UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

PAULA BENOSO

**O pH influencia as propriedades reológicas, viscoelásticas e mecânicas de
soluções coloidais e géis a base de gelatinas e quitosana**

Pirassununga

2021

PAULA BENOSO

**O pH influencia as propriedades reológicas, viscoelásticas e mecânicas de
soluções coloidais e géis a base de gelatinas e quitosana**

(versão corrigida)

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências do programa de pós-graduação em Engenharia de Alimentos.

Área de Concentração: Ciências da Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Paulo José do Amaral Sobral

Pirassununga

2021

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

B473p Benoso, Paula
O pH influencia as propriedades reológicas,
viscoelásticas e mecânicas de soluções coloidais e
géis a base de gelatinas e quitosana / Paula Benoso
; orientador Paulo José do Amaral Sobral . --
Pirassununga, 2021.
115 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação
em Engenharia de Alimentos) -- Faculdade de
Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade
de São Paulo.

1. Blendas biopoliméricas. 2. Géis físicos. 3.
Potencial zeta. 4. Fluidos pseudoplásticos. 5.
Temperatura de transição. I. Sobral , Paulo José do
Amaral, orient. II. Título.

Dedico aos meus pais, Nelson e Cristina, os quais são responsáveis pela construção do meu caráter e nunca mediram esforços para me fazer feliz.

Obrigada pelo eterno apoio. Eu amo vocês.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela rica oportunidade de fazer um Mestrado, ampliar a minha capacidade de raciocínio, direcionar as minhas escolhas e colocar as pessoas certas no meu caminho.

Aos meus amados pais, Nelson e Cristina.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Paulo José do Amaral Sobral, pela imensa paciência, compreensão e disponibilidade. Faltariam linhas para descrever as qualidades do senhor, contudo expresso aqui a minha admiração e gratidão pelo crescimento pessoal e profissional que o senhor fez surgir em mim. Vou seguir os seus passos.

À Prof^a. Dra. Izabel Cristina Freitas Moraes, pelo carinho, paciência, conhecimento, disponibilidade, amizade e bom humor. A senhora é luz por onde passa.

Aos meus colegas do Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA), por toda ajuda e troca de experiências. Em especial à Andresa Gomes Brunassi e ao David Willian Bertan, pela ajuda profissional e espiritual.

À minha amiga, Lía Ethel Velásquez Castillo, por nunca medir esforços em me ajudar e sempre estar disponível. Nunca poderei agradecer o suficiente por todas as palavras e atitudes de apoio. Você terá minha eterna gratidão. Eu amo você.

À especialista em laboratório, Ana Mônica Barbosa Quinta Bittante, pela ajuda e conhecimento compartilhado.

Aos especialistas em laboratório, Rodrigo Vinícius Lourenço e Marcelo Thomazini.

À Prof^a. Dra. Samantha Cristina de Pinho, por disponibilizar seu laboratório para análises de potencial zeta.

Aos demais colegas, pelas palavras de amor, apoio e incentivo: Prof^a. Eliana Setsuko Kamimura, Larissa da Cunha Rodrigues, Sinthya Sussel e Bruna Guedes.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA/USP), pela oportunidade de desenvolver esta Dissertação.

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

“Confie no Senhor de todo o seu coração e não se apoie em seu próprio entendimento; reconheça o Senhor em todos os seus caminhos, e Ele endireitará as suas veredas.”

(Provérbios 3:5-6)

RESUMO

BENOSO, P. **O pH influencia as propriedades reológicas, viscoelásticas e mecânicas de soluções coloidais e géis a base de gelatinas e quitosana.** 2021. 115 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2021.

O objetivo geral desta Dissertação foi avaliar a influência do pH sobre as propriedades reológicas, viscoelásticas e mecânicas de soluções coloidais e de géis produzidos com blendas de gelatina e quitosana. Assim, esta dissertação foi dividida em dois estudos, um com soluções coloidais, outro com géis, ambos com diferentes pH: 3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5 e 6,0, sendo que o potencial zeta das soluções coloidais das blendas e dos biopolímeros puros foi determinado previamente. No primeiro estudo, soluções coloidais de gelatina suína tipo A (GeA), gelatina bovina tipo B (GeB), quitosana (Q), de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e de gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q), foram preparadas e caracterizadas para determinação de propriedades reológicas, por testes estacionários (curvas de fluxo), e propriedades viscoelásticas, por testes oscilatórios (varreduras de deformação, frequência e temperatura). No segundo experimento, géis foram convenientemente preparados a partir de soluções coloidais de GeA:Q e GeB:Q e caracterizados para determinação de propriedades mecânicas, por testes de compressão uniaxial, e propriedades viscoelásticas, por testes de relaxamento de tensão. O potencial zeta de todas as soluções coloidais diminuiu linearmente em função do aumento do pH. A solução Q apresentou o maior valor de potencial zeta, seguida das GeA:Q, GeB:Q, GeA e GeB. GeB foi a única que apresentou valores negativos em altos pH. Assim, o ponto isoelétrico (pI) da GeB foi calculado como 5,1. Ambas blendas apresentaram comportamento pseudoplástico, sendo que a tensão de cisalhamento das blendas GeB:Q foi 10 vezes maior do que a GeA:Q e, conseqüentemente, a blenda GeB:Q apresentou

viscosidade aparente 10 vezes maior do que a GeA:Q, para uma mesma taxa de deformação. Tanto a tensão de cisalhamento quanto a viscosidade aparente aumentaram em função do aumento do pH. Em relação às propriedades viscoelásticas, observou-se que as blendas GeB:Q apresentaram maiores valores dos módulos de perda (G'') e de armazenamento (G') que as GeA:Q, sendo que ambos aumentaram em função do aumento do pH. O início da região de viscoelasticidade linear (RVL) para GeA:Q e GeB:Q foi determinado em deformação de 3% e 5%, respectivamente. Segundo resultados dos testes de varredura de frequência, as blendas GeB:Q se comportaram como soluções diluídas. De acordo com os resultados dos testes de varredura de temperatura, as blendas GeB:Q apresentaram temperaturas de transição sol-gel e gel-sol maiores que as GeA:Q, sendo que, essas temperaturas de transição aumentaram em função do aumento do pH. Em relação aos géis, observou-se que os géis a base de GeB:Q apresentaram maiores tensão na ruptura e módulo de Young do que os géis GeA:Q, com valores que aumentaram em função do aumento do pH, contudo a deformação na ruptura não variou tão fortemente, variando entre 50 e 70%. G' e G'' foram maiores nos géis GeB:Q, contudo não se observou diferença significativa ($p > 0,05$) entre os valores de tempo de relaxamento das blendas. De maneira geral, o pH influenciou aumentando as propriedades reológicas, viscoelásticas e mecânicas das soluções e dos géis, contudo, o tipo de gelatina (A ou B) também influenciou o comportamento das blendas, com maior efeito na GeA:Q, como consequência da diferença de cargas entre elas.

Palavras-chave: blendas biopoliméricas; géis físicos; potencial zeta; fluidos pseudoplásticos; temperatura de transição.

ABSTRACT

BENOSO, P. The pH influences rheological, viscoelastic and mechanical properties of colloidal solutions and gels based on gelatins and chitosan.

2021. 115 f. M. Sc. Dissertation – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2021.

The main objective of this dissertation was to evaluate the influence of pH on the rheological, viscoelastic and mechanical properties of colloidal solutions and gels produced with blends of gelatin and chitosan. To this end, this dissertation was divided into two studies: one with colloidal solutions and the other with gels, both with different pH: 3.5; 4.0; 4.5; 5.0; 5.5 and 6.0. The zeta potential of colloidal solutions based in blends and in pure biopolymers was previously determined. In the first study, colloidal solutions of type A porcine gelatin (GeA), type B bovine gelatin (GeB), chitosan (CH), blends of type A gelatin with chitosan (GeA:CH), and type B gelatin with chitosan (GeB:CH) were prepared and characterized for the determination of rheological properties by stationary tests (flow curves) and of viscoelastic properties by oscillatory tests (sweeps of deformation and frequency and temperature scanning). In the second experiment, gels were conveniently prepared from colloidal solutions of GeA:CH and GeB:CH and characterized for determination of mechanical properties by uniaxial compression tests and viscoelastic properties by stress relaxation tests. The zeta potential of all colloidal solutions linearly decreased as a function of pH. The CH solution had the highest zeta potential value, followed by GeA:CH, GeB:CH, GeA and GeB. The GeB being the only solution to show negative values at high pH. Thus, the isoelectric point (pI) of GeB was calculated as 5.1. Both blends showed pseudoplastic behavior, and the shear stress of the GeB:CH blends was 10 times greater than that of GeA:CH, and consequently, the GeB:CH blend had an apparent viscosity 10 times

greater than that of GeA:CH for the same strain rate. Both shear stress and apparent viscosity increased as a function of pH. Regarding the viscoelastic properties, it was observed that the GeB:CH blends presented higher loss (G'') and storage (G') modulus values than the GeA:CH blends, both of which increased as a function of pH. The beginning of the linear viscoelasticity region (RVL) for GeA:CH and GeB:CH was determined at 3% and 5% strain, respectively. According to the results of the frequency sweep tests, the GeB:CH blends behaved like diluted solutions. According to the results of the temperature scanning tests, the GeB:CH blends showed higher sol-gel and gel-sol transition temperatures than the GeA:CH blends, and these transition temperatures increased as a function of pH. Regarding the gels, it was observed that the GeB:CH-based gels had higher stress at break and Young's modulus than the GeA:CH gels, with values that increased as a function of pH; however, the deformation at break did not vary so strongly, ranging between 50 and 70%. G' and G'' were higher in GeB:CH gels, but there was no significant difference ($p > 0.05$) between the relaxation time values of the blends. In general, the pH influenced increasing the rheological, viscoelastic and mechanical properties of the solutions and gels; however, the type of gelatin (A or B) also influenced the behavior of the blends, with a more important effect for GeA:CH, as consequence of the difference of charge between them.

Keywords: biopolymeric blends; physical gels; zeta potential; pseudoplastic fluids; transition temperature.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Classificação dos biopolímeros de acordo com a origem, biodegradabilidade, cadeia, tipo de monômero e resposta térmica...	23
Figura 2 – Estrutura química da quitina e da quitosana após o processo de desacetilação.....	25
Figura 3 – Esquema da transição gel-sol (aquecimento) e sol-gel (resfriamento) de gelatina em solução coloidal.....	30
Figura 4 – Representação esquemática dos tipos de arranjos estruturais que podem ocorrer com a mistura entre proteínas e polissacarídeos.	36
Figura 5 – Pontos de junção (em vermelho) característicos de redes formadas em géis químicos (esquerda) e zonas de junção (em azul) características de redes formadas em géis físicos (direita).....	40
Figura 6 – Gel formado a partir do resfriamento da mistura das soluções coloidais de gelatina e quitosana.....	42
Figura 7 – Representação da dupla camada elétrica presente na superfície de uma partícula carregada quando em solução.....	42
Figura 8 – Curvas de fluxo características de diferentes tipos de fluidos obtidas no teste estacionário, representando os fluidos Newtonianos, pseudoplásticos, dilatantes, plásticos de Bingham e Herschel-Bulkley.	44
Figura 9 – Ensaio oscilatório demonstrando os diferentes comportamentos da tensão com a deformação para três tipos de materiais: sólidos perfeitamente elásticos (ângulo de defasagem igual a 0°), líquidos puramente viscosos (ângulo de defasagem igual a 90°) e materiais viscoelásticos (ângulo de defasagem variando entre 0° e 90°).....	48
Figura 10 – (A): Representação de um material viscoelástico em formato cilíndrico de diâmetro e altura definidos (esquerda) e o seu comportamento após submetido a um ensaio de compressão uniaxial (direita). (B): Gráfico característico de um teste de compressão uniaxial [(I): região de viscoelasticidade linear; (II): região não linear; (III): ponto de fratura].	50
Figura 11 – Modelos simples da teoria da viscoelasticidade linear dos materiais.	51

- Figura 12 – Resposta de um material viscoelástico quando submetido a um teste de relaxamento de tensão. À esquerda está a deformação imposta pelo equipamento e à direita a resposta do material frente esta deformação.53
- Figura 13 – Representação esquemática da obtenção das soluções coloidais de gelatina, soluções coloidais de quitosana e soluções coloidais de blendas de gelatina com quitosana em pH diferentes (3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5 e 6,0).56
- Figura 14 – Representação esquemática da preparação dos géis de blendas de gelatina e quitosana em 6 pH diferentes (3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5 e 6,0). ..58
- Figura 15 – Potencial zeta de soluções coloidais gelatina suína tipo A (●), gelatina bovina tipo B (■), quitosana (▲) e de blendas de gelatina tipo A com quitosana (●) e gelatina tipo B com quitosana (◆), em função do pH. As linhas tracejadas representam valores calculados com a Eq. (10). .63
- Figura 16 – Soluções coloidais de blendas de gelatina tipo B com quitosana em diferentes pH previamente às análises reológicas.68
- Figura 17 – Exemplos de curvas de fluxo de soluções coloidais de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:B) e de gelatina de tipo B com quitosana (GeB:Q) em diferentes pH: 3,5 (●); 4,0 (●); 4,5 (●); 5,0 (●); 5,5 (●) e 6,0 (●), a 30 e 40 °C, respectivamente. As linhas tracejadas representam valores calculados com a Eq. (1).70
- Figura 18 – Parâmetros do Modelo Lei da Potência [Eq. (1)]: índice de consistência (k), índice de escoamento (n) de soluções coloidais de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e de gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) em diferentes pH, a 30 e 40 °C, respectivamente. As linhas tracejadas representam valores calculados com as Eq. (10) e (11), para GeA:Q e GeB:Q, respectivamente.72
- Figura 19 – Viscosidade aparente em função da taxa de deformação de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) em diferentes pH: 3,5 (▲); 4,0 (▲); 4,5 (▲); 5,0 (▲); 5,5 (▲) e 6,0 (▲), a 30 e 40 °C, respectivamente.74
- Figura 20 – Módulo de perda (G'') e módulo de armazenamento (G') em função da deformação de soluções coloidais de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) preparadas em diferentes pH: 3,5 (■,□); 4,0 (●,○); 4,5 (▲,△); 5,0 (■,□); 5,5 (●,○) e 6,0 (▲,△), a 30 e 40 °C, respectivamente.76

- Figura 21 – Módulos de armazenamento (G') e de perda (G'') de soluções coloidais de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) preparadas em diferentes pH, determinados a 3 e 5% de deformação e a 30 e 40 °C, respectivamente: G' (■; ■) e G'' (■; ■). As linhas tracejadas representam valores calculados com a Eq. (10).79
- Figura 22 – Módulos de armazenamento (G') e perda (G'') de soluções coloidais de blendas de gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) preparadas em diferentes pH: 3,5 (◆; ◆); 4,0 (◆; ◆); 4,5 (◆; ◆); 5,0 (◆; ◆); 5,5 (◆; ◆) e 6,0 (◆; ◆), em função da frequência, a 40 °C.80
- Figura 23 – Tangente do ângulo de defasagem ($\tan\delta$) de soluções coloidais de blendas de gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) preparadas em diferentes pH: 3,5 (●); 4,0 (●); 4,5 (●); 5,0 (●); 5,5 (●) e 6,0 (●), em função da frequência, a 40 °C.82
- Figura 24 – Tangente do ângulo de defasagem ($\tan\delta$) calculada a 1 Hz de frequência para soluções coloidais de blendas de gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q), em função do pH, a 40 °C.82
- Figura 25 – Módulos de armazenamento (G') e de perda (G'') de soluções coloidais de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) preparadas em diferentes pH: 3,5 (—); 4,0 (—); 4,5 (—); 5,0 (—); 5,5 (—); 6,0 (—), em função da temperatura. Taxa de aquecimento de 2 °C/min.84
- Figura 26 – Módulos de armazenamento (G') e de perda (G'') de soluções coloidais de blendas de gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) preparadas em diferentes pH: 3,5 (—); 4,0 (—); 4,5 (—); 5,0 (—); 5,5 (—); 6,0 (—), em função da temperatura. Taxa de aquecimento de 2 °C/min.85
- Figura 27 – Exemplo de gel de blenda de gelatina tipo B com quitosana a 5 °C e pH 4,0 antes e após o teste de compressão uniaxial.92
- Figura 28 – Curvas de compressão uniaxial de géis de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) preparados em diferentes pH: 3,5 (—); 4,0 (—); 4,5 (—); 5,0 (—); 5,5 (—) e 6,0 (—), a 5 °C.93
- Figura 29 – Tensão na ruptura de géis de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) preparados em diferentes pH, a 5 °C. As linhas tracejadas representam valores calculados com a Eq. (10).94

- Figura 30 – Deformação na ruptura de géis de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) preparados em diferentes pH, a 5 °C. As linhas tracejadas representam valores calculados com a Eq. (10).95
- Figura 31 – Módulo de Young de géis de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) preparados em diferentes pH, a 5 °C. As linhas tracejadas representam valores calculados com a Eq. (10).96
- Figura 32 – Curvas de relaxamento de tensão de géis de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) preparados em diferentes pH: 3,5 (—); 4,0 (—); 4,5 (—); 5,0 (—); 5,5 (—) e 6,0 (—), a 10% de deformação e a 5 °C. Linhas tracejadas representam valores calculados com a Eq. (8).99

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Exemplos de polissacarídeos de diversas origens.....	24
Tabela 2 – Utilização da gelatina de acordo com o tipo, concentração e funções de interesse.....	28
Tabela 3 – Exemplos de pesquisas envolvendo blendas de gelatina e quitosana	32
Tabela 4 – Classificação de sistemas coloidais de acordo com o estado da fase dispersa e do meio dispersante.....	38
Tabela 5 – Parâmetros da Eq. (10) calculados por regressão linear com os dados de potencial zeta (y) e pH (x) das soluções coloidais gelatina suína tipo A (GeA), gelatina bovina tipo B (GeB), quitosana (Q) e de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e de gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q). E, r^2 é o coeficiente de correlação da regressão. .	64
Tabela 6 – Parâmetros das Eq. (10) e (11) calculados por regressão linear e não linear, respectivamente, com os dados do índice de consistência (k) e índice de escoamento (n) em função do pH, das soluções coloidais de blendas de gelatina tipo A com quitosana [(GeA:Q, Eq. (10)] e de gelatina tipo B com quitosana [(GeB:Q, Eq. (11)]. E r^2 é o coeficiente de correlação da regressão.....	73
Tabela 7 – Parâmetros da Eq. (10) calculados por regressão linear com os dados de G' e G'' (y) e pH (x) das soluções coloidais de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e de gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q). r^2 é o coeficiente de correlação da regressão.....	78
Tabela 8 – Temperaturas de transição sol-gel ($T_{\text{sol-gel}}$) e gel-sol ($T_{\text{gel-sol}}$) e histerese (ΔT) de soluções coloidais de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) preparadas em diferentes pH.....	87
Tabela 9 – Módulos de armazenamento (G') e de perda (G''), a 5 e 30 °C, de soluções coloidais de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) preparadas em diferentes pH.....	89
Tabela 10 – Módulos de armazenamento (G') e de perda (G'') a 5 e 40 °C de soluções coloidais de blendas de gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) preparadas em diferentes pH.....	90
Tabela 11 – Parâmetros da Eq. (10) calculados por regressão linear com os dados das propriedades mecânicas (y) e pH (x) de géis de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q). r^2 é o coeficiente de correlação da regressão.....	97

Tabela 12 – Propriedades viscoelásticas [módulo de relaxamento: $G(t)$, e tempo de relaxamento: λ] calculados por regressão não-linear do modelo de Maxwell [Eq. (8)] de géis de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) preparados em diferentes pH, a 5 °C. r^2 é o coeficiente de correlação da regressão.

..... 100

LISTA DE ABREVIACÕES

GeA = Gelatina suína tipo A

GeB = Gelatina bovina tipo B

GeA:Q = Blenda gelatina tipo A com quitosana

GeB:Q = Blenda gelatina tipo B com quitosana

Q = Quitosana

RVL = Região de viscoelasticidade linear

$T_{\text{gel-sol}}$ = Temperatura de transição gel-sol

$T_{\text{sol-gel}}$ = Temperatura de transição sol-gel

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
2 OBJETIVOS	21
2.1 OBJETIVO GERAL	21
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
3.1 BIOPOLÍMEROS	22
3.2 QUITOSANA	24
3.3 GELATINA	26
3.4 BLENDA BIOPOLIMÉRICAS	30
3.5 INTERAÇÕES ENTRE PROTEÍNAS E POLISSACARÍDEOS	35
3.6 SOLUÇÕES COLOIDAI DE BIOPOLÍMEROS	38
3.7 GÉIS	39
3.8 POTENCIAL ZETA DE BIOPOLÍMEROS	42
3.9 REOLOGIA	43
3.9.1 Testes estacionários: curvas de fluxo	43
3.9.2 Testes dinâmicos	46
3.10 Testes mecânicos	49
3.10.1 Testes de compressão uniaxial	49
3.10.2 Testes de relaxamento de tensão	51
4 MATERIAL E MÉTODOS	55
4.1 MATERIAL E REAGENTES	55
4.2 PREPARO DAS SOLUÇÕES COLOIDAI	55
4.2.1 Preparo das soluções coloidais de gelatina	56
4.2.2 Preparo das soluções coloidais de quitosana	57
4.2.3 Preparo das soluções coloidais de blendas de gelatina e quitosana	57
4.2.4 Preparo de géis a base de gelatina e quitosana	57
4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS SOLUÇÕES COLOIDAI DE GELATINA, QUITOSANA E DE BLENDA DE GELATINA E QUITOSANA	58
4.3.1 Potencial zeta	58
4.3.2 Propriedades reológicas e viscoelásticas	59
4.3.2.1 Curvas de fluxo	59
4.3.2.2 Testes de varredura de deformação	59

4.3.2.3 Testes de varredura de frequência	60
4.3.2.4 Testes de varredura de temperatura	60
4.4 CARACTERIZAÇÃO DE GÉIS PRÉ-FORMADOS	61
4.4.1 Testes de compressão uniaxial	61
4.4.2 Testes de relaxamento de tensão	61
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	62
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
5.1 ESTUDO DO EFEITO DO pH DAS SOLUÇÕES COLOIDAIIS SOBRE O POTENCIAL ZETA	63
5.2 ESTUDO DO EFEITO DO pH SOBRE AS PROPRIEDADES REOLÓGICAS E VISCOELÁSTICAS DE SOLUÇÕES COLOIDAIIS DE BLENDA DE GELATINA E QUITOSANA	67
5.2.1 Propriedades reológicas por testes estacionários	68
5.2.1.1 Curvas de fluxo	68
5.2.1.2 Viscosidade aparente	73
5.2.2 Propriedades viscoelásticas por testes oscilatórios	75
5.2.2.1 Varredura de deformação	75
5.2.2.2 Varredura de frequência	78
5.2.2.3 Varredura de temperatura	83
5.2.2.3.1 <i>Temperaturas de transição sol-gel e gel-sol</i>	86
5.2.2.3.2 <i>Módulos de armazenamento e de perda nos domínios sol e gel</i>	88
5.3 ESTUDO DO EFEITO DO pH SOBRE AS PROPRIEDADES MECÂNICAS E VISCOELÁSTICAS DE GÉIS PRÉ-FORMADOS DE BLENDA DE GELATINA E QUITOSANA	91
5.3.1 Propriedades mecânicas por testes de compressão uniaxial	91
5.3.2 Propriedades viscoelásticas por testes de relaxamento de tensão	98
6 CONCLUSÃO	102
7 REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO	104
APÊNDICE A	114
APÊNDICE B	115

1 INTRODUÇÃO

Os biopolímeros são macromoléculas sintetizadas por células (HORUE et al., 2021). Dentre os biopolímeros, as proteínas e os polissacarídeos têm atraído o interesse de pesquisadores, fora do domínio da nutrição, devido ao seu potencial como matérias-primas para desenvolvimento de novos materiais (RAJESWARI et al., 2020). Entretanto, nem sempre um único biopolímero possibilitará o desenvolvimento de materiais com propriedades interessantes. Assim, o emprego de blendas biopoliméricas tem também despertado interesse na tecnologia de géis e filmes biodegradáveis (CHENG et al., 2003).

As propriedades de sistemas a base de blendas de biopolímeros estão relacionadas com as interações entre essas macromoléculas, via grupos funcionais apolares, polares e principalmente, iônicos (SAHRAEE; MILANI, 2020). Nesse último caso, as interações podem ser fortemente influenciadas pelo pH, principalmente quando se trata de blendas formadas por biopolímeros polieletrólitos, como é o caso da gelatina e da quitosana (SAHRAEE; MILANI, 2020), os quais são amplamente utilizados na indústria de alimentos devido às suas propriedades funcionais interessantes (STAROSZCZYK et al., 2014).

O conhecimento das interações entre proteínas e polissacarídeos é muito importante para se prever as propriedades macroscópicas dos produtos alimentares contendo esses aditivos (YE; CHEN, 2019). Portanto, a caracterização reológica e mecânica de blendas de gelatina e quitosana em função do pH e do tipo de gelatina, permitirá conhecer melhor a intensidade e a natureza das interações entre esses biopolímeros. Assim, esse foi o objetivo desta Dissertação, como apresentado mais adiante.

Inicialmente, previa-se um estudo mais amplo, entretanto, em consequência do período da pandemia, esta dissertação foi concluída apenas com estudos de propriedades reológicas, viscoelásticas e mecânicas de soluções coloidais e de géis pré-formados de blendas de gelatina e quitosana.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral da presente Dissertação foi avaliar a influência do pH sobre as propriedades reológicas e mecânicas de soluções coloidais e de géis produzidos com gelatina e quitosana e suas blendas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar o efeito do pH sobre o potencial zeta de soluções coloidais de gelatina tipo A (GeA), gelatina tipo B (GeB), quitosana (Q), e blendas GeA:Q e GeB:Q.
- Estudar o efeito do pH sobre as propriedades reológicas de soluções coloidais de blendas GeA:Q e GeB:Q, com testes estacionários e oscilatórios.
- Estudar o efeito do pH sobre as propriedades mecânicas e viscoelásticas de géis de blendas GeA:Q e GeB:Q, por testes de compressão uniaxial e relaxamento de tensão, respectivamente.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 BIOPOLÍMEROS

Desde 1930, os monômeros obtidos a partir do petróleo resultaram na produção de vários produtos utilizados na vida cotidiana, na agricultura e em diversos setores da indústria (IBRAHIM et al., 2019). Contudo a crescente preocupação com problemas ambientais ocasionados por esses produtos tem provocado estudos sobre a utilização de polímeros naturais provenientes de fontes renováveis (SILVA et al., 2020). Neste contexto, os biopolímeros se apresentam como ótimos candidatos para a substituição de polímeros sintéticos. Por isso, pesquisas relacionadas com a aplicação de biopolímeros em material de embalagem, por exemplo, vem crescendo gradualmente, apesar deles ainda representarem uma pequena fração do mercado polimérico (IBRAHIM et al., 2019).

Os biopolímeros podem ser considerados como sustentáveis e renováveis, além de serem biodegradáveis e compostáveis, se decompondo até 90% em 6 meses (SAHA; HOQUE; MAHBUB, 2020), diferentemente dos plásticos sintéticos a base de polímeros oriundos da petroquímica (HAMOUDA, 2021). Devido a isso, existe uma estimativa de que a capacidade para produção de biopolímeros cresça de 2,05 milhões de toneladas em 2017, para aproximadamente 2,62 milhões de toneladas em 2023 (IBRAHIM et al., 2019).

Segundo Ibrahim e El-Zairy (2015), os biopolímeros podem ser classificados de acordo com: (i) origem, como naturais, sintéticos e microbianos; (ii) biodegradabilidade, podendo ser biodegradáveis e não biodegradáveis, onde dentro desta última classificação eles podem se subdividir com base biológica e sem base biológica; (iii) cadeia molecular, como poliésteres, polissacarídeos, proteínas, policarbonatos, poliamidas e polímeros vinílicos; (iv) tipo de

monômero; (v) resposta ao calor, como elastômeros, termoplásticos e termofixos (Figura 1).

Figura 1 - Classificação dos biopolímeros de acordo com a origem, biodegradabilidade, cadeia, tipo de monômero e resposta térmica.

Fonte: Adaptado de Ibrahim e El-Zairy (2015).

Os biopolímeros de interesse nesta dissertação são de origem biológica, como os polissacarídeos e as proteínas. Os polissacarídeos são carboidratos compostos por longas cadeias de monossacarídeos unidos por ligações glicosídicas (Tabela 1). Normalmente, eles são lineares, mas pode haver algum tipo ramificado, podem ser polieletrólitos, mas de uma única carga, e podem ser formados por mais de um monômero. Além disso, eles podem apresentar uma considerável quantidade de grupos funcionais reativos (hidroxila, carboxila, amina), que aumentam a sua aplicabilidade via modificações químicas e físicas (SILVA et al., 2020).

As proteínas são biopolímeros lineares, polieletrólitos anfóteros, formados por aminoácidos unidos via ligações peptídicas (SILVA et al., 2020). Trata-se portanto de um heteropolímero, cujas unidades monoméricas podem ser 21 aminoácidos diferentes, e cuja composição define as suas propriedades funcionais (CAGRI; USTUNOL; RYSER, 2004). As proteínas têm sido usadas em

diversas aplicações devido à sua grande disponibilidade na natureza, relativo baixo preço, biodegradabilidade e excelente compatibilidade (SILVA et al., 2020).

Tabela 1 – Exemplos de polissacarídeos de diversas origens.

Origem	Polissacarídeo
Algas	Alginato, agarose, carragena, fucoidan, ulvana
Plantas	Celulose, amido
Microorganismos	Celulose bacteriana, dextrana, goma gelana
Animais	Quitina, quitosana

Fonte: Adaptado de Silva et al. (2020).

A biodegradabilidade dos biopolímeros é um dos principais fatores que impulsionam seu interesse tecnológico, contudo aspectos como estabilidade térmica e viscosidade de suas soluções coloidais também são muito importantes em termos tecnológicos (RAJESWARI; STOBEL CHRISTY; PIUS, 2021).

3.2 QUITOSANA

A quitosana é um aminopolissacarídeo (CRINI; BADOT, 2008; GONÇALVES; FREITAS, 2019) obtido a partir da quitina, composta pelos copolímeros β -(1→4)-2-amino-2-desoxi-D-glicose e β -(1→4)-2-acetamida-2-desoxi-D-glicose, que possuem grupos amino e hidroxila primário e secundário (TORRES et al., 2005). A desacetilação, isto é, a remoção do grupo acetamida (em vermelho na Figura 2) da quitina, resulta na quitosana (RIOS, 2018). A quitina é o principal componente da parede celular dos invertebrados, estando presente no exoesqueleto de insetos, crustáceos, fungos e leveduras (CHEN et al., 2021; ÖZEL; ELIBOL, 2021), sendo que a principal fonte em termos industriais são os crustáceos (ÖZEL; ELIBOL, 2021).

Figura 2 - Estrutura química da quitina e da quitosana após o processo de desacetilação.

Fonte: Rios (2018).

A quitosana é insolúvel em água, mas é solúvel na maioria das soluções de ácidos orgânicos com pH inferior a 6,0, sendo os ácidos acético e fórmico os mais utilizados (DAMIAN et al., 2005). Alguns ácidos inorgânicos diluídos como os ácidos nítrico, clorídrico, perclórico e fosfórico também podem ser utilizados para preparar uma solução de quitosana, mas somente após prolongado aquecimento e agitação (DAMIAN et al., 2005).

A viscosidade da solução de quitosana pode ser influenciada por fatores como grau de desacetilação, peso molecular, concentração, força iônica, pH e temperatura. Especial interesse deve ser dado ao efeito do pH, pois a viscosidade pode ser diferente dependendo do tipo de ácido utilizado (DAMIAN et al., 2005). Segundo Damian et al. (2005), a viscosidade da quitosana tende a aumentar com a diminuição do pH com o emprego do ácido acético, enquanto que a viscosidade tende a diminuir com a diminuição do pH quando se utiliza o ácido clorídrico.

A quitosana é um polieletrólito catiônico moderadamente básico ($pK_a = 6,3$) formando sais com ácidos (DAMIAN et al., 2005), isto quer dizer que em pH menores do que o pK_a , os grupos aminas estarão protonados, resultando em cargas positivas, e consequentemente aumentando a hidrofilicidade, favorecendo a sua interação com o meio aquoso (WANG et al., 2006). Sendo assim, devido a solubilidade da quitosana estar intimamente relacionada com os

grupos aminos, o grau de desacetilação é fundamental para a solubilidade da quitosana (BEIL et al., 2012; MEDEIROS, 2013).

O grau de desacetilação é uma das principais características da quitosana, pois ele determina a quantidade de grupos aminos livres no polissacarídeo, diferenciando-o da quitina e influenciando principalmente a sua solubilidade, que pode variar entre 70 e 95%, dependendo da metodologia utilizada (DAMIAN et al., 2005).

O número de hidroxilas presente e a quantidade dos grupos reativos amina na quitosana permitem a formação de ligações de hidrogênio intra e intermoleculares, resultando na formação de agregados lineares com elevada cristalinidade (HARISH PRASHANTH; THARANATHAN, 2007; CHADHA, 2021). Os grupos aminos também podem ser responsáveis pelas interações químicas ou físicas com outras moléculas, como polímeros, nanopartículas, medicamentos e células (NURUNNABI et al., 2017), permitindo que a quitosana seja utilizada para a formação de filmes, géis, microesferas (MEDEIROS, 2013), scaffolds (YIN; DIVAKAR; WEGST, 2021), e expandindo sua utilização para as áreas biomédica, agricultura, alimentos, enriquecimento nutricional, cosméticos, tratamento de resíduos, entre outros (IBRAHIM; EL-ZAIRY, 2015). Além da capacidade de interagir com outras moléculas, a quitosana possui propriedades biotecnológicas, como biocompatibilidade, biodegradabilidade, não toxicidade (IBRAHIM; EL-ZAIRY, 2015), ser bactericida e fungicida (BARBOSA; PÊGO; AMARAL, 2011; ZIVANOVIC; DAVIS; GOLDEN, 2015), possuir capacidade quelante, habilidade para formar filmes (WANG; QIAN; DING, 2018), géis (WANI; MASOODI; AKHTER, 2021) e soluções formadoras de revestimento (LIU et al., 2021a).

3.3 GELATINA

A gelatina é um polipeptídeo de alto peso molecular obtido pela hidrólise parcial do colágeno, uma proteína fibrosa linear insolúvel em água encontrada

nos ossos, couro, pele ou outras fontes de tecido conjuntivo de animais (MOHTAR; PERERA; QUEK, 2010). Dois tipos de gelatina podem ser obtidos: gelatina tipo A, obtida por hidrólise ácida, e gelatina tipo B, por hidrólise básica (GOMEZ-GUILLEN et al., 2011), com pontos isoelétricos (pI) entre 8,0 e 9,0, e 4,8 e 5,5, respectivamente (SCHRIEBER; GAREIS, 2007). Abaixo do pI, elas terão predominantemente cargas líquidas positivas, e terão cargas líquidas negativas acima do pI.

O peso molecular da gelatina varia entre 10 e 400 kDa. Ele pode influenciar a viscosidade de uma solução, sendo que maiores pesos moleculares ocasionam a formação de soluções mais viscosas, e o seu poder gelificante, sendo que geralmente as gelatinas de alto peso molecular possuem alto poder gelificante (SCHRIEBER; GAREIS, 2007).

A gelatina pode ser utilizada em alimentos como emulsificante, espumante, estabilizadora de espuma, microencapsulante, embalagem biodegradável, entre outros (GOMEZ-GUILLEN et al., 2011; MARIOD; ADAM, 2013; GE et al., 2021). E, na maioria dessas aplicações, é importante o conhecimento de suas propriedades viscoelásticas. A gelatina é um hidrocoloide muito utilizado pela indústria por ter excelentes propriedades funcionais, relativamente de baixo custo, e ser produzida em todo o mundo (WILLIAMS; PHILLIPS, 2000) (Tabela 2).

Tabela 2 – Utilização da gelatina de acordo com o tipo, concentração e funções de interesse.

Continua...

Aplicação	Bloom	Concentração (%)	Principal função	Função secundária
Sobremesas	200 a 260	1,5 a 3,0	Formação de gel	Textura, transparência, brilho
Gomas de frutas	200 a 280	6,0 a 10,0	Formação de gel	Textura, elasticidade, transparência, brilho
Marshmallows	160 a 260	1,0 a 3,0	Formação de espuma	Estabilizador de espuma, formação de gel
Torrões	180 a 220	1,5 a 3,0	Formação de espuma	Estabilizador de espuma, formação de gel
Pastilhas	160 a 220	1,0 a 2,0	Agente ligante	Textura, melhoramento das propriedades de derretimento na boca, prevenir desintegração
Caramelos	140 a 200	0,5 a 2,5	Emulsificante, estabilizador de espuma	Mastigabilidade
Iogurtes	220 a 260	0,2 a 1,0	Estabilizador de sinérese	Textura, cremosidade
Sobremesas de leite espumado	180 a 240	0,3 a 3,0	Formação de espuma	Textura, estabilização

Tabela 2 – Utilização da gelatina de acordo com o tipo, concentração e funções de interesse.

Conclusão...

Aplicação	Bloom	Concentração (%)	Principal função	Função secundária
Sobremesas de leite gelatinosas	180 a 240	1,0 a 2,0	Formação de gel	Textura, cremosidade
Patês	240 a 280	0,3 a 1,5	Estabilizador de emulsão	Textura, cremosidade
Carnes e salsichas	220 a 260	0,5 a 2,0	Estabilizador de emulsão	Ligante de água
Caldos e carnes enlatadas	220 a 260	0,5 a 2,0	Agente ligante	Textura, fatiamento

Fonte: Adaptado de Schrieber e Gareis (2007).

Soluções coloidais de gelatina formam géis reversíveis no resfriamento, ou seja, que volta a ser uma solução quando aquecida, sendo isso uma característica ímpar frente a outros hidrocoloides (SCHRIEBER; GAREIS, 2007). A transição sol-gel ou gel-sol envolve alterações na configuração molecular da gelatina em água (Figura 3).

Figura 3 – Esquema da transição gel-sol (aquecimento) e sol-gel (resfriamento) de gelatina em solução coloidal.

Fonte: Própria autoria.

A gelatina é comercializada na forma de grânulos ou pó, é solúvel em água com aquecimento, não tem sabor e odor (TYUFTIN; KERRY, 2021), é biocompatível, biodegradável (GE et al., 2018), e não tóxica (SCHRIEBER; GAREIS, 2007). A maior parte da gelatina comercial é derivada de fontes de mamíferos, principalmente da pele de suínos e dos ossos bovinos (MOHTAR; PERERA; QUEK, 2010, ABDULLAH SANI et al., 2021).

3.4 BLENDAIS BIOPOLIMÉRICAS

Com a finalidade de ajustar as propriedades dos biopolímeros para a aplicação pretendida, uma ampla variedade de abordagens são utilizadas para a sua modificação, como adição de plastificantes, modificações químicas, e formação de blendas, dentre outras (RAJESWARI; STOBEL CHRISTY; PIUS, 2021).

A adição de plastificante, de interesse na tecnologia de filmes, geralmente é feita para melhorar a processabilidade, isto é, para permitir a produção de materiais de baixa umidade flexíveis (não quebradiços). Os plastificantes, compostos de baixo peso molecular, diminuem as interações intermoleculares entre cadeias adjacentes do biopolímero, promovendo mudanças conformacionais que implicam em aumento da deformabilidade do material (IMRE; PUKÁNSZKY, 2013). Por outro lado, as modificações químicas podem ser feitas nas cadeias dos biopolímeros para resolver problemas relacionados com a incompatibilidade ou imiscibilidade entre eles, ou para conferir novas características (IMRE; PUKÁNSZKY, 2013). A reticulação, usando-se compostos bifuncionais, é a modificação mais comum na tecnologia de filmes biopoliméricos.

A formação de blendas, por sua vez, consiste na mistura física de polímeros diferentes, que interagem através de forças secundárias sem ligações covalentes, e que são miscíveis a nível molecular, sendo que essa miscibilidade pode ser devido a interações específicas, como ligações de hidrogênio, forças de dipolo-dipolo, transferência de cargas, entre outros (RAJESWARI et al., 2020). Esta técnica de mistura não requer investimentos caros, podendo ser realizada em equipamentos convencionais (RAJESWARI; STOBEL CHRISTY; PIUS, 2021).

O objetivo do desenvolvimento de blendas biopoliméricas pode ser a maximização do desempenho de um material, diminuição da sensibilidade à água, redução de custos e melhoria de propriedades específicas, permitindo a obtenção de materiais mais flexíveis e maleáveis, com maiores biocompatibilidade e degradabilidade, e consequentemente, permitindo a sua aplicação em uma ampla gama de setores industriais (RAJESWARI; STOBEL CHRISTY; PIUS, 2021). Como nesta dissertação se pretende trabalhar com blendas de gelatina e quitosana, apresenta-se na Tabela 3, uma relação de trabalhos e aplicações dessas blendas.

Tabela 3 – Exemplos de pesquisas envolvendo blendas de gelatina e quitosana

Continua...

Tipo de blenda	Aplicação	Setor industrial	Propriedade	Referência
Solução de revestimento	Carne bovina	Alimentício	Diminuição da perda de peso, oxidação lipídica, crescimento microbiano; aumento vida de prateleira e preservação da cor.	(CARDOSO et al., 2019)
Filme	Embalagem de tomate e uva	Alimentício	Melhoramento das propriedades funcionais e mecânicas.	(SAMSI et al., 2019)
Solução	Microencapsulação de 1-tetradecanol	Ambiental e bioenergético	Proteção do encapsulado, Estabilidade térmica, eficiência de encapsulação.	(QIN; LI; HU, 2021)
Scaffold	Regeneração do tecido hepático	Medicina, biomateriais, engenharia de tecidos	Poros grandes, alta absorção de água, ótimas propriedades mecânicas, suporte ao crescimento de hepatócitos.	(HARWATE et al., 2021)
Nanofibras	Imitação da matriz extracelular natural	Biomateriais	Morfologia uniforme, melhoramento das propriedades elásticas.	(WANG; ZHAO, 2012)

Tabela 3 – Exemplos de pesquisas envolvendo blendas de gelatina e quitosana

Continua...

Tipo de blenda	Aplicação	Setor industrial	Propriedade	Referência
Scaffold	Transporte adequado e proliferação de células tronco mesenquimais	Medicina, biomateriais, engenharia de tecidos	Suporte para as células tronco mesenquimais se ligar, proliferar e espalhar.	(KARIMIAN; MASHAYEKHAN; BANIASADI, 2016)
Scaffold	Matriz biopolimérica	Medicina, biomateriais, engenharia de tecidos	Maior elasticidade e tamanho dos poros.	(PEREZ-PUYANA et al., 2020)
Nanofibras	Filmes comestíveis	Alimentício, biomateriais	Nanofibras finas, elevada estabilidade térmica, melhoramento das propriedades mecânicas de filmes comestíveis.	(EBRAHIMI; FATHI; KADIVAR, 2019)

Tabela 3 – Exemplos de pesquisas envolvendo blendas de gelatina e quitosana

					<i>Conclusão...</i>
Tipo de blenda	Aplicação	Setor industrial	Propriedade	Referência	
Nanofibras	Nanoencapsulação de óleos essencial de tomilho	Alimentício	Estabilidade térmica	(VAFANIA; FATHI; SOLEIMANIAN-ZAD, 2019)	
Membranas	Adesão de biomateriais	Engenharia de tecidos	Ótimas propriedades de absorção, térmica, mecânica e de adesão.	(NAGAHAMA et al., 2009)	
Solução filmogênica	Embalagens	Alimentício, biomateriais	Aumento da viscosidade da solução, maior força do gel.	(QIAO et al., 2017)	

Fonte: Própria autoria.

3.5 INTERAÇÕES ENTRE PROTEÍNAS E POLISSACARÍDEOS

As principais interações não covalentes que podem ocorrer entre proteínas e polissacarídeos se dividem em 4 tipos (McCLEMENTS, 2006):

1. Interações eletrostáticas: essa interação é importante para biopolímeros que têm carga elétrica nas condições em que são usados (pH e força iônica). Essa interação pode ser atrativa ou repulsiva dependendo se os grupos de carga envolvidos têm sinais diferentes ou semelhantes. A força e o alcance dessas interações diminuem com o aumento força iônica.

2. Exclusão estérica: o volume relativamente grande ocupado por muitos biopolímeros em solução significa que os efeitos de exclusão estérica são importantes, ou seja, há uma redução na entropia da mistura do sistema devido a redução do volume disponível para as moléculas dos biopolímeros ocuparem.

3. Interações hidrofóbicas: essa interação é importante para biopolímeros que têm grupos apolares em soluções aquosas, onde ocorre associação entre grupos não polares.

4. Interações de hidrogênio: essa interação é importante para biopolímeros que possuem segmentos ao longo de sua cadeia que podem formar interações de hidrogênio relativamente fortes com segmentos em outras moléculas, por exemplo, através de estruturas helicoidais ou semelhantes a folhas (proteínas).

A compreensão dessas interações não covalentes que existem entre proteínas e polissacarídeos é de suma importância no desenvolvimento de novas nano e microestruturas, com fortes implicações nas propriedades físico-químicas relacionadas com estabilidade, textura, sensação na boca e aparência, além da funcionalidade, como liberação controlada de substâncias, etc (McCLEMENTS, 2006).

As interações entre proteínas e polissacarídeos polieletrólitos, como a quitosana, são fortemente influenciadas pelo pH, força iônica, conformação,

densidade de carga e concentração dos biopolímeros (BENICHOU; ASERIN; GARTI, 2002). Quando esses biopolímeros são misturados, eles podem formar uma única fase ou duas fases. Quando o sistema forma uma única fase, os dois biopolímeros se distribuem de forma homogênea, enquanto que quando há formação de duas fases, a solução se divide em duas fases com composições diferentes, que podem se originar por mecanismos de separação associativos ou segregativos (McCLEMENTS, 2006; GENTILE, 2020) (Figura 4). Esses mecanismos de separação são detalhadamente explicados por Doublier et al. (2000), Benichou; Aserin; Garti (2002), Dickinson (2005), Frith (2010) e Van De Velde et al. (2015).

Figura 4 – Representação esquemática dos tipos de arranjos estruturais que podem ocorrer com a mistura entre proteínas e polissacarídeos.

Fonte: Adaptado de McClements (2006).

A formação de complexos solúveis entre as moléculas de proteína e polissacarídeo pode ocorrer por interações eletrostáticas entre os cátions e os ânions de grupos funcionais de grupos laterais (ácidos e básicos), e entre outros grupos laterais, sendo que a quantidade de cargas opostas líquidas devem controlar a força dessas interações (BENICHOU; ASERIN; GARTI, 2002). As interações entre os biopolímeros irão formar zonas de junção em pouca ou grande quantidade, dependendo da disponibilidade e tipo de interação entre as

cadeias, sendo que nas proteínas globulares essas zonas de junção são muito limitadas quando comparadas com proteínas lineares, as quais estão mais disponíveis para interagirem com os polissacarídeos, como no caso gelatina (BENICHO; ASERIN; GARTI, 2002).

Uma forte interação de atração pode ocorrer entre uma proteína carregada positivamente ($\text{pH} < \text{pI}$) e um polissacarídeo aniônico, especialmente com baixa força iônica, enquanto que interações fracas podem ocorrer entre proteínas não carregadas ou carregadas negativamente ($\text{pH} > \text{pI}$) e polissacarídeos aniônicos, contudo, essas interações entre o complexo proteína-polissacarídeo podem mudar de repulsivas para atrativas e vice-versa de acordo com o pH, força iônica e temperatura (DICKINSON, 2005).

Especificamente em relação a blends de gelatina e quitosana, a mistura desses biopolímeros forma complexos polieletrólíticos (BENBETTAÏEB et al., 2014; HORN et al., 2016). As interações de hidrogênio e as interações eletrostáticas entre os grupos NH_3^+ da quitosana e os grupos COO^- da gelatina são as principais interações que podem ocorrer (DERKACH; VORON'KO; SOKOLAN, 2017; SHAMLOO; KAMALI; BAHRANI FARD, 2019).

Em pH abaixo do pI da gelatina, os grupos amino livres da quitosana estão na forma de cátions, enquanto que os grupos carboxila dos resíduos de glutamato (Glu) e ácidos aspárticos (Asp) da gelatina estão na forma de ânions, permitindo assim a interação eletrostática entre esses biopolímeros (DERKACH; VORON'KO; SOKOLAN, 2017; NICOLAY et al., 2020). As interações entre gelatina e quitosana podem também ser influenciadas pela concentração dos biopolímeros, pois quanto maior a quantidade de moléculas no meio, maior é a quantidade de grupos funcionais carregados eletricamente que irão interagir entre si (ROY et al., 2017). A temperatura também influencia no processo de complexação entre esses dois biopolímeros (YE; CHEN, 2019).

As interações que acontecem em nível molecular entre a gelatina e a quitosana definem a sua organização estrutural e determinam as propriedades reológicas, físicas e mecânicas das blendas, sendo que a compreensão dessas interações é crucial para designar o tipo e as condições de processo e aplicação (STAROSZCZYK et al., 2014; ACEVEDO et al., 2015).

3.6 SOLUÇÕES COLOIDAIS DE BIOPOLÍMEROS

Por definição, os biopolímeros não são solúveis em água, ou seja, não podem ser considerados como solutos. Entretanto, os biopolímeros que são hidrocoloides podem ser solubilizados em água, sob certas condições, como o aquecimento, para a gelatina, e a redução do pH, para a quitosana. Mas, por não serem solutos, eles não formam soluções verdadeiras. Assim, esse sistema é considerado como solução coloidal, ou simplesmente, sol (Tabela 4) (SCHRAMM, 2005).

Tabela 4 – Classificação de sistemas coloidais de acordo com o estado da fase dispersa e do meio dispersante.

Fase dispersa	Meio dispersante	Classificação
Líquido	Gasoso	Aerossol líquido
Sólido	Gasoso	Aerossol sólido
Gasoso	Líquido	Espuma
Líquido	Líquido	Emulsão
Sólido	Líquido	Sol / suspensão
Gasoso	Sólido	Espuma sólida
Líquido	Sólido	Emulsão sólida
Sólido	Sólido	Suspensão sólida

Fonte: Adaptado de Schramm (2005).

Nas soluções coloidais, a quantidade de partículas dispersas no meio permanece constante durante meses ou até anos, isto é, elas não sedimentam ou floculam, e esta estabilidade é devido ao movimento Browniano e às interações (eletrostáticas, por exemplo) entre os componentes, que são suficientes para manter as partículas em solução por todo o sistema, sobrepujando a força gravitacional (KISSA, 1999).

3.7 GÉIS

Géis poliméricos são definidos como uma rede tridimensional intumescida por uma grande quantidade de solvente (AHN et al., 2008), ou, em outras palavras, para o caso de sistemas aquosos, as cadeias biopoliméricas se conectam formando uma rede tridimensional com capacidade de reter grande quantidade de água (AN; SOLIS; JIANG, 2010). Géis são, portanto, materiais muito úmidos, mas que não fluem sob a ação da gravidade.

Os géis tem diversas aplicações que dependem das suas propriedades mecânicas e reológicas. Também nesse caso, é possível ajustar essas propriedades por modificações químicas, misturas ou diferentes processos (DJABOUROV; NISHINARI; ROSS-MURPHY, 2013).

Os géis podem ser classificados como físicos ou químicos, de acordo com o mecanismo de formação de sua rede (Figura 5) (AHN et al., 2008). Segundo Djabourov, Nishinari e Ross-murphy (2013), os géis químicos se dividem, ainda, em três tipos, dependendo das características dos biopolímeros formadores dos géis: a) géis a base de polímeros reticulados, usando-se agentes reticulantes que promovem a união entre cadeias adjacentes por ligações covalentes (Figura 5, à esquerda). Esses géis possuem alta elasticidade e habilidade de intumescimento. b) Géis híbridos, formados por ligações químicas entre componentes orgânicos e inorgânicos. Esses géis normalmente possuem características mecânicas melhores que a dos géis descritos anteriormente. c) Géis produzidos por

polimerização de compostos inorgânicos, como alcóxidos $M(OR)_Z$, onde M é um metal de valência Z (Si, Ti, Zr, Al, Sn, etc.) e OR é um alcóxido correspondente a um álcool desprotonado que sofre hidrólise e reações de policondensação para formar um sistema composto de partículas sólidas. Mas, os géis de interesse nesta dissertação são os géis físicos.

Os géis físicos possuem habilidades únicas que os tornam uma classe de materiais altamente adequados para uma ampla gama de aplicações (FISCHER et al., 2020). As propriedades dos géis físicos apresentam uma forte relação com a temperatura (AN; SOLIS; JIANG, 2010), sendo que a maioria desses géis apresentam a reversibilidade como uma das suas características mais marcantes, pois eles passam para o domínio sol quando aquecidos, e se transformam em gel novamente quando resfriados (ARMISÉN; GALATAS, 2000).

Nos géis físicos, os polímeros se conectam nas chamadas zonas de junção (Figura 5) (DJABOUROV; NISHINARI; ROSS-MURPHY, 2013), que são formadas a partir de interações intermoleculares, como ligações de hidrogênio, associações hidrofóbicas, e interações eletrostáticas (WILLIAMS; PHILLIPS, 2000). Deve-se observar que a alteração conformacional da gelatina (Figura 3) envolve um caso particular de formação de junções intermoleculares (Figura 5).

Figura 5 – Pontos de junção (em vermelho) característicos de redes formadas em géis químicos (esquerda) e zonas de junção (em azul) características de redes formadas em géis físicos (direita).

Fonte: Djabourov, Nishinari e Ross-Murphy (2013).

A formação da rede nos géis físicos acontece por diferentes mecanismos, como mudanças conformacionais, agregação devido à desnaturação proteica, efeito hidrofóbico, sinergia entre dois polímeros, separação de fases e imiscibilidade (DJABOUROV; NISHINARI; ROSS-MURPHY, 2013). Contudo, é pertinente descrever a rede formada pelo mecanismo de mudanças conformacionais, onde o biopolímero origina domínios mais rígidos, como acontece com a gelatina (DJABOUROV; NISHINARI; ROSS-MURPHY, 2013). Durante o processo de gelificação, as moléculas de gelatina encontram-se dispersas na forma de bobinas aleatórias e com a diminuição da temperatura elas se ajustam e formam triplas hélices (Figura 3). Entretanto, quando os géis são reaquecidos mesmo durante horas ou dias, as cadeias polipeptídicas recuperam apenas parcialmente a sua conformação natural e o real equilíbrio nunca é alcançado.

O mecanismo de gelificação é influenciado pela formação de ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas e eletrostáticas, contudo, para soluções coloidais de quitosana, por exemplo, a gelificação só ocorre quando ela é misturada e interage com outro biopolímero com propriedades aniônicas, como a gelatina, pois mesmo em temperaturas baixas, a quitosana forma apenas uma solução cujas moléculas estão emaranhadas e com elevada viscosidade (DJABOUROV; NISHINARI; ROSS-MURPHY, 2013).

No caso de géis físicos a base de blendas, para que a gelificação ocorra de forma satisfatória é necessário que a interação entre os biopolímeros seja mais forte do que a atração destes pelo solvente (FISCHER et al., 2020). O processo de gelificação da solução coloidal de blendas de gelatina e quitosana foi esquematizado na Figura 6.

Figura 6 – Gel formado a partir do resfriamento da mistura das soluções coloidais de gelatina e quitosana.

Fonte: Adaptado de Xu et al. (2019).

3.8 POTENCIAL ZETA DE BIOPOLÍMEROS

Quando uma partícula tem a sua superfície carregada, ela atrai uma fina camada de cargas opostas que se ligam firmemente a ela, formando uma camada denominada camada de Stern, e quando essas partículas se difundem em uma solução, uma outra camada de íons fracamente associados é formada ao redor, formando a camada difusa (Figura 7). Este mecanismo consiste na formação da dupla camada (CLOGSTON; PATRI, 2011; SHNOUDEH et al., 2019).

Figura 7 – Representação da dupla camada elétrica presente na superfície de uma partícula carregada quando em solução.

Fonte: Gumustas et al. (2017).

O potencial zeta fornece informações sobre a estabilidade das soluções coloidais (SELVAMANI, 2019), e geralmente varia entre +100 mV e -100 mV (SHNOUDEH et al., 2019). Valores (absolutos) altos de potencial zeta implicam em soluções coloidais muito carregadas, prevenindo a agregação das partículas devido à repulsão eletrostática entre elas (SAMIMI et al., 2019), enquanto que valores próximos à neutralidade significam que as partículas podem se agregar mais facilmente (GUMUSTAS et al., 2017).

O principal fator que afeta o potencial zeta é o pH do meio (LU; GAO, 2010), pois a magnitude de cargas na superfície das partículas dependem do pH da solução (SELVAMANI, 2019), contudo a força iônica, concentração dos componentes e temperatura também são fatores importantes. Além disso, o potencial zeta pode ser influenciado por impurezas contidas na solução (LU; GAO, 2010).

3.9 REOLOGIA

A reologia é a ciência que estuda a deformação e o escoamento dos materiais. De modo geral, esse estudo pode ser realizado com testes estacionários, quando se determinam curvas de fluxo, que permitem o cálculo das propriedades reológicas de fluidos, ou por testes dinâmicos (ou oscilatórios), que permitem a determinação das propriedades viscoelásticas de materiais.

3.9.1 Testes estacionários: curvas de fluxo

O teste estacionário permite a determinação da variação da tensão de cisalhamento em função da taxa de deformação aplicada ou vice-versa, a uma temperatura constante (RAO, 2007). Geralmente, esses resultados são

apresentados em gráficos conhecidos como curvas de fluxo ou reogramas (Figura 8).

Figura 8 – Curvas de fluxo características de diferentes tipos de fluidos obtidas no teste estacionário, representando os fluidos Newtonianos, pseudoplásticos, dilatantes, plásticos de Bingham e Herschel-Bulkley.

Fonte: Adaptado de Steffe (1996).

No caso dos fluidos Newtonianos, a tensão de cisalhamento varia linearmente com a taxa de deformação, cuja inclinação corresponde à viscosidade (μ) (RAO, 2007). Assim, a viscosidade de um fluido não é dependente da taxa de deformação (SCHRAMM, 2006). Quando os fluidos não exibem este comportamento linear (Figura 9) (SCHRAMM, 2006), sua curva não tem início na origem, ou ainda o material se comporta de formas diferentes de acordo com o tempo, são chamados de fluidos não-Newtonianos (STEFFE, 1996).

Para a análise reológica dos fluidos pseudoplásticos (ou dilatantes) pode-se utilizar o modelo Lei da Potência, ou Ostwald-de-Waele (RAO, 2007) [Eq. (1)]:

$$\tau = k\dot{\gamma}^n \quad (1)$$

Onde: τ é a tensão de cisalhamento (Pa); k é o índice de consistência (Pa.s^n); $\dot{\gamma}$ é a taxa de deformação (s^{-1}); n é o índice de comportamento do escoamento (adimensional). Nesses casos, a viscosidade aparente (μ_{ap} , Pa.s^{-1}) pode ser calculada com a **Eq. (2)** (STEFFE, 1996).

$$\mu_{ap} = k\dot{\gamma}^{n-1} \quad (2)$$

Além desses fluidos, existem os plásticos de Bingham que se comportam como sólidos elásticos, ou seja, não escoam até que uma determinada tensão seja superada. Esta tensão é conhecida como limite de escoamento (tensão inicial) ou “yeld stress” (τ_0) e a viscosidade é infinita quando a taxa de cisalhamento é zero (BARNES; HUTTON; WALTERS, 1989).

Contudo, nem todos os fluidos não-Newtonianos se comportam como descrito acima, pois existem aqueles cuja viscosidade pode aumentar ou diminuir com o tempo de cisalhamento do material, sendo que estas mudanças podem ser reversíveis ou irreversíveis. Esses fluidos são classificados como tixotrópicos ou reopéticos (BARNES; HUTTON; WALTERS, 1989).

Os fluidos tixotrópicos possuem a capacidade de formar géis reversíveis quando são mantidos em repouso por um longo período de tempo, pois suas moléculas se reorganizam e interagem entre si formando uma rede tridimensional, contudo, quando cisalhados por algum tempo, ocorre a quebra dessas ligações e o material volta para o seu estado sol, como no caso do iogurte natural não batido (SCHRAMM, 2006). E, os fluidos reopéticos, muito raros, se comportam de forma oposta aos tixotrópicos, isto é, quando cisalhados eles tem a sua viscosidade aumentada, contudo quando são deixados em repouso, sua viscosidade diminui com o tempo (SCHRAMM, 2006).

3.9.2 Testes dinâmicos

Os testes dinâmicos, ou oscilatórios, são os mais aplicados para se determinar as propriedades viscoelásticas dos materiais. Geralmente, estes testes devem ser aplicados considerando-se a região de viscoelasticidade linear (RVL) do material em questão. A RVL é definida como a região em que a deformação será função linear da tensão aplicada no material, e quando esta tensão for cessada, o material voltará à sua forma original, ou seja, o fenômeno será completamente reversível (BARNES; HUTTON; WALTERS, 1989).

Os testes viscoelásticos podem ser realizados de duas maneiras: com pequena deformação ou com grande deformação. Para grandes deformações, o material é exposto a uma força cisalhante unidimensional que causa a sua destruição o que implica na perda da reversibilidade do sistema. Diferentemente, com pequenas deformações, que ocorrem de uma forma bidimensional (a placa superior se move em duas direções, ex. para frente e para trás), a estrutura do material é preservada, porque a força aplicada é menor que a força de interação entre as moléculas, garantindo-se a reversibilidade do fenômeno de deformação (AHMED; PTASZEK; BASU, 2017). Nesses testes (Figura 9), realizados dentro da RVL, quando se aplica uma deformação (γ , adimensional) seguindo uma função seno [Eq. (3)] (STEFFE, 1996),

$$\gamma = \gamma_0 \sin(\omega t) \quad (3)$$

a resposta será a variação senoidal da tensão (τ , Pa) em função do tempo, mas defasada da deformação [Eq. (4)] (STEFFE, 1996).

$$\tau = \tau_0 \sin(\omega t + \delta) \quad (4)$$

Onde: γ_0 é a amplitude de deformação (adimensional); ω é a frequência (s^{-1}), t é o tempo (s), τ_0 é a amplitude da tensão (Pa) e δ é o ângulo de defasagem ($^\circ$) entre a tensão e a deformação.

Dessas duas equações, é possível se calcular, de acordo com a teoria da viscoelasticidade linear, o módulo de armazenamento (G' , Pa) e o módulo de perda (G'' , Pa). O G' representa a energia que é armazenada no material durante o teste e que depois pode ser recuperada, e que está diretamente associado ao caráter do sólido viscoelástico, e o G'' representa a energia perdida pelo material durante o teste, que é irreversivelmente dissipada na forma de calor, associada ao caráter do líquido viscoelástico (SCHRAMM, 2006). Os materiais viscoelásticos, portanto, possuem características de sólidos elásticos (G') e líquidos viscosos (G''). Neste caso, o ângulo de fase estará entre 0° e 90° ($0^\circ \leq \delta \leq 90^\circ$) (KASAPIS; BANNIKOVA, 2017) (Figura 9).

Outra propriedade viscoelástica, a tangente do ângulo de defasagem, pode ser calculado conhecendo-se G' e G'' [Eq. (5)]. Ele relaciona a energia dissipada (perdida) por ciclo, com a energia armazenada, por ciclo (STEFFE, 1996).

$$\tan(\delta) = \frac{G''}{G'} \quad (5)$$

Onde: $\tan(\delta)$ é a tangente do ângulo de defasagem.

Para a determinação do comportamento viscoelástico dos materiais nos testes oscilatórios, a deformação aplicada deve ser suficientemente baixa, para se garantir a reversibilidade do sistema (BARNES; HUTTON; WALTERS, 1989).

Alguns testes podem ser realizados para se determinar as propriedades viscoelásticas de um material, dentre eles:

a) Varredura de deformação, que permite se definir o domínio da região de viscoelasticidade linear do material. Esse teste permite ainda se reconhecer a força do gel. Géis fortes permanecem nessa região linear mesmo sob

deformações maiores, quando comparados com os ditos géis fracos (STEFFE, 1996).

Figura 9 – Ensaio oscilatório demonstrando os diferentes comportamentos da tensão com a deformação para três tipos de materiais: sólidos perfeitamente elásticos (ângulo de defasagem igual a 0°), líquidos puramente viscosos (ângulo de defasagem igual a 90°) e materiais viscoelásticos (ângulo de defasagem variando entre 0° e 90°).

Fonte: Schramm (2006).

b) Varredura de frequência, para se determinar como as propriedades viscoelásticas variam em função da frequência, mantendo constantes os demais parâmetros, a saber, a deformação e temperatura (STEFFE, 1996).

d) Varredura de temperatura, particularmente importante em estudos de sistemas coloidais, pois permite se identificar as transições de gel para sol ($T_{gel-sol}$) e de sol para gel ($T_{sol-gel}$), de acordo com as variações de G' e G'' no aquecimento e no resfriamento, respectivamente. Esses testes são feitos

mantendo-se constantes a frequência e a amplitude de tensão ou deformação, definidos nos testes anteriores.

3.10 TESTES MECÂNICOS

As propriedades mecânicas e viscoelásticas de materiais sólidos, como os géis, podem ser determinadas por testes de compressão uniaxial e relaxamento de tensão, dentre outros, respectivamente.

3.10.1 Testes de compressão uniaxial

Em géis, comumente são realizados testes de fratura, pois estes possibilitam prever o seu comportamento quando submetidos a diferentes forças, sendo que estes testes podem ser de compressão uniaxial ou testes de torção, em que cada um proporciona respostas diferentes dos géis. O último é menos utilizado, possivelmente por ser de difícil execução, exigindo equipamento muito específico de difícil acesso (KUHN; PICONE; DA CUNHA, 2012). Por outro lado, o teste de compressão uniaxial é amplamente utilizado pois além de ser considerado simples, não requer equipamentos muito sofisticados para sua execução (PATERSON, 1978). Ele consiste em se aplicar uma tensão normal sobre o gel (Figura 10A), com dimensões pré-definidas (altura e largura), a uma velocidade de compressão constante, até que ocorra a sua ruptura (KUHN; PICONE; DA CUNHA, 2012). A tensão no momento da ruptura é chamada de tensão na ruptura (SCHULZE, 2008).

O resultado desses testes é comumente apresentado como uma curva de tensão contra a deformação (Figura 10B). As propriedades, tensão e deformação na ruptura, podem ser determinadas diretamente dessas curvas (ponto III). E, o módulo de Young pode ser calculado como a inclinação da porção linear (região I). Essa região (I) corresponde à RVL, e a região seguinte (II), à região de

viscoelasticidade não linear, quando a reversibilidade foi perdida. O conhecimento da RVL é importante para os testes de relaxamento de tensão.

Figura 10 – (A): Representação de um material viscoelástico em formato cilíndrico de diâmetro e altura definidos (esquerda) e o seu comportamento após submetido a um ensaio de compressão uniaxial (direita). (B): Gráfico característico de um teste de compressão uniaxial [(I): região de viscoelasticidade linear; (II): região não linear; (III): ponto de fratura].

Fonte: Adaptado de Kuhn, Picone e da Cunha (2012).

3.10.2 Testes de relaxamento de tensão

Os testes de relaxamento de tensão permitem a determinação de propriedades viscoelásticas de materiais sólidos. Para isso, são utilizados modelos matemáticos baseados na teoria da viscoelasticidade linear, cujos modelos mais simples são os modelos de Kelvin (também conhecido como Kelvin-Voigt) e o de Maxwell. Para o estabelecimento desses modelos, o material é representado pela associação de dois elementos: uma mola, que representa o componente sólido Hookeano, e um amortecedor, que representa o componente líquido Newtoniano (WARD; SWEENEY, 2004). No caso do modelo de Maxwell, a mola e o amortecedor estão dispostos em série, enquanto que no caso do modelo de Kelvin, eles estão dispostos em paralelo (SPERLING, 2006; GUTIERREZ-LEMINI, 2014) (Figura 11).

Figura 11 – Modelos simples da teoria da viscoelasticidade linear dos materiais.

Fonte: Adaptado de Barnes, Hutton e Walters (1989).

Quando a mola é submetida a uma deformação pela ação de uma tensão, ela se deforma e armazena esta tensão por tempo indeterminado, sendo que quando a deformação for mantida constante, a tensão deixará de variar, ou seja, permanecendo no valor final. Por outro lado, quando o amortecedor, que é

composto por um pistão dentro de um cilindro cheio de um fluido newtoniano, for submetido a uma deformação, o pistão se moverá através do fluido, com uma taxa de deformação linearmente proporcional à tensão aplicada (SPERLING, 2006). E, neste caso, no amortecedor, quando a deformação cessar, a tensão retornará ao estado inicial instantaneamente.

Desta forma, algumas considerações devem ser feitas: no modelo de Maxwell (Figura 11), a tensão (τ) aplicada no sistema é a mesma na mola e no amortecedor, enquanto que a deformação total será igual à somatória das deformações em ambos os elementos ($\gamma_1 + \gamma_2$); e, contrariamente, no modelo de Kelvin, a tensão aplicada no sistema é a somatória das tensões em cada elemento ($\tau_1 + \tau_2$) enquanto que a deformação (γ) na mola é igual à deformação no amortecedor (BARNES; HUTTON; WALTERS, 1989). Por isso, o modelo de Kelvin só pode ser aplicado a testes de "Creep compliance", e o Modelo de Maxwell pode ser aplicado em ambos os testes.

O modelo de Maxwell é uma combinação da lei de Hooke [Eq. (6)] e da lei de Newton [Eq. (7)] aplicados à mola e ao amortecedor, respectivamente (SPERLING, 2006; RAO, 2007).

$$\tau_m = G\gamma_m \quad (6)$$

$$\tau_a = \mu_a \cdot \dot{\gamma}_a \quad (7)$$

Onde: τ_m , γ_m e G são a tensão (Pa), a deformação (adimensional) e o módulo de relaxamento (Pa); τ_a , $\dot{\gamma}_a$ e μ_a são a tensão (Pa), a taxa de deformação (s^{-1}) e a viscosidade (Pa.s) do amortecedor.

Associando-se convenientemente essas equações em uma equação diferencial e integrando-as, chega-se à equação do modelo de Maxwell [Eq. (8)]. O modelo de Maxwell se mostra adequado para os testes de relaxamento de

tensão [$\tau = f(\gamma)$], pois quando a deformação é constante, a taxa de cisalhamento (taxa de deformação) é igual a zero, e o teste consiste em submeter a amostra a uma deformação constante e determinar a tensão responsável pela manutenção desta deformação em função do tempo (STEFFE, 1996).

$$\tau = G\gamma_0 e^{\frac{-t}{\lambda_{rel}}} \quad (8)$$

Onde λ_{rel} é o tempo de relaxamento (s). No teste de relaxamento de tensão (Figura 12), a amostra de um material viscoelástico, como um gel, é submetida instantaneamente a uma deformação, sendo para isso, necessário a aplicação de uma tensão proporcional à deformação imposta (Figura 12). Ao manter a deformação constante, a tensão necessária para manter essa deformação, cairá, logo, como não se tem mais a força externa, então o material tende a voltar a forma original e essa característica do gel depende do tempo de relaxamento (STEFFE, 1996; WARD; SWEENEY, 2004; HERMAN, 2007). A **Eq. (8)** pode então, ser ajustada aos dados experimentais permitindo assim, o cálculo da propriedade viscoelástica, o tempo de relaxamento (λ_{rel}).

Figura 12 – Resposta de um material viscoelástico quando submetido a um teste de relaxamento de tensão. À esquerda está a deformação imposta pelo equipamento e à direita a resposta do material frente esta deformação.

Fonte: Adaptado de Herman (2007).

O tempo de relaxamento (λ_{rel}) permite o cálculo do tempo necessário para que uma determinada proporção de suas cadeias relaxem (SPERLING, 2006).

Em termos matemáticos, ele representa o tempo necessário para a tensão inicial decair aproximadamente 1/3 (36,8%) do seu valor inicial (STEFFE, 1996). O tempo de relaxamento relaciona a viscosidade do fluido no interior do amortecedor (μ_a) com o módulo de relaxamento (G) (Equação 9) (STEFFE, 1996; SPERLING, 2006; RAO, 2007).

$$\lambda_{rel} = \frac{\mu_a}{G} \quad (9)$$

A equação do modelo de Maxwell é muito simples, e por isso apresenta algumas limitações. Em vista disso, foram desenvolvidos outros modelos que associam várias molas e amortecedores, em série ou em paralelo, permitindo melhor ajuste aos dados experimentais (BARNES; HUTTON; WALTERS, 1989; STEFFE, 1996).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL E REAGENTES

Para a execução desta dissertação foram utilizados os seguintes materiais: gelatina suína alimentícia tipo A (260° Bloom, PM: ~ 52 kDa), fornecida pela GELNEX (Itá, Santa Catarina, Brasil); gelatina bovina alimentícia tipo B (250° Bloom, PM: ~ 45 kDa), fornecida pela GELCO (Pedreira, São Paulo, Brasil); quitosana de peso molecular médio (PM: 190-300 kDa, grau de desacetilação: 75-85%), adquirida da Sigma-Aldrich Chemistry (Steinheim, Alemanha); ácido acético glacial (CH_3COOH , pureza: 99,7%), hidróxido de sódio micropérola (NaOH , pureza: 98%) e vaselina líquida adquiridos da Synth (Diadema, Brasil) e água destilada.

4.2 PREPARO DAS SOLUÇÕES COLOIDAIS

Esta dissertação envolveu três estudos com soluções coloidais de dois tipos de gelatina e quitosana, a saber:

A – Estudo do efeito do pH sobre o potencial zeta de soluções coloidais de gelatina tipo A (GeA), gelatina tipo B (GeB), quitosana (Q), e blendas de GeA:Q e de GeB:Q.

B – Estudo do efeito do pH sobre propriedades reológicas, determinadas por testes estacionários, e propriedades viscoelásticas, determinadas com testes oscilatórios de soluções coloidais de blendas de GeA:Q e GeB:Q.

C – Estudo do efeito do pH sobre propriedades mecânicas, determinadas com testes de compressão uniaxial, e propriedades viscoelásticas, determinadas por testes de relaxamento de tensão de géis pré-formados a base de blendas GeA:Q e GeB:Q.

As soluções coloidais das gelatinas e de quitosana foram preparadas separadamente, e posteriormente misturadas para a formação das blends de biopolímeros.

4.2.1 Preparo das soluções coloidais de gelatina

As soluções coloidais tanto de gelatina tipo A quanto tipo B foram preparadas seguindo a metodologia de Sobral et al. (2001), com algumas modificações. A gelatina (6,5 g) foi diluída em 93,5 g de água destilada e hidratada a temperatura ambiente por 30 minutos, e posteriormente solubilizada em banho-maria (MA-184, Marconi, Piracicaba-SP, Brasil), a 55 °C por 30 minutos com agitação mecânica (TE 039, Tecnal, Piracicaba-SP, Brasil) (Figura 13).

As soluções coloidais de gelatina não tiveram o seu pH ajustado neste momento, somente após a mistura com a quitosana.

Figura 13 – Representação esquemática da obtenção das soluções coloidais de gelatina, soluções coloidais de quitosana e soluções coloidais de blends de gelatina com quitosana em pH diferentes (3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5 e 6,0).

Fonte: Própria autoria.

4.2.2 Preparo das soluções coloidais de quitosana

A soluções coloidais de quitosana foram preparadas de acordo com Bonilla e Sobral (2016), com algumas modificações. A quitosana (1,5 g) foi dispersa em 98,5 g de solução de ácido acético 2%, e posteriormente colocada em banho-maria (MA-184, Marconi, Piracicaba-SP, Brasil), a 40 °C por 12 horas com agitação mecânica (TE 039, Tecnal, Piracicaba-SP, Brasil) (Figura 13).

A solução de quitosana não teve o seu pH ajustado neste momento, somente após a mistura com as gelatinas.

4.2.3 Preparo das soluções coloidais de blendas de gelatina e quitosana

A blenda de gelatina e quitosana foi obtida de acordo com Angulo e Sobral (2016), com algumas modificações. O preparo dessa blenda foi feito pela simples mistura da solução de gelatina com a solução de quitosana, em partes iguais, mantida em banho-maria (MA-184, Marconi, Piracicaba-SP, Brasil), a 50 °C por 2 horas sob agitação mecânica (TE 039, Tecnal, Piracicaba-SP, Brasil) (Figura 13).

Neste momento foi feito o ajuste do pH das blendas para 6 valores de pH diferentes: 3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5 e 6,0, obtidos com a adição de soluções de ácido acético (5 M) ou hidróxido de sódio (1,5 M). O pH da blenda foi medido com um pHmetro portátil (PG1400, Gehaka, São Paulo-SP, Brasil).

A concentração das blendas foi de 4 g/100 g de solução, com proporção de quitosana:gelatina de 1:4,3 (Q:Ge).

4.2.4 Preparo de géis a base de gelatina e quitosana

Os géis de blendas de gelatina e quitosana foram preparados segundo a metodologia de Ge et al. (2018), com algumas modificações. Alíquotas (~6 g) das

soluções coloidais de blendas GeA:Q e GeB:Q, previamente preparadas como descrito em 4.2.3, foram adicionados em moldes cilíndricos com diâmetro de 20 mm e altura de 20 mm, previamente untados com vaselina líquida. Os moldes contendo as soluções coloidais foram colocados dentro de um dessecador com água para evitar o ressecamento dos géis, e este foi colocado em uma estufa BOD (BOD MA415/S, Marconi, Piracicaba-SP, Brasil) a 5 °C por 24 horas, para gelificar (Figura 14).

Figura 14 – Representação esquemática da preparação dos géis de blendas de gelatina e quitosana em 6 pH diferentes (3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5 e 6,0).

Fonte: Própria autoria.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS SOLUÇÕES COLOIDAIIS DE GELATINA, QUITOSANA E DE BLENDA DE GELATINA E QUITOSANA

4.3.1 Potencial zeta

Para determinação do potencial zeta, as soluções coloidais foram diluídas para 0,01% (m/v) e posteriormente o pH foi corrigido para 3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5 e 6,0. A análise do potencial zeta foi feita com o equipamento ZetaPlus (Brookhaven Instruments Company, Holtsville, NY, EUA) para as soluções coloidais diluídas, sem adição de KCl, a 25 °C e em triplicata para cada pH (HEISE et al., 2019).

4.3.2 Propriedades reológicas e viscoelásticas

As propriedades reológicas (4.3.2.1) e viscoelásticas (4.3.2.2-4.3.2.4) das soluções coloidais de blendas GeA:Q e GeB:Q foram estudadas a fim de avaliar se a mudança de pH e o tipo de gelatina alteravam o comportamento dessas soluções coloidais. Os testes foram realizados em triplicata para cada pH utilizando um reômetro rotacional (AR-2000, TA Instruments, New Castle-DE, USA) com sistema peltier para controle da temperatura e os dados foram analisados com o software Rheology Advantage Data Analysis V.5.3.1 (TA Instruments).

4.3.2.1 Curvas de fluxo

Para a determinação das curvas de fluxo das soluções coloidais em 6 pH diferentes (3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5 e 6,0), foi utilizada a geometria de cone e placa, com ângulo do cone de 4° e 60 mm de diâmetro, e para evitar a evaporação da amostra ao longo do teste, foi utilizado o acessório "solvent trap". O teste foi realizado a 30 °C para a GeA:Q e a 40 °C para a GeB:Q, garantindo que as soluções coloidais sempre estivessem no domínio sol, no intervalo da taxa de deformação de 0 a 200 s⁻¹ (MORAES et al., 2009), com três rampas: crescente, decrescente e crescente, com a duração de 2 minutos cada (MAKISHI, 2016).

4.3.2.2 Testes de varredura de deformação

A região de viscoelasticidade linear foi determinada por teste de varredura de deformação das soluções coloidais em 6 pH diferentes (3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5 e 6,0), a 30 °C para as soluções coloidais de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e a 40 °C para a gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q).

Em ambos os testes, a frequência foi fixada em 1 Hz, e a amplitude de deformação foi variada de 0,01 a 100%. O valor de deformação dentro da região de viscoelasticidade linear, mantido fixo nos demais testes, foi determinado na região onde os parâmetros viscoelásticos, isto é, o módulo de armazenamento (G') e o módulo de perda (G''), permaneceram constantes em relação à deformação (MORAES et al., 2009).

4.3.2.3 Testes de varredura de frequência

Os testes de varredura de frequência foram realizados dentro da região de viscoelasticidade linear pré-determinada na varredura de deformação. As soluções coloidais de blendas de gelatina tipo B e quitosana (GeB:Q) em 6 pH diferentes (3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5 e 6,0), a 40 °C foram submetidas amplitude de frequência compreendida entre 0,1 a 10 Hz. Os resultados desses testes foram os módulos de armazenamento (G') e perda (G'') em função da frequência (MORAES et al., 2009), sendo possível determinar a tangente do ângulo de defasagem ($\tan\delta$) (LUCIANO, 2016).

4.3.2.4 Testes de varredura de temperatura

Os testes de varredura de temperatura foram realizados nas soluções coloidais de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) no intervalo de 5 e 60 °C, enquanto que nas soluções coloidais de blendas de gelatina tipo B e quitosana (GeB:Q) o intervalo foi de 5 e 50 °C. As soluções coloidais foram aquecidas até 60 °C (GeA:Q) ou 50 °C (GeB:Q) sem uma taxa controlada de temperatura, e em seguida foram submetidas a uma rampa de resfriamento até 5 °C com uma taxa de 2 °C/min, e posteriormente foram submetidas a uma rampa de aquecimento até 60 °C (GeA:Q) ou 50 °C (GeA:Q), a uma taxa de 2 °C/min (MAKISHI, 2016), a uma frequência fixa de 1 Hz.

Os módulos de armazenamento (G') e perda (G'') foram determinados em função da temperatura, e a primeira derivada de G' permitiu calcular as temperaturas de transições no resfriamento ($T_{\text{sol-gel}}$) e no aquecimento ($T_{\text{gel-sol}}$) (MORAES et al., 2009) para os seis pH diferentes (3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5 e 6,0).

4.4 CARACTERIZAÇÃO DE GÉIS PRÉ-FORMADOS

Os testes mecânicos foram feitos em géis pré-formados de blendas de (GeA:Q) e (GeB:Q). Os géis foram analisados imediatamente após serem desenformados. Eles foram submetidos aos testes de compressão uniaxial e relaxamento de tensão usando-se um texturômetro (TA.XT2i, Stable Micro Systems, Surrey, Inglaterra RU), com sonda de 30 kg, em triplicata para cada pH.

4.4.1 Testes de compressão uniaxial

Amostras de géis cilíndricos (20 mm diâmetro x 20 mm altura) foram submetidas a testes de compressão usando-se uma sonda cilíndrica adaptada com uma placa de dimensões 100 mm x 100 mm (largura e comprimento). As amostras foram comprimidas com taxa de 1 mm.s^{-1} , até a sua destruição (GE et al., 2018). A tensão e a deformação na ruptura foram determinadas diretamente da curva tensão vs deformação, enquanto que o módulo de Young foi calculado como a inclinação daquela curva, na sua porção linear (inicial), com a ajuda do software Exponent Lite Express 6.1.13.0.

4.4.2 Testes de relaxamento de tensão

Amostras cilíndricas (20 mm diâmetro x 20 mm altura) de géis, devidamente colocadas na placa inferior do texturômetro, foram submetidas a testes de relaxamento de tensão, usando-se o mesmo texturômetro na respectiva

função, e com os seguintes parâmetros de teste: - Função: "hold until time"; - Taxa de compressão: 1 mm.s^{-1} ; - Deformação imposta: 10%; - Duração do teste: 1 min para os géis GeA:Q e 4 min para os GeB:Q. As curvas de tensão em função do tempo, obtidas nesses testes, permitiram o cálculo das propriedades viscoelásticas, utilizando-se o modelo de Maxwell, baseado na teoria da viscoelasticidade linear.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos das análises de caracterização das soluções coloidais (potencial zeta, curvas de fluxo, varreduras de deformação, frequência e temperatura) e dos géis (compressão uniaxial e relaxamento de tensão) foram analisados estatisticamente pela ANOVA (análise de variância) "one-way" ou "two-way", e também a diferença entre as médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$), utilizando o software Statistica 13.5.0.17. Os efeitos avaliados foram o pH e o tipo de gelatina nas propriedades das soluções coloidais e géis.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ESTUDO DO EFEITO DO pH DAS SOLUÇÕES COLOIDAIIS SOBRE O POTENCIAL ZETA

O potencial zeta é um indicador da carga superficial líquida de uma molécula ou uma partícula em solução (VINJAMURI et al., 2021), que depende do pH do sistema. Observou-se que as soluções coloidais de Q apresentaram os maiores valores de potencial zeta, seguido das GeA:Q, GeB:Q, GeA e, a menor de todas, a de GeB (Figura 15).

Figura 15 – Potencial zeta de soluções coloidais gelatina suína tipo A (●), gelatina bovina tipo B (■), quitosana (▲) e de blends de gelatina tipo A com quitosana (●) e gelatina tipo B com quitosana (◆), em função do pH. As linhas tracejadas representam valores calculados com a Eq. (10).

Fonte: Própria autoria.

De fato, o potencial zeta de todas as soluções coloidais diminuiu linearmente em função do aumento do pH (Figura 15). Equações da reta [Eq.

(10)] foram calculadas por regressão linear (Tabela 5), em todos os casos. Os efeitos do pH sobre o potencial zeta podem ser demonstrados pelos valores das inclinações das retas: o maior efeito foi na solução de Q e o menor, na de GeA (Tabela 5).

$$y = ax + b \quad (10)$$

Onde: y é o potencial zeta (mV) e x é o pH das soluções, e a e b são as constantes da **Eq. (10)**, calculadas por regressão linear.

Tabela 5 – Parâmetros da Eq. (10) calculados por regressão linear com os dados de potencial zeta (y) e pH (x) das soluções coloidais gelatina suína tipo A (GeA), gelatina bovina tipo B (GeB), quitosana (Q) e de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e de gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q). E, r^2 é o coeficiente de correlação da regressão.

	a	b	r^2
GeA	$-4,2 \pm 0,2^A$	$30,6 \pm 1,1^E$	$0,985 \pm 0,001$
GeB	$-7,9 \pm 0,4^C$	$40,5 \pm 1,8^D$	$0,994 \pm 0,005$
Q	$-15,1 \pm 0,2^D$	$124,9 \pm 0,9^A$	$0,988 \pm 0,005$
GeA:Q	$-7,3 \pm 0,3^{BC}$	$62,6 \pm 1,4^B$	$0,872 \pm 0,044$
GeB:Q	$-6,8 \pm 0,5^B$	$57,8 \pm 2,8^C$	$0,953 \pm 0,004$

* Médias seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna referem-se à comparação do mesmo parâmetro para cada tipo de solução e são significativamente diferentes com 95% de significância pelo teste de Tukey.

Fonte: Própria autoria.

A solução de Q apresentou valores positivos ao longo de toda faixa de pH estudada, variando entre 71 e 32 mV (em pH 3,5 e 6,0, respectivamente), estando em concordância com os resultados de Heise et al. (2019), os quais determinaram potencial zeta de 72 mV para soluções coloidais de quitosana em pH 3,5. Este comportamento pode ser explicado pela protonação dos grupos amino da quitosana quando em meio ácido ($NH_2 \rightarrow NH_3^+$), todavia, em pH

superiores a 4,5 ocorre uma neutralização parcial das cargas positivas ao interagirem com as hidroxilas do meio, ocasionando uma diminuição gradual e linear da quantidade de cargas positivas resultantes (ROY et al., 2017). Zhang et al. (2020) avaliaram o potencial zeta de soluções coloidais de quitosana 1% e determinaram ~42 mV em pH 5,6, estando em concordância com o presente trabalho (Figura 15).

O potencial zeta da GeA também foi positivo em toda a faixa de pH estudada, diminuindo de 16 para 5 mV em função do aumento do pH (Figura 15). Destarte, não foi possível observar o seu ponto isoelétrico (pI), que de acordo com Moreira et al. (2018), estaria entre o pH 8,0 e 9,0, mas que pode ser calculado usando-se os parâmetros da reta como sendo 7,3. A diminuição do potencial zeta ocorreu devido a ionização dos ácidos carboxílicos contidos nos aminoácidos ácidos e dos grupos amina contidos nos aminoácidos básicos, os quais representam 13 e 8%, respectivamente, da composição da GeA (VINJAMURI et al., 2021). Por outro lado, o pI da GeB diminuiu linearmente de 13 a -6 mV em função do aumento do pH de 3,5 a 6,0 (Figura 15). Essa gelatina apresentou caráter catiônico em $\text{pH} \leq 5,0$ e aniônico em $\text{pH} \geq 5,5$, ou seja, apresentando pI entre os pH 5 e 5,5. Considerando-se os valores da equação da reta (Tabela 5) é possível calcular o pI da gelatina bovina tipo B como sendo 5,1. A GeB possui aminoácidos em sua cadeia que são responsáveis pelas cargas positivas, como a lisina ($\text{pKa} = 10$), arginina ($\text{pKa} = 12$) e tirosina ($\text{pKa} = 12$), e outros que são responsáveis pelas cargas negativas, como a histidina ($\text{pKa} = 6-7,5$) e os ácidos aspártico ($\text{pKa} = 4,5$) e glutâmico ($\text{pKa} = 4,5$) (RAO; KIM; THOMAS, 2005), portanto, quando o pH é inferior ao pI, os grupos catiônicos da gelatina são protonados e predominam sobre os trechos negativos da cadeia da molécula, todavia quando o pH for superior ao pI, os grupos aniônicos COOH serão desprotonados, prevalecendo as cargas negativas ao longo da cadeia molecular (ROY et al., 2017).

Vinjamuri et al. (2021) avaliaram o comportamento de soluções coloidais de gelatina tipo A entre os pH 1,5 e 8, e observaram que no pH 3,5 o potencial zeta foi ~ 15 mV e caiu de forma linear para ~ 4 mV no pH 6, similar ao observado nesta dissertação (Figura 15). Esses autores determinaram o pI (7,8) dessa gelatina, que foi ligeiramente superior ao valor calculado com as constantes da **Eq. (10)** (Tabela 5) para a GeA (pI = 7,3).

As soluções coloidais de GeA:Q e GeB:Q apresentaram potencial zeta positivo ao longo de toda faixa de pH em estudo. Na mistura desses biopolímeros ocorreu interação eletrostática (ligações iônicas) entre os grupos protonados da quitosana (NH_3^+) com as cargas negativas da gelatina provenientes dos grupos carboxila (COO^-) (ROY et al., 2018), além das interações de hidrogênio entre os grupos polares da gelatina (COOH , NH_2 e OH) com os grupos NH_2 e OH das moléculas de quitosana (QIAO et al., 2017). Todavia, as cargas positivas dos aminoácidos da gelatina permanecem sem interagir com a quitosana, resultando na carga líquida positiva, como determinada no potencial zeta.

Roy et al. (2018) estudaram o comportamento de soluções coloidais de blendas formadas com gelatina tipo B e quitosana em diferentes proporções. Eles observaram que a blenda com 5:1 (gelatina:quitosana) apresentou potencial zeta de 14 mV em pH 5,5, valor inferior ao determinado nesta dissertação (20 mV) nesse mesmo pH (Figura 15). Esta diferença pode ter ocorrido devido à menor proporção da gelatina na blenda (4,3:1 de gelatina:quitosana), considerando-se que uma maior quantidade de gelatina neutralizaria mais cargas da quitosana, proporcionando menor potencial zeta. Por outro lado, Roy et al. (2017) avaliaram o comportamento de soluções coloidais de gelatina tipo B (5% m/v) e de blendas de gelatina tipo B com quitosana (1:5 de quitosana:gelatina). Eles observaram que o valor absoluto do potencial zeta da gelatina tipo B diminuiu linearmente de ~ 20 mV para ~ -4 mV entre pH 3,5 e 6,0, e que o potencial zeta de GeB:Q decresceu de ~ 20 mV para ~ 11 mV entre pH 4,0 e 5,5. Essas diferenças em relação ao

determinado nesta dissertação podem ser explicadas pela diferença na proporção entre a gelatina e a quitosana, e também, a eventual diferença na composição da gelatina em termos de aminoácidos.

As soluções coloidais de GeA:Q apresentaram potencial zeta ligeiramente maior do que as soluções coloidais de GeB:Q em toda a faixa de pH estudada, inicialmente devido ao fato da gelatina tipo A ter tido maiores valores de potencial zeta (Figura 15). Considerando-se que a GeB tem, relativamente, mais cargas negativas que a GeA, pode-se sugerir que ocorre mais interações da GeB com a Q, resultando em uma neutralização parcial de cargas, diferentemente da GeA, onde as cargas são majoritariamente positivas, ocorrendo menor interação com a quitosana, resultando em uma maior quantidade de cátions no meio (LIU et al., 2018; MOREIRA et al., 2018; HEISE et al., 2019; VINJAMURI et al., 2021).

Moreira et al. (2018) estudaram soluções coloidais de blendas de gelatina tipo A com quitosana, e determinaram um potencial zeta de ~11 mV no pH 7,2, valor muito próximo ao valor calculado (10 mV) com a **Eq. (10)** com os respectivos parâmetros (Tabela 5).

É importante conhecer o comportamento separado de cada componente da blenda, pois eles estão relacionados com as interações que ocorrem, sendo assim, temos base para compreender e explicar o comportamento das demais análises que foram feitas com as blendas de gelatina e quitosana.

5.2 ESTUDO DO EFEITO DO pH SOBRE AS PROPRIEDADES REOLÓGICAS E VISCOELÁSTICAS DE SOLUÇÕES COLOIDais DE BLENdas DE GELATINAS E QUITOSANA

Em geral, as soluções coloidais de blendas de gelatina com quitosana apresentaram-se límpidas, incolores, sem nenhum vestígio de biopolímeros ou de agregados, ou seja, com bom aspecto. Fotografias de soluções coloidais de

gelatina tipo B e quitosana (GeB:Q), tiradas imediatamente antes das análises reológicas, ilustram esses aspectos (Figura 16).

Figura 16 – Soluções coloidais de blendas de gelatina tipo B com quitosana em diferentes pH previamente às análises reológicas.

Fonte: Própria autoria.

5.2.1 Propriedades reológicas por testes estacionários

5.2.1.1 Curvas de fluxo

Segundo os resultados dos testes reológicos estacionários obtidos da terceira rampa (Figura 17), as soluções coloidais de GeA:Q e GeB:Q apresentaram comportamento de um fluido não Newtoniano: pseudoplásticos.

Uma solução coloidal diluída de gelatina pura se comportaria como um fluido Newtoniano, independentemente do tipo de gelatina (tipo A ou B, bovina, suína ou de peixe) (AMIRI et al., 2018), enquanto que uma solução coloidal formada por quitosana pura pode apresentar comportamento pseudoplástico ou Newtoniano dependendo do seu peso molecular (ATAY et al., 2018). Entretanto, uma solução coloidal formada por estes dois biopolímeros pode ter seu comportamento alterado dependendo da concentração de cada um, do peso molecular, das interações e conformação/rede dos biopolímeros (ATAY et al., 2018). Esse comportamento não Newtoniano pode significar que as interações entre as moléculas de gelatina e quitosana foram maiores do que as interações de cada biopolímero com a água, pois caso as interações com a água fossem

maiores, o fluido apresentaria o comportamento Newtoniano (MORAES et al., 2009), e este comportamento não Newtoniano também pode ser devido às interações entre as moléculas do mesmo biopolímero (gelatina-gelatina ou quitosana-quitosana).

Pode-se observar na Figura 17, que a tensão de cisalhamento na GeB:Q foi cerca de 10 vezes maior comparada com a GeA:Q, certamente porque como tinha menor carga positiva (portanto, maior carga negativa), deve ter havido maior interação com a quitosana. Em ambos os casos, a tensão de cisalhamento aumentou em função do aumento do pH.

No pH 3,5 a GeB possuiu a maior quantidade de cargas positivas (maior valor de potencial zeta), assim como a Q, logo, dentre todas as blendas, esta foi a que menos teve interação entre os biopolímeros, assim, uma pequena tensão já era suficiente para contrapor a taxa de deformação imposta. Nas blendas de pH 4,0, 4,5 e 5,0, a quantidade de cargas positivas diminuiu gradativamente, fazendo com que a interação com a quitosana fosse cada vez maior, e consequentemente para uma determinada taxa de deformação foram necessárias tensões cada vez maiores. Finalmente, nos pH 5,5 e 6,0, ou seja, nos pH superiores ao pI da GeB, predominaram as cargas negativas, e também a máxima interação com a quitosana (que permaneceu sempre carregada positivamente), sendo necessário maiores tensões para contrapor a taxa de deformação imposta.

A blenda de GeB:Q era formada a partir de interações que formam um complexo eletrolítico, ou seja, prevalece a interação devido à diferença de carga existente nos dois biopolímeros (YIN et al., 1999), todavia, quando os biopolímeros possuem predominantemente a mesma carga, como é o caso da GeA:Q, as interações acontecem principalmente devido às interações de hidrogênio, como comprovado por Wang et al. (2009).

Figura 17 – Exemplos de curvas de fluxo de soluções coloidais de blends de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e de gelatina de tipo B com quitosana (GeB:Q) em diferentes pH: 3,5 (●); 4,0 (●); 4,5 (●); 5,0 (●); 5,5 (●) e 6,0 (●), a 30 e 40 °C, respectivamente. As linhas tracejadas representam valores calculados com a Eq. (1).

Fonte: Própria autoria.

Atay et al. (2018) caracterizaram minuciosamente soluções coloidais de GeA:Q de baixo, médio e alto peso molecular e constataram que o peso molecular influenciava no comportamento reológico do fluido, sendo que as blends formadas com a Q de médio e alto peso molecular apresentaram comportamento pseudoplástico, enquanto que aquelas com Q de baixo peso molecular apresentaram comportamento Newtoniano.

O modelo da Lei da Potência (ou Ostwald-de-Waele) [**Eq. (1)**] representou muito bem os dados experimentais (Figura 17), onde o índice de consistência (k) e o índice de comportamento do escoamento (n) foram calculados por regressão não-linear (Figura 18).

O índice de consistência (k) da GeA:Q aumentou linearmente de 8 a 10 mPa.sⁿ, em função do aumento do pH de 3,5 para 6,0 (Figura 18), enquanto que para a GeB:Q, ele aumentou exponencialmente [**Eq. (11)**] entre 37 e 181, quando o pH aumentou de 3,5 para 6,0. Similarmente, no caso da GeA:Q, o índice de escoamento (n) decresceu linearmente em função do pH, variando de 0,97 a 0,95, enquanto que para a GeB:Q, ele decresceu de forma exponencial [**Eq. (11)**] de 0,97 a 0,84 quando o pH aumentou de 3,5 para 6,0. Logo, pode-se considerar que o aumento do pH provocou maior pseudoplasticidade dos fluidos (RAMOS, 2019). O efeito do pH sobre as propriedades reológicas (Tabela 6) é nítido.

$$y = ae^{-bx} \quad (11)$$

Onde: y pode ser n ou k , x é o pH, e a e b são as constantes da **Eq. (11)**, calculadas por regressão não linear (Tabela 6).

Figura 18 – Parâmetros do modelo Lei da Potência [Eq. (1)]: índice de consistência (k), índice de escoamento (n) de soluções coloidais de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e de gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) em diferentes pH, a 30 e 40 °C, respectivamente. As linhas tracejadas representam valores calculados com as Eq. (10) e (11), para GeA:Q e GeB:Q, respectivamente.

Fonte: Própria autoria.

Tabela 6 – Parâmetros das Eq. (10) e (11) calculados por regressão linear e não linear, respectivamente, com os dados do índice de consistência (k) e índice de escoamento (n) em função do pH, das soluções coloidais de blendas de gelatina tipo A com quitosana [(GeA:Q, Eq. (10))] e de gelatina tipo B com quitosana [(GeB:Q, Eq. (11))]. E r^2 é o coeficiente de correlação da regressão.

Amostra		a	b	r^2
GeA:Q	k	$0,7 \pm 0,1^B$	$5,5 \pm 0,7^B$	$0,925 \pm 0,027$
(Eq. 18)	n	$-0,010 \pm 0,002^B$	$1,006 \pm 0,006^A$	$0,822 \pm 0,026$
GeB:Q	k	$2,1 \pm 0,1^A$	$743,1 \pm 68,5^A$	$0,967 \pm 0,009$
(Eq. 19)	n	$1,19 \pm 0,03^A$	$-0,053 \pm 0,005^B$	$0,874 \pm 0,015$

* Valores absolutos das médias seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna referem-se aos pares de "k" e "n" para cada blenda, separadamente, e são significativamente diferentes com 95% de significância pelo teste de Tukey.

Fonte: Própria autoria.

5.2.1.2 Viscosidade aparente

A evolução da viscosidade aparente das soluções coloidais de GeA:Q e GeB:Q em função do pH (3,5 - 6,0), pode ser analisada com a ajuda da Figura 19. Percebe-se que as GeB:Q apresentaram viscosidade aparente cerca de 10 vezes maior do que a GeA:Q, contudo, para ambas as blendas, quanto maior o pH, maior a viscosidade. E que o maior efeito da taxa de deformação sobre a viscosidade aparente ocorreu no início da curva, até uns 20 s^{-1} . No caso da GeB:Q, a dispersão dos pontos observada no início das curvas, foi devido à baixa viscosidade do sistema, beirando a sensibilidade do reômetro.

Wang et al. (2009) estudaram as propriedades reológicas, mecânicas e morfológicas de GeB:Q em diversas concentrações e temperaturas, e observaram que, na proporção 1:4 (quitosana:gelatina), a 25°C , a solução coloidal se comportou como um fluido pseudoplástico, com viscosidade aparente entre $\sim 0,65$ e $\sim 0,27 \text{ Pa.s}$ para o intervalo da taxa de deformação compreendido entre

0,01 e 200 s^{-1} . Os valores determinados nesta dissertação, para o mesmo intervalo de taxa de deformação, foram menores, a saber, 0,16 - 0,09 Pa.s, que pode ser explicado pela temperatura do teste ter sido maior (40°C), o que ocasionou a diminuição da viscosidade.

Figura 19 – Viscosidade aparente em função da taxa de deformação de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) em diferentes pH: 3,5 ($\blacktriangle$); 4,0 ($\blacktriangle$); 4,5 ($\blacktriangle$); 5,0 ($\blacktriangle$); 5,5 ($\blacktriangle$) e 6,0 ($\blacktriangle$), a 30 e 40°C , respectivamente.

Fonte: Própria autoria.

Amiri et al. (2018) avaliaram o comportamento de soluções coloidais de GeA, Q e de blendas destes biopolímeros em diferentes concentrações, e encontraram uma viscosidade aparente maior (~ 50 mPa.s) para a blenda de mesma proporção que este trabalho (50:50). Esta diferença pode ser explicada pela maior quantidade de biopolímeros presentes, pois a blenda foi formada a partir da mistura de uma solução coloidal de quitosana 2,5% com gelatina 10%, além da temperatura da análise ter sido menor (25 °C). Ambos fatores devem ter contribuído para a maior viscosidade da solução.

5.2.2 Propriedades viscoelásticas por testes oscilatórios

As propriedades viscoelásticas de interesse são os módulos de armazenamento (G') e de perda (G''), determinados em função do pH (3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5 e 6,0) de soluções coloidais de blendas de dois tipos de gelatinas com quitosana.

5.2.2.1 Varredura de deformação

A sequência de testes dinâmicos (ensaios oscilatórios) foi iniciada pela varredura de deformação (Figura 20) das soluções coloidais de GeA:Q e GeB:Q. Similarmente ao observado para a viscosidade aparente, nas soluções coloidais de GeA:Q, as medidas ficaram muito próximas à sensibilidade do reômetro (Figura 19). De fato, o módulo de armazenamento, parâmetro característico do sólido viscoelástico, foi muito pequeno, próximo ao limite de sensibilidade do equipamento, muito possivelmente por que os testes foram realizados com as soluções coloidais em domínio sol (30 °C para GeA:Q e 40 °C para GeB:Q).

Figura 20 – Módulo de perda (G') e módulo de armazenamento (G'') em função da deformação de soluções coloidais de blends de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) preparadas em diferentes pH: 3,5 (■,□); 4,0 (●,○); 4,5 (▲,△); 5,0 (■,□); 5,5 (●,○) e 6,0 (▲,△), a 30 e 40 °C, respectivamente.

Fonte: Própria autoria.

Observou-se que o módulo de perda (G'') sempre foi maior que o módulo de armazenamento (G'), evidenciando tratar-se de líquido viscoelástico (RODRIGUES et al., 2020), o que era de se esperar devido à temperatura de realização dos testes, no domínio sol. Além disso, observou-se que G' e G'' das GeA:Q foram menores que as das GeB:Q, assumindo-se que as GeA:Q foram fluídos menos viscoelásticos que as GeB:Q.

A RVL, isto é, a região onde os módulos G' e G'' se mantiveram independentes da deformação, foi diferente para cada solução: o domínio da viscoelasticidade linear iniciou em 3 e 5% para as soluções coloidais de gelatina tipo A e B, respectivamente, com quitosana (Figura 20). Assim, escolheu-se esses valores, 3 e 5%, para a continuação dos testes.

Em todas as soluções coloidais, a RVL foi até o final do teste, sugerindo que não houve quebra das ligações intermoleculares mesmo quando as soluções coloidais foram submetidas a elevadas deformações (LUCIANO, 2016; RODRIGUES et al., 2020). Cabe ressaltar, por fim, que apesar da Figura 20 estar mostrando o intervalo de deformação de 0,01 a 10%, o teste foi realizado até 100% de deformação. O resultado completo pode ser encontrado no Apêndice A.

Na continuação, G' e G'' foram determinados com a deformação pré-fixada, para o estudo do efeito do pH do sistema. Ambos G' e G'' das soluções coloidais GeA:Q aumentaram linearmente (Tabela 7) em função do pH do meio: de 0,4 a 17 e de 19 a 71 mPa, respectivamente, quando o pH aumentou de 3,5 para 6,0 (Figura 21). Por outro lado, as soluções coloidais GeB:Q apresentaram um comportamento mais complexo. G' e G'' aumentaram linearmente, mas em dois domínios nítidos: no primeiro, entre o pH 3,5 e 5,0, ambos os módulos aumentaram com taxa inferior ao observado no segundo domínio de pH, entre 5,0 e 6,0 (Figura 21, Tabela 7).

Tabela 7 – Parâmetros da Eq. (10) calculados por regressão linear com os dados de G' e G'' (y) e pH (x) das soluções coloidais de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e de gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q). r^2 é o coeficiente de correlação da regressão.

	Amostra	a	b	r^2
G' (Pa)	GeA:Q	$6,9 \pm 0,1^B$	$-26,4 \pm 0,4^A$	$0,911 \pm 0,012$
	GeB:Q ¹	$7,3 \pm 0,8^B$	$-23,7 \pm 3,0^A$	$0,868 \pm 0,033$
	GeB:Q ²	$186,2 \pm 34,1^A$	$-1013,7 \pm 32,6^B$	$0,990 \pm 0,004$
G'' (Pa)	GeA:Q	$18,9 \pm 0,3^C$	$-45,8 \pm 1,7^A$	$0,955 \pm 0,001$
	GeB:Q ¹	$102,0 \pm 4,2^B$	$-114,9 \pm 18,5^B$	$0,841 \pm 0,010$
	GeB:Q ²	$354,4 \pm 36,3^A$	$-1385,7 \pm 187,9^C$	$0,998 \pm 0,001$

* Valores absolutos das médias seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna referem-se a G' ou G'' , separadamente para as amostras GeA:Q, GeB:Q¹ e GeB:Q² e são significativamente diferentes com 95% de significância pelo teste de Tukey.

¹ Regressão com os dados de pH entre 3,5 e 5,0.

² Regressão com os dados de pH entre 5,0 e 6,0.

Fonte: Própria autoria.

Assim, se considera a hipótese de que esses comportamentos foram consequências das diferentes intensidades de interação entre os biopolímeros, que passou a ser mais intensa a partir do pI da GeB (entre pH 5,0 e 5,5), resultando em um material mais viscoelástico. Isso demonstra a eficiência dos testes oscilatórios, e consequentemente das respectivas propriedades viscoelásticas, em relação aos testes estacionários, em estudos sobre conformação de macromoléculas.

5.2.2.2 Varredura de frequência

Os resultados desses testes com as GeA:Q apresentaram valores inferiores à sensibilidade do reômetro, verificado com uma quantidade enorme de ruídos, que impossibilitaram a interpretação dos resultados. Assim,

apresentam-se, na sequência, dados da varredura de frequência realizadas com as soluções coloidais de GeB:Q (Figura 22).

Figura 21 – Módulos de armazenamento (G') e de perda (G'') de soluções coloidais de blends de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) preparadas em diferentes pH, determinados a 3 e 5% de deformação e a 30 e 40 °C, respectivamente: G' (■; ■) e G'' (■; ■). As linhas tracejadas representam valores calculados com a Eq. (10).

Fonte: Própria autoria.

De modo geral, G' foi pouco sensível à frequência, entre 0,1 e 1,0 Hz, permanecendo praticamente constante para as soluções coloidais com pH igual a 3,5 e 4,0 em torno de 0,002-0,003 Pa. Entretanto, G' cresceu aparentemente de

forma exponencial em função do aumento da frequência, entre 1 e 10 Hz. Por outro lado, G'' cresceu de forma linear para todas as soluções coloidais em função do aumento da frequência (Figura 22). O módulo de perda foi sempre maior que o módulo de armazenamento, por se tratar de líquido viscoelástico (no domínio sol). E, não se observou intersecção entre eles, contudo com o aumento da frequência G' e G'' ficaram muito próximo, comportamento este característico de uma solução diluída (STEFFE, 1996).

Figura 22 – Módulos de armazenamento (G') e perda (G'') de soluções coloidais de blendas de gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) preparadas em diferentes pH: 3,5 (◆; ◇); 4,0 (◆; ◇); 4,5 (◆; ◇); 5,0 (◆; ◇); 5,5 (◆; ◇) e 6,0 (◆; ◇), em função da frequência, a 40 °C.

Fonte: Própria autoria.

Em relação ao efeito do pH, observou-se que G' e G'' aumentaram com o aumento do pH das soluções coloidais. Considerando-se que G' e G'' em função da frequência podem caracterizar um material como mais ou menos viscoelástico (LIU et al., 2021b), pode-se sugerir que houve aumento da viscoelasticidade das soluções coloidais em função do pH.

Uma terceira propriedade viscoelástica, relacionada com a defasagem entre a função seno da tensão e a da deformação, pode ser calculada como a relação entre G'' e G' [Eq. (5)]. Essa propriedade é a tangente do ângulo de defasagem ($\text{Tan}\delta$), que também é uma função da frequência (STEFFE, 1996).

O valor de $\text{Tan}\delta$ pode variar entre zero e infinito, sendo que, segundo Steffe (1996), os valores são altos para soluções diluídas, variam de 0,2 a 0,3 para polímeros amorfos, e para polímeros cristalinos e géis é em torno de 0,01. Portanto, assim como já foi constatado anteriormente, as soluções coloidais estudadas nesta dissertação podem ser classificadas como diluídas, sobretudo no domínio de baixa frequência. Além disso, percebeu-se que o efeito do pH das soluções coloidais foi similar ao efeito de uma eventual diluição, qual seja, o aumento do pH diminuiu os valores de $\text{Tan}\delta$ para valores próximos aos característicos de soluções diluídas (Figura 23).

Para melhor se visualizar o efeito do pH, graficou-se valores de $\text{Tan}\delta$ calculados a 1 Hz de frequência para as soluções coloidais GeB:Q em diferentes pH (Figura 24). Confirma-se que, de modo geral, $\text{Tan}\delta$ diminuiu com o aumento do pH, mas em dois domínios: de 47 para 11 quando o pH aumentou de 3,5 para 4,5, e de 30 para 5 em função do aumento do pH de 5,0 para 6,0. Muito possivelmente, isso está associado ao fato de que essa gelatina tem um pI de 5,1, provocando essa aparente descontinuidade entre os pH 4,5 e 5,0.

Figura 23 – Tangente do ângulo de defasagem ($\text{Tan}\delta$) de soluções coloidais de blends de gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) preparadas em diferentes pH: 3,5 (●); 4,0 (●); 4,5 (●); 5,0 (●); 5,5 (●) e 6,0 (●), em função da frequência, a 40 °C.

Fonte: Própria autoria.

Figura 24 – Tangente do ângulo de defasagem ($\text{Tan}\delta$) calculada a 1 Hz de frequência para soluções coloidais de blends de gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q), em função do pH, a 40 °C.

Fonte: Própria autoria.

5.2.2.3 Varredura de temperatura

Exemplos de curvas obtidas nos testes de varredura de temperatura com as soluções coloidais de GeA:Q e GeB:Q nos pH 3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5 e 6,0 estão apresentadas nas Figuras 25 e 26, respectivamente. De modo geral, observou-se um comportamento característico independente do pH das soluções coloidais: ambos os módulos (G' e G'') tiveram altos valores em baixas temperaturas, que diminuíram em temperaturas relativamente altas, com uma transição bem visível, na forma de inflexões. Esse comportamento é típico de gel físico termorreversível. Quando a gelatina está solubilizada e no domínio sol, as cadeias peptídicas formam espirais aleatórias (estado desordenado ou "coil"), conferindo pouca elasticidade à solução, e consequentemente baixo valor de G' . Entretanto, quando a solução é resfriada, entrando no domínio gel, são formadas zonas de junção por pequenos segmentos de cadeias polipeptídicas, revertendo à estrutura de tripla hélice e formando uma estrutura tridimensional desordenada, resultando no aumento da elasticidade do sistema, evidenciado pelo aumento de G' (JORGE, 2012).

De modo geral, no domínio sol, os módulos G' e G'' foram menores para as blendas GeA:Q (Figura 25, 10^2 e 10^1 Pa, respectivamente) que os das blendas GeB:Q (Figura 26, 10^3 e 10^2 Pa, respectivamente). Isto ocorreu devido às mais fortes interações biopoliméricas nas GeB:Q, onde predominam as interações eletrostáticas e as pontes de hidrogênio, enquanto que nas GeA:Q as interações eletrostáticas são menores e apenas as ligações de hidrogênio são mais expressivas (WANG et al., 2009).

Figura 25 – Módulos de armazenamento (G') e de perda (G'') de soluções coloidais de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) preparadas em diferentes pH: 3,5 (—); 4,0 (—); 4,5 (—); 5,0 (—); 5,5 (—); 6,0 (—), em função da temperatura. Taxa de aquecimento de 2 °C/min.

Fonte: Própria autoria.

Figura 26 – Módulos de armazenamento (G') e de perda (G'') de soluções coloidais de blendas de gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) preparadas em diferentes pH: 3,5 (—); 4,0 (—); 4,5 (—); 5,0 (—); 5,5 (—); 6,0 (—), em função da temperatura. Taxa de aquecimento de 2 °C/min.

Fonte: Própria autoria.

Qiao et al. (2017) estudaram o comportamento reológico de GeB:Q, e determinaram valores de G' e G'' da ordem de 10^4 e 10^3 Pa, respectivamente, com blenda de proporção 80:20 (gelatina:quitosana) e em pH ~ 4 . Esses valores foram uma ordem de grandeza superior ao determinado nesta dissertação. Essa diferença pode ser explicada pelo fato deles terem usado uma gelatina de alto peso molecular, enquanto que nesta dissertação, ambas gelatinas foram de baixo peso molecular, conforme descrito em 4.1.

5.2.2.3.1 Temperaturas de transição sol-gel e gel-sol

As inflexões nas curvas de ambos os módulos (Figuras 25 e 26) permitiram os cálculos das temperaturas de transição sol-gel ($T_{\text{sol-gel}}$) e gel-sol ($T_{\text{gel-sol}}$) para as curvas de resfriamento e de aquecimento, respectivamente (Tabela 8). A diferença entre essas duas temperaturas, a histerese, foi também calculada (MORAES et al., 2009).

No caso das soluções coloidais GeB:Q, as temperaturas de sol-gel e gel-sol aumentaram com o aumento do pH, sem efeito aparente na histerese. E, no caso das soluções coloidais GeA:Q, o efeito do pH foi observado apenas para a temperatura gel-sol. Além disso, observou-se que as GeB:Q apresentaram valores maiores do que as GeA:Q (Tabela 8).

Observou-se que $T_{\text{sol-gel}}$ teve um aumento de 39% ($\sim 10,8$ para ~ 15 °C), enquanto que para $T_{\text{gel-sol}}$ este aumento foi menor (16%), de $\sim 24,5$ para $\sim 28,5$ °C com a GeA:Q. Já em relação às GeB:Q, $T_{\text{sol-gel}}$ teve um grande aumento (50%) de $\sim 12,5$ para $\sim 18,7$ °C, e para $T_{\text{gel-sol}}$, o aumento foi de 22%, de $\sim 24,7$ para $30,2$ °C. E a histerese permaneceu entre 12 e 15 °C, sem efeito significativo (Tabela 8).

Tabela 8 – Temperaturas de transição sol-gel ($T_{\text{sol-gel}}$) e gel-sol ($T_{\text{gel-sol}}$) e histerese (ΔT) de soluções coloidais de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) preparadas em diferentes pH.

Amostra	pH	$T_{\text{sol-gel}}$ (°C)	$T_{\text{gel-sol}}$ (°C)	ΔT (°C)
GeA:Q	3,5	$10,8 \pm 2,6$ ^{A,X,b}	$24,5 \pm 0,7$ ^{C,X,a}	$13,6 \pm 3,3$ ^A
	4,0	$11,6 \pm 0,5$ ^{A,Y,b}	$25,8 \pm 0,2$ ^{BC,Y,a}	$14,2 \pm 0,3$ ^A
	4,5	$12,8 \pm 0,7$ ^{A,Y,b}	$26,5 \pm 0,3$ ^{ABC,Y,a}	$13,7 \pm 0,4$ ^A
	5,0	$12,1 \pm 0,2$ ^{A,Y,b}	$27,0 \pm 0,0$ ^{AB,Y,a}	$14,8 \pm 0,2$ ^A
	5,5	$12,3 \pm 0,0$ ^{A,Y,b}	$27,1 \pm 0,2$ ^{AB,Y,a}	$14,8 \pm 0,2$ ^A
	6,0	$15,0 \pm 3,8$ ^{A,X,b}	$28,5 \pm 1,1$ ^{A,X,a}	$13,5 \pm 2,7$ ^A
GeB:Q	3,5	$12,5 \pm 0,7$ ^{E,X,b}	$24,7 \pm 0,3$ ^{D,X,a}	$12,2 \pm 0,5$ ^A
	4,0	$14,9 \pm 0,5$ ^{D,X,b}	$27,6 \pm 0,2$ ^{C,X,a}	$12,7 \pm 0,6$ ^A
	4,5	$16,6 \pm 0,2$ ^{C,X,b}	$28,6 \pm 0,2$ ^{BC,X,a}	$12,0 \pm 0,4$ ^A
	5,0	$17,1 \pm 0,2$ ^{BC,X,b}	$29,4 \pm 0,2$ ^{AB,X,a}	$12,3 \pm 0,3$ ^A
	5,5	$17,9 \pm 0,2$ ^{AB,X,b}	$29,9 \pm 0,2$ ^{AB,X,a}	$12,0 \pm 0,3$ ^A
	6,0	$18,7 \pm 0,6$ ^{A,X,b}	$30,2 \pm 1,2$ ^{A,X,a}	$11,5 \pm 0,3$ ^A

* Valores absolutos das médias seguidas por diferentes são significativamente diferentes com 95% de significância pelo teste de Tukey.

* Letras maiúsculas A,B,C,D referem-se à diferença entre pH para o mesmo tipo de blenda (GeA:Q ou GeB:Q).

* Letras maiúsculas X,Y referem-se à diferença entre os tipos de blendas para o mesmo pH.

* Letras minúsculas a,b referem-se à diferença entre $T_{\text{sol-gel}}$ e $T_{\text{gel-sol}}$ para o mesmo pH e mesmo tipo de blenda.

Fonte: Própria autoria.

As blendas formadas pelos dois tipos de gelatina apresentaram $T_{\text{gel-sol}}$ maiores do que $T_{\text{sol-gel}}$, o que pode estar associado com o fato de a formação da tripla hélice da gelatina ser um processo lento e que continua quase indefinidamente, com o aumento progressivo da força do gel, contudo a quebra dessa estrutura durante o aquecimento é um processo de equilíbrio, que é concluído quando a temperatura atinge aproximadamente 35 °C (FITZSIMONS; MULVIHILL; MORRIS, 2008).

5.2.2.3.2 Módulos de armazenamento e de perda nos domínios sol e gel

Valores de G' e G'' foram calculados, para ambas as blendas de gelatina e quitosana, no domínio sol, a 30 (GeA:Q) e 40 °C (GeB:Q), ou no domínio gel, a 5 °C, usando-se as curvas de aquecimento e resfriamento. Esses valores, em função do pH, estão apresentados nas Tabelas 9 e 10. Pode-se observar que, de maneira geral, ambas as propriedades viscoelásticas das soluções coloidais das duas gelatinas e quitosana aumentaram com o pH (Tabelas 9 e 10), confirmando-se que as interações entre os dois biopolímeros (gelatinas e quitosana) se tornaram mais intensas em função do aumento do pH: a redução da carga positiva da gelatina permitia melhor interação entre seus grupos funcionais negativos com os grupos funcionais positivos da quitosana.

Por outro lado, comparando-se o efeito da temperatura (e do domínio sol-gel) sobre as propriedades viscoelásticas, observou-se o comportamento clássico para as blendas de GeB:Q, onde G' foi sempre maior no domínio gel que no domínio sol, isto é, independentemente do pH, para os dados obtidos tanto das curvas de aquecimento quanto da de resfriamento, comportamento característico de géis. O inverso foi observado com G'' , que foi sempre maior no domínio sol que no gel, com dados determinados em ambas curvas (Tabela 10), comportamento característico de soluções coloidais. Além disso, pode-se observar que, de modo geral, os valores de G' e G'' foram maiores quando calculados das curvas de aquecimento, muito possivelmente consequência das diferenças de "história" das amostras, pois as soluções haviam sido aquecidas até 60 (GeA:Q) ou 50 °C (GeB:Q) e resfriadas até 5 °C, e posteriormente foram aquecidas novamente até 60 (GeA:Q) ou 50 °C (GeB:Q).

Tabela 9 – Módulos de armazenamento (G') e de perda (G''), a 5 e 30 °C, de soluções coloidais de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) preparadas em diferentes pH.

pH	Aquecimento				Resfriamento			
	G' (Pa)	G' (mPa)	G'' (Pa)	G'' (mPa)	G' (Pa)	G' (mPa)	G'' (Pa)	G'' (mPa)
	5 °C	30 °C	5 °C	30 °C	5 °C	30 °C	5 °C	30 °C
3,5	17,1 ± 3,1 ^{E,a}	4,4 ± 0,8 ^{E,b}	1,4 ± 0,0 ^{F,b}	97,3 ± 4,6 ^{D,a}	49,3 ± 9,6 ^{A,a}	25,5 ± 1,5 ^{D,b}	0,9 ± 0,1 ^{D,b}	64,7 ± 2,9 ^{B,a}
4,0	60,8 ± 5,6 ^{D,a}	4,6 ± 0,4 ^{E,b}	1,6 ± 0,0 ^{E,b}	97,3 ± 7,9 ^{D,a}	29,5 ± 6,9 ^{B,a}	10,3 ± 0,0 ^{E,b}	1,4 ± 0,0 ^{C,b}	63,3 ± 1,4 ^{B,a}
4,5	77,8 ± 5,7 ^{C,a}	34,5 ± 1,1 ^{C,b}	2,1 ± 0,0 ^{C,b}	116,6 ± 2,3 ^{C,a}	49,3 ± 9,6 ^{A,a}	25,5 ± 1,5 ^{D,b}	1,5 ± 0,1 ^{C,b}	48,0 ± 1,3 ^{D,a}
5,0	73,1 ± 5,8 ^{C,a}	20,6 ± 6,2 ^{D,b}	1,9 ± 0,0 ^{D,b}	92,2 ± 1,8 ^{D,a}	51,6 ± 8,8 ^{A,a}	39,8 ± 3,3 ^{C,a}	1,9 ± 0,1 ^{B,b}	53,0 ± 2,2 ^{C,a}
5,5	93,0 ± 6,8 ^{B,b}	154,3 ± 15,5 ^{B,a}	3,0 ± 0,0 ^{B,b}	221,3 ± 23,4 ^{B,a}	55,7 ± 9,7 ^{A,b}	74,5 ± 0,7 ^{B,a}	2,0 ± 0,1 ^{B,b}	53,0 ± 2,2 ^{C,a}
6,0	164,5 ± 10,7 ^{A,a}	213,4 ± 8,9 ^{A,b}	6,0 ± 0,1 ^{A,b}	377,0 ± 3,2 ^{A,a}	69,9 ± 12,5 ^{A,a}	80,1 ± 2,5 ^{A,a}	5,9 ± 0,1 ^{A,b}	89,1 ± 1,2 ^{A,a}

* Valores absolutos das médias seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna referem-se à comparação do mesmo parâmetro a uma determinada temperatura em diferentes pH e são significativamente diferentes com 95% de significância pelo teste de Tukey.

* Valores absolutos das médias seguidas por diferentes letras minúsculas na mesma linha referem-se à comparação dos pares G' a 5 e 30 °C e a G'' a 5 e 30 °C e são significativamente diferentes com 95% de significância pelo teste de Tukey.

Fonte: Própria autoria.

Tabela 10 – Módulos de armazenamento (G') e de perda (G'') a 5 e 40 °C de soluções coloidais de blendas de gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) preparadas em diferentes pH.

pH	Aquecimento				Resfriamento			
	G' (Pa)	G' (mPa)	G'' (Pa)	G'' (mPa)	G' (Pa)	G' (mPa)	G'' (Pa)	G'' (mPa)
	5 °C	40 °C	5 °C	40 °C	5 °C	40 °C	5 °C	40 °C
3,5	443,1 ± 33,4 D ^a	146,1 ± 2,3 B ^b	34,8 ± 0,4 C ^b	577,9 ± 12,3 B ^a	279,3 ± 51,0 C ^a	130,5 ± 2,3 B ^b	30,2 ± 2,4 B ^b	595,0 ± 15,4 B ^a
4,0	336,6 ± 20,2 E ^a	10,5 ± 1,1 F ^b	23,7 ± 0,3 D ^b	313,3 ± 8,8 E ^a	236,5 ± 34,4 C ^a	11,8 ± 0,7 F ^b	20,5 ± 1,4 C ^b	303,1 ± 6,9 F ^a
4,5	509,9 ± 24,7 C ^a	39,7 ± 1,0 E ^b	44,3 ± 0,4 B ^b	419,6 ± 13,7 D ^a	384,2 ± 44,3 B ^a	36,4 ± 1,5 E ^b	39,2 ± 2,3 A ^b	393,0 ± 9,5 E ^a
5,0	549,6 ± 24,3 BC ^a	55,1 ± 3,0 D ^b	48,3 ± 0,7 A ^b	488,8 ± 20,0 C ^a	425,8 ± 44,3 B ^a	46,3 ± 1,1 D ^b	43 ± 2,6 A ^b	440,9 ± 12,4 D ^a
5,5	564,5 ± 23,3 B ^a	101,8 ± 7,0 C ^b	44,8 ± 0,9 B ^b	603,3 ± 31,2 B ^a	444,9 ± 42,7 B ^a	82,2 ± 2,4 C ^b	40,6 ± 2,8 A ^b	549,1 ± 17,3 C ^a
6,0	763,6 ± 29,7 A ^a	725,6 ± 44,7 A ^a	44,9 ± 0,5 B ^b	1493,0 ± 72,0 A ^a	610,1 ± 54,2 A ^a	453,6 ± 29,2 A ^b	40,5 ± 2,1 A ^b	1168,6 ± 46,2 A ^a

* Valores absolutos das médias seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna referem-se à comparação do mesmo parâmetro a uma determinada temperatura em diferentes pH e são significativamente diferentes com 95% de significância pelo teste de Tukey.

* Valores absolutos das médias seguidas por diferentes letras minúsculas na mesma linha referem-se à comparação dos pares G' a 5 e 40 °C e a G'' a 5 e 40 °C e são significativamente diferentes com 95% de significância pelo teste de Tukey.

Fonte: Própria autoria

Mas, o mais interessante são os resultados da solução de GeA:Q. Nesse caso, G' no domínio gel (5 °C) só é maior que o do domínio sol (30 °C) entre os pH 3,5 e 5,0, observando-se inversão desse comportamento nos pH 5,5 e 6,0), ou seja, nessa condição, G' do domínio sol foi maior que o do domínio gel, tudo isso para os dados retirados de ambas curvas de aquecimento ou resfriamento (Tabela 9). Tal efeito não foi observado em G'' , cujo comportamento foi o clássico: maior no domínio sol que no gel. De certa forma, as interações entre a GeA e a Q foram maiores quando em solução coloidal. Nessa condição, todas as potenciais interações podem ocorrer devido a maior mobilidade molecular dos biopolímeros, enquanto que no gel, as interações biopoliméricas deve ter sido mais associadas às interações que controlam a transição ordem-desordem da estrutura polipeptídica. Mas, mais estudos são necessários para se elucidar esse comportamento.

5.3 ESTUDO DO EFEITO DO pH SOBRE AS PROPRIEDADES MECÂNICAS E VISCOELÁSTICAS DE GÉIS PRÉ-FORMADOS DE BLENDS DE GELATINAS E QUITOSANA

5.3.1 Propriedades mecânicas por testes de compressão uniaxial

Os géis pré-formados devem ter outra “história” térmica em relação aos géis formados durante os testes de varredura de temperatura, sendo mais relacionados a eventuais aplicações práticas. De maneira geral, esses géis são produzidos por resfriamento lento, permanecendo em refrigeração por longo tempo, portanto. Assim, é interessante estudar as propriedades desses géis. Recordando que para que a estrutura de gel seja formada, é necessário que haja uma interação entre as cadeias de gelatina e quitosana para a formação de uma rede, o que é fortemente influenciado pela concentração e peso molecular dos

biopolímeros (ATAY et al., 2018). Exemplo de um gel pré-formado está apresentado na Figura 27, imediatamente antes e após o teste de compressão uniaxial.

Figura 27 – Exemplo de gel de blenda de gelatina tipo B com quitosana a 5 °C e pH 4,0 antes e após o teste de compressão uniaxial.

Fonte: Própria autoria.

Curvas de compressão uniaxial de géis pré-formados das soluções coloidais de GeA:Q e GeB:Q em diferentes pH, foram determinadas à temperatura ambiente (~ 20 °C) (Figura 28), com os géis imediatamente retirados da estufa, onde estavam mantidos a 5 °C, durante 24 horas, para gelificarem. Dessas curvas, foram calculadas as propriedades mecânicas de interesse: tensão (Figura 29) e deformação (Figura 30) na ruptura, e o módulo de Young (Figura 31). A tensão na ruptura, que indica a resistência do gel a uma dada carga, está relacionada com a força da rede do gel (TAKEUCHI, 2008), a deformação na ruptura é um indicador da flexibilidade do gel, enquanto que o módulo de Young expressa a rigidez do gel.

De maneira geral, os comportamentos das curvas de compressão (Figura 28) foram similares para todos os géis testados, sendo composta de duas regiões, uma porção linear inicial, onde ainda se observa reversibilidade da amostra, ou seja, ela se encontra na RVL, seguido de uma região onde a tensão aumenta

exponencialmente com a deformação, sendo que essa região já não pode ser considerada como reversível.

Figura 28 – Curvas de compressão uniaxial de géis de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) preparados em diferentes pH: 3,5 (—); 4,0 (—); 4,5 (—); 5,0 (—); 5,5 (—) e 6,0 (—), a 5 °C.

Fonte: Própria autoria.

Em relação às propriedades mecânicas, observou-se que para ambos os géis de GeA:Q e GeB:Q, a tensão na ruptura aumentou com o pH (Figura 29). A tensão aumentou linearmente para GeA:Q, enquanto que para GeB:Q, foram observadas duas regiões: aumento linear entre o pH 3,5 e 5,5, seguido de um

salto de 13 para 37 kPa, quando o pH foi de 5,5 para 6,0 (Figura 29). Similarmente ao observado nas propriedades viscoelásticas, esse último comportamento deve ter sido consequência da mudança de intensidade das interações em pH acima do pI da GeB.

Figura 29 – Tensão na ruptura de géis de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) preparados em diferentes pH, a 5 °C. As linhas tracejadas representam valores calculados com a Eq. (10).

Fonte: Própria autoria.

Diversos fatores estão associados à força do gel de proteínas, sendo os principais fatores a temperatura, o tempo de gelificação, a quantidade de

moléculas no meio e o pH (TAKEUCHI, 2008). Como todas essas condições foram mantidas constantes para a produção dos géis (5 °C; 24 h; concentração de biopolímeros idêntica), pode-se confirmar que a força do gel está intimamente ligada ao pH, assumindo-se que as interações intra e intermoleculares em função das cargas na superfície dos biopolímeros são função do pH do meio.

Comportamentos similares foram observados para a deformação na ruptura (Figura 30) e módulo de Young (Figura 31): aumento linear em função do pH, para os géis GeA:Q, e aumento em duas regiões para os géis GeB:Q limitadas no pH 5,5, sendo que nesses casos, o salto entre o pH 5,5 e 6,0 foi maior.

Figura 30 – Deformação na ruptura de géis de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) preparados em diferentes pH, a 5 °C. As linhas tracejadas representam valores calculados com a Eq. (10).

Fonte: Própria autoria.

De modo geral, as deformações na ruptura das duas soluções coloidais variaram em valores muito próximos, entre 50 e 70% (Figura 30), mas o módulo de Young dos géis GeB:Q foi, de modo geral, maiores que os valores observados para GeA:Q (Figura 31), muito possivelmente devido à maior intensidade das interações entre essa gelatina e a quitosana, como já explicado previamente.

Figura 31 – Módulo de Young de géis de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) preparados em diferentes pH, a 5 °C. As linhas tracejadas representam valores calculados com a Eq. (10).

Fonte: Própria autoria.

Os valores dos parâmetros das equações lineares representando as propriedades mecânicas (tensão na ruptura, deformação e módulo de Young) em função do pH foram calculados por regressão linear e estão apresentados na Tabela 11, onde se pode observar o nítido efeito do pH sobre a deformação na ruptura e no módulo de Young, pelas respectivas diferenças no parâmetro *a* da equação da reta [Eq. (10)].

Tabela 11 – Parâmetros da Eq. (10) calculados por regressão linear com os dados das propriedades mecânicas (y) e pH (x) de géis de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q). r^2 é o coeficiente de correlação da regressão.

Prop. mecânicas	Géis	a	b	r^2
Tensão na ruptura (kPa)	GeA:Q	$5,2 \pm 0,6^A$	$-17,9 \pm 2,4^B$	$0,900 \pm 0,004$
	GeB:Q¹	$4,4 \pm 0,3^A$	$-10,0 \pm 0,1^A$	$0,899 \pm 0,001$
Deformação (%)	GeA:Q	$7,3 \pm 0,4^A$	$24,7 \pm 1,4^B$	$0,950 \pm 0,030$
	GeB:Q¹	$3,9 \pm 0,5^B$	$39,9 \pm 1,7^A$	$0,801 \pm 0,024$
Módulo de Young (Pa)	GeA:Q	$5,3 \pm 0,7^A$	$-10,5 \pm 2,8^B$	$0,842 \pm 0,010$
	GeB:Q¹	$4,3 \pm 0,1^B$	$8,3 \pm 1,5^A$	$0,831 \pm 0,041$

* Valores absolutos das médias seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna referem-se aos parâmetros, separadamente, entre GeA:Q e GeB:Q¹, e são significativamente diferentes com 95% de significância pelo teste de Tukey.

¹ Regressão utilizando os dados entre pH 3,5 e 5,5.

Fonte: Própria autoria.

Jaiswal (2020) avaliou o comportamento mecânico de géis de blendas de gelatina com quitosana por testes de compressão, e determinaram a tensão na ruptura de ~9 kPa e módulo de Young de ~26 kPa, valores menores do que os determinados nesta dissertação: ~13 kPa e ~33 kPa, respectivamente, para o pH 5,0. Essas diferenças devem ter sido provocadas pela menor concentração de biopolímeros (0,5% e 2,0% de gelatina e quitosana, respectivamente) nos géis produzidos por aqueles autores.

5.3.2 Propriedades viscoelásticas por testes de relaxamento de tensão

Nos testes de relaxamento de tensão, as amostras foram comprimidas até 10% de deformação, pré-definida dentro da RVL. Ao atingir aquela deformação, o equipamento cessou o movimento, ou seja, manteve a deformação constante, ao mesmo tempo que continuava monitorando a tensão necessária para isso. A tensão necessária para se manter a deformação imposta (10%) diminuiu exponencialmente com o tempo (Figura 32), comportamento característico de materiais viscoelásticos (CHANDRA; SOBRAL, 2000). Aparentemente, ambos os géis se comportaram como géis fracos, observando-se um relaxamento de tensão muito sutil. Nenhuma diferença nas formas dessas curvas foi percebida como consequência dos diferentes pH das amostras.

Para o cálculo das propriedades viscoelásticas dos géis, aplicou-se o modelo de Maxwell [Eq. (8)], que foi ajustado aos dados experimentais por regressão não linear. De modo geral, o modelo de Maxwell [Eq. (8)] se ajustou satisfatoriamente aos dados experimentais, com coeficiente de correlação maior ou igual a 0,9 (Tabela 12). Pode-se observar que o pH influenciou tanto o módulo de relaxamento, quanto o tempo de relaxamento, mas sem um comportamento bem definido. Aparentemente, esse comportamento pode ter sido causado pela perda de sensibilidade dos testes, causada pelos grandes valores de desvio padrão, que atingiram cerca de 50% no módulo de relaxamento de géis GeA:Q em pH 4,5, e cerca de 15% no tempo de relaxamento de géis GeB:Q em pH 5,5, por exemplo.

Figura 32 – Curvas de relaxamento de tensão de géis de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) preparados em diferentes pH: 3,5 (—); 4,0 (—); 4,5 (—); 5,0 (—); 5,5 (—) e 6,0 (—), a 10% de deformação e a 5 °C. Linhas tracejadas representam valores calculados com a Eq. (8).

Fonte: Própria autoria.

Tabela 12 – Propriedades viscoelásticas [módulo de relaxamento: $G(t)$, e tempo de relaxamento: λ] calculados por regressão não-linear do modelo de Maxwell [Eq. (8)] de géis de blendas de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) preparados em diferentes pH, a 5 °C. r^2 é o coeficiente de correlação da regressão.

pH	$G(t)$ (kPa)		λ (s)		r^2	
	GeA:Q	GeB:Q	GeA:Q	GeB:Q	GeA:Q	GeB:Q
3,5	$1,4 \pm 0,3$ ^{B,b}	$2,8 \pm 0,4$ ^{C,a}	$268,3 \pm 33,1$ ^{C,a}	$301,8 \pm 44,5$ ^{D,a}	$0,916 \pm 0,015$	$0,985 \pm 0,005$
4,0	$1,8 \pm 0,2$ ^{B,b}	$3,7 \pm 0,8$ ^{ABC,a}	$412,4 \pm 15,18$ ^{B,a}	$467,4 \pm 46,1$ ^{C,a}	$0,896 \pm 0,009$	$0,991 \pm 0,002$
4,5	$1,8 \pm 0,9$ ^{AB,b}	$4,2 \pm 0,6$ ^{AB,a}	$587,6 \pm 49,9$ ^{A,a}	$540,9 \pm 20,6$ ^{B,a}	$0,891 \pm 0,007$	$0,991 \pm 0,003$
5,0	$2,1 \pm 0,9$ ^{A,b}	$4,3 \pm 0,6$ ^{AB,a}	$580,7 \pm 43,5$ ^{A,a}	$645,8 \pm 29,4$ ^{A,a}	$0,901 \pm 0,009$	$0,991 \pm 0,002$
5,5	$2,3 \pm 0,3$ ^{A,b}	$3,6 \pm 0,1$ ^{B,a}	$512,7 \pm 52,3$ ^{A,a}	$430,4 \pm 64,7$ ^{C,a}	$0,967 \pm 0,009$	$0,993 \pm 0,001$
6,0	$2,7 \pm 0,3$ ^{A,b}	$4,7 \pm 0,5$ ^{A,a}	$412,9 \pm 21,9$ ^{B,b}	$690,5 \pm 33,7$ ^{A,a}	$0,895 \pm 0,002$	$0,989 \pm 0,001$

* Valores absolutos das médias seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna referem-se à comparação do mesmo parâmetro em diferentes pH e são significativamente diferentes com 95% de significância pelo teste de Tukey.

* Valores absolutos das médias seguidas por diferentes letras minúsculas na mesma linha referem-se à comparação dos pares para o mesmo pH do mesmo parâmetro entre GeA:Q e GeB:Q e são significativamente diferentes com 95% de significância pelo teste de Tukey.

Fonte: Própria autoria.

De qualquer forma, pode-se constatar que os menores valores de $G(t)$ foram observados nos géis GeA:Q e GeB:Q com menores pH, mas que para λ as diferenças foram muito aleatórias (Tabela 12). Por outro lado, comparando-se os valores dos dois géis, observou-se que o $G(t)$ dos géis GeB:Q foram maiores que os dos géis GeA:Q em todos os pH, muito possivelmente pela ocorrência de interações biopoliméricas mais intensas nesses géis, como observado anteriormente. Entretanto, para λ só foi observado diferença significativa em pH 6,0, onde os géis GeB:Q apresentaram maior valor que os géis GeA:Q (Tabela 12), o que significa que nessa condição, os géis GeB:Q necessitam de mais tempo para retornar à condição inicial.

A partir do conhecimento do tempo de relaxamento obtido no modelo de Maxwell, foi possível calcular o número de Deborah [D_b , **Eq. (12)**], em que: $D_b \ll 1$ representa um fluido viscoso, $D_b \gg 1$ um sólido elástico e $D_b \approx 1$, um material viscoelástico (CHANDRA; SOBRAL, 2000).

$$D_b = \frac{\lambda}{t} \quad (12)$$

Os valores obtidos no número de Deborah variaram entre 4,5 e 9,6 para os géis de GeA:Q, enquanto que para GeB:Q eles foram ligeiramente maiores, variando entre 6,6 e 9,9 (Apêndice B), logo, esses valores permitiram sugerir que os dois tipos de géis se comportaram como sólidos viscoelásticos. Mas, pode-se considerar que os géis de GeB:Q foram mais viscoelásticos do que os de GeA:Q, o que corroborou e está de acordo com todos os demais testes realizados.

6 CONCLUSÕES

O potencial zeta de todas as soluções coloidais diminuiu linearmente em função do pH. Os maiores valores foram das soluções Q. Todas soluções coloidais apresentaram valores positivos, no domínio de pH estudado, com exceção da solução de GeB, que apresentou valores negativos nos maiores pH. Neste caso, foi possível o cálculo do $pI = 5,1$. A solução de GeA:Q apresentou valores positivos de potencial zeta porque ambos os biopolímeros tinham essa carga no pH estudado. Por outro lado, a solução de GeB:Q também apresentou potencial zeta positivo para todo pH porque as cargas negativas (COO^-) da gelatina tipo B não foram suficientes para neutralizar as cargas positivas dos grupos protonados da quitosana (NH_3^+), cujo potencial zeta foi muito grande.

As soluções coloidais GeA:Q e GeB:Q se comportaram como um fluido pseudoplástico. A tensão de cisalhamento, para dada taxa de deformação, aumentou em função do pH, assim como a viscosidade aparente, sendo que, a tensão de cisalhamento e a viscosidade aparente da GeB:Q foram muito maiores do que da GeA:Q.

As soluções GeB:Q se mostraram como sendo líquidos mais viscoelásticos do que as soluções GeA:Q. Os módulos G' e G'' aumentaram linearmente em função do pH para ambas as soluções, contudo para GeB:Q esse aumento apresentou duas regiões distintas como consequência das diferentes intensidades de interação entre os biopolímeros, que passou a ser mais intensa a partir do pI da GeB.

Todas as soluções de GeB:Q apresentaram comportamento característico de soluções diluídas, contudo houve um aumento da viscoelasticidade das soluções em função do pH. Os géis apresentaram comportamento típico de géis físicos termorreversíveis. As temperaturas de transição ($T_{sol-gel}$ e $T_{gel-sol}$), bem como G' e G'' das soluções GeB:Q aumentaram em função do pH e esses valores sempre foram maiores para as soluções GeB:Q, contudo um comportamento diferente foi observado para as soluções GeA:Q.

Em relação aos géis pré-formados, a tensão na ruptura aumentou em função do pH, sendo que os maiores valores foram para os géis GeB:Q. A deformação na ruptura foi similar para os géis GeA:Q e GeB:Q, enquanto que o módulo de Young foi maior para os géis GeB:Q. Ambos os géis apresentaram comportamento característico de géis fracos. As propriedades viscoelásticas foram calculadas com o modelo de Maxwell e o pH influenciou tanto $G(t)$, quanto λ , mas sem um comportamento bem definido. No geral, os módulos G' e G'' foram maiores para os géis GeB:Q, contudo λ só apresentou diferença significativa no pH 6,0.

Desta forma, pode-se concluir que o pH e o tipo de gelatina exercem influência sobre o comportamento reológico e mecânico das blendas de GeA:Q e GeB:Q. Esses resultados dão suporte para delimitar as melhores condições de processamento. Entretanto, mais estudos são necessários para proporcionar um conhecimento mais aprofundado entre as interações desses biopolímeros.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDULLAH SANI, M. S. et al. Establishing forensic food models for authentication and quantification of porcine adulterant in gelatine and marshmallow. **Food Control**, v. 130, p. 108350, 2021.
- ACEVEDO, C. A. et al. Assessment of gelatin-chitosan interactions in films by a chemometrics approach. **CYTA - Journal of Food**, v. 13, n. 2, p. 227–234, 2015.
- AHMED, J.; PTASZEK, P.; BASU, S. Food rheology: Scientific development and importance to food industry. In: **Advances in food rheology and its applications**. [s.l.] Elsevier Ltd., 2017. p. 1–4.
- AHN, S. K. et al. Stimuli-responsive polymer gels. **Soft Matter**, v. 4, n. 6, p. 1151–1157, 2008.
- AMIRI, N. et al. Optimization of Chitosan-Gelatin Nanofibers Production: Investigating the Effect of Solution Properties and Working Parameters on Fibers Diameter. **BioNanoScience**, v. 8, n. 3, p. 778–789, 2018.
- AN, Y.; SOLIS, F. J.; JIANG, H. A thermodynamic model of physical gels. **Journal of the Mechanics and Physics of Solids**, v. 58, n. 12, p. 2083–2099, 2010.
- ANGULO, D. E. L.; SOBRAL, P. J. do A. The effect of processing parameters and solid concentration on the microstructure and pore architecture of gelatin-chitosan scaffolds produced by freeze-drying. **Materials Research**, v. 19, n. 4, p. 839–845, 2016.
- ARMISÉN, R.; GALATAS, F. Agar. In: **Handbook of hydrocolloids**. Cornwallha: Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, 2000. p. 41–60.
- ATAY, E. et al. Development and characterization of chitosan/gelatin electrosprayed microparticles as food grade delivery vehicles for anthocyanin extracts. **Food Hydrocolloids**, v. 77, p. 699–710, 2018.
- BARBOSA, M. A.; PÊGO, A. P.; AMARAL, I. F. Chitosan. In: **Materials of Biological Origin**. Porto: Elsevier Ltd., 2011. p. 221–237.
- BARNES, H. A.; HUTTON, J. F.; WALTERS, K. F. R. S. **An Introduction to Rheology**. 1. ed. Amsterdã: Elsevier Science Publishers B. V., 1989.
- BEIL, S. et al. Determination of the degree of N-acetylation (DA) of chitin and chitosan in the presence of water by first derivative ATR FTIR spectroscopy. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 1, p. 117–122, 2012.

BENBETTAÏEB, N. et al. Barrier, structural and mechanical properties of bovine gelatin-chitosan blend films related to biopolymer interactions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 12, p. 2409–2419, 2014.

BENICHOUE, A.; ASERIN, A.; GARTI, N. Protein-Polysaccharide Interactions for Stabilization of Food Emulsions. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 23, n. 1–3, p. 93–123, 2002.

BONILLA, J.; SOBRAL, P. J. A. Investigation of the physicochemical, antimicrobial and antioxidant properties of gelatin-chitosan edible film mixed with plant ethanolic extracts. **Food Bioscience**, v. 16, p. 17–25, 2016.

CAGRI, A.; USTUNOL, Z.; RYSER, E. T. Antimicrobial edible films and coatings. **Journal of Food Protection**, v. 67, n. 4, p. 833–848, 2004.

CARDOSO, G. P. et al. Retail display of beef steaks coated with monolayer and bilayer chitosan-gelatin composites. **Meat Science**, v. 152, p. 20–30, 2019.

CHADHA, S. Recent advances in nano-encapsulation technologies for controlled release of biostimulants and antimicrobial agents. In: **Advances in Nano-Fertilizers and Nano-Pesticides in Agriculture**. [s.l.] Elsevier Inc., 2021. p. 29–55.

CHANDRA, P. K.; SOBRAL, P. J. do A. Calculation of viscoelastic properties of edible films: application of three models. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 2, p. 250–256, 2000.

CHEN, Y. M. et al. Production of natural chitin film from pupal shell of moth: Fabrication of plasmonic surfaces for SERS-based sensing applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 262, p. 117909, 2021.

CHENG, M. et al. Study on physical properties and nerve cell affinity of composite films from chitosan and gelatin solutions. **Biomaterials**, v. 24, n. 17, p. 2871–2880, 2003.

CLOGSTON, J. D.; PATRI, A. K. Zeta Potential Measurement. In: **Characterization of Nanoparticles Intended for Drug Delivery**. [s.l.] Humana Press, 2011. 697p. 63–70.

CRINI, G.; BADOT, P. M. Application of chitosan, a natural aminopolysaccharide, for dye removal from aqueous solutions by adsorption processes using batch studies: A review of recent literature. **Progress in Polymer Science**, v. 33, n. 4, p. 399–447, 2008.

DAMIAN, C. et al. Quitosana: um amino polissacarídeo com características funcionais. **Alimentos e Nutrição**, v. 16, n. 2, p. 195–205, 2005.

DERKACH, S. R.; VORON'KO, N. G.; SOKOLAN, N. I. The rheology of hydrogels based on chitosan–gelatin (bio)polyelectrolyte complexes. **Journal of Dispersion Science**

and Technology, v. 38, n. 10, p. 1427–1434, 2017.

DICKINSON, E. Protein–Polysaccharide Interactions in Food Colloids. In: **Food Colloids and Polymers: Stability and Mechanical Properties**. [s.l.] Woodhead Publishing Limited, 2005. p. 77–93.

DJABOUROV, M.; NISHINARI, K.; ROSS-MURPHY, S. B. **Physical Gels from Biological and Synthetic Polymers**. Nova York: Cambridge University Press, 2013.

DO AMARAL, L. **A Química**. São Paulo: Edições Loyola, 1995.

DOUBLIER, J. et al. Protein-polysaccharide interactions. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v. 5, p. 202–214, 2000.

EBRAHIMI, S.; FATHI, M.; KADIVAR, M. Production and characterization of chitosan-gelatin nanofibers by nozzle-less electrospinning and their application to enhance edible film's properties. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 22, p. 100387, 2019.

FISCHER, T. et al. Physical gels of poly(vinylamine) by thermal curing. **RSC Advances**, v. 10, n. 37, p. 21933–21939, 2020.

FITZSIMONS, S. M.; MULVIHILL, D. M.; MORRIS, E. R. Segregative interactions between gelatin and polymerised whey protein. **Food Hydrocolloids**, v. 22, n. 3, p. 485–491, 2008.

FRITH, W. J. Mixed biopolymer aqueous solutions - Phase behaviour and rheology. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 161, p. 48–60, 2010.

GE, H. et al. Effects of hydrocolloids, acids and nutrients on gelatin network in gummies. **Food Hydrocolloids**, v. 113, p. 106549, 2021.

GE, S. et al. Enhanced mechanical properties and gelling ability of gelatin hydrogels reinforced with chitin whiskers. **Food Hydrocolloids**, v. 75, p. 1–12, 2018.

GENTILE, L. Protein–polysaccharide interactions and aggregates in food formulations. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v. 48, p. 18–27, 2020.

GOK, C.; AYTAS, S. Biosorption of Uranium and Thorium by Biopolymers. In: **The Role of Colloidal Systems in Environmental Protection**. [s.l.] Elsevier B.V., 2014. p. 363–395.

GOMEZ-GUILLEN, M. C. et al. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 8, p. 1813–1827, 2011.

GONÇALVES, F. J.; FREITAS, R. P. Modification of chitosan by Zincke reaction:

Synthesis of a novel polycationic chitosan-pyridinium derivative. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, n. 11, p. 2318–2323, 2019.

GUMUSTAS, M. et al. Effect of Polymer-Based Nanoparticles on the Assay of Antimicrobial Drug Delivery Systems. In: **Multifunctional Systems for Combined Delivery, Biosensing and Diagnostics**. [s.l.] Elsevier Inc., 2017. p. 67–108.

GUTIERREZ-LEMINE, D. **Engineering Viscoelasticity**. Arlington: Springer Science+Business Media, 2014.

HAMOUDA, T. Sustainable packaging from coir fibers. In: **Biopolymers and Biocomposites from Agro-Waste for Packaging Applications**. [s.l.] Elsevier Ltd., 2021. p. 113–126.

HARISH PRASHANTH, K. V.; THARANATHAN, R. N. Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potential-an overview. **Trends in Food Science and Technology**, v. 18, n. 3, p. 117–131, 2007.

HARWATE, N. et al. Gelatin–chitosan macroporous scaffolds integrated with customizable hollow channels for liver tissue engineering. In: **Food, Medical, and Environmental Applications of Polysaccharides**. [s.l.] Elsevier Inc., 2021. p. 667–685.

HEISE, S. et al. Electrophoretic deposition of gelatine nanoparticle/chitosan coatings. **Electrochimica Acta**, v. 307, p. 318–325, 2019.

HERMAN, I. P. **Physics of the Human Body**. [s.l.] Springer Science+Business Media, 2007.

HORN, M. M. et al. Physical and thermal evaluation of chitosan/gelatin films associated with grape seed extract. In: 9º Congresso Latino-Americano de Órgãos artificiais e Biomateriais (COLAOB), São Paulo. [**Anais**] São Paulo: 2016.

HORUE, M. et al. Microbial production and recovery of hybrid biopolymers from wastes for industrial applications- a review. **Bioresource Technology**, v. 340, p. 125671, 2021.

IBRAHIM, H. M.; EL-ZAIRY, E. M. R. Chitosan as a Biomaterial — Structure, Properties, and Electrospun Nanofibers. In: **Concepts, Compounds and the Alternatives of Antibacterials**. [s.l.] Intech, 2015. p. 81–102.

IBRAHIM, S. et al. Biopolymers From Crop Plants. In: **Reference Module in Materials Science and Materials Engineering**. [s.l.] Elsevier Inc., 2019. p. 1–10.

IMRE, B.; PUKÁNSZKY, B. Compatibilization in bio-based and biodegradable polymer blends. **European Polymer Journal**, v. 49, p. 1215–1233, 2013.

JORGE, M. F. C. **Caracterização de filmes nanocompósitos biodegradáveis a base de gelatina produzidos com um aplicador automático de filmes**. 2012. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012.

KARIMIAN, S. A. M.; MASHAYEKHAN, S.; BANIASADI, H. Fabrication of porous gelatin-chitosan microcarriers and modeling of process parameters via the RSM method. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 88, p. 288–295, 2016.

KASAPIS, S.; BANNIKOVA, A. **Advances in Food Rheology and Its Applications**. Cambridge: Elsevier Ltd., 2017.

KISSA, E. **Dispersions: Characterization, Testing, and Measurement**. 1. ed. Estados Unidos da América: CRC Press – Taylor & Francis Group, 1999.

KUHN, K. R.; PICONE, C. S. F.; DA CUNHA, R. L. Food Gels. In: **Biopolymer Engineering in Food Processing**. [s.l.] CRC Press – Taylor & Francis Group, 2012. p. 111–144.

LIU, G. et al. Molecular interactions in debranched waxy starch and their effects on digestibility and hydrogel properties. **Food Hydrocolloids**, v. 84, p. 166–172, 2018.

LIU, W. et al. Effects of chitosan coating on freeze-drying of blueberry enhanced by ultrasound pre-treatment in sodium bicarbonate medium. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 181, p. 631–643, 2021a.

LIU, W. et al. Effects of different hydrocolloids on gelatinization and gels structure of chestnut starch. **Food Hydrocolloids**, v. 120, n. 235, p. 106925, 2021b.

LU, G. W.; GAO, P. Emulsions and Microemulsions for Topical and Transdermal Drug Delivery. In: **Handbook of Non-Invasive Drug Delivery Systems**. [s.l.] Elsevier Inc., 2010. p. 59–94.

LUCIANO, C. G. **Caracterização da farinha e do amido isolado da semente de jaca e comportamento reológico de dispersões de amido**. 2016. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Materiais) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia dos alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

MAKISHI, G. L. da A. **Propriedades de soluções filmogênicas e de filmes de gelatina ou colágeno com extrato de boldo-do-Chile**. 2016. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

MARIOD, A. A.; ADAM, H. F. Review: Gelatin, source, extraction and industrial applications. **Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria**, v. 12, n. 2, p.

135–147, 2013.

McCLEMENTS, D. J. Non-covalent interactions between proteins and polysaccharides. **Biotechnology Advances**, v. 24, n. 6, p. 621–625, 2006.

MEDEIROS, M. R. C. A. de. **Produção de quitosana por mucor subtilissimus por fermentação semi-sólida em meio alternativo e aplicação na remoção do corante azul de metileno**. 2013. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais) - Universidade Católica de Pernambuco, Recife, 2013.

MOHTAR, N. F.; PERERA, C.; QUEK, S. Y. Optimisation of gelatine extraction from hoki (*Macrurus novaezelandiae*) skins and measurement of gel strength and SDS-PAGE. **Food Chemistry**, v. 122, n. 1, p. 307–313, 2010.

MORAES, I. C. F. et al. Film forming solutions based on gelatin and poly(vinyl alcohol) blends: Thermal and rheological characterizations. **Journal of Food Engineering**, v. 95, n. 4, p. 588–596, 2009.

MOREIRA, C. D. F. et al. Nanostructured chitosan/gelatin/bioactive glass in situ forming hydrogel composites as a potential injectable matrix for bone tissue engineering. **Materials Chemistry and Physics**, v. 218, p. 304–316, 2018.

NAGAHAMA, H. et al. Preparation and characterization of novel chitosan/gelatin membranes using chitosan hydrogel. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, n. 2, p. 255–260, 2009.

NICOLAY, V. et al. Formation of Polyelectrolyte Complexes from Chitosan and Alkaline Gelatin. **KnE Life Sciences**, v. 2020, p. 109–119, 2020.

NURUNNABI, M. et al. Polysaccharide based nano/microformulation: An effective and versatile oral drug delivery system. In: **Nanostructures for Oral Medicine**. [s.l.] Elsevier Inc., 2017. p. 409–433.

ÖZEL, N.; ELIBOL, M. A review on the potential uses of deep eutectic solvents in chitin and chitosan related processes. **Carbohydrate Polymers**, v. 262, p. 117942, 2021.

PATERSON, M. S. **Experimental Rock Deformation: The Brittle Field**. [s.l.] Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH, 1978.

PEREZ-PUYANA, V. et al. Alternative processing methods of hybrid porous scaffolds based on gelatin and chitosan. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 102, p. 103472, 2020.

QIAO, C. et al. Molecular interactions in gelatin/chitosan composite films. **Food Chemistry**, v. 235, p. 45–50, 2017.

QIN, S.; LI, H.; HU, C. Thermal properties and morphology of chitosan/gelatin composite shell microcapsule via multi-emulsion. **Materials Letters**, v. 291, p. 129475, 2021.

RAJESWARI, A. et al. Current research on the blends of chitosan as new biomaterials. In: **Handbook of Chitin and Chitosan**. [s.l.] Elsevier Inc., 2020. p. 247–283.

RAJESWARI, A.; STOBEL CHRISTY, E. J.; PIUS, A. Biopolymer blends and composites: processing technologies and their properties for industrial applications. In: **Biopolymers and their Industrial Applications**. [s.l.] Elsevier Inc., 2021. p. 105–147.

RAMOS, G. V. C. **Efeito do tratamento com ozônio sobre as propriedades estruturais, térmicas, reológicas e funcionais do amido de quinoa**. 2019. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Materiais) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2019.

RAO, A.; KIM, J.; THOMAS, R. R. Interfacial rheological studies of gelatin-sodium dodecyl sulfate complexes adsorbed at the air-water interface. **Langmuir**, v. 21, n. 2, p. 617–621, 2005.

RAO, M. A. **Rheology of Fluid and Semisolid Foods: Principles and Applications**. 2. ed. [s.l.] Springer Science+Business Media, 2007.

RIOS, R. V. **Potencialidades da succinil quitosana como emulsificante e substituto de fração lipídica em massa de bolo**. 2018. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

RODRIGUES, M. Á. V. et al. Chitosan and gelatin materials incorporated with phenolic extracts of grape seed and jabuticaba peel: Rheological, physicochemical, antioxidant, antimicrobial and barrier properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 160, p. 769–779, 2020.

ROY, J. C. et al. Surface behavior and bulk properties of aqueous chitosan and type-B gelatin solutions for effective emulsion formulation. **Carbohydrate Polymers**, v. 173, p. 202–214, 2017.

ROY, J. C. et al. Influence of process parameters on microcapsule formation from chitosan—Type B gelatin complex coacervates. **Carbohydrate Polymers**, v. 198, p. 281–293, 2018.

S, P.; JAISWAL, A. K. Effect of interpolymer complex formation between chondroitin sulfate and chitosan-gelatin hydrogel on physico-chemical and rheological properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 238, p. 116179, 2020.

SAHA, T.; HOQUE, M. E.; MAHBUB, T. Biopolymers for Sustainable Packaging in Food, Cosmetics, and Pharmaceuticals. In: **Advanced Processing, Properties, and Applications of Starch and Other Bio-Based Polymers**. [s.l.] Elsevier Inc., 2020. p. 197–214.

SAHRAEE, S.; MILANI, J. M. Chitin and chitosan-based blends, composites, and nanocomposites for packaging applications. In: **Handbook of Chitin and Chitosan**. [s.l.] Elsevier Inc., 2020. p. 247–271.

SAMIMI, S. et al. Lipid-Based Nanoparticles for Drug Delivery Systems. In: **Characterization and Biology of Nanomaterials for Drug Delivery**. [s.l.] Elsevier Inc., 2019. p. 47–76.

SAMSI, M. S. et al. Synthesis, characterisation and application of gelatin-chitosan blend films for fruit preservation. **Fresenius Environmental Bulletin**, v. 28, n. 1, p. 30–43, 2019.

SCHRAMM, G. **Reologia e Reometria: Fundamentos Teóricos e Práticos**. 2. ed. São Paulo: Altliber Editora Ltda., 2006.

SCHRIEBER, R.; GAREIS, H. **Gelatine handbook: Theory and Industrial Practice**. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co., 2007.

SCHULZE, D. **Powders and Bulk Solids: Behavior, Characterization, Storage and Flow**. [s.l.] Springer Science+Business Media, 2008.

SELVAMANI, V. Stability Studies on Nanomaterials Used in Drugs. In: **Characterization and Biology of Nanomaterials for Drug Delivery: Nanoscience and Nanotechnology in Drug Delivery**. [s.l.] Elsevier Inc., 2019. p. 425–444.

SHAMLOO, A.; KAMALI, A.; BAHRANI FARD, M. R. Microstructure and characteristic properties of gelatin/chitosan scaffold prepared by the freeze-gelation method. **Materials Research Express**, v. 6, n. 11, p. 115404, 2019.

SHNOUDEH, A. J. et al. **Synthesis, Characterization, and Applications of Metal Nanoparticles**. [s.l.] Elsevier Inc., 2019.

SILVA, S. S. et al. Fundamentals on biopolymers and global demand. In: **Biopolymer Membranes and Films**. [s.l.] Elsevier Inc., 2020. p. 3–34.

SOBRAL, P. J. A. et al. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. **Food Hydrocolloids**, v. 15, n. 4–6, p. 423–432, 2001.

SPERLING, L. H. **Introduction to Physical Polymer Science**. 4. ed. Hoboken: John Wiley & Sons Ltd., 2006.

STAROSZCZYK, H. et al. Interactions of fish gelatin and chitosan in uncrosslinked and crosslinked with EDC films: FT-IR study. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 117, p. 707–712, 2014.

STEFFE, J. F. **Rheological methods in food process engineering**. 2. ed. East Lansing: Freeman Press, 1996.

TAKEUCHI, K. P. **Propriedades macro e microscópicas de géis de proteínas do leite e k-carragena**. 2008. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

TORRES, M. A. et al. Produção e caracterização de microesferas de quitosana modificadas quimicamente. **Polímeros**, v. 15, n. 4, p. 306–312, 2005.

TYUFTIN, A. A.; KERRY, J. P. Gelatin films: Study review of barrier properties and implications for future studies employing biopolymer films. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 29, p. 100688, 2021.

VAFANIA, B.; FATHI, M.; SOLEIMANIAN-ZAD, S. Nanoencapsulation of thyme essential oil in chitosan-gelatin nanofibers by nozzle-less electrospinning and their application to reduce nitrite in sausages. **Food and Bioproducts Processing**, v. 116, p. 240–248, 2019.

VAN DE VELDE, F. et al. Protein-polysaccharide interactions to alter texture. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 6, p. 371–388, 2015.

VINJAMURI, B. P. et al. Gelatin solution pH and incubation time influences the size of the nanoparticles engineered by desolvation. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 63, p. 102423, 2021.

WANG, H.; QIAN, J.; DING, F. Emerging Chitosan-Based Films for Food Packaging Applications. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 2, p. 395–413, 2018.

WANG, Q. Z. et al. Protonation constants of chitosan with different molecular weight and degree of deacetylation. **Carbohydrate Polymers**, v. 65, n. 2, p. 194–201, 2006.

WANG, S.; ZHAO, G. Quantitative characterization of the electrospun gelatin-chitosan nanofibers by coupling scanning electron microscopy and atomic force microscopy. **Materials Letters**, v. 79, p. 14–17, 2012.

WANG, Y. et al. A small-angle neutron scattering and rheology study of the composite of chitosan and gelatin. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 70, n. 2, p. 254–258, 2009.

WANI, T. A.; MASOODI, F. A.; AKHTER, R. Preparation and characterization of chitosan flake and chitosan nanopowder gels: A comparative study of rheological, thermal and morphological perspectives. **LWT - Food Science and Technology**, v. 148, p. 111771, 2021.

WARD, I. M.; SWEENEY, J. **An Introduction to the Mechanical Properties of Solid Polymers**. 2. ed. Chichester: John Wiley & Sons Ltd., 2004.

WILLIAMS, P. A.; PHILLIPS, G. O. Introduction to food hydrocolloids. In: **Handbook of Hydrocolloids**. Cornualha: Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, 2000. p. 22–40.

YE, L.; CHEN, H. Characterization of the interactions between chitosan/whey protein at different conditions. **Food Science and Technology**, v. 39, n. 1, p. 163–169, 2019.

YIN, K.; DIVAKAR, P.; WEGST, U. G. K. Structure-property-processing correlations of longitudinal freeze-cast chitosan scaffolds for biomedical applications. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 121, p. 104589, 2021.

YIN, Y. J. et al. Properties of polyelectrolyte complex films of chitosan and gelatin. **Polymer International**, v. 48, p. 429–433, 1999.

ZHANG, H. et al. Effect of chitosan-gelatin coating containing nano-encapsulated tarragon essential oil on the preservation of pork slices. **Meat Science**, v. 166, p. 108137, 2020.

ZIVANOVIC, S.; DAVIS, R. H.; GOLDEN, D. A. Chitosan as an antimicrobial in food products. In: **Handbook of Natural Antimicrobials for Food Safety and Quality**. Knoxville: Elsevier Ltd, 2015. p. 153–181.

APÊNDICE A – Varredura de deformação completa para GeA:Q e GeB:Q

Figura – Módulo de perda (G') e módulo de armazenamento (G'') em função da deformação de soluções coloidais de blends de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) preparadas em diferentes pH: 3,5 (■,□); 4,0 (●,○); 4,5 (▲,△); 5,0 (■,□); 5,5 (●,○) e 6,0 (▲,△), a 30 e 40 °C, respectivamente no intervalo de deformação compreendido entre 0,01 e 100%.

Fonte: Própria autoria.

APÊNDICE B – Número de Deborah dos géis GeA:Q e GeB:Q

Tabela – Número de Deborah para os géis de gelatina tipo A com quitosana (GeA:Q) e gelatina tipo B com quitosana (GeB:Q) em função do pH.

pH	D _b	
	GeA:Q	GeB:Q
3,5	4,5 ± 0,1 ^{C,b}	6,6 ± 0,1 ^{D,a}
4,0	6,7 ± 0,2 ^{B,a}	7,1 ± 0,3 ^{C,a}
4,5	9,5 ± 0,4 ^{A,a}	8,3 ± 0,3 ^{B,b}
5,0	9,6 ± 0,4 ^{A,a}	9,9 ± 0,3 ^{A,a}
5,5	8,5 ± 0,7 ^{A,a}	8,7 ± 0,4 ^{B,a}
6,0	6,8 ± 0,3 ^{B,a}	7,4 ± 0,5 ^{C,a}

* Valores absolutos das médias seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna referem-se à diferença entre pH e são significativamente diferentes com 95% de significância pelo teste de Tukey.

* Valores absolutos das médias seguidas por diferentes letras minúsculas na mesma linha referem-se à diferença entre os géis GeA:Q e GeB:Q e são significativamente diferentes com 95% de significância pelo teste de Tukey.

Fonte: Própria autoria.