymer-Plastics Technology and Engineering**, v. 55, n. 10, p. 1057-1075, 2016. ISSN 0360-2559. Available at: < <Go to ISI>://WOS:000380141400008 >.

CHIENG, B. W. et al. Epoxidized Vegetable Oils Plasticized Poly(lactic acid) Biocomposites: Mechanical, Thermal and Morphology Properties. **Molecules**, v. 19, n. 10, p. 16024-16038, 2014. ISSN 1420-3049. Available at: < <https://www.mdpi.com/1420-3049/19/10/16024> >.

COSTA, D. V. D. et al. Parâmetros hematológicos de tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com diferentes fontes de óleo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 15, n. 3, p. 754-764, 2014. ISSN 1519-9940.

COSTA, L. G.; FATTORI, V. Health risks associated with fish consumption focus on methylmercury, dioxins and dioxin-like PCBS. **JOINT FAO/WHO EXPERT CONSULTATION ON THE RISKS AND BENEFITS OF FISH CONSUMPTION**. Rome, Italy, 2010.

COSTA, P. J. C. D. Avaliação in vitro da bioequivalência de formulações farmacêuticas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, p. 141-153, 2002. ISSN 1516-9332. Available at: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-93322002000200003&nrm=iso >.

COUTINHO, K.; CANUTO, S. Solvent effects from a sequential Monte Carlo-quantum mechanical approach. **Adv. Quantum Chem**, v. 28, p. 89-105, 1997.

CUIFFO, M. A. et al. Impact of the fused deposition (FDM) printing process on polylactic acid (PLA) chemistry and structure. **Applied Sciences**, v. 7, n. 6, p. 579, 2017.

CYRINO, J. E. P. et al. A piscicultura e o ambiente: o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 68-87, 2010. ISSN 1516-3598.

DA SILVA PARIZE, D. D. et al. Poly (lactic acid) fibers obtained by solution blow spinning: Effect of a greener solvent on the fiber diameter. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 133, n. 18, 2016. ISSN 0021-8995.

DAI, Y.-Q. et al. Photo-responsive release of ascorbic acid and catalase in CDDBA-liposome for commercial application as a sunscreen cosmetic. **RSC advances**, v. 2, n. 8, p. 3340-3346, 2012.

DARISTOTLE, J. L. et al. A review of the fundamental principles and applications of solution blow spinning. **ACS applied materials & interfaces**, v. 8, n. 51, p. 34951-34963, 2016. ISSN 1944-8244.

ALMEIDA, D. T. M. and WILLIAM, M. S. Verificação do Ângulo de Contato e da Tensão Interfacial na Superfície de Liga de Titânio. In: **Congresso da Sociedade Latino Americana de Biomateriais, Órgãos Artificiais e Engenharia de Tecidos - SLABO**, 14. 2017, Maresias. p. 566-575.

DE CARVALHO, C. C. C. R.; CARAMUJO, M. J. The various roles of fatty acids. **Molecules**, v. 23, n. 10, 2018. Available at: < <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85054850843&doi=10.3390/molecules23102583&partnerID=40&md5=88fe9383327aba5b2841b45d843101cd> >.

DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. **Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras: materiais poliméricos, metálicos e semicondutores**. EdIPUCRS, 2007. ISBN 8574307025.

DELFOUR, M. C. Drug release kinetics from biodegradable polymers via partial differential equations models. **Acta applicandae mathematicae**, v. 118, n. 1, p. 161-183, 2012. ISSN 0167-8019.

DESIGNATION, A. D 724 89: Standard test method for surface wettability of paper (Angle of contact method). **Annual Book of ASTM Standards**, v. 15, p. 60,

DIAS, G. C. et al. PVDF nanofibers obtained by solution blow spinning with use of a commercial airbrush. **Journal of Polymer Research**, v. 26, n. 4, p. 12, Apr 2019. ISSN 1022-9760. Available at: < <Go to ISI>://WOS:000460954400001 >.

DOMENEK, S.; DUCRUET, V. **Characteristics and Applications of PLA**. John Wiley & Sons, Inc, 2016.

DOWLING, A. Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties. Royal Society and Royal Academy of Engineering, London. **There is no corresponding record for this reference**, 2004.

DRUMOND, W. S.; WANG, S. H.; MOTHÉ, C. G. Síntese e caracterização do copolímero poli (ácido lático-b-glicol etilênico). **Polímeros**, v. 14, n. 2, p. 74-79, 2004. ISSN 0104-1428.

DWECK, J.; SAMPAIO, C. Analysis of the thermal decomposition of commercial vegetable oils in air by simultaneous TG/DTA. **Journal of thermal analysis and calorimetry**, v. 75, n. 2, p. 385-391, 2004. ISSN 1388-6150.

EDITH, D.; SIX, J.-L. Surface characteristics of PLA and PLGA films. **Applied Surface Science**, v. 253, n. 5, p. 2758-2764, 2006. ISSN 0169-4332.

ELSAWY, M. A. et al. Hydrolytic degradation of polylactic acid (PLA) and its composites. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 79, p. 1346-1352, 2017. ISSN 1364-0321. Available at: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1364032117307876> >.

EMERY, J. A. et al. Δ -6 desaturase substrate competition: dietary linoleic acid (18: 2n-6) has only trivial effects on α -linolenic acid (18: 3n-3) bioconversion in the teleost rainbow trout. **PLoS One**, v. 8, n. 2, 2013.

EMKEN, E. A.; ADLOF, R. O.; GULLEY, R. M. Dietary linoleic acid influences desaturation and acylation of deuterium-labeled linoleic and linolenic acids in young adult males. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism**, v. 1213, n. 3, p. 277-288, 1994. ISSN 0005-2760.

FARAH, S.; ANDERSON, D. G.; LANGER, R. Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications - A comprehensive review. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 107, p. 367-392, Dec 2016. ISSN 0169-409X. Available at: < <Go to ISI>://WOS:000390505500020 >.

FENG, J. et al. Improved bioavailability of curcumin in ovalbumin-dextran nanogels prepared by Maillard reaction. **Journal of Functional Foods**, v. 27, p. 55-68, 2016. ISSN 1756-4646. Available at: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S175646461630278X> >.

FERREIRA, L. M. V. **Revestimentos hidrofóbicos**. 2013. Faculdade de Ciências e Tecnologia

FOCKE, W. W. et al. Kinetic interpretation of log-logistic dose-time response curves. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2017. ISSN 2045-2322.

FORD, J. L. et al. Mathematical modelling of drug release from hydroxypropylmethylcellulose matrices: effect of temperature. **International journal of pharmaceuticals**, v. 71, n. 1-2, p. 95-104, 1991. ISSN 0378-5173.

FORD, J. L. et al. Importance of drug type, tablet shape and added diluents on drug release kinetics from hydroxypropylmethylcellulose matrix tablets. **International journal of pharmaceuticals**, v. 40, n. 3, p. 223-234, 1987. ISSN 0378-5173.

FREITAS, S. R. et al. A relação Custo/Volume/Lucro na produção de Tilápias em Tanques-Rede no município de Uberlândia-MG. **Anais do Congresso Brasileiro de Custos-ABC**, 2020.

FRIZZELL, H.; OHLSEN, T. J.; WOODROW, K. A. Protein-loaded emulsion electrospun fibers optimized for bioactivity retention and pH-controlled release for peroral delivery of biologic therapeutics. **International journal of pharmaceuticals**, v. 533, n. 1, p. 99-110, 2017. ISSN 0378-5173.

FURUHASHI, Y. et al. Higher-order structures and mechanical properties of stereocomplex-type poly(lactic acid) melt spun fibers. **Polymer**, v. 47, n. 16, p. 5965-5972, 2006. ISSN 0032-3861. Available at: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003238610600680X> >.

GALUCH, M. B. et al. Quality Assessment of Omega-3 Supplements Available in the Brazilian Market. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 29, n. 3, p. 631-638, 2018-03 2018. ISSN 0103-5053. Available at: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532018000300631 (=pt >.

GAO, Y. et al. A portable solution blow spinning device for minimally invasive surgery hemostasis. **Chemical Engineering Journal**, v. 387, p. 124052, 2020. ISSN 1385-8947. Available at: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1385894720300437> >.

GEYER, R.; JAMBECK, J. R.; LAW, K. L. Production, use, and fate of all plastics ever made. **Science advances**, v. 3, n. 7, p. e1700782, 2017. ISSN 2375-2548.

GHORBANZADE, T. et al. Nano-encapsulation of fish oil in nano-liposomes and its application in fortification of yogurt. **Food Chemistry**, v. 216, p. 146-152, 2017. ISSN 0308-8146.

GHOSAL, K. et al. Electrospinning over solvent casting: tuning of mechanical properties of membranes. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 1-9, 2018. ISSN 2045-2322.

GIBALDI, M.; FELDMAN, S. Establishment of sink conditions in dissolution rate determinations. Theoretical considerations and application to nondisintegrating dosage forms. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 56, n. 10, p. 1238-1242, 1967. ISSN 0022-3549.

GROSS, R. A.; KALRA, B. Biodegradable polymers for the environment. **Science**, v. 297, n. 5582, p. 803-807, 2002. ISSN 0036-8075.

GUALDA, I. P. et al. Centesimal composition, fatty acids profile and the nutritional quality index of four seafood species from the southern region of Brazil. **Acta Scientiarum - Technology**, v. 40, 2018.

Available at: < <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85059609040&doi=10.4025/actascitechnol.v40i1.39351&partnerID=40&md5=1de5d629fe2ffa89c19a568a3caed092> >.

GUO, Q. **Polymer morphology: principles, characterization, and processing**. John Wiley & Sons, 2016. ISBN 1118452151.

GUPTA, B.; REVAGADE, N.; HILBORN, J. Poly(lactic acid) fiber: An overview. **Progress in Polymer Science**, v. 32, n. 4, p. 455-482, Apr 2007. ISSN 0079-6700. Available at: <<Go to ISI>://WOS:000246327400002 >.

GÖPFERICH, A. Erosion of composite polymer matrices. **Biomaterials**, v. 18, n. 5, p. 397-403, 1997. ISSN 0142-9612.

HAMMER, Ø.; HARPER, D. A.; RYAN, P. D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. **Palaeontologia electronica**, v. 4, n. 1, p. 9, 2001.

HAMRE, K. et al. Fish larval nutrition and feed formulation: knowledge gaps and bottlenecks for advances in larval rearing. **Reviews in Aquaculture**, v. 5, p. S26-S58, 2013. ISSN 1753-5123.

HARLAND, R. S. et al. Drug/polymer matrix swelling and dissolution. **Pharmaceutical research**, v. 5, n. 8, p. 488-494, 1988. ISSN 0724-8741.

HARRIS, A. M.; LEE, E. C. Improving mechanical performance of injection molded PLA by controlling crystallinity. **Journal of applied polymer science**, v. 107, n. 4, p. 2246-2255, 2008. ISSN 0021-8995.

HERRERO-HERRERO, M.; GOMEZ-TEJEDOR, J. A.; VALLES-LLUCH, A. PLA/PCL electrospun membranes of tailored fibres diameter as drug delivery systems. **European Polymer Journal**, v. 99, p. 445-455, Feb 2018. ISSN 0014-3057. Available at: <<Go to ISI>://WOS:000427338100046 >.

HIGUCHI, T. Rate of release of medicaments from ointment bases containing drugs in suspension. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 50, n. 10, p. 874-875, 1961. ISSN 0022-3549.

HIGUCHI, T. Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 52, n. 12, p. 1145-1149, 1963. ISSN 0022-3549.

IONASHIRO, M.; CAIRES, F. J.; GOMES, D. Giolito: fundamentos da termogravimetria e análise térmica diferencial/calorimetria exploratória diferencial. **São Paulo: Giz**, v. 1, p. 80, 2005.

JAMSHIDIAN, M. et al. Poly-Lactic Acid: Production, Applications, Nanocomposites, and Release Studies. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, n. 5, p. 552-571, Sep 2010. ISSN 1541-4337. Available at: <<Go to ISI>://WOS:000281286200009 >.

JI, W. et al. Mesoporous silica nanospheres with the ability of photo-driven releasing sandela 803 for the application to wallpaper. **Chinese Chemical Letters**, v. 30, n. 3, p. 747-749, 2019. ISSN 1001-8417.

JIANG, L.; ZHAO, Y.; ZHAI, J. A lotus-leaf-like superhydrophobic surface: a porous microsphere/nanofiber composite film prepared by electrohydrodynamics. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 43, n. 33, p. 4338-4341, 2004. ISSN 1433-7851.

JIANG, Y. et al. Nanoformulation of Brain-Derived Neurotrophic Factor with Target Receptor-Triggered-Release in the Central Nervous System. **Advanced functional materials**, v. 28, n. 6, p. 1703982, 2018. ISSN 1616-301X.

JOHN, G. et al. Natural monomers: A mine for functional and sustainable materials – Occurrence, chemical modification and polymerization. **Progress in Polymer Science**, v. 92, p. 158-209, 2019/05/01/ 2019. ISSN 0079-6700. Available at: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079670018300273> >.

KAAVESSINA, M. et al. Characterization of poly (lactic acid)/hydroxyapatite prepared by a solvent-blending technique: Viscoelasticity and in vitro hydrolytic degradation. **Journal of Elastomers & Plastics**, v. 47, n. 8, p. 753-768, 2015. ISSN 0095-2443.

KANG, S. et al. A spectroscopic analysis of poly (lactic acid) structure. **Macromolecules**, v. 34, n. 13, p. 4542-4548, 2001. ISSN 0024-9297.

KARUPPUSWAMY, P. et al. Polycaprolactone nanofibers for the controlled release of tetracycline hydrochloride. **Materials Letters**, v. 141, p. 180-186, 2015. ISSN 0167-577X.

KENRY; LIM, C. T. Nanofiber technology: current status and emerging developments. **Progress in Polymer Science**, v. 70, p. 1-17, 2017. Available at: < <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85018704419&doi=10.1016/j.progpolymsci.2017.03.002&partnerID=40&md5=bc1756a735e1a9b0d0fcad764996b9b5> >.

KHANDARE, J. et al. Multifunctional dendritic polymers in nanomedicine: opportunities and challenges. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 7, p. 2824-2848, 2012.

KIM, T. K.; BURGESS, D. J. Formulation and release characteristics of poly (lactic-co-glycolic acid) microspheres containing chemically modified protein. **Journal of pharmacy and pharmacology**, v. 53, n. 1, p. 23-31, 2001. ISSN 0022-3573.

KISTER, G.; CASSANAS, G.; VERT, M. Effects of morphology, conformation and configuration on the IR and Raman spectra of various poly (lactic acid) s. **Polymer**, v. 39, n. 2, p. 267-273, 1998. ISSN 0032-3861.

KORSMEYER, R.; PEPPAS, N. Macromolecular and modeling aspects of swelling-controlled systems. 1983.

KORSMEYER, R. W. et al. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. **International journal of pharmaceuticals**, v. 15, n. 1, p. 25-35, 1983. ISSN 0378-5173.

KUBITZA, F. Ajustes na nutrição e alimentação das tilápias. **Panorama da acuicultura**, v. 16, n. 98, p. 15-24, 2006.

KULKARNI, R. et al. **Polylactic acid for surgical implants**. WALTER REED ARMY MEDICAL CENTER WASHINGTON DC ARMY MEDICAL BIOMECHANICAL 1966

LALL, S. P. Concepts in the formulation and preparation of a complete fish diet. Fish Nutrition Research in Asia. Proceedings of the Fourth Asian Fish Nutrition Workshop. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, 1991. p.1-12.

LI, R. et al. Polycaprolactone/poly(L-lactic acid) composite micro/nanofibrous membrane prepared through solution blow spinning for oil adsorption. **Materials Chemistry and Physics**, v. 241, p. 122338, 2020/02/01/ 2020. ISSN 0254-0584.

LIU, D. et al. The smart drug delivery system and its clinical potential. **Theranostics**, v. 6, n. 9, p. 1306, 2016.

LIU, L. et al. Selective enzymatic degradations of poly (L-lactide) and poly (ϵ -caprolactone) blend films. **Biomacromolecules**, v. 1, n. 3, p. 350-359, 2000. ISSN 1525-7797.

LOPES, A. P. et al. Levels of Soybean Oil and Time of Treatment for Nile Tilapia: a Factorial Design for Total n-3 Fatty Acids, n-6/n-3 and PUFA/SFA Ratios. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, n. 3, p. 572-579, 2015-03 2015. ISSN 0103-5053.

Available at: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532015000300572>=pt >.

LOPES, C. M.; LOBO, J. M. S.; COSTA, P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 2, p. 143-154, 2005a. ISSN 1516-9332.

LOPES, C. M; LOBO, J. M. S.; COSTA, P. et al. Modified release of drug delivery systems: hydrophilic polymers. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 2, p. 143-154, 2005b. ISSN 1516-9332.

LOPES, R. D. V. V. Poliuretanas obtidas a partir dos óleos de linhaça (*Linum usitatissimum* L.) e maracujá (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener). 2009.

LOURENÇO, J. D. P.; MALTA, J. D. O.; DE SOUSA, F. N. A importância de monitorar a qualidade da água na piscicultura. **Embrapa Amazônia Ocidental-Séries anteriores (INFOTECA-E)**, 1999. ISSN 1517-2260.

LUZ, A.; RIBEIRO, S.; PANDOLFELLI, V. Artigo revisão: Uso da molhabilidade na investigação do comportamento de corrosão de materiais refratários. **Cerâmica**, v. 54, n. 330, p. 174-183, 2008. ISSN 0366-6913.

MAINIL-VARLET, P.; CURTIS, R.; GOGOLEWSKI, S. Effect of in vivo and in vitro degradation on molecular and mechanical properties of various low-molecular-weight polylactides. **Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials and The Japanese Society for Biomaterials**, v. 36, n. 3, p. 360-380, 1997. ISSN 0021-9304.

MARTIN, C. A. et al. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, 2006. ISSN 1415-5273.

MEDEIROS, E. S. et al. Solution Blow Spinning: A New Method to Produce Micro- and Nanofibers from Polymer Solutions. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 113, n. 4, p. 2322-2330, Aug 2009. ISSN 0021-8995. Available at: <<Go to ISI>://WOS:000266945300033 >.

MILLER, M. R.; NICHOLS, P. D.; CARTER, C. G. n-3 Oil sources for use in aquaculture—alternatives to the unsustainable harvest of wild fish. **Nutrition research reviews**, v. 21, n. 2, p. 85-96, 2008. ISSN 1475-2700.

MINA, M. et al. Structures and properties of injection-molded biodegradable poly (lactic acid) nanocomposites prepared with untreated and treated multiwalled carbon nanotubes. **Polymer Engineering & Science**, v. 54, n. 2, p. 317-326, 2014. ISSN 0032-3888.

MOHANTY, B. P. et al. Nutritional composition of food fishes and their importance in providing food and nutritional security. **Food Chemistry**, v. 293, p. 561-570, Sep 2019. ISSN 0308-8146. Available at: <<Go to ISI>://WOS:000469331900067 >.

NAMPOOTHIRI, K. M.; NAIR, N. R.; JOHN, R. P. An overview of the recent developments in polylactide (PLA) research. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 22, p. 8493-8501, Nov 2010. ISSN 0960-8524. Available at: <<Go to ISI>://WOS:000281262900001 >.

NEPOMUCENO, N. C. et al. Antimicrobial activity of PLA/PEG nanofibers containing terpinen-4-ol against *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 135, n. 6, p. 45782, 2018. ISSN 0021-8995.

NICHOLS, P. D. et al. Recent advances in Omega-3: health benefits, sources, products and bioavailability. **Nutrients**, v. 6, n. 9, p. 3727-3733, 7 pp, 2014. ISSN 2072-6643.

NOFAR, M. et al. Poly (lactic acid) blends: Processing, properties and applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 125, p. 307-360, 2019. ISSN 0141-8130. Available at: <
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813018350621> >.

OBOH, A. et al. Two alternative pathways for docosahexaenoic acid (DHA, 22: 6n-3) biosynthesis are widespread among teleost fish. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-10, 2017. ISSN 2045-2322.

ODDSSON, G. V. A Definition of Aquaculture Intensity Based on Production Functions—The Aquaculture Production Intensity Scale (APIS). **Water**, v. 12, n. 3, p. 765, 2020.

ORUE, A.; ECEIZA, A.; ARBELAIZ, A. Preparation and characterization of poly(lactic acid) plasticized with vegetable oils and reinforced with sisal fibers. **Industrial Crops and Products**, v. 112, p. 170-180, 2018. ISSN 0926-6690. Available at: <
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669017307616> >.

PACHA, J. Development of intestinal transport function in mammals. **Physiological reviews**, v. 80, n. 4, p. 1633-1667, 2000. ISSN 1522-1210.

PEIXE, B. Anuário da Piscicultura 2019. **Peixe BR—Associação Brasileira da Piscicultura, São Paulo**, 2019.

PIACENTINI, E. Encapsulation Efficiency. In: DRIOLI, E. e GIORNO, L. (Ed.). **Encyclopedia of Membranes**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2016. p.706-707. ISBN 978-3-662-44324-8.

PISCOPO, M. R. et al. O setor brasileiro de nanotecnologia: Oportunidades e desafios. **Revista de Negócios**, v. 19, n. 4, p. 43-63, 2015. ISSN 1980-4431.

PONTES, E. D. C. et al. Níveis de farinha de peixe em rações para juvenis de tilápia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 8, p. 1626-2632, 2010. ISSN 1516-3598.

RAMAKRISHNA, S. **An introduction to electrospinning and nanofibers**. World Scientific, 2005. ISBN 9812567615.

RAMALHO RIBEIRO, A. et al. Farmed fish as a functional food: Perception of fish fortification and the influence of origin – Insights from Portugal. **Aquaculture**, v. 501, p. 22-31, 2019/02/25/ 2019. ISSN 0044-8486. Available at: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848618306604> >.

REMPEL, S. P. et al. Nano/microfibers of EVA copolymer obtained by solution blow spinning: Processing, solution properties, and pheromone release application. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 136, n. 24, Jun 2019. ISSN 0021-8995. Available at: <<Go to ISI>://WOS:000461893300019 >.

RIGHETTI, M. C. et al. Effect of the Addition of Natural Rice Bran Oil on the Thermal, Mechanical, Morphological and Viscoelastic Properties of Poly (Lactic Acid). **Sustainability**, v. 11, n. 10, p. 2783, 2019.

ROOZBAHANI, M.; KHARAZIHA, M.; EMADI, R. pH sensitive dexamethasone encapsulated laponite nanoplatelets: Release mechanism and cytotoxicity. **International journal of pharmaceutics**, v. 518, n. 1-2, p. 312-319, 2017. ISSN 0378-5173.

ROUBACH, R. et al. Nutrição e manejo alimentar na piscicultura. **Embrapa Amazônia Ocidental-Documentos (INFOTECA-E)**, 2002. ISSN 1517-3135.

SALEEM, H. et al. Recent advances in nanofibrous membranes: Production and applications in water treatment and desalination. **Desalination**, v. 478, p. 114178, 2020. ISSN 0011-9164. Available at: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0011916419314353> >.

SANTERRE, J. et al. Biodegradation evaluation of polyether and polyester-urethanes with oxidative and hydrolytic enzymes. **Journal of biomedical materials research**, v. 28, n. 10, p. 1187-1199, 1994. ISSN 0021-9304.

SANTOS, A. M. et al. Aqueous solution blow spinning of poly (vinyl alcohol) micro-and nanofibers. **Materials Letters**, v. 176, p. 122-126, 2016. ISSN 0167-577X.

SCAFFARO, R. et al. Antimicrobial additives for poly(lactic acid) materials and their applications: current state and perspectives. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, n. 18, p. 7739-7756, Sep 2018. ISSN 0175-7598. Available at: <<Go to ISI>://WOS:000442570500008 >.

SCHICK, C. Differential scanning calorimetry (DSC) of semicrystalline polymers. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 395, n. 6, p. 1589, 2009. ISSN 1618-2642.

(SENAR), S. N. D. A. R. **Piscicultura: alimentação**. Brasília. 263: 52 p. 2019.

SEVERO, L. et al. Study of the parameters solution blow spinning technique in the obtaining of mullite nanofibers.

SHALABY, W.; PARK, K. **Chemical modification of proteins and polysaccharides and its effect on enzyme-catalyzed degradation**: Hanser Publishers, Munich 1994.

SHAO, L. et al. Dual responsive aerogel made from thermo/pH sensitive graft copolymer alginate-gP (NIPAM-co-NHMAM) for drug controlled release. **International journal of biological macromolecules**, v. 114, p. 1338-1344, 2018. ISSN 0141-8130.

SHARIFI, F. et al. Fiber Based Approaches as Medicine Delivery Systems. **Acs Biomaterials Science & Engineering**, v. 2, n. 9, p. 1411-1431, Sep 2016. ISSN 2373-9878. Available at: <<Go to ISI>://WOS:000383220000001 >.

SHETTY, S. D.; SHETTY, N. Investigation of mechanical properties and applications of polylactic acids-a review. **Materials Research Express**, v. 6, n. 11, p. 16, Sep 2019. ISSN 2053-1591. Available at: <<Go to ISI>://WOS:000488092800001 >.

SHIMAO, M. Biodegradation of plastics. **Current opinion in biotechnology**, v. 12, n. 3, p. 242-247, 2001. ISSN 0958-1669.

SIEPMANN, J.; LECOMTE, F.; BODMEIER, R. Diffusion-controlled drug delivery systems: calculation of the required composition to achieve desired release profiles. **Journal of Controlled Release**, v. 60, n. 2-3, p. 379-389, 1999. ISSN 0168-3659.

SIEPMANN, J.; SIEPMANN, F. Modeling of diffusion controlled drug delivery. **Journal of controlled release**, v. 161, n. 2, p. 351-362, 2012. ISSN 0168-3659.

SILVA, E. A. D. **Desenvolvimento e caracterização de blendas de polímeros biodegradáveis e polipirrol**. 2009. Universidade de São Paulo

SILVA, M.; DE OLIVEIRA, S.; ARAÚJO, E. Propriedades mecânicas e térmicas de sistemas de PLA e PBAT/PLA. **Revista eletrônica de materiais e processos**, v. 9, n. 2, 2014. ISSN 1809-8797.

SILVA, T. H.; DE OLIVEIRA, J. E.; DE MEDEIROS, E. S. PVC micro and nanofibers produced via solution blow spinning. **Polimeros**, v. 25, n. 2, p. 229-235, 2015. Available at: < <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84933046756&doi=10.1590/0104-1428.1694&partnerID=40&md5=2d7171a0f13e51ec71fd12eb0e31e4c4> >.

SILVERSTEIN, T. P. Polarity, miscibility, and surface tension of liquids. **Journal of Chemical Education**, v. 70, n. 3, p. 253, 1993. ISSN 0021-9584.

SIMOPOULOS, A. P. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. **Biomedicine & pharmacotherapy**, v. 56, n. 8, p. 365-379, 2002. ISSN 0753-3322.

SINGHVI, M. S.; ZINJARDE, S. S.; GOKHALE, D. V. Polylactic acid: synthesis and biomedical applications. **Journal of Applied Microbiology**, v. 127, n. 6, p. 1612-1626, Dec 2019. ISSN 1364-5072. Available at: < <Go to ISI>://WOS:000494982500002 >.

SOLARSKI, S.; FERREIRA, M.; DEVAUX, E. Characterization of the thermal properties of PLA fibers by modulated differential scanning calorimetry. **Polymer**, v. 46, n. 25, p. 11187-11192, 2005. ISSN 0032-3861. Available at: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032386105014692> >.

SOMORD, K. et al. Self-reinforced poly(lactic acid) nanocomposites of high toughness. **Polymer**, v. 103, p. 347-352, 2016. ISSN 0032-3861. Available at: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032386116308874> >.

SONCHAENG, U. et al. Poly(lactic acid) mass transfer properties. **Progress in Polymer Science**, v. 86, p. 85-121, Nov 2018. ISSN 0079-6700. Available at: < <Go to ISI>://WOS:000448099500003 >.

SPRECHER, H. Metabolism of highly unsaturated n-3 and n-6 fatty acids. **Biochem Biophys Acta**, v. 1486, p. 219-231, 2000.

STRAMARKOU, M. et al. Encapsulation of Rosemary Essential Oil into Biodegradable Polymers for Application in Crop Management. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 28, n. 8, p. 2161-2177, 2020. ISSN 1572-8919.

SWARBRICK, J. **Encyclopedia of pharmaceutical technology**. CRC Press, 2013. ISBN 1439808236.

TAHERI, A.; JAFARI, S. M. Gum-based nanocarriers for the protection and delivery of food bioactive compounds. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 269, p. 277-295, 2019. ISSN 0001-8686. Available at: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001868618303907> >.

TALARI, A. C. S. et al. Advances in Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy of biological tissues. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 52, n. 5, p. 456-506, 2017. ISSN 0570-4928.

TAN, C.; CHE MAN, Y. Differential scanning calorimetric analysis of edible oils: comparison of thermal properties and chemical composition. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 77, n. 2, p. 143-155, 2000. ISSN 0003-021X.

TEOH, C.-Y.; NG, W.-K. The implications of substituting dietary fish oil with vegetable oils on the growth performance, fillet fatty acid profile and modulation of the fatty acid elongase, desaturase and oxidation activities of red hybrid tilapia, *Oreochromis sp.* **Aquaculture**, v. 465, p. 311-322, 2016/12/01/ 2016. ISSN 0044-8486. Available at: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848616304793> >.

TOCHER, D. R. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids and aquaculture in perspective. **Aquaculture**, v. 449, p. 94-107, 2015. ISSN 0044-8486.

TOMECKA, E. et al. Poly((L)-lactic acid) and polyurethane nanofibers fabricated by solution blow spinning as potential substrates for cardiac cell culture. **Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications**, v. 75, p. 305-316, Jun 2017. ISSN 0928-4931. Available at: <<Go to ISI>://WOS:000400720800035 >.

TSUJI, H.; IKARASHI, K. In vitro hydrolysis of poly (l-lactide) crystalline residues as extended-chain crystallites: III. Effects of pH and enzyme. **Polymer degradation and stability**, v. 85, n. 1, p. 647-656, 2004. ISSN 0141-3910.

TSUJI, H.; MURAMATSU, H. Blends of aliphatic polyesters: V non-enzymatic and enzymatic hydrolysis of blends from hydrophobic poly (l-lactide) and hydrophilic poly (vinyl alcohol). **Polymer Degradation and Stability**, v. 71, n. 3, p. 403-413, 2001. ISSN 0141-3910.

TYLER, B. et al. Polylactic acid (PLA) controlled delivery carriers for biomedical applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 107, p. 163-175, Dec 2016. ISSN 0169-409X. Available at: <<Go to ISI>://WOS:000390505500010 >.

VALÉRIO, A. et al. Biopolymer-hydrophobic drug fibers and the delivery mechanisms for sustained release applications. **European Polymer Journal**, v. 112, p. 400-410, 2019. Available at: < <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85060008383&doi=10.1016/j.eurpolymj.2019.01.016&partnerID=40&md5=55d61407222e916a16d46b1b5f133> >.

VILCHES, J. L. et al. Fabrication of Fish Gelatin Microfibrous Mats by Solution Blow Spinning. **Materials Research**, v. 22, 2019-09-30 2019. ISSN 1516-1439.

WAGNER, J. G. Interpretation of percent dissolved-time plots derived from in vitro testing of conventional tablets and capsules. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 58, n. 10, p. 1253-1257, 1969. ISSN 0022-3549.

WANG, H. et al. Release kinetics and antibacterial activity of curcumin loaded zein fibers. **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 437-446, 2017. ISSN 0268-005X.

WANG, H.-S. et al. Oral bioaccessibility of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) through fish consumption, based on an in vitro digestion model. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, n. 21, p. 11517-11524, 2010. ISSN 0021-8561.

WANG, N.; YU, J.; MA, X. Preparation and characterization of compatible thermoplastic dry starch/poly (lactic acid). **Polymer Composites**, v. 29, n. 5, p. 551-559, 2008. ISSN 0272-8397.

WANG, S. et al. Encapsulation of amoxicillin within laponite-doped poly (lactic-co-glycolic acid) nanofibers: preparation, characterization, and antibacterial activity. **ACS applied materials & interfaces**, v. 4, n. 11, p. 6393-6401, 2012. ISSN 1944-8244.

WATANABE, M. et al. Study on enzymatic hydrolysis of polylactic acid by endogenous depolymerization model. **Macromolecular Theory and Simulations**, v. 16, n. 6, p. 619-626, 2007. ISSN 1022-1344.

WENG, Y.-X. et al. Biodegradation behavior of poly (butylene adipate-co-terephthalate)(PBAT), poly (lactic acid)(PLA), and their blend under soil conditions. **Polymer Testing**, v. 32, n. 5, p. 918-926, 2013. ISSN 0142-9418.

WILLIAMS, D.; ZHONG, S. Biodeterioration/biodegradation of polymeric medical devices in situ. **International biodeterioration & biodegradation**, v. 34, n. 2, p. 95-130, 1994. ISSN 0964-8305.

WILLIAMS, D. F. Enzymic hydrolysis of polylactic acid. **Engineering in Medicine**, v. 10, n. 1, p. 5-7, 1981. ISSN 0046-2039.

XU, X.-L. et al. Solution blowing of chitosan/PLA/PEG hydrogel nanofibers for wound dressing. **Fibers and Polymers**, v. 17, n. 2, p. 205-211, 2016. ISSN 1229-9197.

YUN, Y. H.; LEE, B. K.; PARK, K. Controlled Drug Delivery: Historical perspective for the next generation. **Journal of Controlled Release**, v. 219, p. 2-7, 2015. ISSN 0168-3659.

ZHANG, H. F. et al. Three dimensional printed polylactic acid-hydroxyapatite composite scaffolds for prefabricating vascularized tissue engineered bone: An in vivo bioreactor model.

Scientific Reports, v. 7, p. 13, Nov 2017. ISSN 2045-2322. Available at: <<Go to ISI>://WOS:000414917000021 >.

ZHANG, Y. et al. DDSolver: an add-in program for modeling and comparison of drug dissolution profiles. **The AAPS journal**, v. 12, n. 3, p. 263-271, 2010. ISSN 1550-7416.

ZHOU, H.; GREEN, T. B.; JOO, Y. L. The thermal effects on electrospinning of polylactic acid melts. **Polymer**, v. 47, n. 21, p. 7497-7505, 2006. ISSN 0032-3861. Available at: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032386106009955>>.